

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001672

氟西汀对抑郁模型大鼠海马 CA₁ 区少突胶质细胞作用的研究王 瑾¹, 胡梦兰¹, 蒋艳红¹, 高 原², 唐 静¹, 罗艳敏¹, 晁凤蕾¹,
梁 芯¹, 黄春霞³, 张 扬¹, 张 毅¹, 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. 重庆医科大学基础医学院生理学教研室, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨抗抑郁药物氟西汀对抑郁症慢性不可预知性应激(chronic unpredictable stress, CUS)模型大鼠海马 CA₁ 区内 CNPase⁺少突胶质细胞的作用。**方法:**选用青年雄性 Sprague Dawley (SD) 大鼠(4~6 周龄), 随机分为对照组(12 只)和模型组(38 只), 给予模型组大鼠连续 4 周的 CUS 干预。随后依据大鼠的糖水偏好百分比筛选出模大鼠, 随机分为 CUS 组(12 只)和 CUS+fluoxetine 组 (FLX 组)(12 只), 第 5~7 周 CUS 组和 FLX 组继续给予慢性应激, 同时 FLX 组大鼠给予 5 mg/(kg·d) 氟西汀腹腔注射, 对照组和 CUS 组给予等量生理盐水腹腔注射。干预结束后利用免疫组织化学方法结合现代体视学对大鼠海马 CA₁ 区 CNPase⁺少突胶质细胞的数量进行精确的三维定量研究。**结果:**实验发现, CUS 模型组大鼠的体质量(251.4 ± 15.9) g 较对照组(323.3 ± 25.9) g 明显下降($P=0.00$), 但与 FLX 组大鼠的体质量(257.9 ± 22.7) g 相比无差异($P=0.473$)。CUS 组大鼠的糖水偏好百分比(62.0 ± 14.2)% 明显低于对照组(89.2 ± 4.8)% ($P=0.000$) 及 FLX 组(78.2 ± 12.8)% ($P=0.020$)。CUS 组大鼠海马 CA₁ 区 CNPase⁺细胞数量(18 650.7 ± 1 812.0) 明显低于对照组(33 606.9 ± 4 471.4) ($P=0.007$) 及 FLX 组(29 080.7 ± 2 877.5) ($P=0.042$)。**结论:**大鼠海马 CA₁ 区内少突胶质细胞在抑郁症发病过程中可能起着重要作用, 氟西汀治疗可防止抑郁症模型大鼠海马 CA₁ 区的 CNPase⁺少突胶质细胞的丢失。本研究结果为探索新的抗抑郁策略提供了形态学基础。

【关键词】氟西汀; 慢性不可预知性应激; 大鼠海马; 少突胶质细胞; 体视学**【中图分类号】**R749.4; Q954.52; Q421; R329.4; G304**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2017-10-20Effects of fluoxetine on oligodendrocytes in CA₁ of hippocampus
in the CUS depression model of ratsWang Jin¹, Hu Menglan¹, Jiang Yanhong¹, Gao Yuan², Tang Jing¹, Luo Yanmin¹, Chao Fenglei¹,
Liang Xin¹, Huang Chunxia³, Zhang Yang¹, Zhang Yi¹, 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 study the effects of anti-depressant-fluoxetine exposure on the CNPase⁺ oligodendrocytes in CA₁ of hippocampus in the depressed rats which were induced by chronic unpredictable stress(CUS). **Methods:** Male Sprague-Dawley(SD) rats were used, and were randomly divided into control group($n=12$) and CUS group($n=38$) after the sucrose preference of the rats was normal and regular. Four weeks CUS and separation was used to build CUS depression model of rats. The sucrose preference was used to screen the depressed rats at the end of 4th week and 12 CUS-induced depressed rats were enrolled as CUS group and 12 as FLX group. The FLX group was treated with fluoxetine at dose of 5 mg/(kg·d) from the fifth week to seventh week. Meanwhile, the control group and the CUS group were treated with saline at the same dose. The CUS group and FLX group were continued exposure to CUS. The total number of CNPase⁺ oligodendrocytes in the CA₁ of hippocampus was investigated with the immunohistochemical method and the stereological method. **Results:** After 7 weeks CUS intervention, the body weight of CUS group(251.4 ± 15.9) g was significantly decreased when compared with that of

作者介绍: 王 瑾, Email: 904188578@qq.com,
研究方向: 神经生物学。

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.20180503.1344.018.html>
(2018-05-03)

control group (323.3 ± 25.9) g ($P=0.000$), but the body weight of CUS group was not significantly different from the body weight of FLX group (257.9 ± 22.7) g ($P=0.473$). The sucrose preference of the CUS group (62.0 ± 14.2)% was significantly lower than that of the control group (89.2 ± 4.8)% ($P=0.000$) and FLX group (78.2 ± 12.8)% ($P=0.020$). The stereological results showed that CNPase⁺ cells in the CA₁ field of the hippocampus in CUS group ($18\ 650.7 \pm 1\ 812.0$) was significantly decreased compared with that in control group ($33\ 606.9 \pm 4\ 471.4$) ($P=0.007$) and that in FLX group ($29\ 080.7 \pm 2\ 877.5$) ($P=0.042$). **Conclusion:** The number of CNPase⁺ oligodendrocytes in the CA₁ of hippocampus of the CUS rats is significantly decreased. Fluoxetine might prevent the loss of CNPase⁺ oligodendrocytes in the CA₁ of hippocampus of the depression rats induced by CUS. The oligodendrocytes in the CA₁ of hippocampus play an important role in the pathogenesis of depression. The current result might provide structural basis for the future studies that search for the new antidepressant strategies.

【Key words】fluoxetine; chronic unpredictable stress; rat hippocampus; oligodendrocytes; stereology

抑郁症又称抑郁障碍,是心境障碍的主要类型。它以高发病率、高复发率、高致死/致残率的特点已成为给人类造成极大负担的疾病,WHO 预计抑郁症将在 2030 年成为第一大疾病^[1]。

5-羟色胺再摄取抑制剂(selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI)是目前临床抗抑郁治疗一线药物。氟西汀是第一个获准在美国临床应用的 SSRI,是目前临床和基础研究中应用最多的抗抑郁药物^[2]。但是它依然存在延迟起效的特点及复发率高、对部分患者作用甚微等缺陷^[3],且其具体机制尚不清楚。大脑海马与学习、记忆、情绪调节密切相关^[4-6],也是抑郁症发病的重要应激易感区^[7-8],其中 CA₁ 区是对压力刺激非常敏感的区域^[9-10]。有研究者运用体视学方法结合透射电镜技术研究发现慢性不可预知性应激(chronic unpredictable stress, CUS)模型大鼠海马 CA₁ 区存在明显脱髓鞘、髓鞘分层等退行性改变^[11]。Kroeze 等^[12]对成年大鼠长期慢性氟西汀干预后检测全基因组基因表达,发现长期慢性氟西汀治疗可诱导上调海马内髓鞘生成相关基因。另有研究发现抗抑郁药可以通过促进髓鞘形成来治疗抑郁症状^[13]。髓鞘在抑郁症的发生发展过程中存在重要改变,而成熟少突胶质细胞是髓鞘形成细胞,那么氟西汀是否是通过影响少突胶质细胞的增殖分化成熟从而逆转抑郁患者的髓鞘改变进而治疗抑郁样症状呢? 相关文献国内外尚未见报道。因此本研究运用现代体视学方法^[14]首次从细胞学层面对氟西汀治疗后抑郁模型大鼠海马 CA₁ 区内少突胶质细胞进行精确、客观的三维定量研究,以探讨氟西汀对抑郁症大鼠海马 CA₁ 区内成熟少突胶质细胞的作用情况,为抑郁症的研究提供更为精准的实验数据,为寻找抗抑郁药物新的靶结构和靶分子提供

理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组

4~5 周龄雄性 SD 大鼠(100~150 g)由重庆医科大学实验动物中心提供,5 只/笼,提供充足的水和食物,于室温(22 ± 2) °C、12 h/12 h 昼夜交替的环境下适应性喂养 2 周,调整大鼠的糖水偏好基线,筛选基线平稳的大鼠随机分为对照组和模型组。给予模型组 4 周 CUS 干预后,利用糖水偏好试验筛选出成模大鼠,将成模大鼠随机分为 CUS 组和 CUS+fluoxetine 组(FLX 组)。最终空白对照组 12 只、CUS 组 12 只、FLX 组 12 只。第 5~7 周 CUS 组和 FLX 组继续给予 CUS 干预,同时 FLX 组给予 5 mg/(kg·d)氟西汀腹腔注射,对照组及 CUS 组给予等量生理盐水腹腔注射。实验动物的饲养和治疗均符合实验室动物保护和使用指南。

1.2 CUS 模型建立

CUS 模型是指将动物置于一系列慢性不可预知的应激中,使其出现快感缺失的抑郁样症状。参考相关文献^[15]后,在建模过程中随机安排应激的种类以避免动物对这些应激有所适应。对模型大鼠实行单笼饲养,每天进行 1、2 种应激,每周应激 7 d,共 4 周。同种应激避免在 1 周内重复出现且至少间隔 5 d。采取应激种类共 14 种:禁食或禁饮 24 h、90 dB 噪声 5 h、45°倾斜鼠笼 24 h、昼夜颠倒 24 h 等。干预期间每周行体质量的称重和糖水偏好测试。

1.3 体质量测定

从 CUS 干预第 1 周开始后,于每周固定时间测量每只大鼠的体质量。

1.4 行为学实验

1.4.1 糖水偏好实验 糖水偏好百分比是评判大鼠是否存在快感缺失症状的重要指标^[15]。分别于 CUS 干预前、CUS 干预第 4 周末及 CUS 干预第 7 周末进行测试。每只大鼠单笼饲养并保证食物充足,同时给予每只大鼠 1 瓶 1%的蔗糖水和 1 瓶白水,12 h 交换 2 个水瓶位置,24 h 后记录各组大鼠

糖水、白水的消耗情况。糖水偏好百分比的计算公式如下:

$$\text{糖水偏好百分比} = \frac{\text{糖水消耗}}{\text{总液体消耗}} \times 100\%$$

1.4.2 旷场实验 旷场实验可以评估实验动物在陌生环境中的活动能力和焦虑程度^[6]。实验过程中通过电脑软件监控记录 5 min 内大鼠在方形旷场测试箱 (100 cm × 100 cm × 40 cm) 内中央区域活动时间和活动路程、活动的总路程及平均速度等指标。每只动物测试结束后,用 70% 的乙醇擦拭敞箱,清除排泄物及异味,保持敞箱干净。

1.5 标本固定和取材

第 7 周干预结束后,每组大鼠随机选择 5 只动物,于 1% 的戊巴比妥钠 (0.4 mL/100 g 体质量) 腹腔注射麻醉后,迅速暴露心脏。将连有恒流灌注泵的针头于心尖处刺入左心室,剪开右心耳后开始灌注含有肝素钠的生理盐水,待流出液变成淡粉色后换用 4% 的多聚甲醛灌注固定,直至见大鼠四肢抽搐,全身僵硬停止灌注。剖开颅骨,小心剥离脑组织,离断小脑及脑干,沿大脑裂将大脑分为左右两个半球,浸泡于 4% 多聚甲醛继续固定。

1.6 切片的制备与免疫组化染色

每只大鼠随机选取一侧大脑半球,吸干表面水分后浸泡于由 PBS 配置的梯度浓度的蔗糖溶液中进行脱水处理,依次为 10% (24 h)、20% (24 h)、30% (24 h)、30% (24 h)。然后用冰冻切片包埋剂包埋脑组织,速冻后使用冰冻切片机沿冠状面做 60 μm 的连续切片,切下的脑片按顺序依次放入 6 个试管。每只动物随机选取 6 管中的 1 管,将选取的大脑切片在室温 (21 °C~23 °C) 下用 0.01 mol/L PBS 漂洗 5 min × 3 次。用 0.3% Triton (0.3 mL Triton × 100 + 0.1 mL tween20 + 100 mL 0.01 mol/L PBS) 溶液漂洗 20 min × 4 次进行打孔处理。3% 过氧化氢溶液孵育 20 min, 0.3% Triton 溶液漂洗 15 min × 2 次,再将切片放入枸橼酸盐溶液中进行沸水浴修复 30 min, 0.3% Triton 溶液漂洗 15 min × 2 次。最后将切片置于 0.3% Triton 溶液配置的封闭液中 (20% 山羊血清 SP-9002、1% 胎牛血清、2 μL 鱼明胶) 37 °C 水浴孵育 2 h。随后于 4 °C 冰箱内孵育一抗 anti-CNPase antibody (1:1 000; Abcam, USA), 并定时温和摇动。60 h 后,用 0.3% Triton 漂洗 20 min × 4 后孵育二抗 (1:10; SP-9002 生物素标记羊抗小鼠 IgG), 37 °C 水浴 3 h, 然后用 0.3% Triton 漂洗 20 min × 4。于 37 °C 水浴中孵育辣根酶标记链霉卵白素 (SP-9002) 2 h, 用 0.01 mol/L PBS 漂洗 15 min × 4 次。DAB 避光显色 3 min, 随后用大量去离子水漂洗切片。苏木素复染,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,最后使用中性树胶封片。

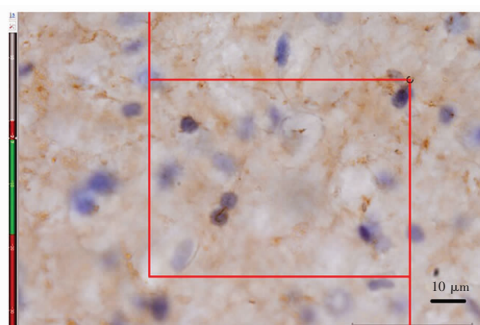
1.7 体视学分析

经上述免疫组织化学染色步骤后,切片的最终厚度为 20~35 μm。运用体视学软件进行 CNPase⁺ 少突胶质细胞的计数:首先对照大鼠脑图谱,在 4 倍物镜下画出每张切片海马 CA₁ 区的边界 (图 1),随后在 100 倍油镜 (N.A.1.40) 下按如下参数于划定的 CA₁ 区的边界内进行如下抽样:体视框高度为 18 μm,保护区高度为 3 μm,计数体视框为 50%,抽样面

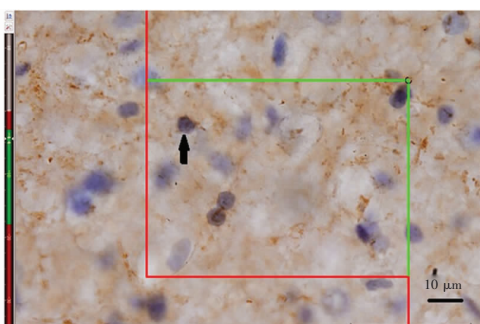
积为 6%。体视学软件系统随机选取抽样起始点开始计数 (图 2), 每张切片的 CA₁ 区有 10~50 个视野被选取, 每只动物大脑一侧海马 CA₁ 区大约有 500 个视野被选取。记录每个视野中 CNPase⁺ 细胞的个数, 最后利用光学分合法的公式^[17]: $N = \sum Q^- \times 1/ssf \times 1/asf \times 1/stsf (\sum Q^-)$; 每只大鼠计数的 CA₁ 区 CNPase⁺ 细胞总数量;ssf:切片抽样分数;asf:面积抽样分数;stsf:高度抽样分数) 计算出每只动物海马 CA₁ 区内 CNPase⁺ 细胞总数。



图 1 在 4 倍物镜下圈定大鼠海马 CA₁ 区的边界



A. 在保护高度内聚焦的 CNPase⁺ 细胞不被计数



箭头所指即为 CNPase⁺ 细胞

B. 在保护高度内不聚焦而在测试高度内聚焦的 CNPase⁺ 细胞则被计数

图 2 应用光学体视框计数 CNPase⁺ 细胞的示意图

1.8 统计学分析

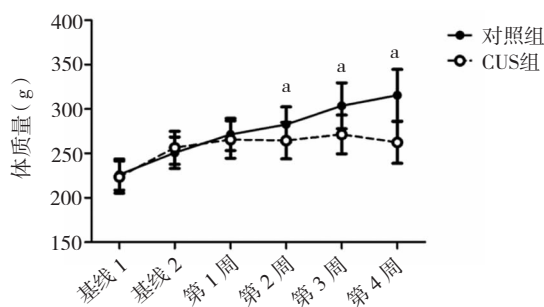
本文所有数据均使用 SPSS 19.0 统计软件进行统计分析。对所有数据进行正态性检验后,符合正态分布的数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。体质量数据采用重复测量的方差

分析;氟西汀干预前糖水数据采用独立样本 t 检验进行统计;氟西汀干预后数据采用单因素方差分析进行统计,随后组间两两相比运用 LSD- t 法;不符合正态分布的数据采用非参数检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

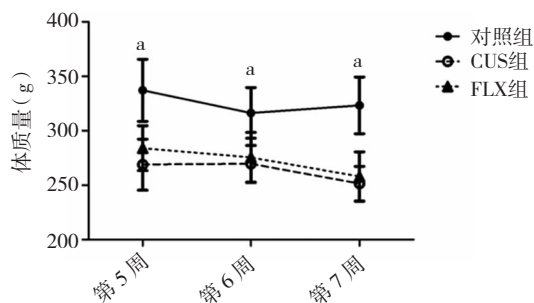
2.1 体质量的改变

CUS 干预前,对照组体质量(250.7 ± 17.7) g 和模型组体质量(256.3 ± 18.5) g 无统计学差异($F=0.754, P=0.391$), CUS 干预期间模型组大鼠体质量相较于对照组大鼠体质量增长缓慢($F=9.790, P=0.004$)。到第 4 周应激结束时, CUS 模型组大鼠体质量(262.3 ± 23.5) g 明显低于对照组(315.5 ± 29.1) g, 差异有统计学意义($F=34.750, P=0.000$) (图 3)。氟西汀干预期间 3 组大鼠体质量增长程度相比, 差异有统计学意义($F=29.047, P=0.000$)。氟西汀注射 3 周后, 对照组体质量为(323.3 ± 25.9) g, CUS 模型组大鼠体质量为(251.4 ± 15.9) g, FLX 组大鼠体质量(257.9 ± 22.6) g, 这 3 组间比较有统计学差异($F=39.483, P=0.000$)。CUS 模型组大鼠体质量明显低于对照组($P=0.000$), 但 CUS 模型组大鼠体质量与 FLX 组大鼠体质量相比无统计学差异($P=0.473$)。见图 4。



a: 与对照组相比, $P < 0.01$ ($n=12$)

图 3 对照组和 CUS 组大鼠体质量变化情况的比较



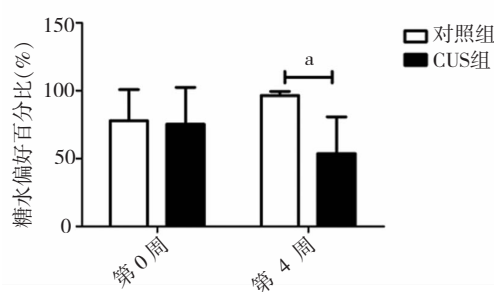
a: CUS 组和 FLX 组与对照组相比, $P < 0.05$ ($n=12$)

图 4 对照组、CUS 组及 FLX 组大鼠体质量变化情况的比较

2.2 糖水偏好实验

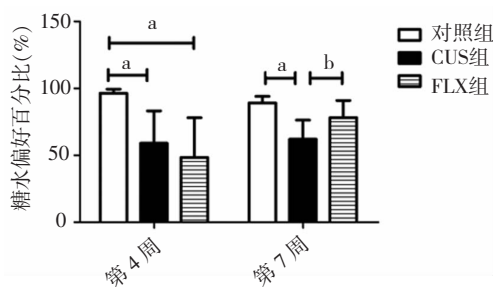
CUS 干预前对照组大鼠的糖水偏好百分比(77.8 ± 22.9)% 与 CUS 模型组大鼠的糖水偏好百分比(75.3 ± 27.0)% 无统计学差异($t=0.086, P=0.787$)。到第 4 周时, CUS 模型组($53.7 \pm$

26.9)% 大鼠糖水偏好百分比明显低于对照组(96.5 ± 2.9)% ($t=19.691, P=0.000$) (图 5)。氟西汀注射 3 周后, 对照组糖水偏好百分比为(89.1 ± 4.8)%, CUS 组大鼠的糖水偏好百分比为(62.0 ± 14.2)%, FLX 组大鼠的糖水偏好百分比为(78.1 ± 12.8)%, 这 3 组间比较有统计学差异($F=17.152, P=0.000$)。CUS 组大鼠的糖水偏好百分比明显低于对照组及 FLX 组大鼠的糖水偏好百分比($P=0.000, P=0.020$) (图 6)。



a: 与对照组相比, $P < 0.01$ ($n=12$)

图 5 CUS 干预前和 CUS 干预第 4 周对照组和 CUS 模型组大鼠糖水偏好百分比的比较



a: 模型组、FLX 组与对照组相比, $P < 0.01$; b: FLX 组与模型组相比, $P < 0.05$ ($n=12$)

图 6 CUS 干预第 4 周和第 7 周, 对照组、CUS 模型组、FLX 组大鼠糖水偏好百分比的比较

2.3 旷场实验

与对照组大鼠相比, CUS 组与 FLX 组大鼠在旷场实验中的 5 min 运动总路程、平均速度、中央活动路程、中央活动时间百分比和中央活动路程百分比均无统计学差异($P > 0.05$) (图 7)。

2.4 体视学结果

2.4.1 CNPase⁺少突胶质细胞免疫组化染色定性结果 图 8 示显微镜下 3 组大鼠海马 CA₁ 区内 CNPase⁺细胞的染色情况, 对照组的 CNPase⁺细胞数量较多, 染色明显, 纤维细丝密集且清晰; 模型组 CNPase⁺细胞数量少, 染色稍浅, 纤维细丝稀疏且模糊; 氟西汀治疗后, FLX 组大鼠 CA₁ 区 CNPase⁺细胞染色、纤维细丝密度等均较 CUS 组有一定恢复。

2.4.2 CNPase⁺少突胶质细胞的体视学计数结果 对照组大

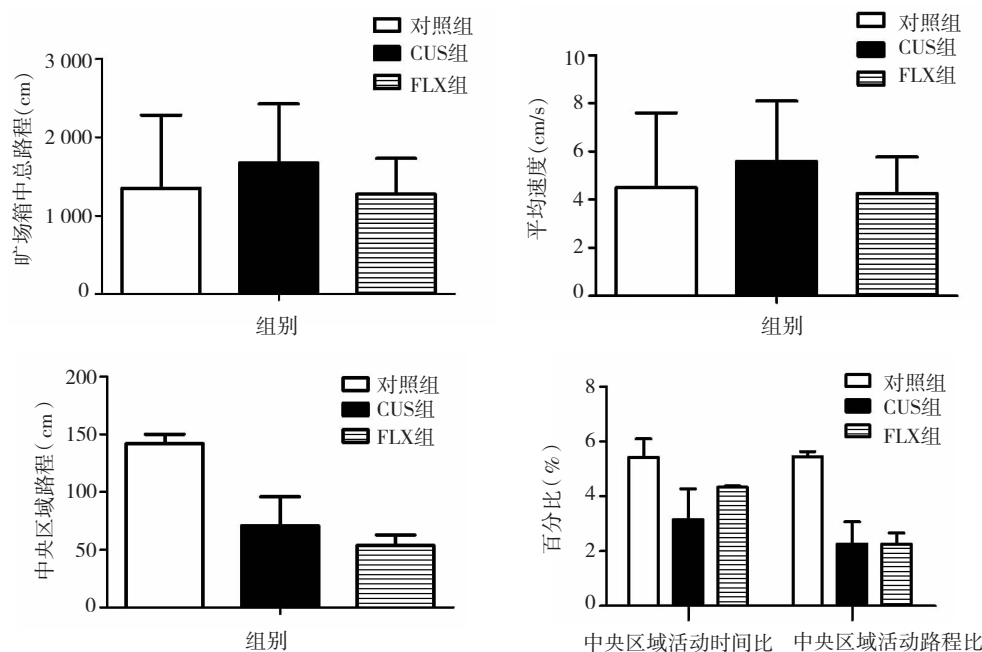
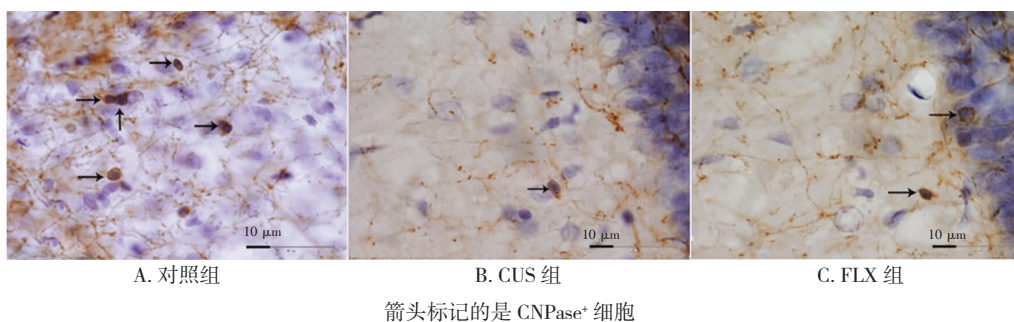
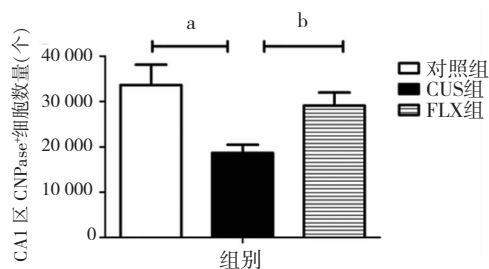


图7 对照组、CUS模型组、FLX组大鼠旷场实验结果的变化情况比较

图8 3组大鼠海马CA₁区、CNPase⁺细胞的染色情况

鼠海马CA₁区内 CNPase⁺细胞数量为(33 606.9 ± 4 471.4)个, CUS组大鼠海马CA₁区内 CNPase⁺细胞数量为(18 650.7 ± 1 812.0)个, FLX组CA₁区内 CNPase⁺细胞数量为(29 080.7 ± 2 877.5)个,这3组间比较具有统计学差异($F=5.593, P=0.019$)。CUS组大鼠海马CA₁区内 CNPase⁺细胞数量明显低于对照组($P=0.007$)及 FLX组($P=0.042$)(图9)。



a: 模型组与对照组相比, $P<0.01$; b: FLX组与模型组相比, $P<0.05$ ($n=5$)

图9 对照组、CUS组及 FLX组大鼠大脑海马CA₁区的 CNPase⁺细胞总数量

3 讨论

目前治疗抑郁症的方法有很多,但主流方法依然是药物治疗。氟西汀作为最新一代特色抗抑郁药,是第一个获准在美国临床应用的SSRI,也是目前临床和基础研究中应用最多的抗抑郁药^[2]。本实验在建造抑郁症模型成功的基础上,对CUS动物模型给予氟西汀治疗,结果显示:经过4周CUS干预后大鼠的糖水偏好程度较对照组明显下降,给予3周氟西汀治疗后,大鼠的糖水偏好程度则明显回升。由于糖水偏好是评判大鼠快感缺乏的金标准^[15],得出CUS应激后大鼠表现出明显的快感缺失症状,而经氟西汀治疗后这种症状得到明显缓解。

氟西汀虽是治疗抑郁症的经典药物,但其起效的机制目前尚不完全明确。目前公认的氟西汀治疗抑郁症的作用机制可简单概括为抑制神经突触对

神经递质 5-羟色胺的重吸收来增加细胞外与突触后受体结合的血清素水平^[2,18]。最新研究还表明,氟西汀对正常成年小鼠大脑海马中 BMP 蛋白有调节作用,而 BMP 信号通路可调节海马的神经祖细胞增殖^[19]。另有研究表明炎症过程和细胞因子在抑郁症的病理生理和抗抑郁治疗中有重要作用,特别是 NLRP3 炎性复合体^[20]。Alcocer-Gómez 等^[21]在对抑郁症患者、抑郁症动物模型的实验研究中均发现氟西汀可降低血清中 IL-1、IL-18 的含量,减少 β NLRP3 和 IL-1(P17)蛋白的表达,表明抗抑郁药物的免疫调节作用在治疗抑郁症的过程中可能起到了重要作用。但是以上结果并不能解释氟西汀对有些患者起效甚微及容易复发等问题,也不能解释氟西汀延迟起效这一特点。这提示氟西汀在治疗抑郁症的过程中除了存在上述作用机制外还可能在一定程度上修复了抑郁症中某些神经结构的病变^[22-23]。

本团队利用体视学方法结合透射电镜技术研究发现 CUS 模型大鼠海马 CA₁ 区存在显著性脱髓鞘、髓鞘分层等退行性改变^[11]。有研究显示中枢神经系统髓鞘受损后修复需要 4 周左右的时间^[24],这与氟西汀延迟起效时间为 2~4 周^[3]有着高度的时间一致性。另有研究者对成年大鼠长期慢性氟西汀干预后检测全基因组表达,他们发现长期慢性氟西汀治疗诱导上调髓鞘生成相关基因的表达^[12]。Bartzokis^[13]发现抗抑郁药能够通过影响 GSK3 相关通路来增加正常小鼠大脑中可用的五羟色胺水平从而促进额叶皮层、海马和纹状体髓鞘形成。可见髓鞘的病变是抑郁症非常重要的神经生物学改变之一,且氟西汀对髓鞘的一系列病变可能有治疗作用。

而少突胶质细胞是中枢神经系统的髓鞘形成细胞。它不仅能够传输供给神经元突起的营养和代谢,还具有神经修复功能,与精神类疾病发病有着密切联系^[25-27]。Banar 等^[28]发现暴露于慢性不可预测的压力 15 d 后前额叶皮质的新皮层细胞增殖降低大约 35%,包括少突胶质细胞增殖减少。Mosebach 等^[29]等对重症抑郁症和双极情感障碍患者的白质行尼式染色后观察发现少突胶质细胞密度下降了 19%~27%。Surget 等^[30]发现 7 周 CUMS 干预后,大鼠杏仁核、海马等脑区少突胶质细胞相关基因表达减少,而抗抑郁药物干预后可改善抑郁相关行为学改变及少突胶质细胞相关基因表达减少的情况,且大脑不同区域的改善程度存在差异。本团队前期的体视学研究也发现 4 周 CUS 干预后抑郁模型大鼠海马 DG 区及 CA₃ 区少突胶质细胞较对照组显著性减

少,而 CA₁ 区内少突胶质细胞数量则没有发生明显改变^[31]。而本实验对抑郁模型大鼠进行 7 周 CUS 干预后对海马少突胶质细胞进行计数发现 DG 区、CA₃ 区及 CA₁ 区少突胶质细胞较对照组均明显减少,可见 CA₁ 区内少突胶质细胞的数量改变可能需要更长的 CUS 干预时间。虽然 Surget 等^[30]的研究仅为对海马少突胶质细胞相关基因的定性研究,且缺乏对海马亚区内少突胶质细胞相关基因的定量研究,并不能真实反映抑郁症海马 CA₁ 区内少突胶质细胞的改变。但是 Surget 等^[30]的研究结果从基因水平支持了本研究体视学定量研究结果,即抑郁症海马内存在少突胶质细胞改变。Kodama 等^[32]利用光学显微镜对所检查的脑区进行人为抽样后,计数抽样区域内所有标记细胞发现 3 周氟西汀可以增加成年大鼠边缘系统脑结构中胶质细胞的增殖。在本研究中,选用可以精确定量的无偏体视学方法精确定量了大鼠海马 CA₁ 区的 CNPase⁺少突胶质细胞数量。结果显示,3 周氟西汀治疗后,抑郁模型大鼠海马 CA₁ 区内少突胶质细胞数量减少的情况得到逆转。虽然本研究结果与 Kodama 等^[32]的研究结果均表明抗抑郁药物可能具有保护少突胶质细胞的作用,但是 Kodama 等^[32]的研究并没有对疾病模型进行研究,药物在不同生理状态下的作用机制有所不同,仅为半定量研究,并不能客观真实反映抗抑郁药物治疗后少突胶质细胞数量的改变。本研究结果表明长期的 CUS 干预可使抑郁症大鼠海马 CA₁ 区内出现少突胶质细胞数量的减少,而氟西汀治疗可以防护少突胶质细胞数量的丢失。

大量研究表明海马 CA₁ 区是与应激关系密切的重要脑区,其在抑郁症发病过程中的重要地位已十分明确。但是氟西汀对海马 CA₁ 区少突胶质细胞是否具有保护作用,国内外尚未见报道。本研究运用无偏体视学方法研究经典的抑郁症 CUS 模型,发现氟西汀治疗可以防护海马 CA₁ 区少突胶质细胞数量的丢失。表明海马内少突胶质细胞的改变参与了抑郁症的发病过程且它可能是抗抑郁药物氟西汀抗抑郁作用的重要结构靶点之一。但氟西汀是通过何种机制影响抑郁症海马 CA₁ 区成熟少突胶质细胞数量的有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] World Health Organization. Global burden of mental disorders and the need for a comprehensive, coordinated response from health and so-

- cial sectors at the country level[R]. Geneva:World Health Organization, 2012;1-4.
- [2] Perez-Caballero L, Torres-Sanchez S, Bravo L, et al. Fluoxetine: a case history of its discovery and preclinical development[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2014, 9(5):567-578.
- [3] Cipriani A, Furukawa TA, Salanti G, et al. Comparative efficacy and acceptability of 12 new-generation antidepressants: a multiple-treatments meta-analysis[J]. *Lancet*, 2009, 373(9665):746-758.
- [4] Cominski TP, Jiao X, Catuzzi JE, et al. The role of the hippocampus in avoidance learning and anxiety vulnerability[J]. *Front Behav Neurosci*, 2014, 8:273.
- [5] Huang Y, Coupland NJ, Lebel RM, et al. Structural changes in hippocampal subfields in major depressive disorder: a high-field magnetic resonance imaging study[J]. *Biol Psychiatry*, 2013, 74(1):62-68.
- [6] Kesner RP, Rolls ET. A computational theory of hippocampal function, and tests of the theory: new developments[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2015, 48:92-147.
- [7] Wang X, Zhang D, Lu XY. Dentate gyrus-CA3 glutamate release/NMDA transmission mediates behavioral despair and antidepressant-like responses to leptin[J]. *Mol Psychiatry*, 2015, 20(4):509-519.
- [8] Kim JJ, Diamond DM. The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2002, 3(6):453-462.
- [9] Rico AM, Mendoza AL, Durán DA, et al. The effects of chronic restraint on the morphology of ventral CA₁ neurons in female Long Evans rats[J]. *Stress*, 2015, 18(1):67-75.
- [10] Miettinen R, Hajsan T, Riedel A, et al. Estimation of the total number of hippocampal CA₁ pyramidal neurons: new methodology applied to helpless rats[J]. *J Neurosci Methods*, 2012, 205(1):130-138.
- [11] 黄春霞. 抑郁症慢性不可预知应激模型大鼠海马结构有髓神经纤维髓鞘改变及氟西汀对其的影响[D]. 重庆:重庆医科大学, 2015.
- [12] Kroeze Y, Peeters D, Boule F, et al. Long-term consequences of chronic fluoxetine exposure on the expression of myelination-related genes in the rat hippocampus[J]. *Transl Psychiatry*, 2015, 5:e642.
- [13] Bartzokis G. Neuroglialpharmacology: myelination as a shared mechanism of action of psychotropic treatments[J]. *Neuropharmacology*, 2012, 62(7):2137-2153.
- [14] Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L, et al. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis[J]. *APMIS*, 1988, 96(5):379-394.
- [15] 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 (Berl)*, 1987, 93(3):358-364.
- [16] Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 1981, 5(2):247-251.
- [17] 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.
- [18] Wong DT, Perry KW, Bymaster FP. Case history: the discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac)[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4(9):764-774.
- [19] Brooker SM, Gobeske KT, Chen J, et al. Hippocampal bone morphogenetic protein signaling mediates behavioral effects of antidepressant treatment[J]. *Mol Psychiatry*, 2017, 22(6):910-919.
- [20] Wang Y, Cui XL, Liu YF, et al. LPS inhibits the effects of fluoxetine on depression-like behavior and hippocampal neurogenesis in rats[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2011, 35(8):1831-1835.
- [21] Alcocer-Gómez E, Casas-Barquero N, Williams MR, et al. Antidepressants induce autophagy dependent-NLRP3-inflammasome inhibition in major depressive disorder[J]. *Pharmacol Res*, 2017, 121:114-121.
- [22] Mahar I, Bambico FR, Mechawar N, et al. Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2014, 38:173-192.
- [23] Ruiz-Perera L, Muniz M, Vieri G, et al. Fluoxetine increases plasticity and modulates the proteomic profile in the adult mouse visual cortex[J]. *Sci Rep*, 2015, 5:12517.
- [24] Matsushima GK, Morell P. The neurotoxicant, cuprizone, as a model to study demyelination and remyelination in the central nervous system[J]. *Brain Pathol*, 2001, 11(1):107-116.
- [25] Nave KA, Ehrenreich H. Myelination and oligodendrocyte functions in psychiatric diseases[J]. *JAMA Psychiatry*, 2014, 71(5):582-584.
- [26] Edgar N, Sibille E. A putative functional role for oligodendrocytes in mood regulation[J]. *Transl Psychiatry*, 2012, 2:e109.
- [27] Purger D, Gibson EM, Monje M. Myelin plasticity in the central nervous system[J]. *Neuropharmacology*, 2016, 110(Pt B):563-573.
- [28] Banasr M, Valentine GW, Li XY, et al. Chronic unpredictable stress decreases cell proliferation in the cerebral cortex of the adult rat[J]. *Biol Psychiatry*, 2007, 62(5):496-504.
- [29] Mosebach J, Keilhoff G, Gos T, et al. Increased nuclear Olig1-expression in the pregenual anterior cingulate white matter of patients with major depression: a regenerative attempt to compensate oligodendrocyte loss?[J]. *J Psychiatr Res*, 2013, 47(8):1069-1079.
- [30] Surget A, Wang Y, Leman S, et al. Corticolimbic transcriptome changes are state-dependent and region-specific in a rodent model of depression and of antidepressant reversal[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2009, 34(6):1363-1380.
- [31] 唐静. 跑步锻炼对抑郁症 CUS 模型大鼠海马各区少突胶质细胞作用的体视学研究[D]. 重庆:重庆医科大学, 2016.
- [32] Kodama M, Fujioka T, Duman RS. Chronic olanzapine or fluoxetine administration increases cell proliferation in hippocampus and prefrontal cortex of adult rat[J]. *Biol Psychiatry*, 2004, 56(8):570-580.

(责任编辑:张辉洁)