

引用:华伊,王运雪,杨婉玲,等. β -石竹烯对抑郁小鼠行为学及突触可塑性相关蛋白的影响[J]. 聊城大学学报(自然科学版),2025,38(4):596-605.

Citation: HUA Yi, WANG Yunxue, YANG Wanling, LIN Songyang, LI Siyi, DENG Xianqing. Effects of β -caryophyllene on behavior and synaptic plasticity-related proteins in depressed mice[J]. Journal of Liaocheng University (Natural Science Edition), 2025, 38(4): 596-605.

文章编号 1672-6634(2025)04-0596-10

DOI 10.19728/j.issn1672-6634.2024120011

β -石竹烯对抑郁小鼠行为学及突触可塑性相关蛋白的影响

华伊,王运雪,杨婉玲,林松洋,李思怡,邓先清

(井冈山大学 中医药学院,江西 吉安 343009)

摘要 目的:探讨 β -石竹烯对抑郁小鼠行为学及突触可塑性相关蛋白表达的影响。方法:小鼠随机分为空白对照组、模型组、氟西汀组(10 mg/kg)及 β -石竹烯低、中、高剂量组(50、100、200 mg/kg),采用慢性不可预知温和应激(CUMS)构建小鼠抑郁模型,造模的同时,各组灌胃给予相应药物,每日1次,连续6周。检测各组小鼠体质量变化;强迫游泳和旷场行为学实验评价抑郁水平;苏木素-伊红(HE)染色观察海马区形态学;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测海马区突触素(SYP)、胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)及神经生长因子(NGF)表达水平;免疫荧光法检测海马区微管相关蛋白2(MAP2)表达水平。结果:与空白对照组比较,模型组小鼠的体质量显著性降低($P<0.01$);强迫游泳不动时间显著性增加($P<0.01$);旷场中运动总距离、平均速度和站立次数显著性减少($P<0.01$);海马区形态结构受损明显;海马区 SYP、GDNF、NGF 及 MAP2 表达水平显著性降低($P<0.01$)。与模型组比较, β -石竹烯各剂量组小鼠的体质量显著性升高($P<0.05, P<0.01$);强迫游泳不动时间显著性减少($P<0.01$);旷场中运动总距离、平均速度和站立次数显著性增加($P<0.05, P<0.01$);海马区形态结构损伤得到明显改善;海马区 SYP、GDNF、NGF 及 MAP2 表达水平显著性升高($P<0.05, P<0.01$)。结论: β -石竹烯具有一定的抗抑郁作用,其作用机制可能与提高突触可塑性相关蛋白表达水平、改善海马突触可塑性损伤有关。

关键词 β -石竹烯;抑郁;突触可塑性;海马

中图分类号 R285.5

文献标志码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Effects of β -caryophyllene on behavior and synaptic plasticity-related proteins in depressed mice

HUA Yi, WANG Yunxue, YANG Wanling, LIN Songyang,
LI Siyi, DENG Xianqing

(College of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, Jinggangshan University, Ji'an 343009, China)

收稿日期:2024-12-20

基金项目:国家自然科学基金项目(22367014);江西省自然科学基金项目(20242BAB20461);吉安市指导性科技计划项目(20233-023364);井冈山大学博士科研启动项目(JZB2204);井冈山大学校级大学生创新创业训练计划项目(JDX2024234)资助

通信作者:邓先清,男,汉族,博士,教授,研究方向:神经系统疾病的药物研究,E-mail: dengxianqing1121@126.com。

Abstract Objective: To study the effect of β -caryophyllene on the behavior and the expression levels of synaptic plasticity-related proteins in depressed mice. Methods: The mice were randomly divided into blank control group, model group, fluoxetine group (10 mg/kg) and low, medium and high dose groups (50, 100, 200 mg/kg) of β -caryophyllene. The depressed mice model was established by chronic unpredictable mild stress. At the same time of modeling, the corresponding drugs were given by gavage once a day for 6 weeks. Detect changes in body weight of mice in each group. Evaluation of depression levels through forced swimming and open field behavior experiments. HE staining was used to observe the morphology of hippocampus. ELISA was used to detect the content of SYP, GDNF and NGF in the hippocampus. Immunofluorescence was used to detect the expression level of MAP2 in the hippocampus. Result: Compared with the blank control group, the body weight in the model group mice decreased ($P < 0.01$), the forced swimming immobility time increased ($P < 0.01$), the total distance, average speed, and number of stands during open field test were decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the morphological and structural of the hippocampus is significantly damaged, the expression levels of SYP, GDNF, NGF and MAP2 in the hippocampus were decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the body weight in each dose group of β -caryophyllene increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the forced swimming immobility time decreased ($P < 0.01$), the total distance, average speed, and number of stands during open field test were increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the morphological and structural damage of the hippocampus has been significantly improved, the expression levels of SYP, GDNF, NGF, and MAP2 in the hippocampus were increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Conclusion: β -caryophyllene has antidepressant effect, and its mechanism may be related to increasing the expression levels of synaptic plasticity related-proteins and improving hippocampal synaptic plasticity damage.

Keywords β -caryophyllene; depression; synaptic plasticity; hippocampus

0 引言

抑郁是一种情感性精神障碍,抑郁症患者表现出强烈且持久的情绪低落、意志活动减弱、思维迟缓、快感缺失及自我评价过低,并伴有植物神经功能紊乱^[1]。抑郁症的高自杀和自残率给患者及社会造成了难以估量的巨大伤害。世界卫生组织的统计资料显示,抑郁症的全球发病率高达 10%~15%,且在逐年升高。预计在 2030 年,抑郁症将成为全球疾病负担首位^[2-3]。

抑郁发生的机制较为复杂,目前广泛认为与中枢神经系统繁杂的信号网络异常有关,涉及单胺类神经递质、神经突触可塑性等^[4]。在神经系统中,突触可塑性是指突触在生命活动过程中,其形态结构和功能活动的可修饰性与可改变性^[5]。影像学研究发现,抑郁症患者脑内海马区体积缩小,海马区神经元树突长度缩短、树突棘密度降低,其突触可塑性遭到明显破坏^[6]。动物实验同样显示,抑郁模型大鼠海马区锥体神经元树突萎缩,突触素(Synaptophysin, SYP)、脑源性神经营养因子(Brain-derived neurotrophic factor, BDNF)等突触可塑性相关蛋白水平显著下降^[7]。因此,应用药物干预等改善神经突触可塑性损伤,对于抑郁症治疗策略的开发具有重要意义。

β -石竹烯是一类倍半萜类化合物,参与调控中枢神经系统内外的细胞因子释放、免疫细胞迁移等生理过程^[8]。既往对于 β -石竹烯的药理研究,主要集中于抗炎、镇痛、神经保护等作用^[9-10]。研究者们发现,在不同的动物模型中,急性或慢性给药 β -石竹烯均可减少实验动物的抑郁样行为,具有治疗抑郁的潜力^[11-12]。但目前对于 β -石竹烯拮抗抑郁的基础研究并不充分,其作用机制尚未明确。有报道称, β -石竹烯的抗抑郁作用可能与促进突触发育与重塑有关^[13]。 β -石竹烯是否通过调节突触可塑性进而改善抑郁,值得我们思考。本研究通过构建小鼠抑郁模型,考察 β -石竹烯对抑郁小鼠行为学及突触可塑性相关蛋白表达的影响,以期探讨 β -石竹烯的抗抑郁作用及可能的作用机制,为 β -石竹烯相关抗抑郁药物的研发提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 动物

KM 小鼠,体质量 22 ± 2 g,雌雄各半,无特定病原体级,由长沙市天勤生物技术有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(湘)2022-0011。动物饲养与实验环境为恒温($20\sim 24\text{ }^{\circ}\text{C}$)、恒湿($45\%\sim 55\%$)、低噪声(小于等于 40 dB)、12 h/12 h 明暗交替状态,自由饮食饮水。本研究经井冈山大学医学伦理委员会批准,批准文号:(2023)伦批第(156)号,所有操作符合实验动物伦理要求。

1.2 药物及试剂

β -石竹烯(批号:C2214071)、氟西汀(批号:L2101086),上海麦克林生化科技有限公司;苏木素染液(批号:CR2308045),伊红染液(批号:CR2310097),武汉赛维尔生物科技有限公司;小鼠 SYP 酶联免疫吸附测定法(Enzyme Linked Immunosorbent Assay,ELISA)试剂盒(批号:FU05H73Y3290)、小鼠胶质细胞源性神经营养因子(Glial cell derived neurotrophie factor,GDNF)ELISA 试剂盒(批号:FU0980NX2247),小鼠神经生长因子(Nerve growth factor,EGF)ELISA 试剂盒(批号:FU05JF6L5108),武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;微管相关蛋白 2(Microtubule associated protein 2,MAP2)Antibody(批号:23045512),武汉三鹰生物技术有限公司。

1.3 主要仪器

XR-XQ202 型大小鼠强迫游泳实验系统、XR-XZ301 型大小鼠旷场实验分析系统(上海欣软信息科技有限公司);Centrifuge 5424R 型高速台式冷冻离心机(德国 eppendorf 上海国际贸易有限公司);SpectraMax iD3 型多功能酶标仪(美谷分子仪器上海有限公司);EG1150 型包埋机、RM2016 型切片机、TCS SP5 型激光扫描共聚焦显微镜(德国 Leica 公司);IX53 型显微镜(日本 Olympus 株式会社)。

1.4 动物分组、造模及给药

适应性饲养一周后,将 72 只小鼠随机分为空白对照组、模型组、氟西汀组及 β -石竹烯低、中、高剂量组,每组各 12 只。参考文献[14]方法,除空白对照组正常饲养外,其余各组采用慢性不可预知温和应激(Chronic unpredictable mild stress,CUMS)构建小鼠抑郁模型。如表 1 所示,造模所用刺激源包括:连续光照或黑暗 24 h、禁水或禁食 24 h、45°倾斜鼠笼 12 h、潮湿环境 12 h、束缚 4 h、摇晃鼠笼 30 min、频闪 30 min、噪音 30 min、夹尾 1 min、冰水游泳 5 min,每天随机给予 2~3 种应激,连续两天不给予相同刺激,持续 6 周。

造模的同时,各组实验动物分别接受药物干预,其中氟西汀组给予氟西汀 10 mg/kg 灌胃, β -石竹烯低、中、高剂量组分别给予 β -石竹烯 50、100、200 mg/kg 灌胃,空白对照组和模型组灌胃给予同等体积的生理盐水,每日 1 次,连续 6 周。造模与给药期间,每周同一时间称量各组小鼠体质量。

1.5 强迫游泳行为学检测

强迫游泳实验箱为一透明圆柱体(高 30 cm,直径 15 cm),箱体正上方设有摄像头与 LED 灯(光照强度: 20 ± 2 Lux),用于照明与记录分析动物的行为。检测时,在圆柱箱中注入 15 cm 高的温水($24\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$),将小鼠放入箱内任其自由游泳,以身体漂浮于水面、四肢停止挣扎作为不动状态的认定标准,记录和统计各组小鼠 5 min 内的不动时间。检测结束后,将小鼠擦干放回笼子。

1.6 旷场行为学检测

旷场实验箱为一黑色方形敞箱(长 55 cm、宽 55 cm、高 55 cm),箱体正上方设有摄像头与 LED 灯(光照强度: 20 ± 2 Lux),用于照明与记录分析动物的行为。检测时,将小鼠放置在实验箱中央区域,记录 5 min 内

表 1 CUMS 安排表

Tab. 1 CUMS Schedule

时间	刺激源
周一	摇晃鼠笼 30 min + 频闪 30 min + 冰水游泳 5 min
周二	连续光照 24 h + 禁水 24 h
周三	潮湿环境 12 h + 束缚 4 h + 噪音 30 min
周四	45 度倾斜鼠笼 12 h + 频闪 30 min + 夹尾 1 min
周五	禁食 24 h + 摇晃鼠笼 30 min
周六	连续黑暗 24 h + 噪音 30 min + 冰水游泳 5 min
周日	潮湿环境 12 h + 束缚 4 h + 夹尾 1 min

各组小鼠的行为学表现。每只动物测试结束后,用75%酒精消毒液擦拭箱体,以避免上只实验动物残留的气味对下只动物的测试产生影响。

1.7 HE染色观察海马组织形态学

各组小鼠脱椎处死,取出脑组织,置于4%多聚甲醛溶液中固定,依次进行脱水、石蜡包埋、切片、苏木素-伊红(Hematoxylin Eosin, HE)染色后,光学显微镜下观察海马区形态学变化。

1.8 ELISA检测SYP、GDNF及NGF表达水平

取出各组小鼠的脑组织,在冰板上迅速剥离海马区,精确称重,加入适量4℃的PBS缓冲液,低温环境中进行组织匀浆并离心(3 000 r/min, 10 min),取上清,严格按照各试剂盒说明书,检测小鼠海马区的SYP、GDNF及NGF含量。

1.9 免疫荧光检测MAP2表达水平

各组小鼠脑组织置于4%多聚甲醛溶液中固定,经常规脱水、石蜡包埋、组织切片后,再依次进行脱蜡复水、抗原修复、血清封闭,加入MAP2一抗4℃下孵育过夜。次日,加入荧光标记二抗,室温避光孵育后加入DAPI染液复染细胞核,室温避光孵育后加入荧光淬灭封片剂封片。荧光显微镜下镜检,利用Image J软件分析各组小鼠海马区的荧光强度值。

1.10 统计学分析

运用SPSS 27.0统计软件进行数据分析,实验结果均以均数 $\pm$ 标准差($X \pm SD$)表示,采用单因素方差分析法(One-way ANOVA)进行检验,LSD-t法进行两两比较,以 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 分别表示有显著性差异和极显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 β -石竹烯对抑郁小鼠体质量的影响

本研究选用国内外公认的CUMS模型诱导小鼠抑郁,该模型将实验动物长期置于不可预知的温和应激环境中,造成动物出现自发活动减少、绝望行为增加、愉快感丧失等表现,较好地模拟了人类抑郁的发生,被广泛应用于抗抑郁药物及相关治疗方法的研究^[15]。体质量变化能够提示实验动物的生长性能和机体状态,且抑郁个体通常呈现体质量降低的状况。

表2 β -石竹烯对抑郁小鼠体质量的影响($X \pm SD, n=12$)

Tab. 2 The effect of β -caryophyllene on body mass of depressed mice($X \pm SD, n=12$)

组别	剂量 /(mg·kg ⁻¹)	第0周	第1周	第2周	第3周	第4周	第5周	第6周
空白对照组	-	25.62 $\pm$ 0.93	29.07 $\pm$ 1.47	32.06 $\pm$ 1.55	35.11 $\pm$ 1.66	37.55 $\pm$ 2.07	39.63 $\pm$ 2.17	41.78 $\pm$ 2.52
模型组	-	25.78 $\pm$ 0.95	26.63 $\pm$ 1.64**	28.13 $\pm$ 1.87**	30.05 $\pm$ 2.31**	31.70 $\pm$ 2.41**	33.25 $\pm$ 2.75**	34.46 $\pm$ 3.19**
氟西汀组	10	25.68 $\pm$ 0.96	27.15 $\pm$ 1.21	29.12 $\pm$ 1.40	31.58 $\pm$ 1.85	34.08 $\pm$ 2.34 [#]	36.52 $\pm$ 2.21 ^{##}	38.78 $\pm$ 2.39 ^{##}
β -石竹烯低剂量组	50	25.68 $\pm$ 1.15	27.03 $\pm$ 1.28	29.08 $\pm$ 1.56	31.62 $\pm$ 1.49	33.66 $\pm$ 1.71 [#]	35.74 $\pm$ 2.02 [#]	37.87 $\pm$ 2.48 [#]
β -石竹烯中剂量组	100	25.66 $\pm$ 0.81	27.53 $\pm$ 1.22	29.73 $\pm$ 1.40 [#]	32.21 $\pm$ 1.57 [#]	34.49 $\pm$ 1.89 ^{##}	36.80 $\pm$ 2.12 ^{##}	38.88 $\pm$ 2.31 ^{##}
β -石竹烯高剂量组	200	25.72 $\pm$ 0.99	27.71 $\pm$ 1.03	29.71 $\pm$ 1.30 [#]	32.43 $\pm$ 1.70 ^{##}	34.74 $\pm$ 2.04 ^{##}	37.43 $\pm$ 2.30 ^{##}	39.58 $\pm$ 2.35 ^{##}

注:与空白对照组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$ 。

本研究在造模与给药期间每周定期检测各组动物的体质量变化。如表2所示,本研究发现,与空白对照组比较,模型组小鼠第1~6周的体质量显著性降低($P < 0.01$);与模型组比较,氟西汀组和 β -石竹烯低剂量组第4~6周的体质量显著性升高($P < 0.05, P < 0.01$), β -石竹烯中、高剂量组第2~6周的体质量显著性升高($P < 0.05, P < 0.01$);且并未表现出性别差异。此结果表明,CUMS处理导致小鼠的体质量显著下降,符合临床抑郁症患者体重降低的表现^[16]。而经氟西汀或 β -石竹烯干预后,抑郁动物的体质量均明显升高,提示 β -石竹烯具有与氟西汀相似的抗抑郁作用,但此效应还需更多的数据支撑。

2.2 β -石竹烯对抑郁小鼠强迫游泳行为学的影响

行为学的强迫游泳实验模拟了抑郁患者因无法脱离困境而放弃挣扎的绝望感,在抑郁研究中应用广泛。该测试中,实验动物在水箱中的静止不动时间与其绝望感和抑郁水平呈正比^[17]。本研究运用强迫游泳行为学评价小鼠的抑郁水平,如图 1 所示,与空白对照组比较,模型组小鼠的不动时间显著性增加($P<0.01$);与模型组比较,氟西汀组、 β -石竹烯低、中、高剂量组的不动时间均显著性减少($P<0.01$)。此结果表明,CUMS 处理的小鼠其抑郁水平明显升高,该抑郁模型构建成功。而 β -石竹烯能够有效降低抑郁动物的绝望感,具有一定的抗抑郁作用,且 β -石竹烯中、高剂量表现出了比经典抗抑郁药氟西汀更好的抗抑郁效应。

2.3 β -石竹烯对抑郁小鼠旷场行为学的影响

旷场实验是基于探索的行为学测试手段,抑郁动物对于旷场环境的好奇心弱、探索欲低,其运动总距离、平均速度、站立次数等相关指标明显减少^[18]。本研究运用旷场行为学评价小鼠的抑郁水平,进一步讨论 β -石竹烯抗抑郁的药效作用。如图 2 所示,与空白对照组比较,模型组小鼠的运动总距离、平均速度和站立次数均显著性减少($P<0.01$);与模型组比较,氟西汀组、 β -石竹烯低、中、高剂量组的运动总距离、平均速度和站立次数均显著性增加($P<0.05, P<0.01$)。此结果表明,CUMS 处理可以减少小鼠的探索行为,而 β -石竹烯的干预能够显著提高动物对新奇环境的探索欲,具有一定的抗抑郁作用,这与本研究中强迫游泳行为学的检测结果一致。同时, β -石竹烯中、高剂量的效果优于氟西汀。这一结果对于临床上使用 β -石竹烯改善个体抑郁情绪具有一定的指导意义,但临床使用剂量还需更深入的研究确定。

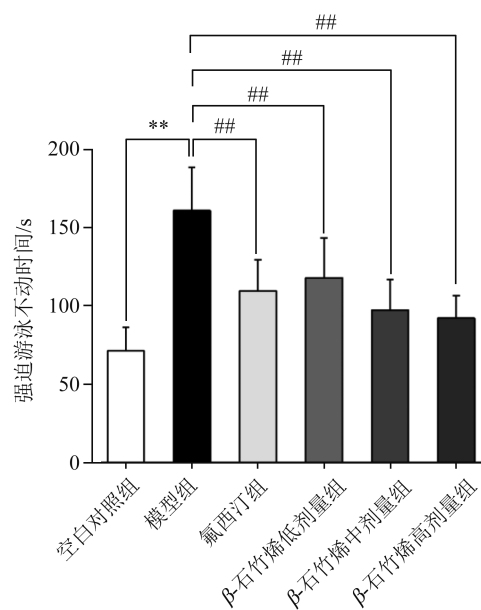
2.4 β -石竹烯对抑郁小鼠海马区形态学的影响

海马是脑内边缘系统的重要组成部分之一,是情绪整合和高级精神活动中枢,也是抑郁症病理改变的关键脑区之一^[19]。本研究通过 HE 染色观察各组小鼠海马区神经元形态学变化。如图 3 所示,空白对照组小鼠海马 CA1 区神经元排布整齐致密,形态规则,结构完整,细胞核边界清晰,胞质饱满。与空白对照组比较,模型组神经元排列疏松、分布散乱,细胞间隙较大,坏死细胞增多,细胞核边界模糊,胞质呈空泡化,形态结构损伤明显。与模型组比较,氟西汀组、 β -石竹烯低、中、高剂量组神经元结构损伤得到明显改善,排列较整齐紧密,坏死细胞少,细胞核边界较清晰,胞质空泡化现象少。此结果表明,CUMS 所致抑郁小鼠,其海马区神经元形态结构损伤明显,与既往报道相符^[20]。而 β -石竹烯能够明显改善抑郁引起的海马神经元形态损伤,提示 β -石竹烯拮抗抑郁的机制可能与促进神经系统的损伤修复有关。

2.5 β -石竹烯对抑郁小鼠海马区 SYP、GDNF 及 NGF 表达水平的影响

抑郁的发生机制涉及生理、心理、生活环境等多种因素,其中神经突触可塑性扮演了重要角色^[4,21]。突触是不同神经元之间在结构上相互连接的部位,也是在功能上发生联系、进行信息传递的关键部位。而突触可塑性是突触在面对内外环境变化时,其结构和功能拥有可修饰与可改变的能力^[5]。正是依赖此种特性,神经系统才能够在持续一生的发育进程中,维护正常且稳定的生理结构及功能。突触可塑性被广泛认为参与了多种神经系统高级功能的调控过程,如感觉、情绪、认知,且也是焦虑、抑郁等精神障碍的病理基础^[22-23]。

研究表明,抑郁个体神经系统突触的形态结构和功能发挥均出现明显损伤,而这与突触可塑性相关蛋白的表达异常密切相关^[24]。SYP、GDNF 与 NGF 是突触可塑性相关的重要分子标志物。其中,SYP 作为存在



注:与空白对照组比较, ** $P<0.01$;与模型组比较, ## $P<0.01, X \pm SD, n=12$ 。

图 1 β -石竹烯对抑郁小鼠强迫游泳不动时间的影响

Fig. 1 The effect of β -caryophyllene on forced swimming immobility time of depressed mice

于突触囊泡膜上的一种特异性糖蛋白,可通过与 Ca^{2+} 进行特异性结合以调控神经递质的释放,参与突触的重塑和突触结构稳定性的维持,其含量可反映突触的密度、分布及传递效能^[25]。GDNF 是一类在海马区高表达的多效能神经营养因子,而 NGF 为神经生长因子家族的重要成员之一,GDNF 与 NGF 均具有营养促进神经再生和突触形成的功能,在神经系统损伤及突触可塑性损伤后修复中发挥重要作用^[26-27]。大量临床前和临床研究发现,抑郁个体海马区 SYP 等突触可塑性相关基因表达下调,并伴有神经元萎缩、以及突触结构和功能的改变^[28-29]。而给予氟西汀等经典抗抑郁药物治疗后,机体海马区突触可塑性相关蛋白表达水平明显升高,突触可塑性损伤得到有效改善^[30]。

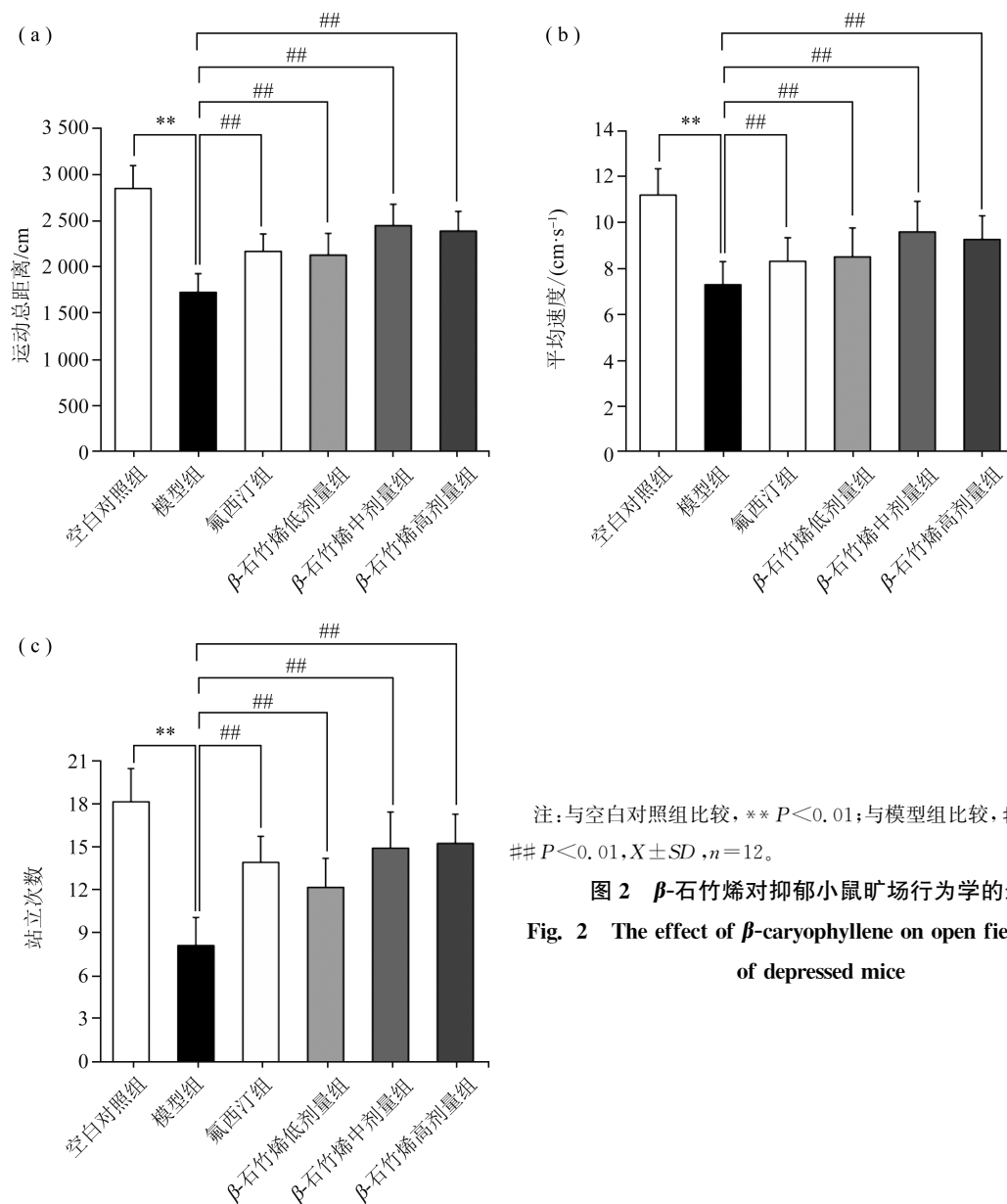


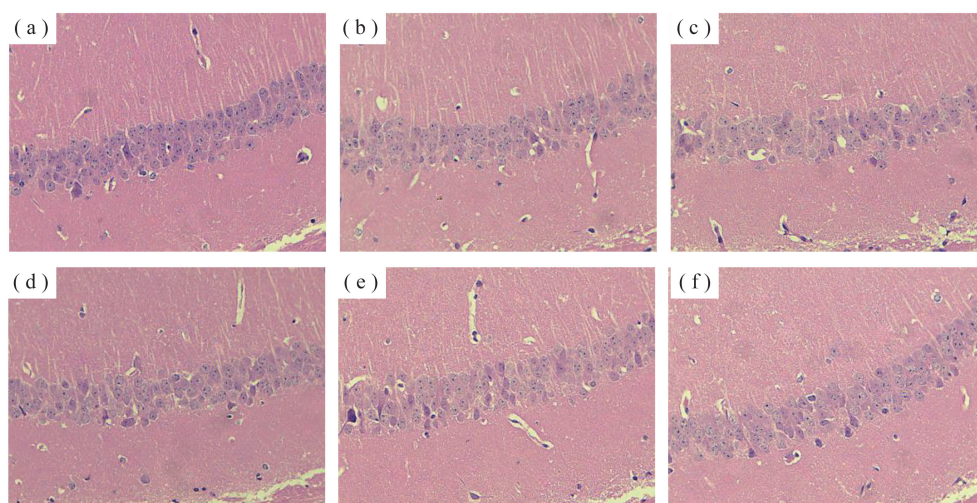
图2 β -石竹烯对抑郁小鼠旷场行为学的影响

Fig. 2 The effect of β -caryophyllene on open field behavior of depressed mice

本研究利用 ELISA 检测实验动物海马区各突触可塑性相关蛋白表达水平,如图 4 所示,与空白对照组比较,模型组小鼠海马区 SYP、GDNF 及 NGF 表达水平显著性降低($P < 0.01$);与模型组比较,氟西汀组、 β -石竹烯低、中、高剂量组小鼠海马区 SYP、GDNF 及 NGF 表达水平显著性升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。此结果表明,抑郁小鼠海马区突触可塑性确有受损,而 β -石竹烯能够有效增加抑郁小鼠海马区突触可塑性相关蛋白 SYP、GDNF 及 NGF 的表达,提示 β -石竹烯的抗抑郁作用可能是通过逆转海马突触可塑性损伤实现的。此外, β -石竹烯的这一效应具有剂量依赖性, β -石竹烯中、高剂量的效应与氟西汀相似或略优于氟西汀,这与本研究的行为学结果基本相符。

2.6 β -石竹烯对抑郁小鼠海马区 MAP2 表达水平的影响

MAP2 是一种神经元特异性的细胞骨架蛋白,参与调节神经元轴突和树突的生长、分化和凋亡,在突触可塑性的维持过程中起到了关键作用^[31]。研究证明,抑郁患者经有效治疗后,其抑郁样行为明显减少,且伴随着海马区 MAP2 表达上调和突触数量明显增多^[32]。为了确认 β -石竹烯的抗抑郁作用与调节突触可塑性的关系,本研究利用免疫荧光检测实验动物海马区 MAP2 的表达水平。如图 5 所示,与空白对照组比较,模型组小鼠海马 CA1 区 MAP2 表达水平显著性降低($P<0.01$);与模型组比较,氟西汀组、 β -石竹烯低、中、高剂量组小鼠 CA1 区 MAP2 表达水平显著性升高($P<0.01$)。此结果进一步表明, β -石竹烯的抗抑郁作用与促进突触可塑性相关蛋白表达、修复突触可塑性损伤有关。



注:(a) 空白对照组;(b) 模型组;(c) 氟西汀组;(d) β -石竹烯低剂量组;(e) β -石竹烯中剂量组;(f) β -石竹烯高剂量组,HE 染色, $\times 400$ 。

图 3 β -石竹烯对抑郁小鼠海马 CA1 区形态学的影响

Fig. 3 The effect of β -caryophyllene on morphology of hippocampal CA1 region of depressed mice

目前对于 β -石竹烯改善抑郁个体突触可塑性损伤的具体分子机制尚未明确。研究发现,磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)信号通路是调节神经突触可塑性的关键通路,且在前额叶皮质、海马等情绪相关区域中广泛活跃。PI3K/Akt 通路可通过增加突触相关蛋白合成和细胞骨架发育来促进树突生长和分支^[33]。然而在应激条件下,PI3K/Akt 信号通路传导减弱,由其调节的哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(Mammalian Target of Rapamycin, mTOR)磷酸化水平降低,导致下游 SYP、MAP2 等突触可塑性蛋白的转录减少,进一步引发抑郁等中枢神经系统疾病^[34]。大量的临床和临床前证据也已证实 PI3K/Akt 在抑郁症发生中的重要作用,调节 PI3K/Akt 通路以改善突触可塑性可能是缓解或治疗抑郁症状的关键途径^[35-36]。而 β -石竹烯的抗抑郁作用是否通过靶向 PI3K/Akt 通路,来调控海马区中 SYP、GDNF、NGF、MAP2 等突触可塑性相关蛋白的表达,有待后续的深入研究确定。

3 结论

本研究通过 CUMS 构建小鼠抑郁模型,探讨 β -石竹烯对抑郁小鼠行为学及突触可塑性相关蛋白表达的影响,研究 β -石竹烯的抗抑郁作用及作用机制。实验结果表明, β -石竹烯能够明显增加抑郁模型小鼠的体质量、显著降低其绝望感、并增加探索行为,有效抑制了小鼠的抑郁样行为。同时, β -石竹烯可以明显修复抑郁小鼠海马区神经元形态损伤、增加海马区 SYP、GDNF、NGF 及 MAP2 表达。以上结果表明, β -石竹烯具有一定的抗抑郁作用,其作用机制可能与提高海马区突触可塑性相关蛋白表达水平、改善突触可塑性损伤有关,但其详细突触可塑性损伤保护机制有待进一步深入研究。本研究结果补充了 β -石竹烯抗抑郁的理论基础,为其临床合理应用及相关药物开发提供科学依据。

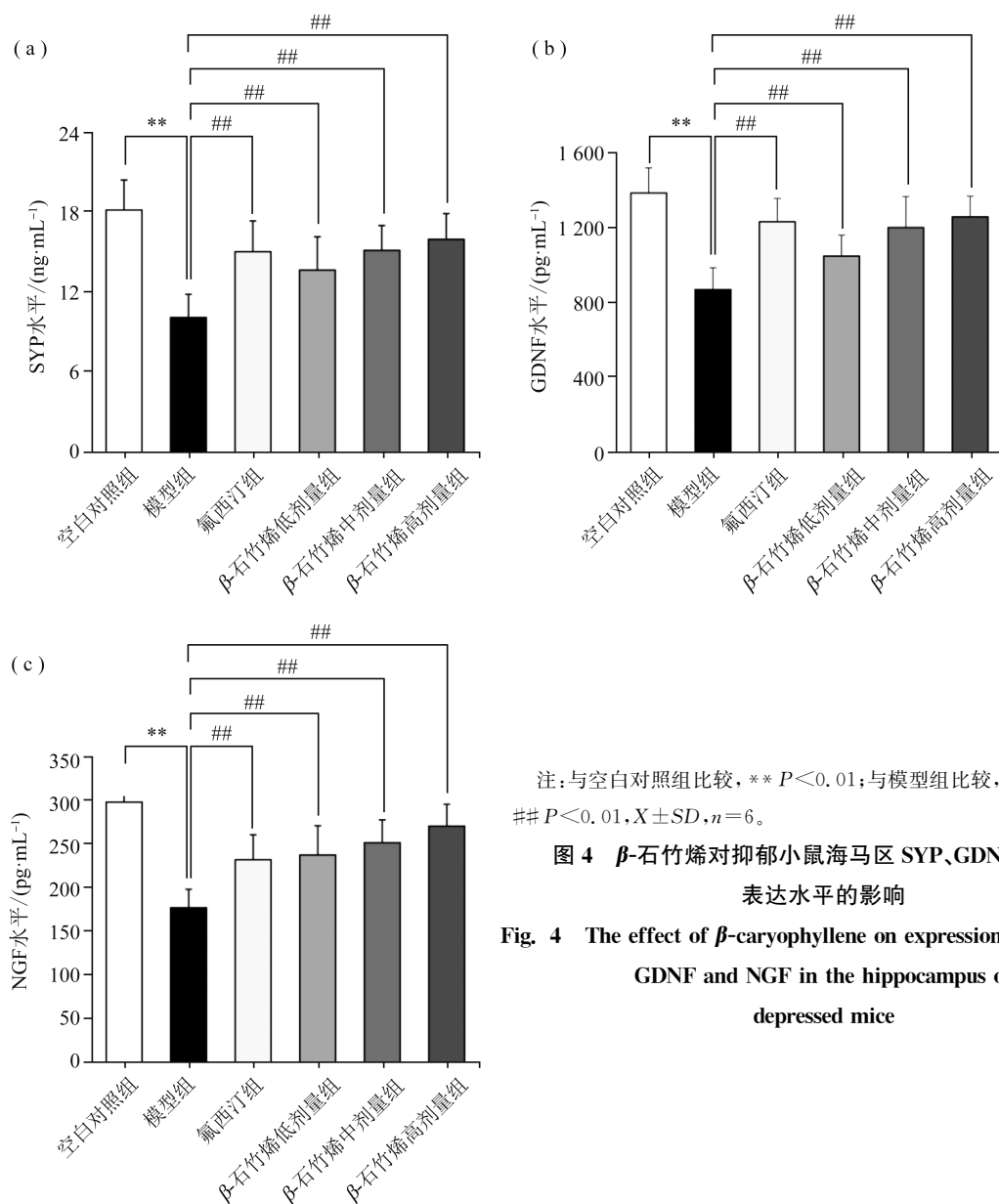
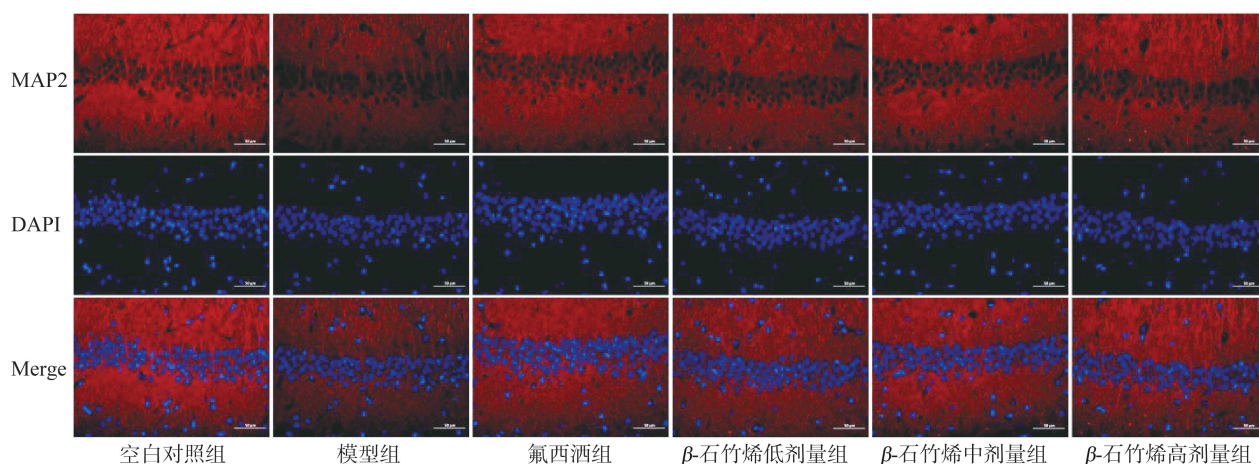
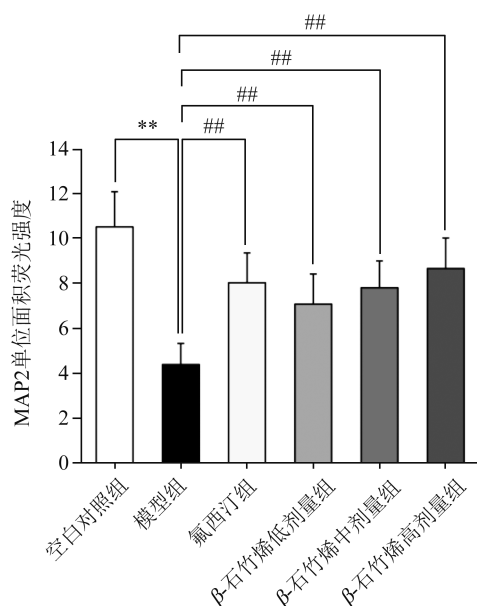


图4 β -石竹烯对抑郁小鼠海马区 SYP、GDNF 及 NGF 表达水平的影响

Fig. 4 The effect of β -caryophyllene on expression levels of SYP, GDNF and NGF in the hippocampus of depressed mice





注:与空白对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ## $P < 0.01$, IF, $\times 400$, $\bar{X} \pm SD$, $n=6$ 。

图5 β -石竹烯对抑郁小鼠海马区 MAP2 表达水平的影响

Fig. 5 The effect of β -caryophyllene on expression levels of MAP2 in the hippocampus of depressed mice

参 考 文 献

- [1] DUBOVSKY S L, GHOSH B M, SEROTTE J C, et al. Psychotic depression: diagnosis, differential diagnosis, and treatment[J]. Psychotherapy Psychosomatics, 2021, 90(3): 160-177.
- [2] MALHI G S, MANN J J. Depression[J]. The Lancet, 2018, 392(10161): 2299-2312.
- [3] World Health Organization. Depression and other common mental disorders: global health estimates[R]. Geneva: WHO, 2017.
- [4] 尹一淑, 刘军莲, 王佳平, 等. 抑郁症相关发病机制研究进展[J]. 医学综述, 2022, 28(12): 2368-2372.
- [5] ZENG M L, CHEN X D, GUAN D S, et al. Reconstituted postsynaptic density as a molecular platform for understanding synapse formation and plasticity[J]. Cell, 2018, 174(5): 1172-1187.
- [6] KHAN A R, GEIGER L, WIBORG O, et al. Stress-induced morphological, cellular and molecular changes in the brain-lessons learned from the chronic mild stress model of depression[J]. Cell, 2020, 9(4): 1026.
- [7] 刘洋, 李萍, 杨蕙, 等. 左归降糖解郁方改善糖尿病并发抑郁症大鼠 N-甲基 D-天冬氨酸受体过激致海马突触损伤的作用机制[J]. 中草药, 2023, 54(19): 6323-6335.
- [8] HASHIESH H M, SHARMA C, GOYAL S N, et al. A focused review on CB2 receptor-selective pharmacological properties and therapeutic potential of β -caryophyllene, a dietary cannabinoid[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2021, 140: 111639.
- [9] WITTIG F, KOCH F, PANNENBERG L, et al. β -caryophyllene inhibits endothelial tube formation by modulating the secretome of hypoxic lung cancer cells-possible role of VEGF downregulation[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(2): 810.
- [10] BRAND-RUBALCAVA P A, TEJEDA-MARTINEZ A R, GONZÁLEYNASO O, et al. β -Caryophyllene decreases neuroinflammation and exerts neuroprotection of dopaminergic neurons in a model of hemiparkinsonism through inhibition of the NLRP3 inflammasome[J]. Parkinsonism & Related Disorders, 2023, 117: 105906.
- [11] DE OLIVEIRA D R, DASILVA D M, FLORENTINO I F, et al. Monoamine involvement in the antidepressant-like effect of β -caryophyllene[J]. CNS & Neurological Disorders Drug Targets, 2018, 17(4): 309-320.
- [12] HWANG E S, KIM H B, LEE S, et al. Antidepressant-like effects of β -caryophyllene on restraint plus stress-induced depression[J]. Behavioural Brain Research, 2020, 17: 380: 112439.
- [13] DA SILVA O G L, DA SILVA J C C L, DOS SANTOS C L, et al. Anticonvulsant, anxiolytic and antidepressant properties of the β -caryophyllene in swiss mice: involvement of benzodiazepine-GABAergic, serotonergic and nitrgergic systems[J]. Current Molecular Pharmacology, 2021, 14(1): 36-51.
- [14] LI K W, YAN L, ZHANG Y P, et al. Seahorse treatment improves depression-like behavior in mice exposed to CUMS through reducing inflammation/oxidants and restoring neurotransmitter and neurotrophin function[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2020, 250: 112487.
- [15] EZURIKE P U, ODUNOLA E, OKE T A, et al. Ganoderma lucidum ethanol extract promotes weight loss and improves depressive-like behaviors in male and female Swiss mice[J]. Physiology & Behavior, 2023, 265: 114155.
- [16] KIM H, JUNG J H, HAN K, et al. Weight change in people with depression and the risk of dementia: a nationwide cohort study[J].

- Psychological Medicine, 2024, 54(7): 1284-1293.
- [17] ZHANG Y H, WANG N, LIN X X, et al. Application of cognitive bias testing in neuropsychiatric disorders: a mini-review based on animal studies[J]. Frontiers in Behavioral Neuroscience, 2022, 16: 924319.
- [18] 卢宇佳, 张珊, 赵谦, 等. 啮齿类动物抑郁相关行为学评价[J]. 实验动物科学, 2023, 40(6): 87-93.
- [19] 黄会珍, 赵洪庆, 王宇红. 边缘系统与抑郁症关系的研究进展[J]. 神经解剖学杂志, 2019, 35(3): 329-333.
- [20] 韩朝军, 袁诗宇, 曹珊珊, 等. 滋水清肝饮对脂多糖诱导的抑郁小鼠的改善作用及对 ERK/NF- κ B 通路的影响[J]. 药物评价研究, 2024, 47(5): 1042-1050.
- [21] DUMAN R S, AGHAJANIAN G K, SANACORA G, et al. Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants[J]. Nature Medicine, 2016, 22(3): 238-249.
- [22] LI Q Q, CHEN J, HU P, et al. Enhancing GluN2A-type NMDA receptors impairs long-term synaptic plasticity and learning and memory[J]. Molecular Psychiatry, 2022, 27(8): 3468-3478.
- [23] WU Q L, GAO Y, LI J T, et al. The role of AMPARs composition and trafficking in synaptic plasticity and diseases[J]. Cellular and Molecular Neurobiology, 2022, 42(8): 2489-2504.
- [24] WANG W J, WANG L H, WANG L Y, et al. Ginsenoside-Rg1 synergized with voluntary running exercise protects against glial activation and dysregulation of neuronal plasticity in depression[J]. Food & Function, 2023, 14(15): 7222-7239.
- [25] SILVA R H, PEDRO L C, MANOSSO L M, et al. Pre-and Post-Synaptic protein in the major depressive Disorder: from neurobiology to therapeutic targets[J]. Neuroscience, 2024, 556: 14-24.
- [26] 李校堃, 刘旭, 刘建华, 等. 细胞生长因子在神经康复与神经可塑性中的研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2022, 28(2): 175-182.
- [27] LIN X W, REN P, XUE Z Y, et al. Astrocytic GDNF ameliorates anesthesia and surgery-induced cognitive impairment by promoting hippocampal synaptic plasticity in aged mice[J]. Neurochemistry International, 2024, 177: 105765.
- [28] CHANG J, YANG H M, SHAN X Q, et al. Bergamot essential oil improves CUMS-induced depression-like behaviour in rats by protecting the plasticity of hippocampal neurons[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2024, 28(8): e18178.
- [29] 李会涛, 李剑男, 张桐, 等. 酸枣仁皂苷 A 对抑郁小鼠行为及突触可塑性相关蛋白的作用[J]. 现代食品科技, 2024, 40(2): 36-43.
- [30] QIAN X, ZHONG Z D, ZHANG Y, et al. Fluoxetine mitigates depressive-like behaviors in mice via anti-inflammation and enhancing neuroplasticity[J]. Brain Research, 2024, 1825: 148723.
- [31] CARIO A, BERGER C L. Tau, microtubule dynamics, and axonal transport: new paradigms for neurodegenerative disease[J]. BioEssays, 2023, 45(8): 2200138.
- [32] HATTIANGADY B, KURUBA R, SHUAI B, et al. Hippocampal neural stem cell grafting after status epilepticus alleviates chronic epilepsy and abnormal plasticity, and maintains better memory and mood function[J]. Aging and Disease, 2020, 11(6): 1374-1394.
- [33] ODIERNA G L, KERWIN S K, HARRIS L E, et al. Dscam2 suppresses synaptic strength through a PI3K-dependent endosomal pathway[J]. The Journal of Cell Biology, 2020, 219(6): e201909143.
- [34] CHEN Y, GUAN W, WANG M L, et al. PI3K-AKT/mTOR signaling in psychiatric disorders: a valuable target to stimulate or suppress? [J]. International Journal of Neuropsychopharmacology, 2024, 27(2): pyae010.
- [35] GUO N, WANG X, XU M, et al. PI3K/AKT signaling pathway: molecular mechanisms and therapeutic potential in depression[J]. Pharmacological Research, 2024, 206: 107300.
- [36] WU Y H, ZHU Z P, LAN T, et al. Levomilnacipran improves lipopolysaccharide-induced dysregulation of synaptic plasticity and depression-like behaviors via activating BDNF/TrkB mediated PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. Molecular Neurobiology, 2024, 61(7): 4102-4115.

(责任编辑:刘庆松)