

杏仁核 SIRT1 对慢性束缚应激大鼠抑郁样行为的影响*

黄彩云¹, 陈那娜¹, 周菲¹, 张红梅², 杨小荣^{1Δ}

(1. 山西医科大学生理学系, 细胞生理学教育部重点实验室, 太原 030001; 2. 山西医科大学公共卫生学院环境卫生学教研室, 太原 030001)

【摘要】 目的: 观察杏仁核沉默信息调节因子 1 (SIRT1) 蛋白对慢性束缚应激 (CRS) 大鼠抑郁样行为的影响。**方法:** 60 只 SD 雄性大鼠随机分为 6 组 ($n=10$): 正常对照组 (Control)、慢性束缚应激组 (CRS)、CRS + 氟西汀 (FLU) 组 (CRS + FLU)、CRS + 生理盐水组 (CRS + NaCl)、CRS + SIRT1 过表达组 (CRS + AAV-SIRT1) 和 CRS + 空载体组 (CRS + AAV-EGFP)。除了正常对照组, 其余各组均接受慢性束缚应激造模 21 d。造模结束后, 氟西汀组和生理盐水组大鼠每天分别灌胃给予氟西汀 (10 mg/kg) 或生理盐水 (10 mg/kg), 持续 3 周; SIRT1 过表达组和空载体组大鼠分别脑立体定位, 注射腺相关病毒 AAV-SIRT1 或 AAV-EGFP 于杏仁核, 待病毒表达 3 周; 正常组和抑郁组大鼠则不给予任何药物。应用糖水偏好实验 (SPT)、旷场实验 (OFT) 和强迫游泳实验 (FST) 检测各组大鼠的抑郁样行为学变化; 蛋白免疫印迹实验检测大鼠杏仁核中 SIRT1 蛋白的表达; 免疫荧光技术检测大鼠杏仁核中 SIRT1 阳性细胞数量。**结果:** 与正常对照组相比, CRS 抑郁大鼠杏仁核中 SIRT1 蛋白水平和 SIRT1 阳性细胞数显著降低 ($P<0.01$), 糖水偏好程度明显降低 ($P<0.01$), 旷场实验中运动总距离和中心停留时间显著缩短 ($P<0.01$), 强迫游泳不动时间明显延长 ($P<0.01$)。氟西汀治疗或 SIRT1 过表达均可以部分逆转 CRS 大鼠杏仁核 SIRT1 蛋白和 SIRT1 阳性细胞数的下调 ($P<0.05$, $P<0.01$), 并且可以显著改善上述抑郁样行为。**结论:** 氟西汀治疗可以部分逆转 CRS 大鼠下调的 SIRT1 蛋白及 SIRT1 阳性细胞数, 同时显著改善抑郁样行为, 其抗抑郁疗效可能与 CRS 大鼠杏仁核中 SIRT1 蛋白的上调有关。

【关键词】 杏仁核; 沉默信息调节因子 1; 氟西汀; 慢性束缚应激; 大鼠

【中图分类号】 R749.4

【文献标识码】 A

【文章编号】 1000-6834(2024)01-074-006

【DOI】 10.12047/j.cjap.6306.2022.086

Effects of SIRT1 in amygdala on chronic restraint stress-induced depression-like behaviors in rats

HUANG Cai-yun¹, CHEN Na-na¹, ZHOU Fei¹, ZHANG Hong-mei², YANG Xiao-rong^{1Δ}

(1. Department of Physiology, Shanxi Medical University, Key Laboratory of Cellular Physiology, Ministry of Education, Taiyuan 030001;

2. Department of Environmental Health, School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

【ABSTRACT】 Objective: To investigate the effects of silent information regulator 1 (SIRT1) in amygdala on depression-like behaviors in rats using chronic restraint stress (CRS) as a model of depression. **Methods:** Sixty male SD rats were randomly divided into six groups ($n=10$ per group): control group (Control), chronic restraint stress group (CRS), CRS + fluoxetine-treated group (CRS + FLU), CRS + saline-treated group (CRS + NaCl), CRS + SIRT1-overexpression group (CRS + AAV-SIRT1), and CRS + empty vector group (CRS + AAV-EGFP). Except for the control group, rats from the other groups were exposed to chronic restraint stress for 21 days. After the modeling, rats in fluoxetine-treated group and saline-treated group were, respectively, treated with fluoxetine (10 mg/kg) or saline (10 mg/kg) by gavage every day for 3 weeks; AAV-SIRT1 or AAV-EGFP was, respectively, stereotaxically injected into the amygdala of rats in SIRT1-overexpression group and empty vector group, and the virus was expressed for 3 weeks. Rats in normal control group and CRS model group were not given any drug treatment. The depression-like behaviors of rats in each group were evaluated by sugar preference test (SPT), open field test (OFT) and forced swimming test (FST). SIRT1 expression in amygdala of rats was assessed by using immunoblot blotting. The number of SIRT1-positive cells in amygdala of rats was detected by immunofluorescence technique. **Results:** Compared with the normal control group, the level of SIRT1 protein and the number of SIRT1⁺ cells in amygdala of the CRS-exposed rats were decreased significantly ($P<0.01$), and CRS-exposed rats showed a significant decrease in sucrose preference ($P<0.01$), less total horizontal distance ($P<0.01$) and less time entered the center field ($P<0.01$) in the OFT, a significant increase in the immobility time of the FST ($P<0.01$). Fluoxetine treatment ($P<0.05$, $P<0.01$) or SIRT1 overexpression ($P<0.01$) partially reversed the down-regulation of SIRT1 protein and SIRT1⁺ cells in amygdala of CRS-exposed rats and significantly improved the depression-like behaviors of CRS rats. **Conclusion:** Fluoxetine treatment partially reversed the down-regulation of SIRT1 level and the number of SIRT1⁺ in CRS rats, and significantly improved the depression-like behaviors. The antidepressant effect of fluoxetine treatment may be related to the up-regulation of SIRT1 in the amygdala of CRS-exposed rats.

【KEY WORDS】 amygdala; silent information regulator 1; fluoxetine; chronic restraint stress; rats

抑郁症是指由各种原因引起的,以显著而持久的情绪低落、快感缺失和兴趣减退为核心症状的一类心境障碍^[1]。抑郁症具有高复发率、高致残率和高自杀率的特征,严重影响患者的社会功能。据世界卫生组织统计,抑郁症已逐渐成为世界主要的疾病负担之一,其根本原因在于我们对抑郁症发病的核心机制并不清楚。目前基于抑郁症的单胺类递质假说开发的主流抗抑郁药物起效慢,有效率低,说明单胺类递质假说并非抑郁症发病的唯一机制。因此探究抑郁症发病的核心机制对于攻克抑郁症势在必行,也成为临床上指导研发抑郁症新药最迫切的需求。

杏仁核作为大脑边缘系统的一部分,负责建立情绪与行为反应之间的关联,在情绪反应、恐惧记忆、认知功能等障碍发挥着关键作用^[2]。功能核磁共振成像(functional magnetic resonance imaging, fMRI)显示抑郁症患者脑杏仁核体积变小,且杏仁核功能存在障碍^[3]。氟西汀作为选择性5-羟色胺再摄取抑制剂(selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI)中最常用的一种抗抑郁药,可以通过抑制神经元摄取5-羟色胺,增加突触间隙中可利用的神经递质,从而改善情感状态,已被广泛应用于抑郁症的治疗^[4,5]。SSRI可以直接调节人类杏仁核的反应,同时降低恐惧的感知^[6]。由此可见,杏仁核功能在抑郁症的发病机制中扮演着至关重要的角色。

沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, SIRT1)是一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)依赖性III类组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)。SIRT1在杏仁核、海马、丘脑、小脑和大脑皮层等脑区表达丰富,广泛参与基因转录、氧化应激、细胞衰老、炎症等过程的调节。随着研究的深入,人们发现SIRT1通过其脱乙酰化作用,不但参与大脑正常的生理功能,并且在神经精神疾病的发病和治疗中起重要作用。例如,Kishi等在日本人群的调查发现SIRT1基因表达与重度抑郁症可能相关^[7];Abe等也发现重度抑

郁症患者血细胞中SIRT1 mRNA水平显著下降^[8];激活海马齿状回的SIRT1活性可以改善应激引起的异常树突结构,缓解小鼠的抑郁样行为^[9]。以上研究虽然显示SIRT1参与抑郁症的发生,但杏仁核作为SIRT1表达丰富的脑区之一是否参与对抑郁症的调控尚不清楚。

本研究通过建立慢性束缚应激(chronic restraint stress, CRS)诱导的抑郁样大鼠模型,应用动物行为学实验、免疫印迹法和免疫荧光法分别观察大鼠的抑郁样行为和大鼠杏仁核脑区SIRT1蛋白和SIRT1阳性细胞数以及氟西汀治疗对其的影响,并通过上调杏仁核SIRT1蛋白进一步观察大鼠抑郁样行为的变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物

60只雄性Sprague-Dawley(SD)大鼠,8周龄,体重(200±10)g左右,购买于山西医科大学动物中心。大鼠在SPF级实验室饲养,温度(22±1)℃,湿度为60%,自由饮水进食。

1.2 试剂与仪器

盐酸氟西汀购自大连美仑生物技术有限公司;兔抗SIRT1抗体购自Cell Signaling Technology公司;HRP-羊抗兔IgG、DAPI购自武汉博士德生物工程有限公司;山羊抗兔荧光二抗购自Jackson公司;SIRT1过表达和空载体腺相关病毒质粒载体的构建以及病毒包装、浓缩和纯化服务由上海汉恒生物股份有限公司提供;凝胶电泳仪、半干转印槽、凝胶成像及分析系统购自美国Bio-Rad公司;动物行为分析系统购自成都泰盟软件有限公司;荧光显微镜购自日本Olympus公司;冰冻切片机购自德国LEICA公司;桌面数显型脑立体定位仪购自深圳市瑞沃德生命科技有限公司。

1.3 实验分组及处理

大鼠适应环境一周后,60只SD雄性大鼠随机分为正常对照组(Control)、慢性束缚应激组(CRS)、CRS+氟西汀组(CRS+FLU)、CRS+生理盐水组(CRS+NaCl)、CRS+SIRT1过表达组(CRS+AAV-SIRT1)和CRS+空载体组(CRS+AAV-EGFP),每组10只。对照组大鼠正常饲养,不给予任何刺激。其余各组大鼠每天给予慢性束缚应激6h(9:00-15:00),束缚期间禁食禁饮,持续3周。造模结束后,氟西汀组和生理盐水组大鼠每天分别灌胃

*【基金项目】山西省回国留学人员科研教研项目(HGKY2019054);山西省“1331工程”重点学科建设计划(1331KSC);细胞生理学教育部重点实验室运行经费;国家自然科学基金项目(81973093);山西省留学人员科技活动择优资助项目(2019028);细胞生理学教育部重点实验室(山西医科大学)开放基金重点项目(KLMC/SXMU-202004)

【收稿日期】2022-03-22【修回日期】2022-07-31

△【通讯作者】Tel: 13503517453; E-mail: rong_522522@163.com

给予氟西汀(10 mg/kg)或生理盐水(10 mg/kg),持续3周;SIRT1 过表达组和空载体组大鼠分别脑立体定位注射腺相关病毒 AAV-SIRT1 或 AAV-EGFP 于杏仁核,待病毒表达3周;正常组和抑郁症组大鼠不给予任何药物。应用糖水偏好实验、旷场实验和强迫游泳实验检测各组大鼠的抑郁样行为学变化。行为学实验结束后,取各组大鼠杏仁核组织检测 SIRT1 蛋白水平和 SIRT1 阳性细胞数量。

1.4 脑立体定向手术

大鼠用2%的戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔麻醉后,将其头部固定在大鼠适配器上。暴露头颅,脑部调平后,定位目标脑区(前囟后 2.5 mm,中线旁开 5.5 mm,颅骨面下 8 mm),设置微量注射泵注射参数后注射腺相关病毒 AAV2/9-CMV-r-SIRT1-3xflag-EGFP(AVV-SIRT1)或 AAV2/9-CMV-r-EGFP(AVV-EGFP)(注射速度为 0.1 μ l/min,注射体积为 1.5 μ l)。缝合伤口将大鼠放回 SPF 级实验室正常饲养。待病毒注射后的3周表达稳定,再进行动物行为学检测。

1.5 行为学检测

1.5.1 糖水偏好实验(sucrose preference test, SPT)

SPT 主要检测抑郁大鼠的快感缺失症状。大鼠单独饲养第1日同一高度适应2瓶外观相同的纯净水,第2日适应2瓶1%的蔗糖,第3日禁食禁饮24 h。第4日放置提前称好重的一瓶蔗糖和一瓶纯净水测试24 h,为了防止动物产生位置偏好在12 h时交换2个水瓶的位置。在实验结束后统计大鼠消耗蔗糖和纯净水的量,计算糖水偏好百分比=糖水摄入量/(糖水摄入量+纯净水摄入量) \times 100%。

1.5.2 旷场实验(open-field test, OFT) OFT 主要评估大鼠在新环境中的自主活动和探索能力。OFT 装置长 50 cm,宽 50 cm,高 50 cm,底部设成 9 宫格。实验开始时大鼠置于底部中心开始自由活动,旷场上方的摄像机记录大鼠在 5 min 的总距离和中心停留时间。每次测试后,用 75% 乙醇清洁旷场底部和四壁。

1.5.3 强迫游泳实验(forced swimming test, FST)

FST 主要评估大鼠的行为绝望程度。测试时将大鼠置于装有水深 30 cm 的透明有机玻璃缸中(直径 20 cm,高 44.5 cm),水温(25 \pm 1) $^{\circ}$ C。用摄像头记录大鼠在 5 min 内的游泳,挣扎及漂浮时间。结束后用干毛巾擦干大鼠体表,放回笼中。

1.6 蛋白免疫印迹法检测 SIRT1 蛋白水平

行为学实验结束后,经腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉大鼠,于冰上快速分离出双侧杏仁

核组织;加入含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的裂解液提取蛋白后用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒检测蛋白浓度;7.5% SDS-PAGE 胶上样;凝胶电泳分离(200 V、40 min);半干转膜(2.5 A、25 V、12 min);5% BSA 室温封闭 2 h;TBST 洗涤 3 次 \times 10 min;孵育 SIRT1 一抗(1:1 000),4 $^{\circ}$ C 摇床孵育过夜;TBST 洗涤 3 次 \times 10 min;二抗室温孵育 1 h;TBST 洗涤 3 次 \times 10 min;ECL 发光液显影;用 GelImaging System 进行灰度值分析。

1.7 免疫荧光技术检测 SIRT1 阳性细胞数量

行为学实验结束后,经腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉大鼠,剪开胸腔充分暴露心脏,快速灌注预冷的 0.9% 生理盐水 500 ml,至肉眼可见肝变白且右心耳无血液流出为止,先快后慢灌注预冷的 4% 的多聚甲醛 300 ml,然后 4 $^{\circ}$ C、4% 的多聚甲醛固定脑组织 4 h,20%、30% 蔗糖梯度脱水至脑组织沉底。OCT 包埋后置冰冻切片机上进行冰冻切片留取杏仁核区域脑片(30 μ m)。

将脑片放在 1 \times PBS 溶液中漂洗 3 次,每次 5 min,洗去包埋剂;0.3% Triton X-100 PBS 溶液室温破膜 30 min;3% BSA 溶液温封闭 1 h;1 \times PBS 溶液中漂洗 3 次,每次 5 min;加入兔源 SIRT1 一抗(1:400)4 $^{\circ}$ C 摇床孵育过夜;1 \times PBS 溶液中漂洗 3 次,每次 5 min;加入羊抗兔荧光二抗(1:500),室温摇床避光孵育 1 h;1 \times PBS 溶液中漂洗 3 次,每次 5 min;DAPI 室温摇床避光孵育 10 min;1 \times PBS 溶液中漂洗 3 次,每次 5 min;捞片、裱片后滴加抗荧光衰减封片剂封片,在 Olympus 显微镜下观察杏仁核染色结果并拍照计数。

1.8 统计学处理

应用 SPSS 22.0 软件进行数据分析,GraphPad prism 8 统计软件分析作图,数据以平均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间数据比较使用正态分布 *t* 检验,多组间数据比较使用单因素方差分析(One-way ANOVA),Post Hoc Test 选用 LSD 方法。

2 结果

2.1 蛋白免疫印迹实验结果

图 1A 所示为将腺相关病毒注射至大鼠杏仁核脑区三周后的病毒表达荧光图,因此确认病毒在杏仁核脑区被成功转染。图 1B 所示为 SIRT1 免疫印迹蛋白条带图,结果如表 1 所示:与 Control 组相比,CRS 组大鼠杏仁核 SIRT1 蛋白表达量显著降低($P<0.01$);与 CRS 组相比,CRS + FLU 组($P<0.05$)和 CRS + AAV-SIRT1 组大鼠杏仁核 SIRT1 蛋白水平均

明显增高 ($P < 0.01$); CRS + FLU 组和 CRS + AAV-SIRT1 组两组间差异无统计学意义; CRS + NaCl 组和 CRS + AAV-EGFP 组大鼠杏仁核的 SIRT1 蛋白表达与 CRS 组比较, 差异均无显著性。以上结果提示 CRS 大鼠杏仁核 SIRT1 蛋白表达量降低, 氟西汀治疗和过表达杏仁核 SIRT1 蛋白后可以部分逆转 CRS 大鼠杏仁核下调的 SIRT1 蛋白。

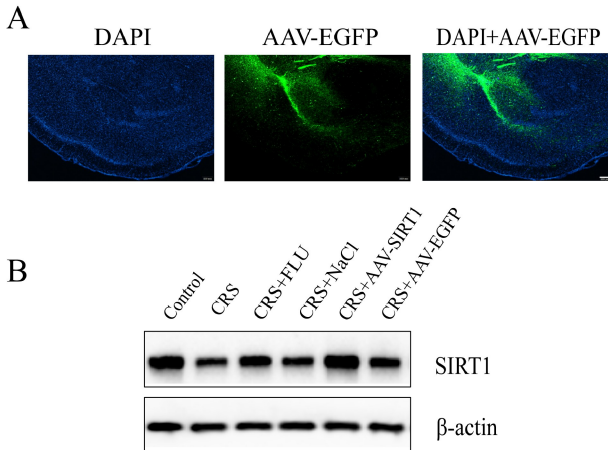


Fig. 1 Results of Western blot

A: Representative immunofluorescent photomicrographs for adeno-associated virus overexpression in the amygdala ($\times 4$, Scale bars = 200 μm); B: The levels of SIRT1 in amygdala from each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$); FLU: Fluoxetine; CRS: Chronic restraint stress; SIRT1: Silent information regulator 1

Tab. 1 SIRT1 levels and SIRT1 positive cells in amygdala of rats from each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Group	SIRT1 levels	SIRT1/DAPI
Control	1.0150 \pm 0.0606	233.00 \pm 6.08
CRS	0.5432 \pm 0.0581 **	98.33 \pm 24.83 **
CRS + FLU	0.8421 \pm 0.0704 [#]	189.00 \pm 24.02 ^{##}
CRS + NaCl	0.5504 \pm 0.1334	96.00 \pm 23.43
CRS + AAV-SIRT1	1.0780 \pm 0.1392 ^{##}	236.00 \pm 26.06 ^{##}
CRS + AAV-EGFP	0.6381 \pm 0.1326	82.33 \pm 17.62

CRS: Chronic restraint stress; FLU: Fluoxetine; SIRT1: Silent information regulator 1

** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ vs CRS group

2.2 免疫荧光检测结果

结果如图 2 所示为各组大鼠杏仁核脑区 SIRT1 染色的代表性免疫荧光图片。结果如表 1 所示:与 Control 组相比, CRS 组大鼠杏仁核中 SIRT1 阳性细胞数显著降低 ($P < 0.01$); 与 CRS 组相比, CRS + FLU 组 ($P < 0.01$) 和 CRS + AAV-SIRT1 组大鼠杏仁核中 SIRT1 阳性细胞数量显著增加 ($P < 0.01$); CRS + FLU 组和 CRS + AAV-SIRT1 组两组间差异无统

计学意义; CRS + NaCl 组和 CRS + AAV-EGFP 组大鼠杏仁核中 SIRT1 阳性细胞数与 CRS 组比较, 差异均无显著性。以上结果提示 CRS 大鼠杏仁核 SIRT1 阳性细胞数降低, 氟西汀治疗和过表达杏仁核 SIRT1 蛋白后可以部分逆转 CRS 大鼠杏仁核下调的 SIRT1 阳性细胞数。

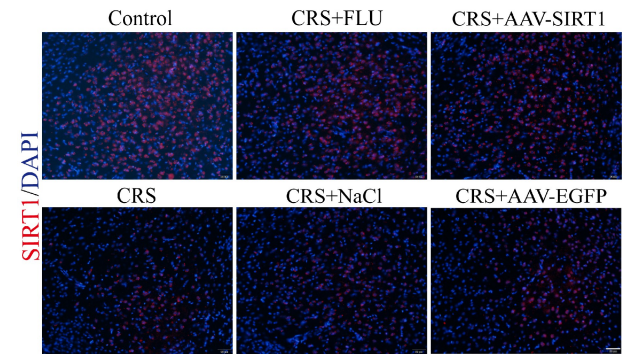


Fig. 2 Representative immunofluorescence images of SIRT1 positive cells ($\times 20$, scale bar = 50 μm , SIRT1: red, DAPI: blue)

FLU: Fluoxetine; CRS: Chronic restraint stress; SIRT1: Silent information regulator 1

2.3 行为学实验结果

2.3.1 糖水偏好实验结果 结果如表 2 所示:与 Control 组相比, CRS 组大鼠糖水偏好百分比显著降低 ($P < 0.01$); 与 CRS 组相比, CRS + FLU 组 ($P < 0.05$) 和 CRS + AAV-SIRT1 组 ($P < 0.01$) 均可增加大鼠的糖水偏好百分比; CRS + FLU 组和 CRS + AAV-SIRT1 组两组间差异无统计学意义; CRS + NaCl 组和 CRS + AAV-EGFP 组大鼠的糖水偏好百分比比较 CRS 组无明显差异。以上结果提示 CRS 大鼠出现快感缺失的症状, 氟西汀治疗或者过表达 SIRT1 均可以改善大鼠快感缺失症状。

2.3.2 旷场实验结果 结果如表 2 所示:与 Control 组相比, CRS 组大鼠在旷场实验中水平运动总距离减少 ($P < 0.01$), 在中心区域停留时间缩短 ($P < 0.01$); 与 CRS 组相比, CRS + FLU 组 ($P < 0.01$) 或 CRS + AAV-SIRT1 组 ($P < 0.01$) 均可增加大鼠的水平运动总距离和中心区停留的时间; CRS + FLU 组和 CRS + AAV-SIRT1 组大鼠的旷场实验结果均无统计学差异; CRS + NaCl 组和 CRS + AAV-EGFP 组大鼠的旷场实验结果与 CRS 组相比, 均无明显差异。以上结果提示 CRS 组大鼠出现运动活动能力和空间探索能力下降的抑郁样行为, 氟西汀治疗或者过表达 SIRT1 均可以改善大鼠的运动活动和空间探索能力。

2.3.3 强迫游泳实验结果 结果如表 2 所示:与 Control 组相比, CRS 组大鼠在强迫游泳实验中的不

动时间显著增加($P < 0.01$);与 CRS 组相比,CRS + FLU 组($P < 0.01$)和 CRS + AAV-SIRT1 组($P < 0.01$)大鼠不动时间减少;CRS + FLU 组和 CRS + AAV-SIRT1 组大鼠的不动时间相比,差异无统计学

意义;CRS + NaCl 组和 CRS + AAV-EGFP 组大鼠的不动时间与 CRS 组相比,均无明显差异。以上结果提示 CRS 大鼠出现绝望行为,氟西汀治疗或者过表达 SIRT1 均可以改善抑郁大鼠的绝望行为。

Tab. 2 Overview of behavioural tests($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Group	Sucrose preference (%)	OFT		Immobility time (s)
		Total distance (cm)	Time in the center (s)	
Control	81.84±13.09	1786.6±317.2	3.750±1.556	232.9±21.4
CRS	45.38±18.87**	1111.8±385.7**	0.640±0.662**	274.5±10.1**
CRS + FLU	69.59±17.38#	1796.5±391.4##	4.270±1.457##	243.7±20.7##
CRS + NaCl	45.25±18.68	948.7±442.1	1.050±0.562	273.5±11.7
CRS + AAV-SIRT1	78.42±14.37##	1762.2±242.6##	2.950±1.355##	234.2±29.5##
CRS + AAV-EGFP	37.71±7.38	1018.3±222.9	0.810±0.676	260.5±15.2

OFT: Open field test; CRS: Chronic restraint stress; FLU: Fluoxetine; SIRT1: Silent information regulator 1

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs CRS group

3 讨论

目前,动物实验和临床研究资料都显示 SIRT1 与抑郁症存在显著的关联。慢性社会挫败应激小鼠海马 SIRT1 蛋白水平显著降低^[10]。在雄性小鼠的前脑兴奋神经元也发现 SIRT1 的选择性缺失可以诱导小鼠出现快感缺失和行为绝望的抑郁样行为,而 SIRT1 激活剂则显著改善小鼠的抑郁样行为^[11]。临床资料也显示,抑郁症患者的外周血 SIRT1 mRNA 水平降低^[12]。杏仁核作为 SIRT1 表达丰富的脑区之一,目前与其相关的研究更多集中在焦虑和疼痛方面。例如,高脂饮食以时间依赖方式调节杏仁核 SIRT1 从而影响小鼠的焦虑样行为^[13];激活杏仁核 SIRT1 显著缓解与慢性疼痛诱发的大鼠抑郁样行为,同时缓解疼痛的感觉^[14, 15]。然而杏仁核 SIRT1 在抑郁症中的作用尚未见相关报道。

本研究采用慢性束缚应激诱导的抑郁大鼠模型,首次观察杏仁核 SIRT1 对大鼠抑郁样行为的影响。研究发现,氟西汀治疗可以部分逆转抑郁大鼠杏仁核下调的 SIRT1 蛋白和 SIRT1 阳性细胞数,并改善大鼠的抑郁样行为。这一结果提示氟西汀改善 CRS 大鼠的抑郁样行为可能与大鼠杏仁核 SIRT1 蛋白的上调有关。为验证这一假设,我们应用基因转染技术通过在 CRS 大鼠杏仁核过表达 SIRT1 进一步观察大鼠抑郁样行为的变化,结果显示过表达杏仁核 SIRT1 也可以发挥与氟西汀类似的抗抑郁作用。这一结果进一步证明杏仁核 SIRT1 具有抗抑郁的作用。

SIRT1 作为一种 NAD⁺ 依赖的脱乙酰基酶,主要通过其去乙酰化修饰参与细胞衰老、细胞分化、细胞凋亡及肿瘤发生发展等一系列生理病理过程的调节。在慢性神经病理痛模型中,易产生焦虑和抑郁

行为的大小鼠中央杏仁核的 SIRT1 蛋白水平降低;而局部过表达 SIRT1 可以通过使钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (Ca²⁺/calmodulin dependent protein kinase II, CaMKII) 去乙酰化,抑制其转录,从而降低慢性疼痛与情绪障碍共病的易感性^[15]。Solís-Bravo 等人也发现,SIRT1 通过调节时钟昼夜节律调节因子(clock circadian regulator, CLOCK)靶标的乙酰化状态,影响机体的昼夜节律,参与抑郁症的发病^[16]。SIRT1 也可以通过降低核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 的 p65 亚基乙酰化水平发挥抗炎作用,从而改善嗅球切除大鼠的抑郁样行为^[17]。因此,SIRT1 作为一个重要的表观遗传调节因子,通过其广泛的去乙酰化作用参与抑郁症的发生发展。

通过本实验我们发现杏仁核 SIRT1 可能作为临床未来有效抗抑郁的重要分子靶点,并为今后理解抑郁症发病机制及开发新型抗抑郁药物提供新思路。但 SIRT1 在杏仁核的具体作用机制有待于临床及科研工作者的进一步深入探究。

【参考文献】

- [1] Malhi GS, Coulston CM, Fritz K, *et al.* Unlocking the diagnosis of depression in primary care: Which key symptoms are GPs using to determine diagnosis and severity? [J]. *Aust N Z J Psychiat*, 2014, 48(6): 542-547.
- [2] Kawasaki T, Ago Y, Yano K, *et al.* Increased binding of cortical and hippocampal group II metabotropic glutamate receptors in isolation-reared mice [J]. *Neuropharmacology*, 2011, 60(2-3): 397-404.
- [3] Tang S, Li H, Lu L, *et al.* Anomalous functional connectivity of amygdala subregional networks in major depressive disorder [J]. *Depress Anxiety*, 2019, 36(8): 712-722.

- [4] Lee JY, Kim HS, Choi HY, *et al.* Fluoxetine inhibits matrix metalloprotease activation and prevents disruption of blood-spinal cord barrier after spinal cord injury [J]. *Brain*, 2012, 135(Pt 8): 2375-2389.
- [5] 袁前发, 何珏, 徐志忠, 等. 重复经颅磁刺激联合低剂量氟西汀对 CUMS 抑郁小鼠的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2021, 37(6): 650-653.
- [6] Harmer CJ, Mackay CE, Reid CB, *et al.* Antidepressant drug treatment modifies the neural processing of nonconscious threat cues [J]. *Biol Psychiat*, 2006, 59(9): 816-820.
- [7] Kishi T, Yoshimura R, Kitajima T, *et al.* SIRT1 gene is associated with major depressive disorder in the Japanese population [J]. *J Affect Disord*, 2010, 126(1-2): 167-173.
- [8] Abe N, Uchida S, Otsuki K, *et al.* Altered sirtuin deacetylase gene expression in patients with a mood disorder [J]. *J Psychiat Res*, 2011, 45(8): 1106-1112.
- [9] Abe-Higuchi N, Uchida S, Yamagata H, *et al.* Hippocampal Sirtuin 1 signaling mediates depression-like behavior [J]. *Biol Psychiat*, 2016, 80(11): 815-826.
- [10] 王乐, 李碧蓉, 肖志勇, 等. 二氢杨梅素改善慢性社会挫败应激小鼠认知与情感障碍 [J]. 中国应用生理学杂志, 2019, 35(6): 496-500.
- [11] Lei Y, Wang J, Wang D, *et al.* SIRT1 in forebrain excitatory neurons produces sexually dimorphic effects on depression-related behaviors and modulates neuronal excitability and synaptic transmission in the medial prefrontal cortex [J]. *Mol Psychiat*, 2020, 25(5): 1094-1111.
- [12] McGrory CL, Ryan KM, Kolshus E, *et al.* Peripheral blood SIRT1 mRNA levels in depression and treatment with electroconvulsive therapy [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2018, 28(9): 1015-1023.
- [13] Xu L, Xu S, Lin L, *et al.* High-fat diet mediates anxiolytic-like behaviors in a time-dependent manner through the regulation of SIRT1 in the brain [J]. *Neuroscience*, 2018, 372(13): 237-245.
- [14] Sun YM, Shen Y, Huang H, *et al.* Downregulated SIRT1 in the CeA is involved in chronic pain-depression comorbidity [J]. *Brain Res Bull*, 2021, 174: 339-348.
- [15] Zhou C, Wu Y, Ding X, *et al.* SIRT1 decreases emotional pain vulnerability with associated CaMKII α deacetylation in central amygdala [J]. *J Neurosci*, 2020, 40(11): 2332-2342.
- [16] Solís-Bravo MA, Flores-Rodríguez Y, Tapia-Guillen LG, *et al.* Are tattoos an indicator of severity of non-suicidal self-injury behavior in adolescents? [J]. *Psychiat Invest*, 2019, 16(7): 504-512.
- [17] Yu H, Zhang F, Guan X. Baicalin reverse depressive-like behaviors through regulation SIRT1-NF- κ B signaling pathway in olfactory bulbectomized rats [J]. *Phytother Res*, 2019, 33(5): 1480-1489.

(上接第 22 页)

- [15] Suzuki A, Stern SA, Bozdagi O, *et al.* Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation [J]. *Cell*, 2011, 144(5): 810-823.
- [16] Zhang Y, Xue Y, Meng S, *et al.* Inhibition of lactate transport erases drug memory and prevents drug relapse [J]. *Biol Psychiat*, 2016, 79(11): 928-939.
- [17] Rana A, Musto AE. The role of inflammation in the development of epilepsy [J]. *J Neuroinflamm*, 2018, 15(1): 144.
- [18] Dupuis N, Auvin S. Inflammation and epilepsy in the developing brain: clinical and experimental evidence [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2015, 21(2): 141-151.
- [19] Sanz P, Garcia-Gimeno MA. Reactive glia inflammatory signaling pathways and epilepsy [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 4096.
- [20] McCallum RT, Perreault ML. Glycogen synthase kinase-3; a focal point for advancing pathogenic inflammation in depression [J]. *Cells*, 2021, 10(9): 2270.
- [21] Helmstaedter C, Witt JA. Epilepsy and cognition-A bidirectional relationship? [J]. *Seizure*, 2017, 49: 83-89.
- [22] Alachkar A, Ojha SK, Sadeq A, *et al.* Experimental models for the discovery of novel anticonvulsant drugs: Focus on pentylentetrazole-induced seizures and associated memory deficits [J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(15): 1693-1711.
- [23] 孙杨, 赵灿, 刘媛媛, 等. 辣木叶对糖尿病大鼠认知功能及海马神经细胞凋亡的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2021, 37(6): 638-643.