

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001726

抑郁症易感性差异与海马 CA3 区及 DG 内树突棘数量变化的相关性研究

蒋艳红¹, 王 瑾¹, 胡梦兰¹, 罗艳敏¹, 高 原², 梁 芯¹, 肖 倩¹, 周春妮¹,晁凤蕾¹, 张 蕾¹, 唐 静¹, 黄春霞³, 唐 勇¹

(1. 重庆医科大学基础医学院组织学与胚胎学教研室、干细胞与组织工程研究室, 重庆 400016;

2. 重庆医科大学附属第一医院老年科, 重庆 400016; 3. 重庆医科大学生理学教研室, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨在慢性不可预知性应激(chronic unpredictable stress, CUS)模型中压力耐受大鼠海马结构 CA3 及海马齿状回(dentate gyrus, DG)内树突棘数量的变化情况,以期深入了解抑郁症发病的结构基础。**方法:**选用 4~5 周龄雄性 sprague-dawley(SD)大鼠,将糖水偏好稳定的大鼠随机分为空白对照组和 CUS 造模组,造模组采取孤养并给予 4 周的 CUS 干预。根据糖水偏好结果筛选出 CUS 敏感组和 CUS 耐受组。利用免疫组织化学结合体视学方法对每组挑选出的 5 只大鼠海马结构 CA3 和 DG 内的树突棘数量进行精确的三维定量研究。**结果:**与空白对照组、CUS 耐受组相比,CUS 敏感组的糖水偏好百分比均明显下降($P=0.000$, $P=0.000$),而空白对照组与 CUS 耐受组的糖水偏好百分比无明显差异($P=0.262$);与空白对照组和 CUS 耐受组相比较,CUS 敏感组大鼠海马结构 CA3 区内的树突棘数量明显下降($P=0.008$, $P=0.004$),CUS 敏感组大鼠海马结构 DG 区内的树突棘数量也明显下降($P=0.001$, $P=0.001$);而在大鼠海马结构 CA3 及 DG 内,CUS 耐受组与空白对照组的树突棘总数目无明显差异($P=0.656$, $P=0.950$)。**结论:**CUS 耐受组大鼠海马结构 CA3 及 DG 内树突棘的数量不受 CUS 干预的影响,提示海马结构内树突棘数量可能是抑郁症易感性差异的关键因素之一,为抑郁症的治疗提供了新的方向。

【关键词】抑郁症; CUS 耐受组; 大鼠海马; 树突棘; 体视学**【中图分类号】**R749.4; R-332; Q954.52; Q954.67*1; G304**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2017-09-11

Stereological study on the relationship between the differences in stress susceptibility and dendritic spines changes in the CA3 and DG of hippocampal formation in depression

Jiang Yanhong¹, Wang Jin¹, Hu Menglan¹, Luo Yanmin¹, Gao Yuan², Liang Xin¹, Xiao Qian¹,Zhou Chunni¹, Chao Fenglei¹, Zhang Lei¹, Tang Jing¹, Huang Chunxia³, Tang Yong¹

(1. Teaching and Research Section of Histology and Embryology, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, Laboratory of Stem Cells and Tissue Engineering; 2. Department of Geriatrics, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University; 3. Teaching and Research Section of Physiology, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the differences of dendritic spines in the CA3 and dentate gyrus(DG) of the hippocampal formation in normal control group, chronic unpredictable stress(CUS) susceptibility group and CUS resistance group in order to further understand the structural bases of the depression-like behaviors. **Methods:** Four-five weeks old male SD rats were randomly divided into normal control group and model group. The model group rats were treated with chronic unpredictable stress for 4 weeks. Then, the

model group rats were randomly divided into the CUS resistance group and the CUS susceptibility group according to the results of sucrose preference test. The numbers of dendritic spines in the CA3 and DG of the hippocampal formation of normal control($n=5$), CUS susceptibility group($n=5$) and CUS resistance group($n=5$) were quantitatively estimated using the stereological methods and immunohistochemical methods.

作者介绍: 蒋艳红, Email: 1648989285@qq.com,

研究方向: 人体解剖与组织胚胎学。

通信作者: 唐 勇, Email: ytang062@163.com。**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(编号: 81671259、81501101、81501156)。**优先出版:** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180522.0942.016.html>
(2018-05-23)

Results: The sucrose preference in the CUS susceptibility group rats was significantly decreased when compared with that of the CUS resistance group and normal control group ($P=0.000, P=0.000$). The sucrose preference in the CUS resistance group and normal control group was not significantly different ($P=0.262$). The total number of the dendritic spines in the CA3 of the CUS susceptibility group rats was significantly lower than that of the normal control group and that of the CUS resistance group ($P=0.008, P=0.004$). The total number of the dendritic spines in the DG of the CUS susceptibility group rats was significantly lower than that of the normal control group and that of the CUS resistance group ($P=0.001, P=0.001$). The total number of the dendritic spines in the CA3 and DG in the normal control group was not significantly different when compared with that of the CUS resistance group ($P=0.656, P=0.950$).

Conclusion: The total number of the dendritic spines in the CA3 and DG of the hippocampal formation in the CUS resistance group was not affected by CUS intervention, suggesting that the number of dendritic spines in hippocampus might be one of the key factors for the difference of stress susceptibility in depression. Our study might provide one of the important structural bases for searching the new treatment direction of depression.

[Key words] depression; stress resistance; hippocampus; dendritic spines; stereology

个体在社会环境下生存易受压力及各种应激,长期暴露于压力及刺激下往往会引发各种疾病,例如抑郁症^[1]。然而,一些个体能够应对这些严峻的压力因素,从而表现出抑郁症耐受,避免抑郁风险^[2]。而个体是否容易患抑郁症即个体易感性的差异是抑郁症发生发展的重要机制之一^[3]。因此,研究抑郁症耐受组的神经结构改变、探讨其耐受的潜在因素对于预防和控制抑郁症的发生发展有着极其重要的意义。

海马作为情绪控制^[4]和压力调节^[5]的重要结构,其结构和功能的损伤可能是抑郁症产生的重要结构基础之一^[6-7]。海马齿状回(dentate gyrus, DG)在情感调控中的作用早已被发现^[8]; Mirescu 和 Gould^[9]发现与抑郁症的发生密切相关的应激因素是通过 DG 发挥作用的。海马 CA3 区与个体的学习及记忆密切相关^[10], McEwen^[11]在综述中讲到,在应激导致的抑郁症中存在海马 CA3 区树突萎缩和树突棘可塑性改变。以上研究均表明海马 CA3 区与 DG 这两个亚区与抑郁症的发生发展密切相关。研究者对 8 周 C57 小鼠给予 3 周应激处理后,利用 MRI 对抑郁症模型建模前后的 C57 小鼠海马进行纵向检测发现:耐受组小鼠海马体积仍然存在自然增长,而易感组海马体积则不存在^[12]。由此推测:耐受组与易感组海马结构改变的差异性可能是抑郁症易感性不同的结构基础之一。大量研究显示树突棘组成约 95% 的兴奋性突触是神经信息传递的关键结构^[13-14],因此,树突棘的变化可直接反映突触的变化。Christoffel 等^[15]通过调节特定神经元的活性改变树突棘的可塑性,可使抑郁动物的易感性发生变化,推测应激动物耐

受性和易感性可能与树突棘可塑性有关。Qu 等^[16]利用经典的高尔基体染色方法对抑郁症社交挫败的小鼠模型大脑各区域的树突棘密度与抑郁症易感性差异的关系进行研究,发现在海马 DG 区及 CA3 区内抑郁症易感组的树突棘明显减少,而耐受组树突棘密度明显高于易感组。此研究说明抑郁症的易感性差异可能与海马结构 DG 区和 CA3 区树突棘关系密切。运用精确的定量手段探讨抑郁症易感性差异与海马树突棘数量变化的关系,国内外尚未见研究报道。因此,本研究利用精确三维定量技术即现代体视学方法结合免疫组织化学染色方法,对抑郁易感组和抑郁耐受组大鼠海马内树突棘的总数目进行定量研究,进一步认识海马结构内树突棘变化与抑郁症易感性差异的关系,以期对抑郁症的治疗提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验对象为雄性 SD 大鼠,4~5 周龄,体质量(180 ± 20) g,由重庆医科大学动物实验中心提供。饲养温度控制在(22 ± 3) °C,空白对照组自然照明,自由饮水和摄食,CUS 造模组给予慢性不可预知应激 4 周。此研究符合重庆医科大学实验动物伦理委员会所制定的伦理学标准。

1.2 实验方法

1.2.1 CUS 模型建立及分组 CUS 模型是将动物置于一系列不可预知的慢性刺激中模拟人类抑郁症的核心症状——愉快感缺失。该模型以 Willner^[17]和 Berton 等^[18]所建立的动物模型为基础通过进一步改进所得。生活中的压力往往是不可预知的,并且通常为慢性作用,而 CUS 应激为慢性的不可预

知的应激,从而可以更好地模拟人在社会中常常遇到一些非持续、非重大的刺激。根据糖水适应性喂养 1 周后的结果,将 100 只合格大鼠随机分为空白对照组 25 只(5 只/笼,正常饲养)及 CUS 造模组 75 只(单独饲养,并给予 14 种不同类型的慢性不可预见性刺激,持续 4 周,见表 1)。4 周应激结束后根据糖水偏好实验结果,将 CUS 造模组分为 CUS 敏感组及 CUS 耐受组,两组各在其合格实验动物中随机挑选 25 只^[19-20]。最终得到空白对照组 25 只,CUS 敏感组 25 只及 CUS 耐受组 25 只。

1.2.2 体质量测定 开始应激后,每周固定时间对各组大鼠分别进行体质量测定,观察应激对其体质量的影响。

1.2.3 糖水偏好实验 糖水偏好实验为判断动物快感缺乏的金标准^[21]。每只大鼠提供充足食物,纯水及 1%蔗糖水各 1 瓶,测 24 h 各瓶的饮水量,每周 1 次记录糖水偏好百分比。糖水偏好百分比=糖水消耗量/总水消耗量×100%。

1.2.4 标本的固定和取材 在 3 组实验动物中每组随机挑选 5 只,配 1%戊巴比妥钠进行腹腔注射麻醉,剖开腹腔充分暴露心脏,将连接灌注泵的针头迅速插入左心室剪开右心耳,使用生理盐水充分灌注至流出液由红色变澄清,观察肝脏颜色明显变浅时,改用多聚甲醛 20 mL/min 灌注 180~200 mL 至颈部僵直,去除颅骨,取出脑组织。

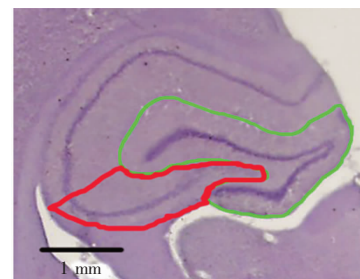
1.2.5 免疫组织化学染色 将选定的 5 只大鼠每只随机抽取一侧半脑,依次在 10%、20%、30%的蔗糖水(PBS 配置)中浸泡,脱水 3~4 d,待脱水完成后将脑组织用 OCT 包埋速冻后,行连续冰冻切片操作,温度控制在-21℃为佳,切片厚度 60 μm。对海马结构组织进行等距随机抽样,抽样分数为 1/6,利用 0.01 mol/L PBS 液漂洗 5 min×6 次,0.3%Tween-20 (0.01 mol/L PBS 配置)漂洗 5 min×12 次,摇床温和摇晃,随后利用 0.3%Tween-20、5%山羊血清、1%胎牛血清、0.1%鱼明胶、水浴箱 37℃封闭 3 h,一抗孵育,抗 Spinophilin 单克隆抗体(1:2 000 abcam)水浴箱 37℃孵育 42 h。一抗孵育完成后,0.3%Tween-20 漂洗 5 min×12 次,摇床温和摇晃,二抗孵育,免疫胶体金试剂(1:200 Electron Microscopy Sciences)水浴箱 37℃孵育 3 h,严格避光操作。0.3% Tween-20 漂洗 5 min×6 次,0.01 mol/L PBS 液漂洗 5 min×6 次。组织固定,2%戊二醛固定脑片 10 min。0.01 mol/L PBS 液漂洗 5 min×6 次,一级

水漂洗 5 min×6 次,摇床温和摇晃。然后利用银增强试剂盒(1:1 Electron Microscopy Sciences)显色约 30 min,避光操作。蒸馏水漂洗、苏木素复染、返蓝、75%酒精贴片、脱水、透明、树脂封片、晾干。

1.2.6 体视学分析 树突棘染色完成后,待切片晾干后,利用体视学仪器进行定性观察切片上树突棘的数量及厚度,切片厚度为 13~35 μm,在 4 倍物镜下对海马结构进行分区,按照大鼠脑图谱画出海马结构中 CA3 区和 DG 区的边界(图 1)。利用体视学分析测试系统对海马结构 CA3 区及 DG 区内的树突棘进行精确的计数。在 100 倍油镜下,抽样面积设置为 0.06%(7×8),从 1 个视野分为 7×8 个小格中固定选取最左上角的计数框进行计数。体视框高度设置为 10 μm,保护高度设置为 3 μm,设定标准为当第一个树突棘清楚聚焦后,设定保护高度,在保护高度 3 μm 下面,开始树突棘的准确计数。树突棘的计数遵循光学体视框的计数法则:当树突棘都在体视框内并与计数框的左侧线,下方线,左侧线向上延长线及右侧线向下延长线有交叉时,该树突棘不能被计数,而当树突棘全部出现在体视框内,或都在体视框内并与计数框右侧线及上方线有交叉时,可被计数(图 2)。利用光学分合法^[22]计算 CA3 和 DG 区的树突棘数量,计算公式如下:

$$N(\text{total}) = \Sigma Q^- \times 1/\text{ssf} \times 1/\text{asf} \times 1/\text{tsf}$$

式中, ΣQ^- 为海马结构 CA3 区及 DG 区内计数的突触总数目;1/ssf 为大鼠海马切片抽样分数的倒数;1/asf 为大鼠海马切片面积抽样分数的倒数;1/tsf 为切片高度抽样分数的倒数。



红色区域为 CA3 区,绿色区域为 DG 区

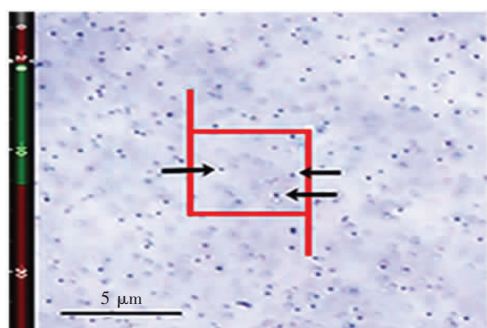
图 1 光学显微镜下定义海马结构 CA3 区和 DG 区

Fig.1 The boundaries of the CA3 and DG of the hippocampal formation are defined under light microscope

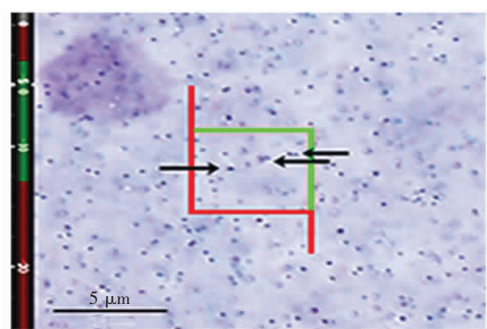
表 1 抑郁症 CUS 模型建立时间安排表

Tab.1 Time schedule for the establishment of CUS depression model

	一	二	三	四	五	六	七
第 1 周	潮湿垫料,倾斜 禁饮	新垫料,称体质量 禁食,关灯	电击(1 min) 频闪(晚上)	冷、热水浴 开灯	夹尾(1 min) 噪声(5 h)	开灯 关灯	糖水测试
第 2 周	湿垫料 倾斜	新垫料,称体质量 禁食,频闪	冷、热水浴 噪声	行为限制 禁饮	昼夜颠倒 电击/夹尾	昼夜颠倒	糖水测试
第 3 周	电击、夹尾 禁饮	称体质量 无垫料,倾斜	新垫料 噪音,禁食	冷/热水浴 频闪	行为限制 长夜	昼夜颠倒	糖水测试
第 4 周	无垫料、倾斜 频闪	新垫料,称体质量 禁食,长昼	冷/热水浴 昼夜颠倒	电击 噪声	夹尾 禁饮	开灯 关灯	糖水测试



A. 2.8 μm 位置,在设置的保护高度 3 μm 以内,计数框为红色,此时树突棘不能被计数



B. 5.0 μm 位置,计数框内清楚聚焦的树突棘且没有接触禁止线(红色)的可被计数(Spinophilin 免疫组化染色)

图2 运用光学体视框方法计数海马齿状回内树突棘示意图 (图中箭头所指为树突棘)

Fig.2 The way to count the dendritic spines in the DG of the hippocampal formation with the optical disector technique (The arrows in the figure indicate the dendritic spine)

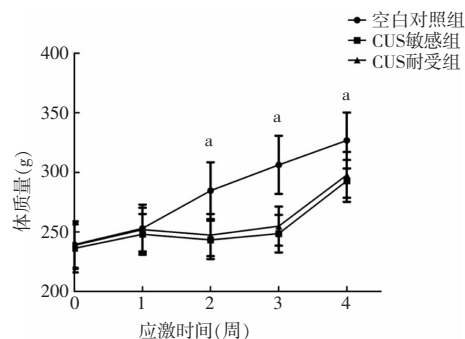
1.3 统计方法

实验数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,使用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行统计学分析。对重复测量的体质量和糖水偏好实验数据进行重复数据的方差分析进行检验。体视学实验数据均符合正态分布,满足方差齐性检验,故使用单因素方差分析对 3 组间数据进行比较。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 体质量

建模前空白对照组体质量为 (239.39 ± 19.58) g, CUS 敏感组体质量为 (236.23 ± 20.18) g, CUS 耐受组体质量为 (238.80 ± 19.76) g, 3 组之间无统计学差异。经历 4 周 CUS 应激后,与空白对照组体质量 $[(326.78 \pm 23.51)$ g] 相比较, CUS 敏感组体质量 $[(292.84 \pm 17.52)$ g] 及 CUS 耐受组体质量 $[(297.85 \pm 19.25)$ g] 均明显降低,而 CUS 敏感组体质量 $[(292.84 \pm 17.52)$ g] 与 CUS 耐受组体质量 $[(297.85 \pm 19.25)$ g] 相比较,两组间无显著性差异。分组主效应 $F=17.177, P=0.000$; 时间主效应 $F=914.401, P=0.000$; 分组 $\times$ 时间主效应 $F=82.052, P=0.000$ (图3)。



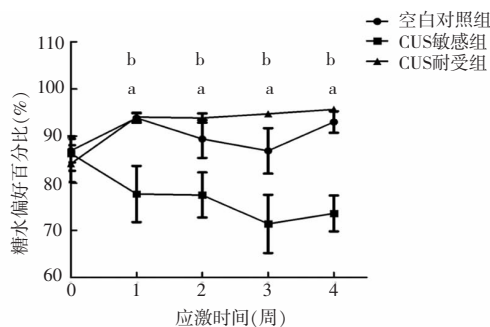
a: 空白对照组与 CUS 敏感组相比, $P<0.05$; b: CUS 耐受组与 CUS 敏感组相比, $P<0.05$

图3 空白对照组、CUS 敏感组、CUS 耐受组 3 组体质量曲线图

Fig.3 The curve chart of body weight of the normal control group, the CUS susceptibility group and the CUS resistance group

2.2 糖水偏好实验

选定好各组大鼠后进行糖水适应,为期 1 周,1 周末对各组大鼠进行糖水偏好百分比测定,空白对照组糖水偏好百分比 $[(86.91 \pm 12.56)\%]$ 、CUS 敏感组糖水偏好百分比 $[(86.32 \pm 18.28)\%]$ 、CUS 耐受组糖水偏好百分比 $[(84.14 \pm 19.60)\%]$ 3 组之间比较无统计学差异。进行 4 周 CUS 应激后,应激第 4 周末 CUS 敏感组糖水偏好百分比 $[(73.60 \pm 19.07)\%]$ 与空白对照组糖水偏好百分比 $[(93.00 \pm 11.41)\%]$ 比较明显降低, CUS 敏感组糖水偏好百分比 $[(73.60 \pm 19.07)\%]$ 与 CUS 耐受组糖水偏好百分比 $[(95.68 \pm 2.6)\%]$ 比较也明显降低。而空白对照组糖水偏好百分比 $[(93.0 \pm 11.4)\%]$ 与 CUS 耐受组糖水偏好百分比 $[(95.7 \pm 2.61)\%]$ 比较 2 组之间无显著性差异。分组主效应 $F=27.671, P=0.000$; 时间主效应 $F=0.586, P=0.673$; 分组 $\times$ 时间主效应 $F=2.190, P=0.028$ (图4)。



a: 空白对照组与 CUS 敏感组相比, $P<0.05$; b: CUS 耐受组与 CUS 敏感组相比, $P<0.05$

图4 空白对照组、CUS 敏感组、CUS 耐受组 3 组糖水偏好曲线

Fig.4 The curve chart of sucrose preference of normal control group, CUS susceptibility group and CUS resistance group

2.3 树突棘的免疫组化染色

对空白对照组空白对照组、CUS 敏感组及 CUS 耐受组中海马 CA3 及 DG 内的树突棘进行 Spinophilin 免疫组化染色,对其染色结果定性观察发现,在海马 CA3 及 DG 内 CUS 敏感组中树突棘的数量明显少于空白对照组及 CUS 耐受

组,而空白对照组及 CUS 耐受组中树突棘的数量未见明显差异(图 5)。

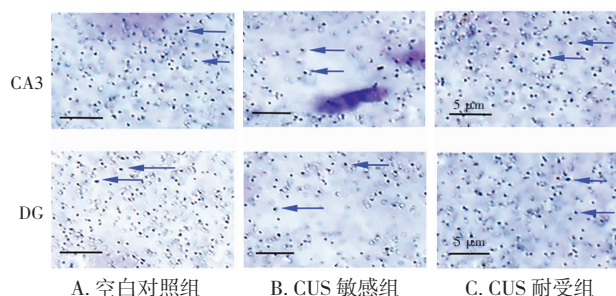
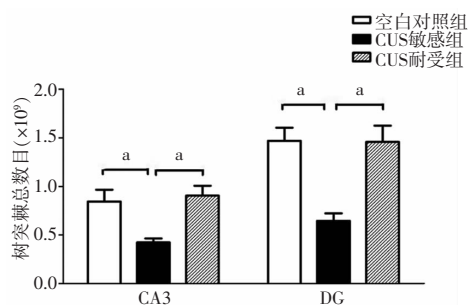


图 5 空白对照组、CUS 敏感组及 CUS 耐受组海马 CA3 及 DG 内树突棘的比较 (Spinophilin 免疫组化染色)

Fig.5 Comparisons of the dendritic spines of the CA3 and DG in normal control group, CUS susceptibility group and CUS resistance group

2.4 树突棘的体视学结果

在海马结构 CA3 区中,3 组中树突棘数量不同,差异有统计学意义($F=7.700, P=0.007$)。CUS 敏感组中树突棘的总数量为 $(0.423 \pm 0.093) \times 10^9$ 个,明显低于空白对照组 $[(0.844 \pm 0.273) \times 10^9$ 个]以及压力耐受组 $[(0.905 \pm 0.226) \times 10^9$ 个],差异具有统计学意义($P=0.008, P=0.004$);而空白对照组与 CUS 耐受组 2 组树突棘的总数量无统计学差异($P=0.656$)。在海马结构 DG 区中,3 组中树突棘数量不同,差异有统计学意义($F=12.908, P=0.001$)。CUS 敏感组中树突棘的总数量为 $(0.646 \pm 0.170) \times 10^9$ 个,明显低于空白对照组 $[(1.470 \pm 0.299) \times 10^9$ 个]以及 CUS 耐受组 $[(1.458 \pm 0.375) \times 10^9$ 个],差异具有统计学意义($P=0.001, P=0.001$);而空白对照组与 CUS 耐受组 2 组之间树突棘的总数量无统计学差异($P=0.950$)(图 6)。



a: CUS 敏感组分别与空白对照组及 CUS 耐受组相比较, $P < 0.05$

图 6 空白对照组、CUS 敏感组和 CUS 耐受组大鼠脑海马结构 CA3 区及 DG 区内树突棘的数量

Fig.6 Total numbers of the dendritic spines of the DG and CA3 of the hippocampal formation in normal control group, CUS susceptibility group and CUS resistance group

3 讨论

目前为止,学术界对抑郁症的病因尚未研究清

楚。但是,当面对无处不在的生活压力和刺激时,有些人可以抵抗,而有些人则不能抵抗从而患抑郁症,这一现象普遍存在。可以肯定的是,抑郁症易感性差异的不同是其是否发病的关键因素之一^[23]。在大量的抑郁模型中,本实验选择与人类抑郁症中慢性生活事件的应激更接近的动物模型——慢性不可预见性应激模型(CUS)^[17-18],该模型可模拟抑郁症核心症状快感缺失,即大鼠对糖水失去兴趣,白水摄入量增加,导致糖水偏好下降^[21]。同时抑郁模型动物行为学上会出现食量下降、毛发脏乱及粗糙、体质下降等建模成功指标^[24-25]。参考国外同类研究^[26-28],本研究选用 4~5 周龄雄性 SD 大鼠作为研究对象。在本研究中,同样经历了 4 周应激干预的 CUS 敏感组和 CUS 耐受组体重质量明显降低,而 CUS 敏感组和 CUS 耐受组 2 组间无明显差异。整个 CUS 干预期间,与空白对照组和 CUS 耐受组分别比较,CUS 敏感组大鼠的糖水偏好百分比明显下降,而正常对照组与 CUS 耐受组并无明显差异。行为学结果显示 CUS 敏感组大鼠表现出明显的抑郁样行为,提示 CUS 敏感组建模成功,而 CUS 耐受组的糖水偏好无明显改变说明在经历了同样的 CUS 干预后,CUS 耐受组大鼠未出现抑郁样行为^[29],提示抑郁耐受模型建立成功。

目前在抑郁症研究方向中,突触和树突棘的研究受到越来越多的关注。2014 年,Willard 等^[30]对抑郁症猴与正常对照猴进行突触相关蛋白测定发现 spinophilin 这种突触相关蛋白的表达在抑郁症猴中显著性下降。在本团队前期研究中,张等对 CUS 组海马结构 DG 区内树突棘数量进行了研究,发现 CUS 抑郁模型组中海马树突棘的数量明显减少^[31],梁等对 CUS 组海马 CA3 区内树突棘数量进行了研究,同样发现 CUS 抑郁模型组中海马 CA3 区树突棘的数量明显减少^[32]。本实验对正常对照组与 CUS 敏感组大鼠海马结构树突棘进行了定量研究,结果发现在海马结构 CA3 及 DG 区中,CUS 敏感组的树突棘数量较正常对照组明显减少。该结果与张杨^[31]和梁芯^[32]等的研究结果一致,表明在抑郁症中海马结构 CA3 区及 DG 树突棘数量的变化可能与抑郁症关系十分密切。

大量研究显示相同或相似的外界应激对人或动物的影响存在个体差异,表现为对压力或抑郁的耐受^[33-35]。最新的研究表明,这种耐受性或称为抑郁症的易感性差异与突触结构的改变关系密切^[36-38]。

Nasca 等^[39]对易感组和耐受组海马内突触相关的 mGlu2 受体表达进行了研究,结果发现易感组与耐受组相比谷氨酸的释放明显减少。Bluett 等^[40]对小鼠抑郁症易感组和耐受组内 2-AG 介导的谷氨酸能突触研究发现,海马及杏仁核内该突触兴奋性数量降低或功能活性受到抑制,抑郁症的易感性增加。同样 Thompson 团队^[41]及 Bagot 团队^[42]研究抑郁症大脑内兴奋性突触假说及腹侧海马传入伏隔核的谷氨酸能突触电路,其共同点即通过谷氨酸能突触作为中介来发挥抑郁症的抵抗作用,当谷氨酸能突触活性下降,数量减少或功能障碍时抑郁症的易感性增加。该结论与 Bluett 等^[40]研究的结论相一致。本实验以正常对照组、CUS 敏感组及 CUS 耐受组 3 组大鼠为研究对象,对 3 组大鼠海马结构内的树突棘进行了免疫组化结合精确定量无偏体视学研究,结果发现在海马结构 CA3 及 DG 区中,CUS 耐受组的树突棘数量明显多于 CUS 敏感组,而正常对照组和 CUS 耐受组无明显差异。CUS 耐受组在 4 周 CUS 干预后并未出现树突棘的改变,这可能是抑郁耐受组大鼠未出现糖水偏好下降,对 CUS 产生耐受的原因之一。在本研究中运用 spinophilin 作为树突棘的标记物^[43-44]。但是分子生物学研究表明,spinophilin 本身也参与树突棘的调节^[45]。Feng 等^[45]对 spinophilin 敲除小鼠的研究发现,与正常小鼠相比,spinophilin 敲除小鼠的海马树突棘密度明显增加,同时表现出对抑郁症的抵抗性,而未进行 spinophilin 敲除的正常小鼠则相对抑郁症的易感性较强。尽管 Feng 等^[45]侧重于研究 spinophilin 对树突棘的调节,并运用的树突棘密度参数,但他们的研究结果也从另一个侧面支持本研究的结论,即突触可塑性在抑郁症易感性中发挥着重要的作用。同样对树突棘密度进行研究,Qu 等^[10]运用抑郁症社交挫败模型小鼠进行海马高尔基体染色定性观察树突棘密度,发现海马结构 CA3 区和 DG 区内抑郁症易感组的树突棘密度明显减少,而耐受组树突棘密度明显高于易感组。本研究结合免疫组织化学和提示学方法获得了 3 组大鼠海马 CA3 和 DG 区内树突棘的总数目,从方法学上克服了因 3 组大鼠 CA3 区和 DG 区体积不同可能给 CA3 和 DG 区内树突棘密度带来的影响,即所谓的“参考空间陷阱”。本研究结果也为进一步探讨海马内树突棘变化与抑郁症个体易感性差异之间的关系提供了重要的参考数据。

综上所述,本研究应用体视学方法结合免疫组

织化学方法,发现 4 周 CUS 干预后,抑郁耐受组大鼠海马结构 CA3 和 DG 区内未出现树突棘改变,这可能是抑郁耐受组大鼠能够对 CUS 干预产生耐受的原因之一,说明树突棘的改变可能在抑郁症易感性差异中发挥了关键作用。本研究结果为进一步认识抑郁症海马结构的改变提供了重要的形态学依据。同时本研究结果表明,海马内的树突棘可能是抑郁症治疗的重要结构靶点之一,这为以后寻找新的抑郁症治疗手段提供了新的思路。

参 考 文 献

- [1] Kessler RC. The effects of stressful life events on depression[J]. *Annu Rev Psychol*, 1997, 48: 191-214.
- [2] Hjemdal O, Vogel PA, Solem S, et al. The relationship between resilience and levels of anxiety, depression, and obsessive-compulsive symptoms in adolescents[J]. *Clin Psychol Psychother*, 2011, 18(4): 314-321.
- [3] Belsky J, Pluess M. Beyond diathesis stress: differential susceptibility to environmental influences[J]. *Psychol Bull*, 2009, 135(6): 885-908.
- [4] Eisch AJ, Petrik D. Depression and hippocampal neurogenesis: a road to remission?[J]. *Science*, 2012, 338(6103): 72-75.
- [5] Snyder JS, Soumier A, Brewer M, et al. Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour?[J]. *Nature*, 2011, 476(7361): 458-465.
- [6] Sheline YI. 3D MRI studies of neuroanatomic changes in unipolar major depression: the role of stress and medical comorbidity[J]. *Biol Psychiatry*, 2000, 48(8): 791-800.
- [7] MacQueen G, Frodl T. The hippocampus in major depression: evidence for the convergence of the bench and bedside in psychiatric research?[J]. *Mol Psychiatry*, 2011, 16(3): 252-264.
- [8] Gould E, Cameron HA, Daniels DC, et al. Adrenal hormones suppress cell division in the adult rat dentate gyrus[J]. *J Neurosci*, 1992, 12(9): 3642-3650.
- [9] Mirescu C, Gould E. Stress and adult neurogenesis[J]. *Hippocampus*, 2006, 16(3): 233-238.
- [10] Kobayashi K, Manabe T, Takahashi T. Presynaptic long-term depression at the hippocampal mossy fiber-CA3 synapse[J]. *Science*, 1996, 273(5275): 648-650.
- [11] McEwen BS. Stress and hippocampal plasticity[J]. *Annu Rev Neurosci*, 1999, 22: 105-122.
- [12] Tse YC, Montoya I, Wong AS, et al. A longitudinal study of stress-induced hippocampal volume changes in mice that are susceptible or resilient to chronic social defeat[J]. *Hippocampus*, 2014, 24(9): 1120-1128.
- [13] Nimchinsky EA, Sabatini BL, Svoboda K. Structure and function of dendritic spines[J]. *Annu Rev Physiol*, 2002, 64: 313-353.
- [14] Harnett MT, Makara JK, Spruston N, et al. Synaptic amplification

- by dendritic spines enhances input cooperativity[J]. *Nature*, 2012, 491(7425): 599–602.
- [15] Christoffel DJ, Golden SA, Walsh JJ, et al. Excitatory transmission at thalamo-striatal synapses mediates susceptibility to social stress[J]. *Nat Neurosci*, 2015, 18(7): 962–964.
- [16] Qu Y, Yang C, Ren Q, et al. Regional differences in dendritic spine density confer resilience to chronic social defeat stress[J]. *Acta Neuropsychiatr*, 2017, 1: 1–6.
- [17] Willner P. Chronic mild stress(CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS[J]. *Neuropsychobiology*, 2005, 52(2): 90–110.
- [18] Berton O, Hahn CG, Thase ME. Are we getting closer to valid translational models for major depression[J]. *Science*, 2012, 338(6103): 75–79.
- [19] Bergström A, Jayatissa MN, Thykjaer T, et al. Molecular pathways associated with stress resilience and drug resistance in the chronic mild stress rat model of depression: a gene expression study[J]. *Mol Neurosci*, 2007, 33(2): 201–215.
- [20] Strekalova T, Spanagel R, Bartsch D, et al. Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2004, 29(11): 2007–2017.
- [21] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant[J]. *Psychopharmacology*, 1987, 93(3): 358–364.
- [22] West MJ, Slomianka L, Gundersen HJ. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator[J]. *Anat Rec*, 1991, 231(4): 482–497.
- [23] Krishnan V, Han MH, Graham DL, et al. Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions[J]. *Cell*, 2007, 131(2): 391–404.
- [24] Bambico FR, Nguyen NT, Gobbi G. Decline in serotonergic firing activity and desensitization of 5-HT_{1A} autoreceptors after chronic unpredictable stress[J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2009, 19(3): 215–228.
- [25] Avant R. Diagnosis and treatment of depression[J]. *Psychopathology*, 1987, 20(S1): 13–19.
- [26] Li N, Liu RJ, Dwyer JM, et al. Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor antagonists rapidly reverse behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure[J]. *Biol Psychiatry*, 2011, 69(8): 754–761.
- [27] Son H, Banasr M, Choi M, et al. Neuritin produces antidepressant actions and blocks the neuronal and behavioral deficits caused by chronic stress[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(28): 11378–11383.
- [28] Ota KT, Andres W, Lewis DA, et al. BICC1 expression is elevated in depressed subjects and contributes to depressive behavior in rodents[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2015, 40(3): 711–718.
- [29] Friedman AK, Walsh JJ, Juarez B, et al. Enhancing depression mechanisms in midbrain dopamine neurons achieves homeostatic resilience[J]. *Science*, 2014, 344(6181): 313–319.
- [30] Willard SL, Hemby SE, Register TC. Altered expression of glial and synaptic markers in the anterior hippocampus of behaviorally depressed female monkeys[J]. *Neurosci Lett*, 2014, 563: 1–5.
- [31] 张杨, 梁芯, 唐静, 等. 对 CUS 抑郁症大鼠模型海马齿状回突触改变的体视学研究[J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(13): 1506–1511.
- [32] 梁芯, 唐静, 张杨, 等. 抑郁症 CUS 模型大鼠海马 CA1 区 CA3 区内树突棘数目减少[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2016, 25(1): 60–68.
- [33] Dong C, Wong ML, Licinio J. Sequence variations of ABCB1, SLC6A2, SLC6A3, SLC6A4, CREB1, CRHR1 and NTRK2: association with major depression and antidepressant response in Mexican-Americans[J]. *Mol Psychiatry*, 2009, 14(12): 1105–1118.
- [34] Sananbenesi F, Fischer A. Remodeling the susceptibility to stress-induced depression[J]. *Nat Med*, 2015, 21(10): 1125–1126.
- [35] Hines PJ. Early life stress in depression susceptibility[J]. *Science*, 2017, 356(6343): 1134–1135.
- [36] Nieto-Gonzalez JL, Holm MM, Vardya I, et al. Presynaptic plasticity as a hallmark of rat stress susceptibility and antidepressant response[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0119993.
- [37] Maguire J. Stress-induced plasticity of GABAergic inhibition[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 157.
- [38] Wang M, Perova Z, Arenkiel BR, et al. Synaptic modifications in the medial prefrontal cortex in susceptibility and resilience to stress[J]. *J Neurosci*, 2014, 34(22): 7485–7492.
- [39] Nasca C, Bigio B, Zelli D, et al. Mind the gap: glucocorticoids modulate hippocampal glutamate tone underlying individual differences in stress susceptibility[J]. *Mol Psychiatry*, 2015, 20(6): 755–763.
- [40] Bluett RJ, Báldi R, Haymer A, et al. Endocannabinoid signalling modulates susceptibility to traumatic stress exposure[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14782.
- [41] Thompson SM, Kallarakal AJ, Kvarita MD, et al. An excitatory synapse hypothesis of depression[J]. *Trends Neurosci*, 2015, 38(5): 279–294.
- [42] Bagot RC, Parise EM, Peña CJ, et al. Ventral hippocampal afferents to the nucleus accumbens regulate susceptibility to depression[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7062.
- [43] Tang Y, Nyengaard JR, Pakkenberg B, et al. Stereology of neuronal connections (myelinated fibers of white matter and synapses of neocortex) in human brain[J]. *Image Anal Stereol*, 2003, 22: 171–182.
- [44] Tang Y, Nyengaard JR, De Groot DM, et al. Total regional and global number of synapses in the human brain neocortex[J]. *Synapse*, 2001, 41(3): 258–273.
- [45] Feng J, Yan Z, Ferreira A, et al. Spinophilin regulates the formation and function of dendritic spines[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(16): 9287–9292.

(责任编辑:张辉洁)