

· 论 著 ·

用皮质酮替代饮水小鼠模型评价盐酸羟哌吡酮的抗抑郁效应及机制

房鑫鑫¹, 麻 慧², 鲍金豪², 王 川⁴, 李云峰², 张黎明³, 聂 晶¹

(1. 遵义医科大学基础药理教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室, 贵州 遵义 563099;
军事科学院军事医学研究院 2. 军事认知与脑科学研究所, 3. 毒物药物研究所, 北京 100850;
4. 河北北方学院研究生院, 河北 张家口 075000)

摘要: 目的 制备皮质酮(CORT)替代饮水小鼠抑郁样模型, 评价盐酸羟哌吡酮(代号: YL-0919)的抗抑郁效应及可能机制。方法 选用成年雄性 C57BL/6 小鼠, 随机分为正常对照组与 CORT 替代饮水组, 其中正常对照组正常饮水, CORT 替代饮水组饮用 CORT 半琥珀酸酯水溶液(25 mg·L⁻¹)。饲养 21 d 后进行蔗糖偏好实验(SPT), 随后将 CORT 替代饮水组小鼠随机分为模型组、模型+YL-0919(1.25, 2.5 和 5 mg·kg⁻¹)组和模型+氟西汀(Flx, 10 mg·kg⁻¹)组, 慢性 ig 给药 16 d。先后采用旷场实验(OFT)、强迫游泳实验(FST)、悬尾实验(TST)、新物体识别实验(NORT)、新奇抑制摄食实验(NSFT)和 SPT 评价 YL-0919 抗抑郁效应; 采用免疫荧光法检测双侧海马齿状回双皮质素(DCX)阳性细胞数; Western 印迹法检测双侧海马组织内突触后致密蛋白 95(PSD95)表达水平。结果 与正常对照组相比, 模型组小鼠在 FST 和 TST 中的不动时间显著增加($P<0.01$), 在 SPT 中蔗糖偏好度显著降低($P<0.01$), 在 NSFT 中摄食潜伏期显著增加($P<0.01$), 在 OFT 中心区累计停留时间明显缩短($P<0.01$), 在 NORT 中小鼠物体识别指数显著下降($P<0.01$); 免疫荧光和 Western 印迹法检测结果表明, 与正常对照组相比, 模型组小鼠海马齿状回 DCX 阳性细胞数显著减少($P<0.05$), PSD95 表达水平显著下调($P<0.01$)。与模型组相比, 模型+YL-0919 组和模型+Flx 组小鼠上述变化均明显逆转($P<0.05$)。结论 YL-0919 慢性给药在 CORT 替代饮水小鼠抑郁样模型中具有抗抑郁效应, 该效应可能与促进海马神经可塑性密切相关。

关键词: 抑郁症; 盐酸羟哌吡酮; 皮质酮; 海马; 神经可塑性

中图分类号: R964, R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1000-3002-(2022)05-0329-09

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2022.05.002

随着现代社会竞争的日益激烈, 抑郁症等情感性疾病的发病率逐年升高, 据 WHO 调查, 预计到 2030 年, 抑郁症将成为疾病总负担排名首位^[1]。因抑郁症具有高发病、高自杀、高复发、高致残率和低识别、低就诊、低治疗率等特点, 目前已成为全球性严重的公共卫生问题和突出的社会问题^[1]。目前一线抗抑郁药是基于 20 世纪 60 年代“经典单胺理论(策略)”研发, 普遍存在起效时间延迟(2~6 周)、有效率不高(50%~70%)、缺乏认知改善作用甚至损害认知、导致性功能障碍及自杀倾向等明显缺陷, 因此发展起效快、副作用低的新型抗抑郁药是目前

全球性重大需求和热点。

应激可导致下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA)功能亢进, 继而引起皮质酮(corticosterone, CORT)水平持续升高, 是抑郁症患者常见的生物学异常指标^[2], 同时可能也是抑郁症的重要发病机制之一^[3]。既往研究证实, 长期 sc 给予 CORT 可导致显著的抑郁样行为^[4], 但给药途径繁琐, 脂溶性介质引起局部刺激症状显著, 且 sc 注射的抓取应激对动物行为学结果存在影响, 这些缺陷限制了该模型的广泛使用。

本研究在长期 sc 给予 CORT 致抑郁模型的基础上进行优化, 所采用的 CORT 半琥珀酸酯(CORT hemisuccinate, CORTH)易溶于水, 操作简单。文献报道, 氟胺酮可以逆转 CORT 替代饮水对小鼠悬尾实验(tail suspension test, TST)中不动时间的增加、蔗糖偏好度的降低、高架十字迷宫开

基金项目: 国家自然科学基金(81773708); 国家自然科学基金(81173036)

作者简介: 房鑫鑫, 硕士研究生, 主要从事神经精神药理学研究, E-mail: claudfang@163.com

通讯作者: 张黎明, E-mail: zhanglm0308@163.com; 聂 晶, E-mail: 27497820@qq.com

放臂进入次数的减少等行为学指标的影响,表现出显著的抗抑郁、抗焦虑样效应,再次验证了该模型的预测有效性^[5-6]。

盐酸羟哌吡酮(hypidone hydrochloride,代号:YL-0919)是全新结构的小分子化合物,在多种动物模型上均具有抗抑郁、抗焦虑和促认知效应^[7-11]。本研究拟利用改良的 CORT 替代饮水致抑郁样模型进一步评价和探讨其抗抑郁效应及可能机制。

1 材料与方法

1.1 药品、试剂和仪器

YL-0919(批号:D5222-16-1202,纯度99.9%),军事医学研究院毒物药物研究所;盐酸氟西汀(fluxetine hydrochloride, Flx,批号:F2008083,纯度>98%),上海阿拉丁生化科技有限公司;CORT(H B2599),美国 Steraloids 公司;兔抗小鼠突触后致密蛋白(PSD95)单克隆抗体、兔抗小鼠双皮质素(doublecortin, DCX)多克隆抗体和红色荧光标记山羊抗兔 IgG 抗体,美国 CST 公司;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 抗体,北京中杉金桥公司。电子分析天平,德国赛托利斯公司;小鼠旷场实验装置、悬尾与强迫游泳实验装置,深圳瑞沃德生命科技有限公司;荧光显微镜,日本奥林巴斯公司;凝胶电泳相关器材,美国伯乐公司。

1.2 实验动物

8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠,SPF 级,购于北京斯贝福生物技术有限公司,动物许可证号:SCXK(京)2019-0010;小鼠每笼 5 只饲养,自由进食饮水,饲养温度 20~24℃,湿度 40%~60%,12 h 黑暗/白昼交替照明(光照时间 8:00~20:00),适应性饲养 14 d 后开始实验。动物实验及相关操作获军事医学研究院实验动物伦理委员会批准。

1.3 皮质酮替代饮水小鼠模型的制备

小鼠分为正常对照组和 CORT 替代饮水组,实验方案如图 1 所示。正常对照组小鼠给予正常饮用水,CORT 替代饮水组小鼠给予 CORT 25 mg·L⁻¹ 水溶液。每天同一时间更换新鲜配置的 CORT 溶液,并记录小鼠饮水量^[12]。

CORT 替代饮水 21 d 后,利用蔗糖偏好实验(sucrose preference test, SPT)验证 CORT 替代饮水小鼠模型造模效果,随后将 CORT 替代饮水组小鼠随机分为模型组(ig 给予同体积双蒸水)、模型+Flx(10 mg·kg⁻¹, ig)组和模型+YL-0919(1.25, 2.5 和 5 mg·kg⁻¹, ig)组。

1.4 行为学测试

1.4.1 蔗糖偏好实验

分别于给药前和给药第 14 天进行 SPT。实验开始前进行糖水训练:首先给予小鼠 2 瓶饮用水,使其自由饮用,适应 24 h 后,更换为 2 瓶 1% 蔗糖溶液,再适应 24 h。适应结束后,进行小鼠 SPT 测试:小鼠禁水 16 h(在此期间不限制摄食),之后给予小鼠饮用水和 1% 蔗糖溶液各 1 瓶,称重记录 2 h 内小鼠对饮用水及蔗糖溶液的消耗质量。蔗糖偏嗜度=蔗糖溶液消耗质量/(饮用水消耗质量+蔗糖溶液消耗质量)^[13]。

1.4.2 旷场实验(open field test, OFT)

连续给药第 7 天进行 OFT^[14]。将小鼠面向实验箱壁放入实验箱(41 cm×41 cm×41 cm,底部均分为 16 小格,其上方 45 cm 处放置一 60 W 灯泡照明),自由活动 5 min。采用 SMART 视频分析软件对小鼠运动距离进行分析,以反映小鼠自发活动,同时对小鼠进入中心区累计停留时间进行统计。

1.4.3 小鼠强迫游泳实验(forced swimming test, FST)

连续给药第 8 天进行 FST^[15]。将小鼠置透明

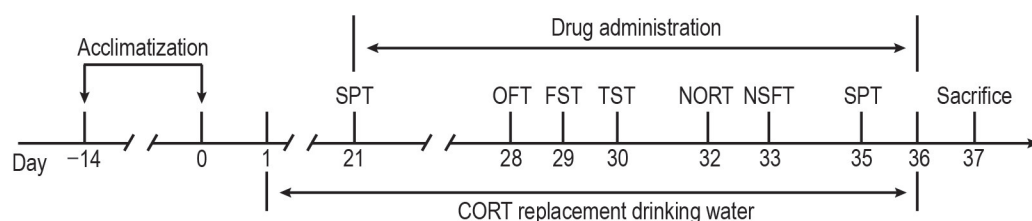


Fig.1 Schedule of treatment and behavior tests for corticosterone (CORT) replacement drinking water model in mice. Adult male C57BL/6 mice were randomly divided into the normal control group and corticosterone replacement drinking water group. The corticosterone replacement drinking water group replaced water into CORT hemisuccinate solution over the course of the experiment. Mice were ig given fluoxetine (Flx, 10 mg·kg⁻¹), hydroxypiperone hydrochloride (YL-0919, 1.25, 2.5 and 5 mg·kg⁻¹) or water (normal control and model group) once per day from the first sucrose preference test for 16 d. SPT: sucrose preference test; OFT: open field test; FST: forced swimming test; TST: tail suspension test; NORT: novel object recognition test; NSFT: novelty-suppressed feeding test.

玻璃缸(直径 15 cm,高 22 cm)中,水温 24℃,水深 16 cm,每只小鼠游泳 6 min,统计后 4 min 小鼠累计不动时间。各玻璃缸间均用黑色不透明塑料板遮挡,避免动物相互间视觉干扰。

1.4.4 小鼠悬尾实验

连续给药第 9 天进行 TST^[16]。在距离小鼠尾尖约 1.5 cm 处,使用胶带将鼠尾固定并悬挂在距离地面 50 cm 的悬尾箱中,测试持续 6 min,统计后 4 min 小鼠累计不动时间。

1.4.5 新物体识别实验(novel object recognition test, NORT)

连续给药第 11 天进行 NORT^[17]。实验前 2 d 进行适应性训练,在旷场箱内对称位置,放置 2 个完全相同的物体,将小鼠按照 OFT 放置位置放入箱内进行 5 min 自由探索。第 2 天进行 NORT,将箱内其中 1 个旧物体更换为 1 个全新物体(颜色、形状、材质均与旧物体不同,但大小与旧物体相似),将小鼠按之前位置放入箱内,自由探索 5 min。分别统计小鼠探索新、旧物体的累计时间,计算识别指数。识别指数=新物体探索时间/(新物体探索时间+旧物体探索时间)。

1.4.6 新奇抑制摄食实验(novelty suspended feeding test, NSFT)

连续给药第 12 天进行小鼠 NSFT^[17]。小鼠更换垫料并禁食 16 h(饮水不限),测试开始前将小鼠置全新安静环境中适应 30 min(与小鼠饲养环境及其他测试环境均不同)。在 41 cm×51 cm×21 cm 测试箱内铺设约 1 cm 厚干净垫料,在测试箱内中间位置放置 5 粒食丸。测试时将小鼠面向箱壁放入,记录小鼠 5 min 内第 1 次摄食的潜伏期。

1.5 免疫荧光检测小鼠海马齿状回 DCX 阳性细胞数

小鼠行为学检测后,用 1% 戊巴比妥钠(50 mL·kg⁻¹, ip)将小鼠麻醉,从左心室经升主动脉先后灌入 50 mL 预热(35~37℃)0.9% 生理盐水和 50 mL 预冷(4℃)4% 多聚甲醛溶液。随后取脑,置 4% 多聚甲醛溶液中,4℃ 后固定 24 h;分别置 4℃ 20% 和 30% 蔗糖溶液中浸泡脱水,用 OCT 包埋固定,用冰冻切片机切片,厚度为 30 μm,贴片后冻存于-20℃ 备用。

实验当天,在 12 孔板内加入适量 PBS(0.01 mmol·L⁻¹),将脑片放入其中,室温振摇漂洗 3 次,每次 5 min。吸去 PBS,加入适量封闭缓冲液,室温轻摇 1.5 h。脑片孵育板中每孔加入 120 μL 抗 DCX 抗体孵育液(1:800),随后置入脑片,4℃ 孵育

过夜;漂洗 3 次后加入 120 μL 二抗孵育液(1:2000),室温轻摇 1.5 h,再次漂洗后封片。使用倒置荧光显微镜观察拍照,使用 Image J 软件分析统计海马齿状回 DCX 阳性细胞数。

1.6 Western 印迹法检测小鼠海马 PSD95 蛋白表达水平

小鼠行为学检测后断头取脑并分离海马,置-80℃ 保存。双侧海马组织加入 100 μL 冰冻的组织匀浆液,超声研磨器研磨 2~3 次,至无肉眼可见块状沉淀,4℃ 静置 30 min 后 4℃ 12 000×g 离心 10 min,取上清,随后进行蛋白定量及分装。采用 10% 预制胶进行 SDS-PAGE 电泳并恒压转印至 PVDF 膜。将 PVDF 膜置封闭缓冲液中室温下摇床轻摇 1 h;加入一抗(抗 PSD95:1:1000;抗 β 肌动蛋白:1:2000),4℃ 摇床孵育过夜;将 PVDF 膜置 TBST 中振摇漂洗 3 次;之后加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 室温孵育 1.5 h;再将 PVDF 膜置 TBST 中振摇漂洗 3 次,每次 10 min。用化学发光成像分析仪显示蛋白条带;将超敏发光 A、B 液按 1:1 比例混合,均匀滴于 PVDF 膜上,1 min 后将 PVDF 膜转移至凝胶成像系统中曝光成像;用 Image J 软件分析蛋白条带积分吸光度值。以目标蛋白与内参蛋白积分吸光度值的比值反映目标蛋白相对表达水平。

1.7 统计学分析

实验结果数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 GraphPad Prism 9 软件进行统计学分析。正常对照组与模型组间比较采用 *t* 检验,模型组与不同剂量药物处理组间比较采用单因素方差分析和 Dunnett's multiple comparisons 检验。*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CORT 替代饮水小鼠抑郁样模型的鉴定

CORT 替代饮水 21 d,小鼠 SPT 结果如图 2 所示。与正常对照组相比,模型组小鼠蔗糖偏嗜度显著下降(*P*<0.01),表现出快感缺失,提示模型组小鼠出现抑郁样行为,CORT 替代饮水小鼠抑郁样模型制备成功。

2.2 YL-0919 对 CORT 替代饮水模型小鼠自发活动的影响

YL-0919 连续给药第 7 天进行 OFT,结果如图 3 所示。各组小鼠运动距离均无显著差异,提示 CORT 替代饮水模型小鼠自发活动无明显变化,模

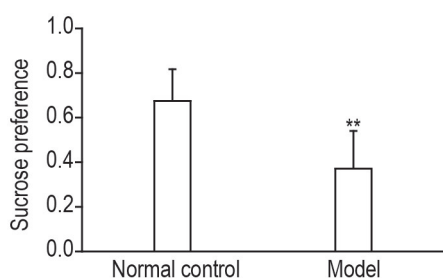


Fig.2 Effect of CORT replacement drinking water on sucrose preference of mice in 2nd SPT. See Fig.1 for the mouse treatment. Sucrose preference was measured as the percentage of sucrose solution intake over regular water and sucrose solution intake. $\bar{x} \pm s$, $n=25$ (normal control group), 125 (model group). ** $P<0.01$, compared with normal control group.

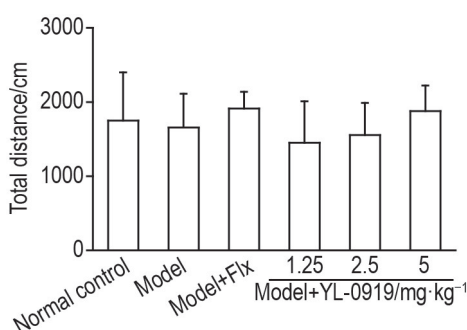


Fig.3 Effect of YL-0919 on total distance on OFT in CORT replacement drinking water model mice. See Fig.1 for the mouse treatment. $\bar{x} \pm s$, $n=25$.

型+Flx组和模型+YL-0919组小鼠自发活动亦无显著变化。

2.3 YL-0919对CORT替代饮水模型小鼠抑郁样行为的影响

YL-0919连续给药第8和9天分别进行FST和TST,结果如图4A和4B所示。与正常对照组相比,模型组小鼠强迫游泳不动时间和悬尾不动时间显著增加($P<0.01$),提示CORT替代饮水模型小鼠出现抑郁样行为;与模型组相比,模型+YL-0919 1.25, 2.5和5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组和模型+Flx组小鼠强迫游泳和悬尾不动时间显著减少($P<0.01$)。

YL-0919连续给药后第12天进行NSFT,结果如图5A所示。与正常对照组相比,模型组小鼠摄食潜伏期明显延长($P<0.01$);与模型组相比,模型+YL-0919各剂量组和模型+Flx组小鼠摄食潜伏期均明显缩短($P<0.01$)。

YL-0919连续给药后第14天进行SPT,结果如图5B所示。与正常对照组相比,模型组小鼠蔗糖偏嗜度显著降低($P<0.01$);与模型组相比,模型+YL-0919各剂组与模型+Flx组小鼠蔗糖偏嗜度均明显升高($P<0.01$)。

以上结果提示, YL-0919可显著逆转CORT替代饮水诱发的抑郁样行为,具有抗抑郁效应。

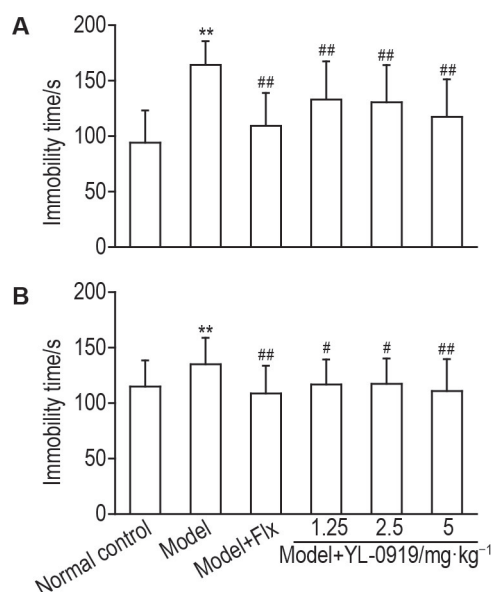


Fig.4 Effect of YL-0919 on immobility time on FST (A) and TST (B) in CORT replacement drinking water model mice. See Fig.1 for the mouse treatment. $\bar{x} \pm s$, $n=25$. ** $P<0.01$, compared with normal control group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$, compared with model group.

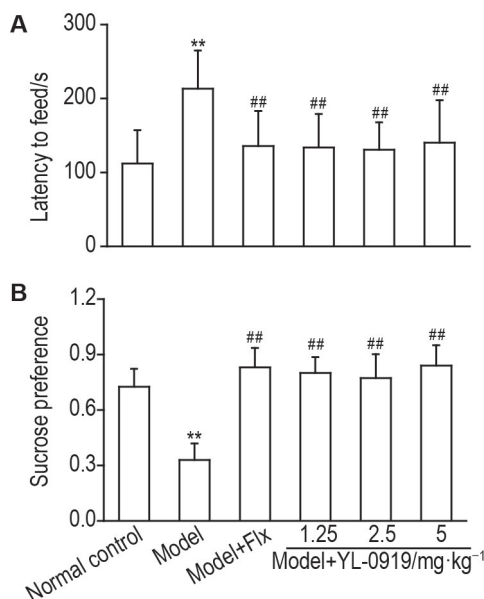


Fig.5 Effect of YL-0919 on latency to feeding (A) on NSFT and sucrose preference (B) on SPT in CORT replacement drinking water model mice. See Fig.1 for the mouse treatment. $\bar{x} \pm s$, $n=25$. ** $P<0.01$, compared with normal control group; ## $P<0.01$, compared with model group.

2.4 YL-0919对CORT替代饮水模型小鼠焦虑样行为的影响

YL-0919连续给药后第7天进行OFT,结果如

图 6 所示。与正常对照组相比,模型组小鼠在旷场中心区累计停留时间明显减少($P<0.01$),提示 CORT 替代饮水模型小鼠出现焦虑样行为;与模型组相比,模型+YL-0919 2.5 mg·kg⁻¹组在旷场中心区累计停留时间明显延长($P<0.01$),提示 YL-0919 可缓解 CORT 替代饮水模型小鼠的焦虑样行为。

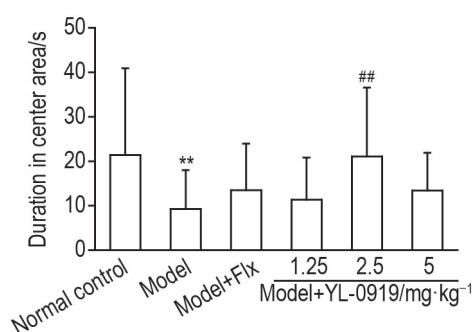


Fig. 6 Effect of YL-0919 on duration in center area on OFT in CORT replacement drinking water model mice. See Fig. 1 for the mouse treatment. $\bar{x} \pm s$, $n=22-25$. ** $P<0.01$, compared with normal control group; ## $P<0.01$, compared with model group.

2.5 YL-0919 对 CORT 替代饮水模型小鼠认知障碍的影响

YL-0919 连续给药后第 10 天进行 NORT, 结果如图 7 所示。与正常对照组相比,模型组小鼠识别指数显著降低($P<0.01$);与模型组相比,模型+YL-0919 5 mg·kg⁻¹组小鼠识别指数显著升高($P<0.05$),提示 YL-0919 可改善 CORT 替代饮水模型小鼠的认知障碍。

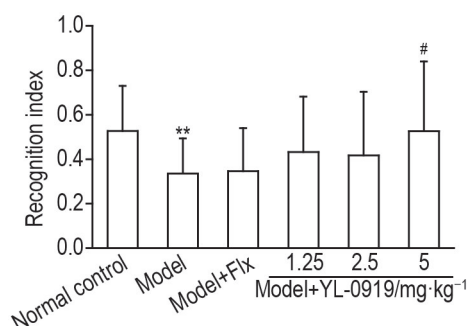


Fig. 7 Effect of YL-0919 on recognition index on NORT in CORT replacement drinking water model mice. See Fig. 1 for the mouse treatment. $\bar{x} \pm s$, $n=20-25$. ** $P<0.01$, compared with normal control group; # $P<0.05$, compared with model group.

2.6 YL-0919 对 CORT 替代饮水模型小鼠海马齿状回 DCX 阳性细胞数和 PSD95 蛋白表达的影响

如图 8 所示,与正常对照组相比,模型组小鼠双侧海马齿状回 DCX 阳性细胞数显著减少($P<0.05$);与模型组相比,模型+YL-0919 2.5 和 5 mg·kg⁻¹组及模型+Flx 组 DCX 阳性细胞数显著增加($P<0.05$, $P<0.01$)。Western 印迹检测结果(图 9)显示,与正常对照组相比,模型组小鼠海马 PSD95 蛋白表达水平显著降低($P<0.01$);模型+YL-0919 1.25, 2.5 和 5 mg·kg⁻¹组及模型+Flx 组 PSD95 蛋白表达水平显著提高($P<0.05$, $P<0.01$)。

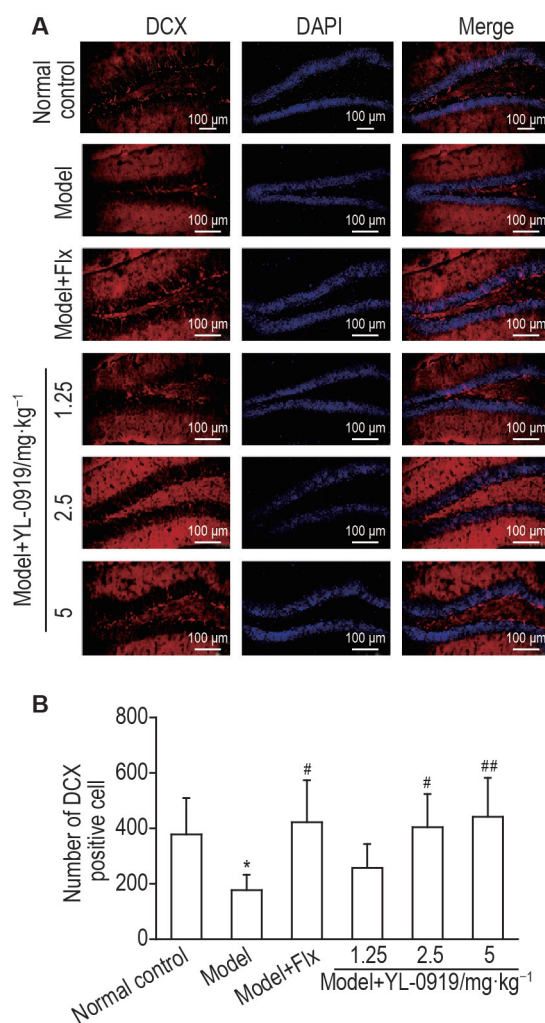


Fig. 8 Effect of YL-0919 on number of doublecortin (DCX) positive cells in CORT replacement drinking water model mice. See Fig. 1 for the mouse treatment. A: representative immunostaining images of DCX (red) and 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (blue) in dentate gyrus. B was the semi-quantitative result of A. $\bar{x} \pm s$, $n=5$. * $P<0.05$, compared with normal control group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$, compared with model group.

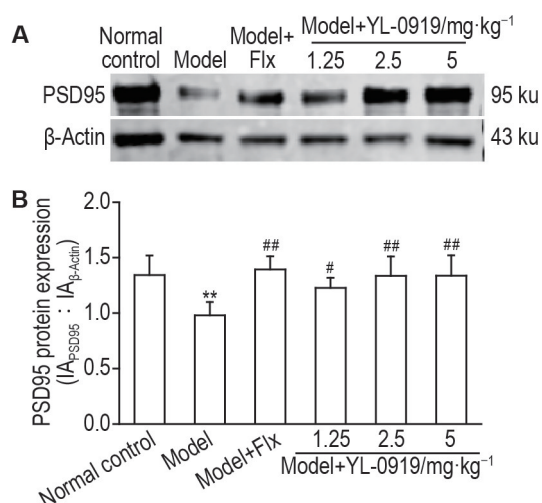


Fig.9 Effect of YL-0919 on PSD95 expression in hippocampus of CORT replacement drinking water model mice by Western blotting. See Fig. 1 for the mouse treatment. B was the semi-quantitative result of A. IA: integrated absorbance. $\bar{x} \pm s$, $n=5$. ** $P<0.01$, compared with normal control group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$, compared with model group.

3 讨论

本研究利用优化的CORT替代饮水小鼠模型评价YL-0919的抗抑郁效应。结果显示,慢性给予YL-0919 1.25~5 mg·kg⁻¹可明显改善CORT替代饮水模型小鼠抑郁样和焦虑样行为及认知障碍。进一步机制研究显示,YL-0919可增加CORT替代饮水模型小鼠海马齿状回DCX阳性细胞数和海马PSD95蛋白表达水平,提示YL-0919可能通过改善神经可塑性发挥抗抑郁效应。

FST和TST是公认的用于抗抑郁药物评价的实验方法,SPT可评价抑郁症的核心症状——快感缺失,NSFT也可广泛应用于抗抑郁药物筛选。本研究在CORT替代饮水小鼠模型制备成功后,通过上述实验进行行为学评价。结果发现,用CORTH溶液替代正常饮水可诱发持续性抑郁样行为,其行为表现为蔗糖偏嗜度降低及FST和TST的不动时间增加,与sc给予CORT的行为学变化一致^[21-22]。本课题组前期在小鼠NSFT^[7,18]、小鼠获得性无助^[18]和大鼠慢性不可预知应激^[10-19]等抑郁样动物模型上发现,ig给予YL-0919(1.25~5 mg·kg⁻¹)具有显著的抗抑郁作用。因此,本研究选择同样的剂量评价YL-0919的抗抑郁作用。研究结果显示,在CORT替代饮水模型上,慢性给予YL-0919可显著逆转上述行为表征,进一步证实了YL-0919的抗抑郁效应。

生理状态下,啮齿类动物肾上腺分泌的CORT直接进入全身血液循环,而外源性补充的CORT(包括饮水或sc给予等)需要通过肝代谢,因此两者对HPA轴的调控作用方式不完全一致。但长期sc、iv或植入渗透性微型泵等方式操作难度大,易对动物造成创伤或应激^[20]。综合考虑上述因素,本研究最终采用CORT替代饮水模型。正常C57BL/6小鼠体内CORT的基线水平约为50 μg·L⁻¹^[21-22]。在本研究条件下,经检测小鼠饮用CORTH 25 mg·L⁻¹溶液第21天血液中CORT浓度在280~340 μg·L⁻¹,这与既往利用慢性社交失败应激构建的小鼠抑郁样模型中血浆CORT水平(300 μg·L⁻¹)相吻合^[21]。本研究采用SPT检测发现,小鼠CORTH替代饮水第21天后能诱发抑郁样行为,证实该模型稳定可靠。

本研究YL-0919部分焦虑样行为实验(NFST和OFT)中,其行为检测结果未表现出典型的剂量依赖关系,这与本实验室以往研究结果一致^[7,9-10]。同时,该结果与部分5-羟色胺重摄取抑制类抗抑郁药物在*Lancet Psychiatry*的荟萃分析结果类似^[23]。

神经可塑性是指神经结构和功能的可修饰性,包括突触可塑性、神经元再生、神经网络重新整合和大脑功能区转移等。临床研究表明,抑郁症患者海马体积减小,且减小程度与病程长短、治疗时间以及病情严重程度有关^[24-26]。动物实验也发现,慢性应激可导致海马神经元树突复杂度降低、树突棘密度减小^[27],以及海马齿状回神经元新生减少^[28]。同时,神经营养因子和5-HT重摄取抑制剂Flx均被证明可通过促进海马神经元新生发挥抗抑郁作用^[29-30]。DCX是一种神经元特异性蛋白,在神经元早期有丝分裂过程中促进微管的聚合和稳定。DCX阳性细胞通常作为神经发生的标志物被广泛用于检测神经元新生。本研究发现,YL-0919可显著逆转CORT替代饮水模型小鼠海马齿状回DCX阳性细胞数量降低。PSD95是兴奋性突触后膜的标志物之一。文献报道,慢性不可预知性应激会导致小鼠海马PSD95表达水平降低,Flx长期给药可逆转这一变化^[31]。本研究发现,YL-0919亦可显著逆转CORT替代饮水模型小鼠海马PSD95表达下调。

综上,本研究采用CORT替代饮水小鼠模型发现,YL-0919具有显著的抗抑郁效应,且该效应与提升海马神经可塑性密切相关。本研究为探索YL-0919的抗抑郁作用机制提供新的实验依据。

参考文献:

- [1] World Health Organization. *Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates* [M/OL]. Geneva: WHO, 2017. Licence: CC BY-NC-SA3.0 IGO [2022-02-28]. <https://www.who.int/publications/i/item/depression-global-health-estimates>.
- [2] Proulx CD, Hikosaka O, Malinow R. Reward processing by the lateral habenula in normal and depressive behaviors[J]. *Nat Neurosci*, 2014, 17(9): 1146-1152.
- [3] Pariante CM, Lightman SL. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments[J]. *Trends Neurosci*, 2008, 31(9): 464-468.
- [4] Ali SH, Madhana RM, KVA, *et al*. Resveratrol ameliorates depressive-like behavior in repeated corticosterone-induced depression in mice[J]. *Steroids*, 2015, 101: 37-42.
- [5] Yokoyama R, Higuchi M, Tanabe W, *et al*. (S)-nor-ketamine and (2S, 6S)-hydroxynorketamine exert potent antidepressant-like effects in a chronic corticosterone-induced mouse model of depression[J/OL]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2020, 191: 172876 [2022-02-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32088360/>. DOI: 10.1016/j.pbb.2020.172876.
- [6] Moda-Sava RN, Murdock MH, Parekh PK, *et al*. Sustained rescue of prefrontal circuit dysfunction by antidepressant-induced spine formation[J/OL]. *Science*, 2019, 364(6436): eaat8078 (2019-04-12) [2022-02-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30975859/>. DOI: 10.1126/science.aat8078.
- [7] Chen H, Jin Z, Zhang L, *et al*. Antidepressant-like activity of YL-0919: a novel combined selective serotonin reuptake inhibitor and 5-HT_{1A} receptor agonist[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83271 [2022-02-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24367588/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0083271.
- [8] Liu W, Zhang L, Yao J, *et al*. Anti-PTSD effects of hypidone hydrochloride (YL-0919): a novel combined selective 5-HT reuptake inhibitor / 5-HT_{1A} receptor partial agonist / 5-HT₆ receptor full agonist [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 625547 [2022-02-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33643051/>. DOI: 10.3389/fphar.2021.625547.
- [9] Ran Y, Jin Z, Chen X, *et al*. Hypidone hydrochloride (YL-0919) produces a fast-onset reversal of the behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure[J/OL]. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 395 [2022-02-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30524234/>. DOI: 10.3389/fncel.2018.00395.
- [10] Sun L, Zhang L, Liu D, *et al*. The faster-onset antidepressant effects of hypidone hydrochloride (YL-0919) [J]. *Metab Brain Dis*, 2019, 34(5): 1375-1384.
- [11] Yin Y, Tian C, Fang X, *et al*. The faster-onset antidepressant effects of hypidone hydrochloride (YL-0919) in monkeys subjected to chronic unpredictable stress [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 586879 [2022-02-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33324217/>. DOI: 10.3389/fphar.2020.586879.
- [12] Gourley SL, Taylor JR. Recapitulation and reversal of a persistent depression-like syndrome in rodents[J/OL]. *Curr Protocols Neurosci*, 2009, Chapter 9: Unit 9.32 (2010-10-01) [2022-02-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19802817/>. DOI: 10.1002/0471142301.ns0932s49.
- [13] Uchida S, Hara K, Kobayashi A, *et al*. Epigenetic status of GDNF in the ventral striatum determines susceptibility and adaptation to daily stressful events[J]. *Neuron*, 2011, 69(2): 359-372.
- [14] Deng S, Zhang L, Zhu T, *et al*. A behavioral defect of temporal association memory in mice that partly lack dopamine reuptake transporter[J/OL]. *Sci Rep*, 2015, 5(1): 17461 [2022-02-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26658842/>. DOI: 10.1038/srep17461.
- [15] Uchida S, Hara K, Kobayashi A, *et al*. Impaired hippocampal spinogenesis and neurogenesis and altered affective behavior in mice lacking heat shock factor 1[J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2011, 108(4): 1681-1686.
- [16] Yakabe M, Ogawa S, Ota H, *et al*. Inhibition of interleukin-6 decreases atrogenes expression and ameliorates tail suspension-induced skeletal muscle atrophy[J/OL]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e191318 [2022-02-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29351340/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0191318.
- [17] Hattiangady B, Mishra V, Kodali M, *et al*. Object location and object recognition memory impairments, motivation deficits and depression in a model of Gulf War illness[J/OL]. *Front Behav Neurosci*, 2014, 8: 78 (2014-03-13) [2022-02-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24659961/>. DOI: 10.3389/fnbeh.2014.00078.
- [18] Zhang L, Wang X, Zhao N, *et al*. Neurochemical and behavioural effects of hypidone hydrochloride (YL-0919): a novel combined selective 5-HT reuptake inhibitor and partial 5-HT_{1A} agonist[J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(9): 769-780.
- [19] Zhang Y, Ye L, Li T, *et al*. New monoamine antidepressant, hypidone hydrochloride (YL-0919), enhances the excitability of medial prefrontal cortex in mice via a neural disinhibition mechanism[J/OL].

- Acta Pharmacol Sin*, 2021 (2021-11-22) [2022-02-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34811511/>. DOI: 10.1038/s41401-021-00807-0.
- [20] Gururajan A, Reif A, Cryan JF, *et al*. The future of rodent models in depression research[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2019, 20(11): 686-701.
- [21] Niraula A, Wang Y, Godbout JP, *et al*. Corticosterone production during repeated social defeat causes monocyte mobilization from the bone marrow, glucocorticoid resistance, and neurovascular adhesion molecule expression[J]. *J Neurosci*, 2018, 38(9): 2328-2340.
- [22] Vreeburg SA, Hoogendijk WJ, van Pelt J, *et al*. Major depressive disorder and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: results from a large cohort study[J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2009, 66(6): 617-626.
- [23] Malhi GS, Mann JJ. Depression[J]. *Lancet*, 2018, 392(10161): 2299-2312.
- [24] Savitz J, Drevets WC. Bipolar and major depressive disorder: neuroimaging the developmental-degenerative divide[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2009, 33(5): 699-771.
- [25] Kang HJ, Voleti B, Hajsan T, *et al*. Decreased expression of synapse-related genes and loss of synapses in major depressive disorder[J]. *Nat Med*, 2012, 18(9): 1413-1417.
- [26] MacQueen GM, Yucel K, Taylor VH, *et al*. Posterior hippocampal volumes are associated with remission rates in patients with major depressive disorder[J]. *Biol Psychiatry*, 2008, 64(10): 880-883.
- [27] Radley JJ, Sisti HM, Hao J, *et al*. Chronic behavioral stress induces apical dendritic reorganization in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex[J]. *Neuroscience*, 2004, 125(1): 1-6.
- [28] Mineur YS, Belzung C, Crusio WE. Functional implications of decreases in neurogenesis following chronic mild stress in mice[J]. *Neuroscience*, 2007, 150(2): 251-259.
- [29] Rossi C, Angelucci A, Costantin L, *et al*. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is required for the enhancement of hippocampal neurogenesis following environmental enrichment[J]. *Eur J Neurosci*, 2006, 24(7): 1850-1856.
- [30] Santarelli L, Saxe M, Gross C, *et al*. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants[J]. *Science*, 2003, 301(5634): 805-809.
- [31] Liu XL, Luo L, Mu RH, *et al*. Fluoxetine regulates mTOR signalling in a region-dependent manner in depression-like mice[J/OL]. *Sci Rep*, 2015, 5:16024 (2015-11-02)[2022-02-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26522512/>. DOI: 10.1038/srep16024.

Antidepressant effect and possible mechanisms of hypidone hydrochloride in corticosterone replacement drinking water model in mice

FANG Xin-xin¹, MA Hui², BAO Jin-hao², WANG Chuan⁴, LI Yun-feng², ZHANG Li-ming³, NIE Jing¹
(1. Key Laboratory of Basic Pharmacology of Ministry of Education and Joint International Research Laboratory of Ethnomedicine of Ministry of Education, Zunyi Medical University, Zunyi 563003, China; 2. Institute of Military Cognitive and Brain Sciences, 3. Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China; 4. Graduate School of Hebei North College, Zhangjiakou 075000, China)

Abstract: OBJECTIVE To investigate the antidepressant effect and the possible mechanisms of hydroxypiperone hydrochloride (YL-0919) in a corticosterone (CORT) replacement drinking water model in mice. **METHODS** Adult male C57BL/6 mice were randomly divided into the normal control group and CORT replacement drinking water group. The CORT replacement drinking water group replaced water into CORT hemisuccinate solution (25 mg · L⁻¹). After 21 d, the sucrose preference test was performed, and the mice in the CORT replacement drinking water group were randomly divided into the model group, model+fluoxetine (Flx, 10 mg · kg⁻¹) group and model+YL-0919 (1.25, 2.5 and 5 mg · kg⁻¹) group, before the mice were ig given Flx 10 mg · kg⁻¹, YL-0919 1.25, 2.5 and 5 mg · kg⁻¹ or water (normal con-

trol and model group) for 16 d once per day. The open field test (OFT), forced swimming test (FST), tail suspension test (TST), novel object recognition test (NORT), novelty-suppressed feeding test (NSFT), and sucrose preference test (SPT) were performed to evaluate the antidepressant effects. After that, the number of doublecortin (DCX) positive cells in the bilateral hippocampal dentate gyrus was counted by immunofluorescence staining, and the expression of PSD95 in the bilateral hippocampus was detected by Western blotting. **RESULTS** Compared with the normal control group, the model group significantly increased the immobility time on the FST and the TST ($P<0.01$), reduced the sucrose preference on the SPT ($P<0.01$), shortened the duration in the central area on the OFT ($P<0.01$), reduced recognition indexes on the NORT ($P<0.01$) and decreased the number of DCX positive cells in the hippocampal dentate gyrus ($P<0.05$) and the expression level of PSD95 ($P<0.01$). Compared with the model group, the model+fluoxetine group and the model+YL-0919 group could reverse the above changes ($P<0.05$). **CONCLUSION** Chronic YL-0919 treatment shows significant antidepressant effect in the CORT replacement drinking water model in mice, which might be related to the promoted hippocampal neural plasticity.

Key words: depression; hypidone hydrochloride; corticosterone; hippocampus; neural plasticity

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (81773708); and National Natural Science Foundation of China (81173036)

Corresponding author: ZHANG Li-ming, E-mail: zhanglm0308@163.com; NIE Jing, E-mail: 27497820@qq.com

(收稿日期: 2022-03-02 接受日期: 2022-04-29)

(本文编辑: 赵楠)

《中国药理学与毒理学杂志》对图表的要求

1. 论文中的病理照片、电泳图及化学结构式图等要求以“插入”→“图片”方式插入 word 文档, 不要使用复制粘贴。病理照片必须加标尺, 并以箭头指示典型病变位置。除照片外, 其他图尽量不用彩色。

2. 统计的数据图表(包括线图和柱图等)一般通过“插入”→“图表”方式插入 word 文档, 双击该图即可直接进入此图的作图软件, 看到作图数据。

3. 双栏图大小: 宽与高的比为 3:2, 宽 ≤ 7.5 cm; 通栏图大小为: 宽 ≤ 15 cm; 横、纵坐标字体为 Arial, 字号为 8 或 9 磅。

4. 论著中的图表(包括图表题和图表注)全部使用英文, 要求图表自明。图表注内容包括分组设计、药物浓度、给药顺序、作用时间、指标测试时间、各种缩写的解释说明、对观察内容必要的描述和统计方法等。

5. 线图图例依次使用 ○ ● △ ▲ □ ■ 等, 柱图按组别顺序依次用空心、左斜线、右斜线和网格线填充。图例字体用 Arial, 字号为 6 磅。

6. 论著中的数据统计图表, 应该首先进行一级比较, 如模型组与正常对照组比较, 结果用“*”表示; 各给药组与模型组比较, 为二级比较, 用“#”表示; 待测药各组组间比较或者与阳性对照组比较, 为三级比较, 用“△”表示。统计学分析结果分 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 两个水平给出即可。

7. 综述中的图表全部使用中文。