

抑郁症

抗 Lingo-1 抗体对抑郁症伴认知障碍大鼠海马 DG 区少突胶质细胞作用的研究

杨春茂¹, 唐 静¹, 梁 芯¹, 蔡英强¹, 张钊钊¹, 吴永鑫¹, 范金花¹, 罗艳敏², 蒋 林¹,
周春妮¹, 张 毅¹, 黄春霞², 晁凤蕾¹, 高 原³, 张 蕾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. 重庆医科大学基础医学院生理学教研室, 重庆 400016; 3. 重庆医科大学附属第一医院老年科, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨抗 Lingo-1 抗体对抑郁症伴认知障碍大鼠海马齿状回(dentate gyrus, DG)区少突胶质细胞的作用。**方法:**4~6 周清洁级雄性 SD 大鼠适应性喂养 1 周后, 随机分为对照组(10 只)和建模组(60 只), 建立慢性不可预知性应激(chronic unpredictable stress, CUS)抑郁症模型, 为期 4 周。利用糖水偏好实验筛选出成模大鼠(23 只), 随机分为 CUS 组(12 只)及 Anti-Lingo-1 组(11 只)。运用 Morris 水迷宫评估对照组, CUS 组和抗 Lingo-1 组的行为学水平, 采用体视学方法计算各组大鼠海马 DG 区的少突胶质细胞数量。**结果:**应激 4 周和抗 Lingo-1 抗体治疗 3 周后, Morris 水迷宫实验中, 与对照组(3.4 ± 0.2)相比, CUS 组(2.4 ± 0.2)大鼠 Morris 水迷宫第 6 天穿越平台次数明显降低($F=20.049, P=0.004$); 与 CUS 组比较, 抗 Lingo-1 组(4.3 ± 0.3)大鼠穿台次数明显增加($F=20.049, P=0.000$)。体视学研究结果表明, 与对照组[(4.9 ± 1.1) $\times 10^4$]比较, CUS 组[(3.1 ± 1.3) $\times 10^4$]大鼠海马 DG 区少突胶质细胞数量明显减少($F=8.747, P=0.026$); 与 CUS 组比较, Anti-Lingo-1 组[(6.1 ± 1.1) $\times 10^4$]大鼠海马 DG 区少突胶质细胞数量明显增加($F=8.747, P=0.001$)。**结论:**抗 Lingo-1 抗体可以改善抑郁症大鼠的认知障碍, 抗 Lingo-1 抗体对抑郁症伴认知障碍大鼠海马 DG 区少突胶质细胞的作用可能是抗 Lingo-1 抗体改善抑郁症大鼠认知障碍的重要形态学基础之一。

【关键词】抑郁症; 认知障碍; 海马; 少突胶质细胞; 抗 Lingo-1 抗体; 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】2019-01-07

Effect of anti-Lingo-1 antibody on oligodendrocytes in the hippocampal dentate gyrus in rats with depression and cognitive impairment

Yang Chunmao¹, Tang Jing¹, Liang Xin¹, Qi Yingqiang¹, Zhang Shanshan¹, Wu Yongxin¹, Fan Jinhua¹,
Luo Yanmin², Jiang Lin¹, Zhou Chunni¹, Zhang Yi¹, Huang Chunxia², Chao Fenglei¹, Gao Yuan³,
Zhang Lei¹, Tang Yong¹

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

【Abstract】Objective: To investigate the effect of anti-Lingo-1 antibody on oligodendrocytes in the hippocampal dentate gyrus (DG) in rats with depression and cognitive impairment. **Methods:** After 1 week of adaptive feeding, 70 clean male Sprague-Dawley rats aged 4–6 weeks were randomly divided into control group with 10 rats and model group with 60 rats. A rat model of depression with chronic unpredictable stress (CUS) was established for 4 weeks. The sucrose preference test was used to screen out 23 model rats, and then these rats were randomly divided into CUS groups with 12 rats and anti-Lingo-1 group with 11 rats. The Morris water maze was used

作者介绍: 杨春茂, Email: 416641902@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: 816171259、81871073、81501156); 重庆市科委基础与前沿研究计划一般资助项目(编号: cstc2015jcyjA10020)。

to assess the behavioral level of the control group, the CUS group, and the anti-Lingo-1 group, and the stereological method was used to calculate the number of oligodendrocytes in the hippocampal DG for all groups. **Results:** After 4 weeks of CUS stimulation, compared with the control group, the CUS group had a significant reduction in the number of platform crossings on day 6 (2.4 ± 0.2 vs. $3.4 \pm 0.2, F=20.049, P=0.004$); after 3 weeks

of anti-Lingo-1 antibody treatment, the anti-Lingo-1 group had a significant increase in the number of platform crossings compared with the CUS group (4.3 ± 0.3 vs. 2.4 ± 0.2 , $F=20.049$, $P=0.000$). The stereological results showed that compared with the control group, the CUS group had a significant reduction in the number of oligodendrocytes in the hippocampal DG [$(3.1 \pm 1.3) \times 10^4$ vs. $(4.9 \pm 1.1) \times 10^4$, $F=8.747$, $P=0.026$]; compared with the CUS group, the anti-Lingo-1 group had a significant increase in the number of oligodendrocytes in the hippocampal DG [$(6.1 \pm 1.1) \times 10^4$ vs. $(3.1 \pm 1.3) \times 10^4$, $F=8.747$, $P=0.001$]. **Conclusion:** Anti-Lingo-1 antibody can improve cognitive impairment in rats with depression. The effect of anti-Lingo-1 antibody on oligodendrocytes in the hippocampal DG in rats with depression and cognitive impairment might be one of the important structural bases for anti-Lingo-1 antibody in improving cognitive impairment in rats with depression.

[Key words] depression; cognitive impairment; hippocampus; oligodendrocyte; anti-Lingo-1 antibody; stereology

抑郁症是一种严重的精神情绪障碍性疾病,世界卫生组织将抑郁症列为全球残疾的最大单一因素,同时它也是自杀死亡的主要原因,每年死亡人数 80 万^[1]。抑郁症对个人、家庭和社会产生严重影响,已成为重大的公共卫生问题^[2]。然而在临床疗效方面,只有 50% 的患者对一线抗抑郁药有反应^[3]。因此,更好地了解抑郁症的病理生理学机制对研发新的抗抑郁治疗手段非常必要。

抑郁症的核心症状是快感缺失,并可伴随躯体症状和认知障碍^[4-5]。1 项为期 3 年的前瞻性临床研究发现,抑郁症病人发病期间有约 90% 的时间伴随认知障碍^[6]。即使核心症状缓解期间仍有约 50% 的时间伴有认知障碍^[6],且其社会心理功能、生活质量都无法恢复至病前水平^[7]。海马在认知和情感调节中起着重要作用^[8]。已有研究发现,抑郁症海马结构和功能的异常与情绪调节、认知功能障碍有密切的关系^[8-10]。而 DG 区作为海马结构中主要的信息传入区域,在空间记忆的快速获取和编码过程中起着重要作用^[11-13]。因此,本课题组推测海马内 DG 区可能参与了抑郁症的认知障碍,但其细胞机制尚不清楚。

少突胶质细胞是中枢神经系统中的髓鞘形成细胞^[14-15]。髓鞘包绕在轴突表面,不仅加速神经冲动的传导,还为神经元突起供给营养^[16]。本课题组前期研究发现抑郁症大鼠海马内成熟少突胶质细胞减少^[17],Ahn 等^[18]研究还发现促进大脑白质少突胶质细胞的增殖可以改善认知功能障碍。因此,本课题组推测增加少突胶质细胞数量可能是改善抑郁症认知障碍的有效方法之一。Lingo-1 (LRR and Ig domain containing Nogo receptor interacting protein 1) 是一种跨膜蛋白,在少突胶质细胞和神经元中特异性表达^[19]。许多体外和体内研究表明,拮抗 Lingo-1

的功能可以促进少突胶质细胞的增殖分化^[19-21]。人类染色体上 Lingo-1 基因位点的改变是精神分裂症、抑郁症等的易感因素^[15,22-24]。当 Lingo-1 过表达时,会导致情绪和精神障碍、认知功能障碍,拮抗 Lingo-1 可促进神经元和少突神经胶质细胞的存活、轴突生长及髓鞘再生^[25-26]。Wu 等^[27]发现拮抗 Lingo-1 可以促进 5XFAD 转基因小鼠 CA1 和 DG 区少突胶质细胞的增殖和分化,从而改善认知功能障碍。但是,拮抗 Lingo-1 能否通过作用于抑郁症模型动物少突胶质细胞从而改善抑郁症的认知功能障碍,目前未见研究报道。因此,本研究将探讨拮抗 Lingo-1 对抑郁症大鼠抑郁样行为和学习记忆能力的作用,以及对其海马 DG 内成熟少突胶质细胞数量的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

4~6 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 只一笼,于室温 20℃~24℃、昼夜正常交替的环境下适应性饲养 1 周,提供干净的食物和水,调整大鼠的糖水偏好基线,根据糖水偏好实验^[28]筛选出高于基线 (85%) 的大鼠 (70 只)。

1.2 CUS 模型的建立

随机将雄性 SD 大鼠分为对照组 (10 只) 和建模组 (60 只)。结合 Katz 等^[29]和 Willner 等^[28]的建模方法并根据课题组自身的实验条件需要制定的应激方案。连续 4 周应激,每只大鼠单笼饲养,每天 1~2 次应激。慢性应激方式包括:昼夜颠倒 12 h/12 h,禁食/禁饮 24 h,倾斜鼠笼 24 h,热水浴 (45℃, 5 min),冷水浴 (4℃, 5 min),行为束缚 1 h,潮湿垫料空垫料 24 h,频闪 12 h,足底电击 5 min,80 db 噪声 4 h,夹尾根部 1 min。实验后期适当增加应激频率和强度避免大鼠对应激的耐受。在应激这 4 周期间,对照组正常饲养,不给予任何应

激。应激这 4 周过程中每周日进行糖水偏好实验,在进行糖水偏好实验期间不进行任何应激。模型建立结束后,根据糖水偏好百分比(<65%)得到模型组大鼠(23 只),糖水偏好(>65%)的大鼠(37 只)全部淘汰。将模型组大鼠随机分为 CUS 组和 Anti-Lingo-1 组。最终得到对照组 10 只,CUS 组 12 只及 Anti-Lingo-1 组 11 只。

1.3 抗 Lingo-1 抗体治疗

根据 Mi 等^[21]和 Pepinsky 等^[30]对 Lingo-1 抗体的药代动力学和剂量的梯度研究,在第 5~7 周每周给予 Anti-Lingo-1 组大鼠腹腔注射 8 mg/kg 的抗 Lingo-1 抗体(3B5,BIOGEN IDEC MA INC)。给予对照组和模型组大鼠于相同部位注射等剂量的生理盐水,在给药期间 CUS 组和 Anti-Lingo-1 组的 CUS 应激不间断。实验动物的饲养和治疗均符合实验室动物保护和指南。

1.4 大鼠体质量测定

从 CUS 应激第 1 周开始后,每周固定时间测量每只大鼠的体质量。

1.5 行为学测试

1.5.1 糖水偏好实验 糖水偏好实验是评价动物快感缺失程度的金标准^[28]。首先让大鼠适应 1%蔗糖水,再对大鼠进行糖水偏好实验。在这项实验中给予动物 1 瓶纯水和 1 瓶 1%的蔗糖水供大鼠自由选择,在 12 h 后切换位置,24 h 后对蔗糖水和纯水的消耗量进行称量、统计。并按照下面公式计算糖水偏好百分比:糖水偏好百分比=糖水消耗/总液体消耗×100%。

1.5.2 Morris 水迷宫实验 使用 Morris 水迷宫测试各组大鼠的海马依赖性空间学习能力和空间记忆能力^[31-32]。在定位航行任务中,将大鼠随机放入 4 个象限中的其中 1 个,4 个象限每天均需使用 1 次。当到达设定时间(60 s)或者大鼠已经到达平台,任务自动终止。如果大鼠在设定时间内找不到水下平台,则将其引至平台上停留 15 s。实验周期共 6 d,前 5 天为定位航行实验,第 6 天为空间探索实验。在定位航行试验中,记录每只大鼠的逃避潜伏期。空间探索试验中,移除平台,使大鼠从移除平台位置的 2 个最远点进入迷宫,记录穿越原平台位置的次数等参数。

1.6 标本固定和取材

第 7 周干预结束后,以 0.4 mL/100 g 的剂量腹腔注射 1%戊巴比妥钠对大鼠进行麻醉,待大鼠麻醉后迅速剖开腹腔暴露心脏。将针头刺入左心室(针头连接恒流灌注泵)并使用止血钳固定针头并立即剪开右心耳。同时灌注含有肝素钠的生理盐水,待体内血液都被生理盐水替换干净后换用 4%的多聚甲醛灌注固定,直到大鼠全身僵硬、四肢抽搐停止灌注。随后剖开颅骨、剥出脑组织,分离脑干和小脑,将浸泡于 4%多聚甲醛中固定的大脑放置于 4℃冰箱保存。

1.7 切片制备与免疫组化染色

随机选取每只大鼠的一侧大脑半球,用滤纸吸干表面水分,浸泡于用 0.1 mol/L 磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer

saline,PBS)配置的蔗糖梯度浓度溶液中进行脱水处理,连续 4 d,每个浓度浸泡 1 d,依次为 10%、20%、30%、30%。然后用包埋剂包埋脑组织并速冻,再使用冰冻切片机做 60 μm 冠状面的连续切片,切下的脑片按 1/6 抽样,用 0.01 mol/L PBS 清洗 15 min 和 75%酒精脱水 15 min 后保存于-20℃的 75%酒精中。每只大鼠随机选取 1/6 脑片,用 0.01 mol/L PBS 清洗和 0.3% Triton(0.3 mL Triton×100+0.1 mL tween 20+100 mL 0.01 mol/L PBS)溶液打孔。用 3% H₂O₂ 避光孵育后用 0.3% Triton 清洗 20 min,然后将脑片放入枸橼酸盐溶液中进行沸水浴修复 30 min,用 0.3% Triton 清洗 20 min,最后将切片置于 0.3% Triton 溶液配置的封闭液中(100 mL=10%胎牛血清、2 μL 鱼明胶和 20% 山羊血清 SP-9002)37℃孵育 3 h。在放置于 4℃冰箱内孵育一抗 CNPase (Abcam, USA)(1:1 000)72 h。72 h 后用 0.3% Triton 清洗 60 min,于 37℃孵育二抗(1:10,SP-9002 生物素标记羊抗小鼠 IgG)3 h,在用 0.3% Triton 清洗 60 min。再于 37℃孵育三抗(辣根酶标记链霉卵白素 SP-9002)2 h 后用去离子水清洗 60 min。使用 DAB 显色液避光显色 3 min,随后用大量去离子水清洗脑片,苏木素复染 5 min 后低速水流冲洗去染料,滴加饱和 Li₂CO₃ 溶液进行返蓝,浸入梯度酒精脱水和二甲苯透明,最后中性树脂封片晾干。

1.8 体视学方法分析

1.8.1 海马的分区 晾干后的脑片利用体视学软件对照大鼠脑图谱对脑片进行分区。首先在 1.25 倍物镜下对脑片进行拍照,然后转换为 4 倍物镜,在较高倍数视野下用红色的线画出海马 DG 区(图 1)。

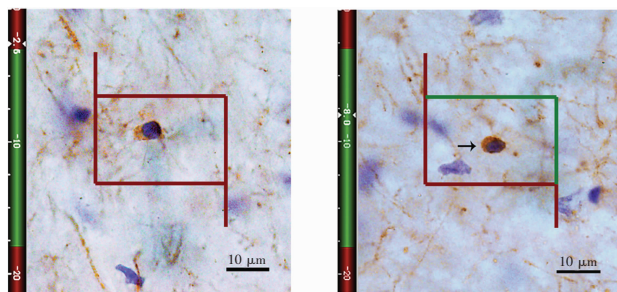


红色圈定的是海马 DG 区

图 1 4 倍物镜下圈定大鼠海马 DG 区的边界

1.8.2 CNPase⁺细胞的体视学计数 脑片经免疫组织化学染色后,运用体视学软件进行 CNPase⁺少突胶质细胞的计数。在 100 倍油镜(N.A.1.40)下划定的海马 DG 区进行抽样:体视框高度为 18 μm,保护区高度为 3 μm,抽样面积分数为 6%。体视学软件系统随机选取抽样起始点开始计数,如图 2A 所示,当聚焦在保护区高度内时,体视框的计数线为红色,此时聚焦的少突胶质细胞不能被计数(图 2A)。如图 2B 所示,在计数高度内时,体视框的计数线为绿色,此时聚焦的少突胶质细

胞被计数(图 2B)。记录每个视野中计数框内 CNPase⁺少突胶质细胞的个数,最后将统计数据带入光学分合法的公式,对每只大鼠海马 DG 区内 CNPase⁺少突胶质细胞进行计数: $N = \sum Q^- \times 1/ssf \times 1/asf \times 1/tsf$ 。其中, $\sum Q^-$ 为每只大鼠计数的海马 DG 区 CNPase⁺少突胶质细胞总数量;ssf 为切片抽样分数; asf 为面积抽样分数; tsf 为高度抽样分数。在本研究中,对组织冰冻切片进行 1/6 抽样,因此,ssf 是 1/6。面积抽样分数(asf)为 6%。平均厚度 t ,计数框为高度 $15 \mu\text{m}(h)$,有 $3 \mu\text{m}$ 保护高度。因此,高度抽样分数 tsf 计算为 h/t 。



在保护高度之内 ($3 \mu\text{m}$) 聚焦的 CNPase⁺少突胶质细胞不被计数
在计数高度之内 ($15 \mu\text{m}$) 聚焦的 CNPase⁺少突胶质细胞被计数

A. 不计数细胞

B. 计数细胞

黑色箭头所指即为可计数的 CNPase⁺少突胶质细胞

图 2 应用光学体视框计数 CNPase⁺少突胶质细胞的示意图

1.9 统计学分析

所有统计分析均使用 SPSS 19.0 进行。计量资料采用均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。通过独立样本 t 检验分析第 4 周体质量和糖水偏好百分比;通过重复测量方差分析方法分析从第 1 天到第 5 天 3 组之间的 Morris 水迷宫数据。水迷宫第 6 天的结果、少突胶质细胞电镜学结果和第 7 周体质量以及糖水偏好百分比用单因素方差分析,然后进行 LSD- t 法进行两两比较。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

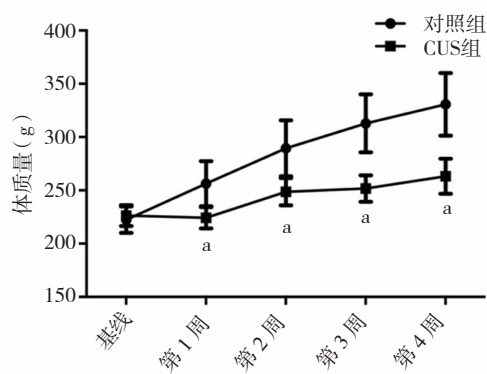
2.1 体质量比较结果

在基线调整后,第 4 周 CUS 组的体质量[(263.2 ± 16.4) g]明显低于对照组体质量[(330.7 ± 29.4) g]($t=8.470, P=0.000$) (图 3)。在抗 Lingo-1 抗体治疗 3 周后,对照组体质量[(382.0 ± 41.3) g]、CUS 组体质量[(263.6 ± 20.0) g]和 Anti-Lingo-1 组体质量[(284.7 ± 35.0) g]有统计学差异($F=39.668, P=0.000$),但 CUS 组和 Anti-Lingo-1 组的体质量没有统计学差异($P=0.130$)(图 4)。

2.2 行为学实验结果

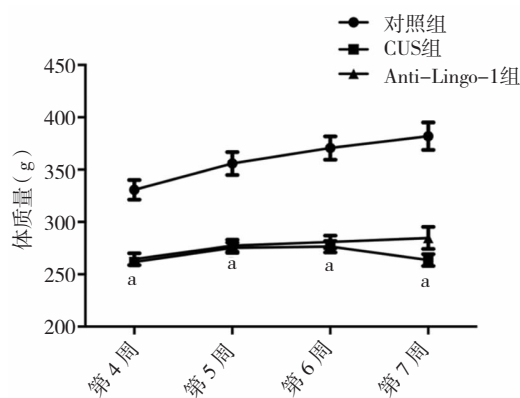
2.2.1 糖水偏好结果 在抑郁模型建立后,第 4 周糖水偏好试验中 CUS 组的糖水消耗的百分比[(85.7 ± 1.8)%]明显低于对照组糖水消耗的百分比 [(95.4 ± 2.8)%]($t=4.430, P=$

0.000)(图 5)。在抗 Lingo-1 抗体处理 3 周后,对照组糖水消耗的百分比[(93.6 ± 0.7)%],CUS 组糖水消耗的百分比[(77.6 ± 2.7)%]和 Anti-Lingo-1 组糖水消耗的百分比[(75.8 ± 4.7)%]之间有统计学差异($F=8.736, P=0.001$),但 CUS 组和 Anti-Lingo-1 组糖水消耗的百分比之间没有统计学差异($P=0.687$) (图 6)。



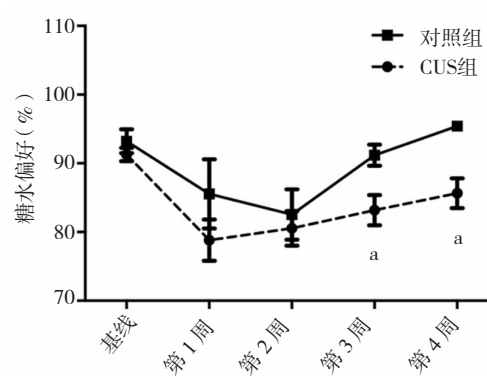
a: 与对照组相比, $P < 0.05$

图 3 对照组和 CUS 组大鼠体质量变化情况的比较



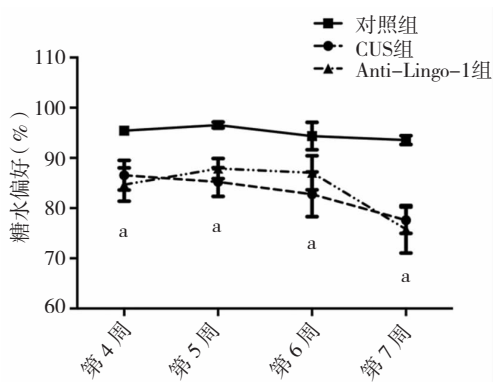
a: 与对照组相比, $P < 0.01$

图 4 对照组、CUS 组、Anti-Lingo-1 组大鼠体质量变化情况的比较



a: 与对照组相比, $P < 0.05$

图 5 对照组和 CUS 组大鼠糖水偏好百分比比较



a: 与对照组相比, $P < 0.05$

图6 对照组、CUS组和 Anti-Lingo-1 组大鼠糖水偏好百分比比较

2.2.2 Morris 水迷宫实验结果 抗 Lingo-1 抗体治疗 3 周后, 在前 5 天定位航行实验中 3 组之间没有统计学差异 ($F_{\text{组别}}=0.035, P_{\text{组别}}=0.966$) ($F_{\text{时间}}=65.356, P=0.000$) ($F_{\text{时间} \times \text{分组}}=1.396, P=0.205$) (图 7)。在 Morris 水迷宫测试的第 6 天空间探索实验, 对照组穿越平台的次数 (3.4 ± 0.2)、CUS 组穿越平台的次数 (2.4 ± 0.2)、Anti-Lingo-1 组中穿越平台的次数 (4.3 ± 0.3) 有统计学差异 ($F=20.049, P=0.000$), CUS 组穿过平台的次数明显低于对照组穿过平台的次数 ($P=0.004$) (图 8); 与 CUS 组相比, Anti-Lingo-1 组中穿越平台的次数明显增加 ($P=0.000$) (图 8)。

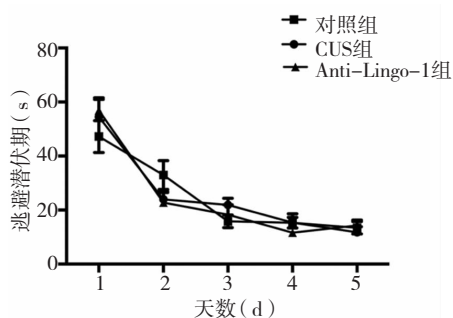
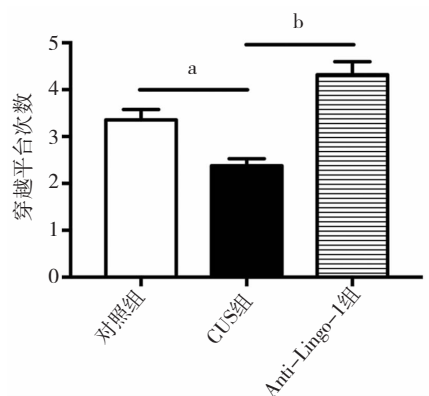


图7 对照组、CUS组和 Anti-Lingo-1 组大鼠的逃避潜伏期比较

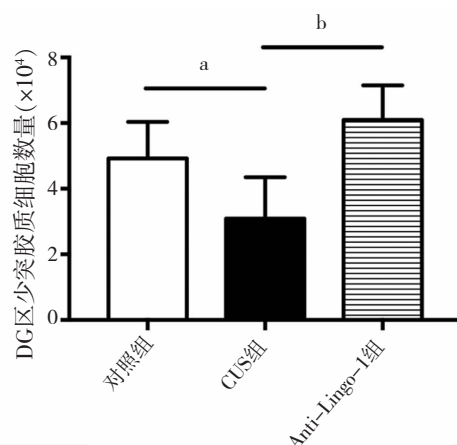


a: 与对照组相比, $P < 0.05$; b: 与 CUS 组相比, $P < 0.05$

图8 对照组、CUS组和 Anti-Lingo-1 组大鼠在水迷宫第 6 天穿越平台次数比较

2.3 少突胶质细胞体视学结果

在海马 DG 区对照组 CNPase⁺细胞数量 [$(4.9 \pm 1.1) \times 10^4$], CUS 组 CNPase⁺细胞数量 [$(3.1 \pm 1.3) \times 10^4$] 和 Anti-Lingo-1 组 CNPase⁺细胞数量 [$(6.1 \pm 1.1) \times 10^4$] 有统计学差异 ($F=8.747, P=0.005$)。与对照组比较, CUS 组 DG 区 CNPase⁺细胞明显减少 ($P=0.026$) (图 9)。此外, 与 CUS 组相比, Anti-Lingo-1 组 DG 区域的 CNPase⁺细胞明显增加 ($P=0.001$) (图 9)。



a: 与对照组相比, $P < 0.05$; b: 与 CUS 组相比, $P < 0.05$

图9 对照组、CUS组及 Anti-Lingo-1 组大鼠大脑海马 DG 区的 CNPase⁺ 细胞总数量

3 讨论

本课题组前期研究发现与对照组相比, CUS 诱导的抑郁症大鼠海马内存在 CNPase⁺少突胶质细胞的显著性丢失^[17]。还有研究发现通过改善大脑内少突胶质细胞的分化及髓鞘形成, 在改善成年小鼠的抑郁样行为方面具有积极作用^[33-34]。Lingo-1 是少突胶质细胞分化的负性调节剂, 多项体外研究和在体研究均表明, 拮抗 Lingo-1 的功能可以促进少突胶质细胞的增殖分化^[15, 19-21]。本实验中使用抗 Lingo-1 抗体治疗 CUS 诱导的抑郁症大鼠后, 发现抗 Lingo-1 抗体治疗并没有改善抑郁症大鼠的抑郁样行为, 但是却显著改善了抑郁症大鼠的空间记忆能力, 同时明显增加了抑郁症大鼠海马 DG 内 CNPase⁺少突胶质细胞的数量。

本研究中, 使用能够促进大脑内少突胶质细胞的增殖和分化的药物抗 Lingo-1 抗体治疗后, 并没能改善大鼠的抑郁样行为。2017 年, Liu 等发现克里马汀 (一种促进髓鞘再生的药物) 可以改善社会孤立模型小鼠的抑郁症的情绪症状, 并且可以逆转模型小鼠前额叶皮质内少突胶质细胞的数量和促进

髓鞘再生^[33]。本研究结果显然与 Liu 等的研究结果^[33]不一致,推测导致这种差异的主要原因是动物模型及行为学检测方法的不同。Liu 等的研究中所采用的是社交孤立模型,他们将小鼠孤笼饲养连续 10 周后即成模,仅采用了社交实验检测小鼠的社交回避行为^[33]。而本研究所采用的是 CUS 模型,是将动物置于一系列不可预知的应激中连续干预 4 周,最后采用糖水偏好测试检测动物的快感缺失程度。不同的造模方式会导致动物的行为学及其内在病理改变不同^[35],这 2 种行为学检测手段反映的也是动物不同层面的行为学能力,因此会得出不同的结论。有趣的是,Edgar 等^[36]研究发现小鼠敲除 CNP1 (CNPase 的一个亚型)基因后,与野生型动物相比,敲除 CNP1 的小鼠表现出焦虑和抑郁样症状的减少。基于本实验结果和 Edgar 等的研究发现,本研究推测大脑内少突胶质细胞的改变可能不是导致抑郁情绪改变的主要病理原因。

众所周知,抑郁症的核心症状是情绪改变,并可伴随有躯体症状和认知障碍^[4-5]。抑郁症病人发病期间有约 90%的时间伴随认知障碍^[6],Rock 等^[37]发现抑郁症病人的认知障碍的发生似乎独立于临床相关的抑郁症状,可见抑郁患者的认知障碍恢复对于抑郁症的治疗具有重要意义。海马作为与情绪、认知密切相关的脑区之一^[8],主要由 CA1、CA3 和 DG 区构成,每个区域都有其特定的功能。DG 区主要参与记忆信息的空间环境编码,与空间记忆密切相关^[12]。在本研究中采用 Morris 水迷宫检测大鼠的空间学习和记忆能力,发现在前 5 d 的隐藏平台实验中,各组大鼠间的空间学习能力均没有统计学差异;但在第 6 天的定位航行试验中,Anti-Lingo-1 组大鼠较 CUS 组表现出更好的空间记忆能力。同时,发现 Anti-Lingo-1 组较 CUS 组大鼠海马 DG 内 CNPase⁺少突胶质细胞的数量显著性增加。多项研究表明通过促进少突胶质细胞的增殖分化及髓鞘再生可能是改善认知功能的重要结构基础^[27,38-40]。如 Zhang 等^[38]研究发现,在 Cuprizone 诱导的脱髓鞘模型小鼠中,啞硫平治疗在促进脱髓鞘病变中成熟少突胶质细胞再生的同时改善了小鼠的认知功能。Wang 等^[39]发现 L-丝氨酸通过保护白质内少突胶质细胞和促进髓鞘再生从而能改善了局灶性脱髓鞘病变模型小鼠的空间学习、记忆和认知能力。Venkat 等^[40]发现西地那非在增加胼胝体和纹状体少突胶质

细胞数量的同时改善了血管性痴呆模型大鼠的空间记忆能力。此外,Wu 等^[27]还发现拮抗 Lingo-1 可以促进 5×FAD (transgenic mice with five familial Alzheimer's disease) 转基因小鼠海马 CA1 和 DG 区少突胶质细胞的增殖和分化,同时改善小鼠的认知功能障碍。结合既往研究结果和本实验的结果,课题组推测 DG 区少突胶质细胞数量的增加可能是抗 Lingo-1 抗体改善 CUS 诱导的抑郁症大鼠空间记忆能力的细胞机制之一。在今后的实验中,将会对海马 DG 区进行定位注射抗 Lingo-1 抗体,以进一步验证课题组的推测。

综上所述,本研究发现拮抗 Lingo-1 治疗虽不能改善 CUS 抑郁模型大鼠的快感缺失症状,但其在增加该模型大鼠海马 DG 区内少突胶质细胞数量的同时,显著改善 CUS 抑郁模型大鼠的空间记忆障碍。本研究结果有望为将来寻找通过调节抑郁症脑内少突胶质细胞障碍而改善抑郁症认知功能的新手段提供一定的科学依据。

参 考 文 献

- [1] World Health Organization. Depression and other common mental disorders: global health estimates[M]. Geneva: World Health Organization, 2017.
- [2] Reddy KS. Global burden of disease study 2015 provides GPS for global health 2030[J]. Lancet, 2016, 388(10053): 1448-1449.
- [3] Hou Z, Jiang W, Yin Y, et al. The current situation on major depressive disorder in China: research on mechanisms and clinical practice[J]. Neurosci Bull, 2016, 32(4): 389-397.
- [4] American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders DSM-5[M]. Washington DC: American Psychiatric Association, 2013.
- [5] Marazziti D, Consoli G, Picchetti M, et al. Cognitive impairment in major depression[J]. Eur J Pharmacol, 2010, 626(1): 83-86.
- [6] Conradi HJ, Ormel J, de Jonge P. Presence of individual (residual) symptoms during depressive episodes and periods of remission: a 3-year prospective study[J]. Psychol Med, 2011, 41(6): 1165-1174.
- [7] Sheehan DV, Nakagome K, Asami Y, et al. Restoring function in major depressive disorder: a systematic review[J]. J Affect Disord, 2017, 215: 299-313.
- [8] Femenía T, Gómez-Galán M, Lindskog M, et al. Dysfunctional hippocampal activity affects emotion and cognition in mood disorders[J]. Brain Res, 2012, 1476: 58-70.
- [9] Wingenfeld K, Wolf OT. Stress, memory, and the hippocampus[J]. Front Neurol Neurosci, 2014, 34: 109-120.
- [10] Opitz B. Memory function and the hippocampus[J]. Front Neurol Neurosci, 2014, 34: 51-59.

- [11] Bui AD, Nguyen TM, Limouse C, et al. Dentate gyrus mossy cells control spontaneous convulsive seizures and spatial memory[J]. *Science*, 2018, 359(6377): 787–790.
- [12] Saab BJ, Georgiou J, Nath A, et al. NCS-1 in the dentate gyrus promotes exploration, synaptic plasticity, and rapid acquisition of spatial memory[J]. *Neuron*, 2009, 63(5): 643–656.
- [13] Kee N, Teixeira CM, Wang AH, et al. Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus[J]. *Nat Neurosci*, 2007, 10(3): 355–362.
- [14] Bercury KK, Macklin WB. Dynamics and mechanisms of CNS myelination[J]. *Dev Cell*, 2015, 32(4): 447–458.
- [15] Mi S, Miller RH, Tang W, et al. Promotion of central nervous system remyelination by induced differentiation of oligodendrocyte precursor cells[J]. *Ann Neurol*, 2009, 65(3): 304–315.
- [16] Monje M. Myelin plasticity and nervous system function[J]. *Annu Rev Neurosci*, 2018, 41: 61–76.
- [17] 唐静, 梁芯, 张杨, 等. 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[J]. *重庆: 重庆医科大学*, 2016, 41(8): 797–802.
- [18] Ahn SM, Kim YR, Kim HN, et al. Electroacupuncture ameliorates memory impairments by enhancing oligodendrocyte regeneration in a mouse model of prolonged cerebral hypoperfusion[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 28646.
- [19] Mi S, Sandrock A, Miller RH. LINGO-1 and its role in CNS repair[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40(10): 1971–1978.
- [20] Lee X, Yang Z, Shao Z, et al. NGF regulates the expression of axonal LINGO-1 to inhibit oligodendrocyte differentiation and myelination[J]. *J Neurosci*, 2007, 27(1): 220–225.
- [21] Mi S, Hu B, Hahm K, et al. LINGO-1 antagonist promotes spinal cord remyelination and axonal integrity in MOG-induced experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *Nat Med*, 2007, 13(10): 1228–1233.
- [22] Carim-Todd L, Escarceller M, Estivill X, et al. LRRN6A/LERN1 (leucine-rich repeat neuronal protein 1), a novel gene with enriched expression in limbic system and neocortex[J]. *Eur J Neurosci*, 2003, 18(12): 3167–3182.
- [23] Gratacòs M, Nadal M, Martíñ-Santos R, et al. A polymorphic genomic duplication on human chromosome 15 is a susceptibility factor for panic and phobic disorders[J]. *Cell*, 2001, 106(3): 367–379.
- [24] McInnes L, Nakamine A, Pilorge M, et al. A large-scale survey of the novel 15q24 microdeletion syndrome in autism spectrum disorders identifies an atypical deletion that narrows the critical region[J]. *Mol Autism*, 2010, 1(1): 5.
- [25] Mi S, Lee X, Shao Z, et al. LINGO-1 is a component of the Nogo-66 receptor/p75 signaling complex[J]. *Nat Neurosci*, 2004, 7(3): 221–228.
- [26] Andrews JL, Fernandez-Enright F. A decade from discovery to therapy: lingo-1, the dark horse in neurological and psychiatric disorders[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2015, 56: 97–114.
- [27] Wu D, Tang X, Gu LH, et al. LINGO-1 antibody ameliorates myelin impairment and spatial memory deficits in the early stage of 5XFAD mice[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2018, 24(5): 381–393.
- [28] 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.
- [29] Katz RJ. Animal model of depression: pharmacological sensitivity of a hedonic deficit[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1982, 16(6): 965–968.
- [30] Pepinsky RB, Shao Z, Ji B, et al. Exposure levels of anti-LINGO-1 Li81 antibody in the central nervous system and dose-efficacy relationships in rat spinal cord remyelination models after systemic administration[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, 339(2): 519–529.
- [31] Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions[J]. *Nature*, 1982, 297(5868): 681–683.
- [32] Tanila H. Wading pools, fading memories—place navigation in transgenic mouse models of Alzheimer's disease[J]. *Front Aging Neurosci*, 2012, 4: 11.
- [33] Liu J, Dupree JL, Gacias M, et al. Clemastine enhances myelination in the prefrontal cortex and rescues behavioral changes in socially isolated mice[J]. *J Neurosci*, 2016, 36(3): 957–962.
- [34] 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.
- [35] Czéh B, Fuchs E, Wiborg O, et al. Animal models of major depression and their clinical implications[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2016, 64: 293–310.
- [36] Edgar NM, Touma C, Palme R, et al. Resilient emotionality and molecular compensation in mice lacking the oligodendrocyte-specific gene *Cnpl1*[J]. *Transl Psychiatry*, 2011, 1: e42.
- [37] Rock PL, Roiser JP, Riedel WJ, et al. Cognitive impairment in depression: a systematic review and meta-analysis[J]. *Psychol Med*, 2014, 44(10): 2029–2040.
- [38] Zhang Y, Zhang H, Wang L, et al. Quetiapine enhances oligodendrocyte regeneration and myelin repair after cuprizone-induced demyelination[J]. *Schizophr Res*, 2012, 138(1): 8–17.
- [39] Wang G, Ding L, Gao C, et al. Neuroprotective effect of l-serine against white matter demyelination by harnessing and modulating inflammation in mice[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 146: 39–49.
- [40] Venkat P, Chopp M, Zacharek A, et al. Sildenafil treatment of vascular dementia in aged rats[J]. *Neurochem Int*, 2018[Epub ahead of print]. DOI: 10.1016/j.neuint.2018.12.015.

(责任编辑: 冉明会)