

舒肝解郁胶囊对抑郁模型大鼠海马神经元凋亡 及脑组织 caspase-3 蛋白表达的影响

傅锦华^{1,2}, 刘勇¹, 王清勇², 赵靖平¹

(1. 中南大学湘雅二医院精神卫生研究所, 长沙 410011; 2. 湖南省脑科医院精神科, 长沙 410007)

[摘要] 目的: 研究舒肝解郁胶囊对抑郁模型大鼠海马神经元凋亡及脑组织 caspase-3 蛋白表达的影响, 探讨其治疗抑郁症的作用机制。方法: 将雄性 SD 大鼠随机分为正常对照组、模型组、舒肝解郁组和氟西汀组四组; 采用慢性轻度不可预见性应激 (CUMS) 结合孤养建立抑郁大鼠模型, 并用旷场、糖水消耗和强迫游泳试验评价大鼠的行为学改变, 观察海马 CA3 区神经元的形态结构及凋亡, 应用蛋白印记分析检测脑组织 caspase-3 蛋白的表达。结果: 与模型组比较, 舒肝解郁组大鼠自发活动显著增加; 糖水消耗量、糖水偏爱率显著升高; 强迫游泳不动时间显著缩短; 大鼠海马 CA3 区细胞结构破坏显著改善, 凋亡细胞数及脑组织 caspase-3 蛋白表达显著减少 ($P < 0.05$ 或 0.01); 氟西汀组与舒肝解郁组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论: 舒肝解郁胶囊能显著改善抑郁模型大鼠的抑郁症状, 促进抑郁大鼠海马 CA3 区神经细胞损伤的修复和 / 或新生; 减少大鼠脑组织 caspase-3 蛋白表达, 阻止脑神经细胞的凋亡; 疗效与氟西汀相当。

[关键词] 舒肝解郁胶囊; 抑郁; caspase-3; 细胞凋亡; 蛋白印迹

DOI: 10.3969/j.issn.1672-7347.2012.12.003

Effect of Shuganjiayu capsules on neuronal apoptosis in hippocampal CA3 area and the expression of caspase-3 in the brain of rat depression model

FU Jinhua^{1,2}, LIU Yong¹, WANG Qingyong², ZHAO Jingping¹

(1. Mental Health Institute, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011;
2. Department of Psychiatry, Brain Hospital of Hunan Province, Changsha 410007, China)

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effect of "Shuganjiayu" (SGJY) capsules on neuronal apoptosis in hippocampal CA3 area and the expression of caspase-3 in the brain of rat depression model, and to investigate its pharmacological mechanisms in depression treatment.

Methods: Adult male SD rats were randomly divided into 4 groups: a control, a model, a SGJY and a fluoxetine group. The rat depression model was established under chronic unpredictable mild stress (CUMS) and separate feeding. The behaviors were measured by open-field test, sucrose consumption and forced swimming test. We observed the neuronal morphology structure and neuronal apoptosis in the hippocampal CA3 area. We detected the rat caspase-3 expression level of medial prefrontal cortex (mPFC) and hippocampal CA3 area by Western blot.

Results: After 21-day stress, compared with the model group, spontaneous activity and sucrose

收稿日期 (Date of reception): 2012-05-06

作者简介 (Biography): 傅锦华, 博士研究生, 副主任医师, 主要从事临床精神药理学的研究; 刘勇为并列第一作者。

通信作者 (Corresponding author): 赵靖平, Email: zhaojingpingcsu@163.com

consumption and preference percentage of the rats in the SGJY group significantly increased, while the immobility time in forced swimming test, the number of apoptotic cells and the protein levels of caspase-3 significantly reduced ($P < 0.01$ or 0.05). There was no significant difference between the SGJY group and the fluoxetine group ($P > 0.05$).

Conclusion: SGJY capsules can reduce the depression symptoms of CUMS and help to increase hippocampal neuron generation, survival and neogenesis, reduce the protein levels of caspase-3, and reverse neurocyte apoptosis in the rat depression model with the same efficacy as fluoxetine.

KEY WORDS

SGJY capsule; depression; caspase-3; apoptosis; Western blot

舒肝解郁胶囊由贯叶金丝桃和刺五加两味中药组成, 经药效学研究证实, 具有明确的抗抑郁作用。临床研究^[1-2]也显示舒肝解郁胶囊治疗轻、中度抑郁症疗效确切, 与目前临床上普遍使用的抗抑郁药物相比, 疗效相当, 且不良反应发生率低。抑郁症的发病机制复杂, 神经元和神经可塑性损伤假说是其病理机制之一。现代神经科学研究发现成熟神经元也存在凋亡与再生现象, 这一过程的动态平衡是维持脑正常功能的重要因素。持续应激可导致抑郁患者部分脑区神经元生成减少、生存能力下降以及树突结构重建受限, 因此, 抑郁症患者存在大脑特定部位的萎缩现象^[3]。本研究采用慢性轻度不可预见性应激 (CUMS) 结合孤养建立抑郁大鼠模型, 研究舒肝解郁胶囊对抑郁模型大鼠海马 CA3 区细胞结构和凋亡的影响, 并观察其对海马 CA3 区和内侧前额皮质 (medial prefrontal cortex, mPFC) caspase-3 蛋白表达的影响, 探讨舒肝解郁胶囊的抗抑郁机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, SPF 级, 体重 180~200 g, 购自上海斯莱克景达有限公司。动物房温度维持在 $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$, 采用 12 h 昼夜节律 (8:00—20:00), 所有实验于 9:00—17:00 之间完成, 整个实验过程中动物自由饮水进食。

1.1.2 药品和试剂

舒肝解郁胶囊由成都康弘药业集团股份有限公司提供; 氟西汀购自美国礼来公司; 0.5% 羧甲基纤维素钠, caspase-3 一抗购自英国 Abcam 公司; GAPDH 一抗购自康成生物有限公司; ABC 复合物试剂盒、DAB 显色试剂盒购自美国 Vector 公司; TUNEL 凋亡试剂盒购自碧云天生物技术有限公司。

1.1.3 试验器材

ENV-520 旷场测验箱美国 Med 公司; 强迫游泳测试系统 (自制); Sony DCR-HC40E 数码摄像机

为日本索尼公司产品; -80°C 深低温冰箱购自美国 Forma Scientific 公司; himac CR22 冷冻高速离心机购自日本 HITACHI 公司; 台式高速离心机购自美国 Sigma 公司, Model PRO 2000 组织匀浆器购自美国 Pro Scientific 公司; Vortex-Genie 2 振荡仪购自美国 Scientific Industries 公司; ELX-800 酶标仪购自美国宝特 (BIO-TEK) 公司; Mini-PROTEAN3 电泳系统及 Mini-PROTEAN3 电转移系统购自美国 BIO-RAD 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及模型的建立

适应性饲养大鼠 3 d, 其间训练饮用 1% 蔗糖水, 测定蔗糖水消耗和旷场试验基线值, 选择评分相近大鼠 88 只, 随机分成 2 大组, 第一大组 40 只, 第二大组 48 只, 每大组随机均分为 4 小组: 正常对照组 (control, C 组)、模型组 (model, M 组)、舒肝解郁组 (Shuganjieyu, S 组) 和氟西汀组 (fluoxetine, F 组)。为排除行为学测试对脑内细胞凋亡及 caspase-3 蛋白表达的影响, 第一大组 40 只大鼠仅用于旷场、糖水消耗和强迫游泳试验; 第二大组 48 只大鼠, 24 只用于神经细胞凋亡检测, 24 只用于 caspase-3 蛋白表达的免疫印迹分析。除正常对照组合笼饲养外, 其余 3 组大鼠均单笼孤养。参照 Willner 等^[4]的方法, 以慢性不可预见性应激结合孤养建立抑郁动物模型。在 21 d 内随机给 10 种应激因子, 包括: 断水 (24 h)、禁食 (24 h)、 45°C 环境 (5 min)、震荡 (160 次/min, 每次 5 min)、 4°C 冰水游泳 (5 min)、夹尾 (1 min)、电击足底 (电压 35 V, 每隔 50 s 刺激 1 次, 每次持续 10 s, 共 30 次)、束缚 (2 h)、昼夜颠倒 (24 h)。每日给予 1 种刺激, 每种刺激累计使用 2~3 次。舒肝解郁组和氟西汀组大鼠于试验开始即分别接受 0.5% 羧甲基纤维素钠悬浮液配制的舒肝解郁胶囊 $[150 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})]$ 和氟西汀 $[1.54 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})]$ 灌服 21 d, 正常对照组和模型组大鼠每日灌服等剂量的 0.5% 的羧甲基纤维素钠悬浮液 21 d。

1.2.2 旷场试验

在实验前 1 d 和实验第 22 天, 用旷场试验分析大鼠的自发活动和探索能力。应用 ENV-520 动物行为视频跟踪分析系统跟踪记录 3 min, 分析大鼠的活动总路程。

1.2.3 糖水消耗试验

适应训练完毕后, 禁水 24 h, 进行动物的基础糖水/纯水消耗试验, 实验第 22 天给予每只大鼠事先定量好的 1% 蔗糖水和一瓶纯水, 1 h 后, 取两瓶水称量, 计算动物的总液体消耗、糖水消耗、糖水偏爱率(糖水偏爱率=糖水消耗量/总液体消耗量×100%)。

1.2.4 强迫游泳测试

参照 Porsolt 等^[5]方法将大鼠放入直径 23 cm、高 60 cm 的测试桶中, 水温为 (25±1)℃。动物实验前 12 h 禁食但不禁水, 实验前 1 d 大鼠预先强迫游泳 15 min, 随后回笼, 24 h 后再次强迫游泳 5 min, 记录大鼠 5 min 内不动状态的时间。不动时间: 指大鼠在水中停止挣扎、呈漂浮状态, 或仅有细小的肢体运动以保持头部浮在水面的时间。

1.2.5 Nissle 染色方法

各组大鼠灌注固定, 取脑, 行低温冰冻切片, 选取海马部位的组织切片, 0.01 mol/L PBS 洗涤 3 次, 贴片, 晾干, 二甲苯脱脂, 100% 酒精脱水, 再依次置于梯度降低的酒精与蒸馏水中复水, 0.1% 焦油紫染色, 蒸馏水清洗 2 次, 盐酸-酒精分色, 梯度酒精脱水, 梯度二甲苯透明, 中性树胶封片。

1.2.6 TUNEL 染色

切片脱蜡, 乙醇脱水, 蛋白酶 K 消化, PBS 清洗, 滴加 TUNEL 反应液, 滴加复合液, DAB 显色, 苏木素复染, 封片。封片后随机选取海马 CA3 区切片 2 张, 应用日本 OLYMPUS Cellsens Standard 1.6 图像分析系统对切片进行图像分析, 随意取 5 个视野, 分别测 CA3 区每个视野内棕褐色凋亡阳性细胞个数, 分析平均凋亡细胞数。

1.2.7 Caspase-3 的免疫印迹分析

各组大鼠于造模完成后断头取脑, 分离海马和 mPFC, 冻存管分装, 液氮保存待测。冰上研磨脑组织后加预冷的蛋白裂解液, 4℃, 12000 r/min 离心 30 min, 取上清按蛋白质定量试剂盒说明进行总蛋白 Bradford 法定量。

大鼠海马和 mPFC 组织液经 SDS-PAGE 电泳分离, 电转移至 PVDF 膜上 (Bio-Rad 电转移系统), pH7.6 PBS 液洗 5 min。蛋白封闭后, 依次加一抗: 兔抗 caspase-3 (1:200) 和二抗: 偶联有辣根过氧化物酶 (HRP) 标记羊抗兔 IgG (1:1000) 孵育, 加入底物, 暗室内曝光、显影、晾干, 用凝胶图像处理系统分析目标带的光密度值, 内参为 GAPDH。

1.3 统计学处理

采用 SPSS16.0 软件包进行统计分析, 各组数据以均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 实验数据均采用单因素方差分析 (ANOVA); 若存在差异, 则进一步进行两两比较, 采用 Levene 检验进行方差齐性检验, 方差齐时采用 Post Hot 方法, 方差不齐时用 Tamhane's T2 方法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 舒肝解郁胶囊对抑郁模型大鼠自发活动的影响

造模前旷场试验中各组大鼠自发活动总路程比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。造模完成后第 22 天检测各组大鼠自发活动总路程, 总体差异显著 ($P<0.05$); 模型组大鼠自发活动总路程与正常对照组比较显著减少 ($P<0.01$); 氟西汀组和舒肝解郁组大鼠自发活动总路程较模型组显著增加 ($P<0.05$), 与正常对照组比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 氟西汀组与舒肝解郁组间比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$, 表 1)。

表 1 4 组大鼠自发活动总路程的比较 ($n=10$, $\bar{x}\pm s$, cm)

Table 1 Comparison of the cumulative locomotion path among the 4 groups ($n=10$, $\bar{x}\pm s$, cm)

组别	大鼠自发活动总路程	
	造模前	造模后
C 组	276.9 ± 92.1	487.4 ± 139.4**
M 组	324.5 ± 105.2	116.6 ± 24.9
S 组	378.1 ± 122.6	392.2 ± 103.7*
F 组	294.7 ± 78.3	433.0 ± 117.7*

与 M 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

2.2 糖水消耗试验中舒肝解郁胶囊对 CUMS 抑郁模型大鼠总液体消耗量、糖水及糖水偏爱率的影响

造模前各组大鼠液体消耗量差异无统计学意义。造模后第 22 天各组大鼠总液体消耗量总体差异无统计学意义 ($P>0.05$), 各组大鼠糖水消耗和糖水偏爱率总体差异有统计学意义 ($P<0.05$), 模型组大鼠糖水消耗量和糖水偏爱率分别与正常组、氟西汀组和舒肝解郁组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$); 而舒肝解郁组和氟西汀组、正常组组间比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$, 表 2)。

2.3 舒肝解郁胶囊对 CUMS 抑郁模型大鼠强迫游泳不动时间的影响

造模后第 22 天, 测试所有实验大鼠强迫游泳总不动时间, 各组大鼠总不动时间总体上差异显著 ($P<0.01$); 模型组与正常组、氟西汀组和舒肝解郁组比较差异显著 ($P<0.01$); 而舒肝解郁组和正常组、氟西汀组间比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$, 表 2)。

表 2 4 组大鼠总液体消耗量、糖水消耗量、糖水偏爱率和强迫游泳总不动时间的比较 ($n=10, \bar{x}\pm s$)Table 2 Comparison of the consumption on total liquid, sucrose water, sucrose preference percentage and the immobility time in FST among the 4 groups ($n=10, \bar{x}\pm s$)

组别	总液体消耗量 /mL	糖水消耗量 /mL	糖水偏爱率 /%	大鼠强迫游泳不动时间 /s
C 组	17.9 ± 1.25	13.2 ± 1.29*	73.2 ± 3.94*	90.2 ± 10.2**
M 组	14.5 ± 1.19	7.4 ± 0.98	48.4 ± 2.37	138.4 ± 19.0
S 组	18.6 ± 1.93	11.8 ± 1.36*	63.2 ± 2.25*	78.3 ± 9.9**
F 组	16.7 ± 1.18	13.5 ± 1.46*	70.9 ± 5.62*	79.8 ± 10.1**

与 M 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

2.4 舒肝解郁胶囊对 CUMS 模型大鼠海马 CA3 区神经元形态结构的影响

正常对照组大鼠海马 CA3 区细胞排列规则, 细胞层次丰富, 神经元胞膜完整, 尼氏体浅染、丰富, 胞核形态正常。模型组大鼠海马 CA3 区细胞层次减少, 锥体细胞和颗粒细胞带紊乱、变稀、中断, 神经元胞膜破裂、细胞萎缩、胞核变小, 较多神经细胞有空泡化和核固缩, 部分细胞脱落形成空泡, 尼氏体浅染甚至溶解。舒肝解郁组和氟西汀组大鼠海马 CA3 区细胞排列较规则, 细胞层次较丰富, 神经元胞膜较完整, 部分细胞萎缩、胞核变小, 部分神经细胞有空泡化和核固缩, 尼氏体浅染 (图 1)。

2.5 舒肝解郁胶囊对 CUMS 模型大鼠海马 CA3 区神经元凋亡的影响

TUNEL 染色中细胞核呈暗紫色者为阳性细胞, 即凋亡细胞 (图 2)。凋亡实验发现, 大鼠海马 CA3

区 TUNEL 阳性细胞数比较, 模型组较正常对照组显著增加 (62.5 ± 4.8 vs 8.8 ± 1.0 , $P<0.01$), 而舒肝解郁组 (17.7 ± 2.9) 和氟西汀组 (14.2 ± 2.1) 较模型组显著减少 ($P<0.01$), 与正常对照组比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 舒肝解郁组与氟西汀组比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

2.6 舒肝解郁胶囊对 CUMS 模型大鼠 mPFC 和海马 CA3 区 caspase-3 表达的影响

造模后第 22 天, 4 组大鼠 mPFC 和海马 CA3 区 caspase-3 表达的免疫印迹图见图 3A 和 3B。模型组大鼠 mPFC 和海马 CA3 区 caspase-3 的表达较正常对照组显著升高 ($P<0.01$ 或 0.05); 氟西汀组和舒肝解郁组大鼠 mPFC 和海马 CA3 区 caspase-3 的表达较模型组显著降低 ($P<0.01$ 或 0.05), 与正常对照组比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 舒肝解郁组与氟西汀组比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$, 图 3C)。

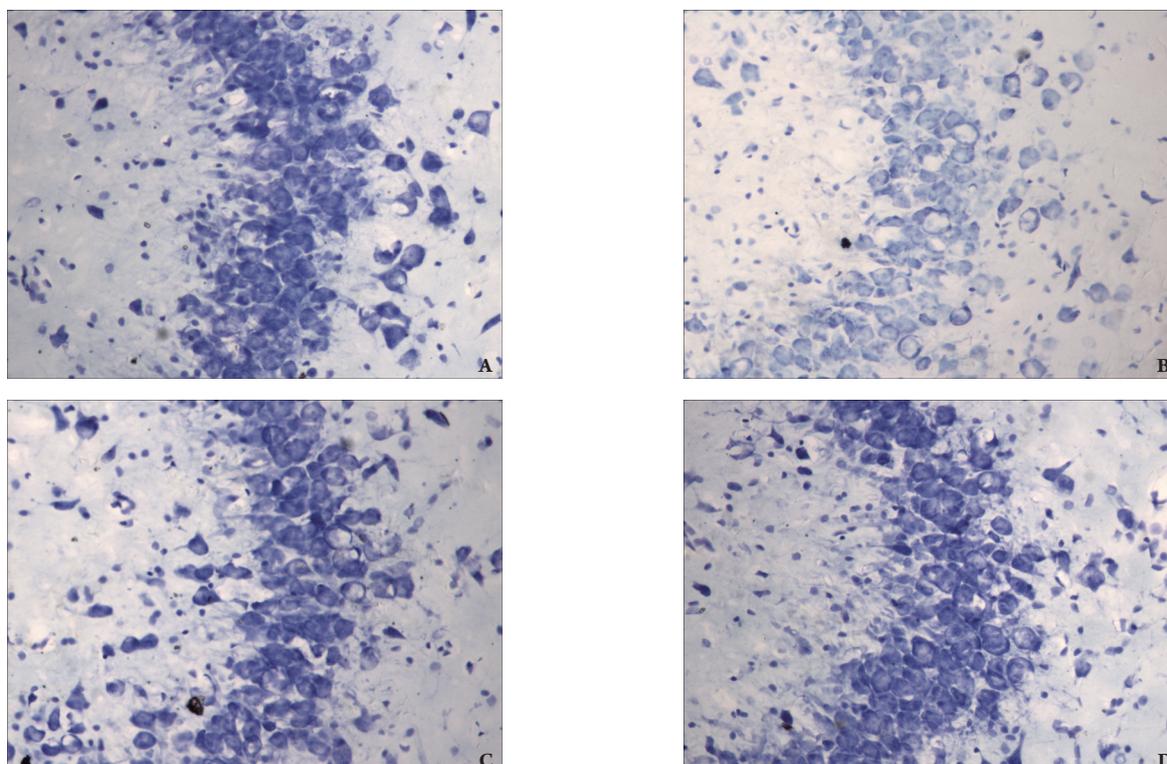


图 1 4 组大鼠海马 CA3 区的尼氏染色 ($\times 200$)。A: 正常对照组; B: 模型组; C: 舒肝解郁胶囊组; D: 氟西汀组。

Figure 1 Neuronal Nissl's staining in hippocampal CA3 area among the 4 groups ($\times 200$). A: Control group; B: Model group; C: SGJY group; D: Fluoxetine group.

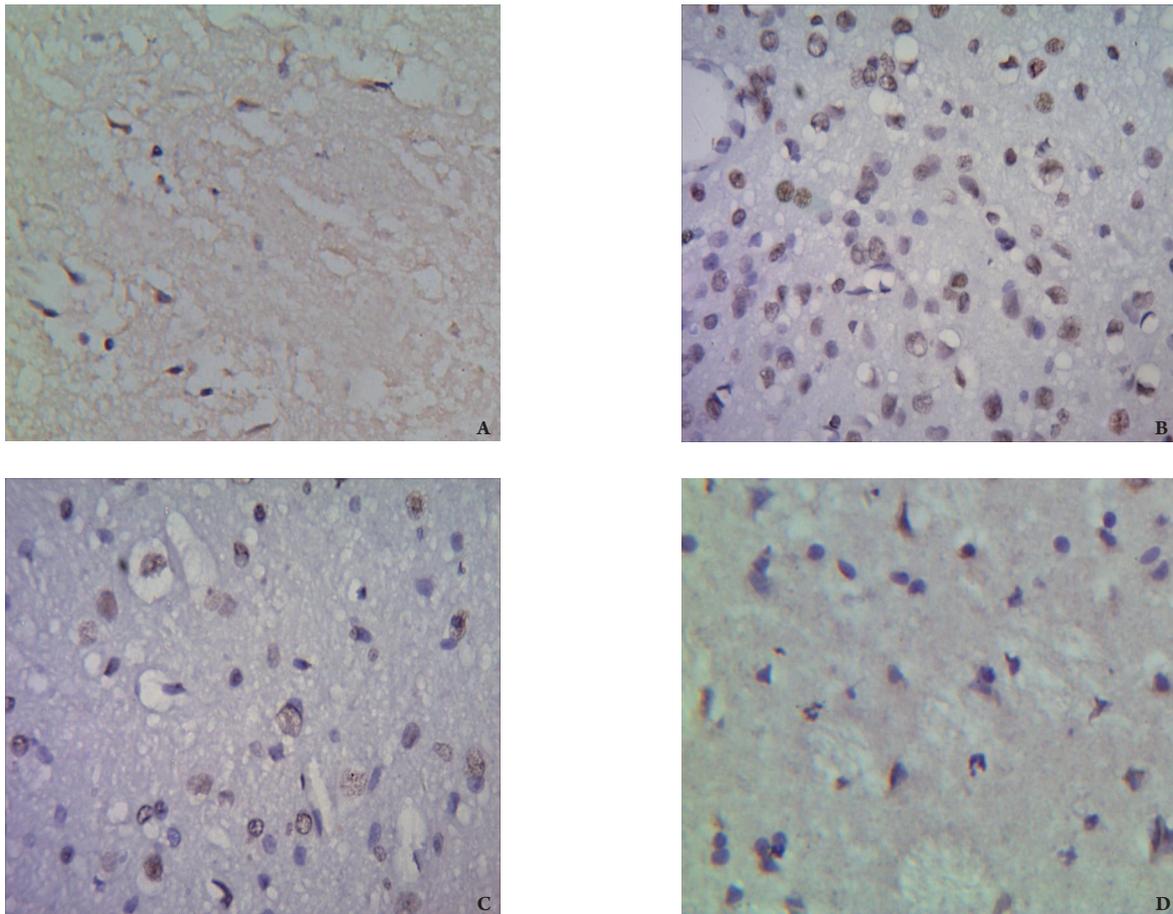


图2 4组大鼠海马CA3区TUNEL染色阳性细胞($\times 200$)。A: 正常对照组; B: 模型组; C: 舒肝解郁胶囊组; D: 氟西汀组。
Figure 2 Number of TUNEL staining positive cells in hippocampal CA3 area among the 4 groups ($\times 200$). A: Control group; B: Model group; C: SGJY group; D: Fluoxetine group.

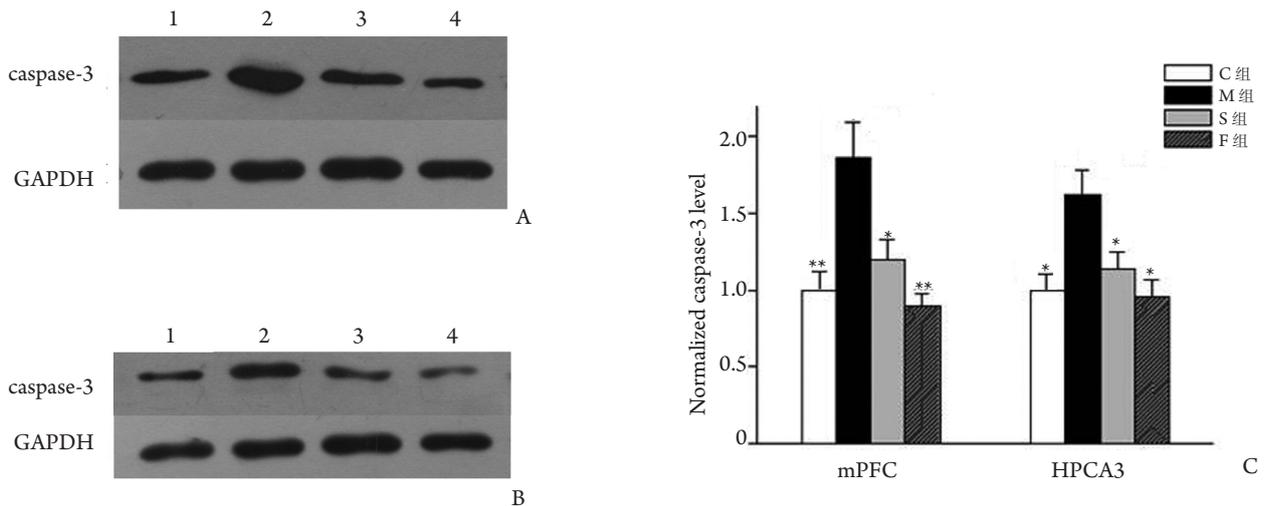


图3 4组大鼠mPFC区和海马CA3区caspase-3表达的分析。A: mPFC区caspase-3表达的免疫印迹图; B: 海马CA3区caspase-3表达的免疫印迹图; C: mPFC和海马CA3区caspase-3的表达比较。1: 正常对照组; 2: 模型组; 3: 舒肝解郁胶囊组; 4: 氟西汀组; 与M组比较, $*P<0.05$, $**P<0.01$ 。

Figure 3 Expression of caspase-3 in mPFC and hippocampal CA3 area of rats in the 4 groups. A: Expression of caspase-3 in mPFC of rats; B: Expression of caspase-3 in hippocampal CA3 area; C: Comparison of caspase-3 expressional level in mPFC and hippocampal CA3 area of rats. 1: Control group; 2: Model group; 3: SGJY group; 4: Fluoxetine group; $*P<0.05$, $**P<0.01$ vs M group.

3 讨论

应激是抑郁症的发病因素之一, 本研究采用慢性轻度不可预见性应激结合孤养建立抑郁大鼠模型, 可模拟人类抑郁症的核心症状——快感缺乏, 该模型目前广泛应用于抑郁症发病机制和抗抑郁药物作用机制研究^[6]。本研究采用旷场、糖水消耗和强迫游泳试验, 分别评价大鼠的自发活动、快感缺乏及绝望无助行为。造模完成后, 模型组大鼠表现出反应迟钝、自发活动减少, 糖水消耗量、糖水偏爱率显著降低; 强迫游泳不动时间延长; 以上结果提示模型大鼠运动能力下降, 兴趣消失, 快感缺乏, 绝望无助行为增加, 表明模型大鼠处于抑郁状态, 证明抑郁模型复制成功; 经舒肝解郁胶囊及氟西汀治疗后, 大鼠表现出运动能力增强, 兴趣改善, 快感增强, 绝望无助行为减少, 说明舒肝解郁胶囊与氟西汀一样能有效改善抑郁模型大鼠的抑郁症状, 具有抗抑郁作用, 疗效与氟西汀相当。

慢性应激可导致动物 mPFC 和海马组织结构的改变, 其中海马齿状回和 CA3 区是应激损伤的易损区, 其结构改变与动物的抑郁行为发生具有一致性^[7]。一般认为成年动物的中枢神经元不能新生; 但新近的研究^[8]表明成年动物的海马神经元存在新生现象。应激诱导的抑郁模型动物海马神经元新生显著降低, 而抗抑郁药如选择性 5-HT 再摄取抑制剂 (SSRIs) 可对抗应激损伤, 并诱导此类抑郁模型动物的海马神经元新生^[9]。Boldrini 等^[10]研究发现: 各种不同的抗抑郁剂可增加抑郁患者海马齿状回的前体细胞数量, 随之显著改善抑郁患者的临床症状。虽然抑郁患者海马神经元的萎缩主要见于 CA3 区的锥体细胞, 但在严重的慢性应激下, 海马 CA3 区神经元的应激损害可以继发 CA1 区神经元的萎缩, Sousa 等^[11]也证实慢性应激会造成海马 CA1 区的损伤。

本研究发现模型组大鼠海马 CA3 区细胞层次减少且细胞带紊乱, 较多神经细胞空泡化和核固缩, 尼氏体浅染甚至溶解, 凋亡细胞显著增加; 经舒肝解郁胶囊和氟西汀干预后大鼠海马 CA3 区细胞排列较规则, 仅少部分神经细胞有空泡化和核固缩, 尼氏体浅染, 凋亡细胞显著减少; 提示舒肝解郁胶囊与氟西汀一样可促进海马 CA3 区细胞损伤的修复, 结果与之前的研究^[9-10]相符, 说明舒肝解郁胶囊能对抗应激损伤并诱导海马神经元的新生, 阻止海马神经细胞的凋亡。

Caspase 即半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶, 该蛋白激酶家族介导细胞凋亡的级联反应, caspases 过度表达和激活可导致细胞凋亡发生^[12]。研究显

示 caspase 表达抑制可阻断 β 淀粉样多肽诱导的神经元凋亡, 提示 caspase 蛋白激酶家族在抑郁症的发病机制中可能发挥重要作用^[13]。Caspase-3 蛋白是 caspase 蛋白激酶家族中的代表性成员, 是介导细胞凋亡的核心蛋白酶, 参与 DNA 断裂和核固缩现象的发生, 在凋亡过程中起决定性的调控作用^[14]。Caspase-3 是脑组织中表达较高的促凋亡蛋白, 其表达变化与细胞存活密切相关^[15]。慢性应激可导致海马等脑区细胞外谷氨酸 (glutamate, Glu) 浓度升高, Glu 作用于 N-甲基-D-天冬氨酸 (N-methyl-D-aspartate, NMDA) 受体, 激活 NMDA 受体门控 Ca^{2+} 通道, 引起 Ca^{2+} 内流超载, 导致一氧化氮 (nitric oxide, NO) 合成和释放增加, 产生细胞毒效应, Ca^{2+} 超载同时激活一系列与凋亡相关的酶, 导致相应脑区神经元的萎缩、死亡和神经再生缺陷^[16]。

综上所述, 慢性不可预见性应激刺激结合孤养诱导的抑郁模型大鼠 mPFC 区和海马 caspase-3 蛋白的表达均显著增加, 表明慢性应激刺激可诱导 caspase-3 的高表达, 进而诱导神经细胞的凋亡, 提示细胞凋亡增加在抑郁症发病中起一定作用。而舒肝解郁胶囊和氟西汀干预能显著降低抑郁模型大鼠上述脑区 caspase-3 蛋白的表达, 表明舒肝解郁胶囊可抑制抑郁模型大鼠神经细胞的凋亡, 其机制可能与舒肝解郁胶囊抑制神经细胞外 Ca^{2+} 大量内流, 阻止 Ca^{2+} 超载, 下调脑内 caspase-3 蛋白表达相关。

参考文献

1. 孙新宇, 陈爱琴, 许秀峰, 等. 舒肝解郁胶囊治疗轻中度抑郁症的随机双盲安慰剂对照研究[J]. 中国新药杂志, 2009, 18(5): 413-416.
SUN Xinyu, CHEN Ai qin, XU Xiufeng, et al. Randomized double blind placebo controlled trial of Shuganjiyeu capsule in the treatment of mild or moderate depression [J]. Chinese Journal of New Drugs, 2009, 18(5): 413-416.
2. 邱堂成, 刘学文, 朱怀轩. 舒肝解郁胶囊与舍曲林治疗抑郁症的对照研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2011, 31(8): 60-61.
QIU Tangwei, LIU Xuewen, ZHU Huaixuan. A comparative study of shuganjiyeu capsule and sertraline in treatment of depression [J]. Journal of TCM University of Hunan, 2011, 31(8): 60-61.
3. Arantes-Gonçalves F, Coelho R. Depression and treatment: Apoptosis neuroplasticity and antidepressants [J]. Acta Med Port, 2006, 19(1): 9-20.
4. Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation [J].

- Psychopharmacology (Berl), 1997, 134(4): 319-329.
5. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioural despair in mice: A primary screening test for antidepressants [J]. Arch Int Pharmacodyn, 1977, 229(21): 327-336.
 6. Mao QQ, Xian YF, Ip SP, et al. Long-term treatment with peony glycosides reverses chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behavior via increasing expression of neurotrophins in rat brain [J]. Behav Brain Res, 2010, 210(2): 171-177.
 7. D.Chen SJ, Kao CL, Chang YL, et al. Antidepressant administration modulates neural stem cell survival and semtoninergic differentiation through bc1-2 [J]. Curr Neurovasc Res, 2007, 4(1): 19-29.
 8. Li G, Pleasure SJ. Ongoing interplay between the neural network and neurogenesis in the adult hippocampus [J]. Curr Opin Neurobiol, 2010, 20(1): 126-133.
 9. Savitz J, Lucki I, Drevets WC. 5-HT(1A) receptor function in major depressive disorder [J]. Prog Neurobiol, 2009, 88 (1): 17-31.
 10. Boldrini M, Underwood MD, Hen R, et al. Antidepressants increase neural progenitor cells in the human hippocampus [J]. Neuropsychopharmacology, 2009, 34(11): 2376-2389.
 11. Sousa N, Lukoyanov NV, Madeira MD, et al. Reorganization of the morphology of hippocampal neurites and synapses after stress-induced damage correlates with behavioral improvement [J]. Neuroscience, 2000, 97 (2): 253-266.
 12. Stepien A, Izdebska M, Grzanka A. The types of cell death [J]. Postepy Hig Med Dosw (Online), 2007, 61(9): 420-428.
 13. van Breukelen F, Krumschnabel G, Podrabsky JE. Vertebrate cell death in energy-limited conditions and how to avoid it: what we might learn from mammalian hibernators and other stress-tolerant vertebrates [J]. Apoptosis, 2010, 15(3): 386-399.
 14. Mazumder S, Plesca D, Almasan A. Caspase-3 activation is a critical determinant of genotoxic stress-induced apoptosis [J]. Methods Mol Biol, 2008, 414: 13-21.
 15. Bursch W, Karwan A, Mayer M, et al. Cell death and autophagy: cytokines, drugs, and nutritional factors [J]. Toxicology, 2008, 254(3): 147-157.
 16. Witkin JM, Marek GJ, Johnson BG, et al. Metabotropic glutamate receptors in the control of mood disorders [J]. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2007, 6(2): 87-100.

(本文编辑 彭敏宁)