

# 奥氮平通过抑制 NLRP3 炎症小体激活对抑郁症模型大鼠海马神经元的保护作用\*

岳凌峰<sup>1</sup>, 仲照希<sup>2△</sup>, 马敬<sup>2</sup>, 王宁<sup>3</sup>

1. 新乡医学院第二附属医院 精神四科(新乡 453002); 2. 新乡医学院第二附属医院 心境障碍科(新乡 453002);  
3. 新乡医学院第二附属医院 精神三科(新乡 453002)

**【摘要】** 目的 探究奥氮平(OLA)对抑郁症模型大鼠海马神经元的影响及作用机制。方法 将大鼠分为对照组、慢性不可预见性应激(CUS)组、OAL (0.5、1、2 mg/kg)组、si-Atg5 及 OAL (2 mg/kg) + si-Atg5 组,旷场实验及糖水偏好实验评估大鼠行为学表现, Tunnel 检测细胞凋亡, ELISA 检测白介素(IL)-1 $\beta$ 、IL-18 质量浓度, Western blot 检测 cleaved Caspase-3, cleaved Caspase-9, 自噬相关蛋白 LC3、Beclin1、P62, 炎症小体 NLRP3 及 cleaved Caspase-1 表达水平。结果 0.5、1、2 mg/kg OAL 均可增加 CUS 大鼠自发活动总路程、糖水消耗量及偏好率, 降低大鼠 IL-18 血清质量浓度, 海马 CA3 区凋亡细胞百分比, cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-1、NLRP3 表达; 0.5 mg/kg OAL 对 cleaved Caspase-3 表达及 IL-1 $\beta$  血清质量浓度无影响, 1、2 mg/kg OAL 可降低 cleaved Caspase-3 表达及 IL-1 $\beta$  血清质量浓度。si-Atg5 可减小 CUS 大鼠自发活动总路程、糖水消耗量及偏好率, 提高 cleaved Caspase-3、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-1、NLRP3 表达, 并减弱 2 mg/kg OAL 产生的影响。同时, 0.5、1、2 mg/kg OAL 均可提高大鼠海马 CA3 区 LC3 II / LC3 I 比值及 Beclin1 表达; 0.5 mg/kg OAL 对 P62 表达无影响, 1、2 mg/kg OAL 可降低 P62 表达。si-Atg5 可降低 LC3 II / LC3 I 比值及 Beclin1 的表达, 并减弱 2 mg/kg OAL 产生的作用。结论 OAL 可通过抑制 NLRP3 炎症小体激活对 CUS 大鼠海马神经元产生保护作用。

**【关键词】** 奥氮平 抑郁症 NLRP3 炎症小体

**The Protective Effect of Olanzapine on the Hippocampal Neuron of Depression Model Rats via Inhibiting NLRP3 Inflammasome Activation** YUE Ling-feng<sup>1</sup>, ZHONG Zhao-xi<sup>2△</sup>, MA Jing<sup>2</sup>, WANG Ning<sup>3</sup>. 1. The Forth Department, the Second Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453002, China; 2. Department of Mood Disorder, the Second Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453002, China; 3. The Third Department, the Second Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453002, China

△ Corresponding author, E-mail: zzzzx9268@tom.com

**【Abstract】** **Objective** To determine the impact olanzapine (OLA) on the hippocampal neuron of model rats with depression. **Methods** Rats were divided into five groups: control, chronic unpredicted stress (CUS), OAL (0.5, 1, 2 mg/kg), si-Atg5, and OAL (2 mg/kg) + si-Atg5. Open field and sucrose preference tests were performed to evaluate rat behaviors. Cell apoptosis was detected with Tunnel. The concentrations of interleukin (IL)-1 $\beta$  and IL-18 were determined by ELISA. The expressions of cleaved Caspase-3, cleaved Caspase-9, LC3, Beclin1, P62, NLRP3 and cleaved Caspase-1 were measured by Western blot. **Results** OAL (0.5, 1, 2 mg/kg) increased the total moving distance, sucrose consumption and preference rate of CUS rats, and decreased serum IL-18, cell apoptosis and the expressions of cleaved Caspase-9, cleaved Caspase-1 and NLRP3 in the CA3 region of hippocampus. Although OAL (1, 2 mg/kg) decreased the expression of cleaved Caspase-3 and serum IL-1 $\beta$ , OAL (0.5 mg/kg) showed no detectable effects. Si-Atg5 decreased the total moving distance, sucrose consumption and preference rate of CUS rats, enhanced the expressions of cleaved Caspase-3, cleaved Caspase-9, cleaved Caspase-1 and NLRP3, and weakened the effect of OAL (2 mg/kg). OAL (0.5, 1, 2 mg/kg) also increased the LC3 II / LC3 I ratio and the expression of Beclin1 in the CA3 region of hippocampus. OAL (1, 2 mg/kg) reduced the expression of p62, but not when it was reduced to 0.5 mg/kg. Si-Atg5 reduced the LC3 II / LC3 I ratio and the expression of Beclin1, and weakened the function of OAL (2 mg/kg). **Conclusion** OAL can protect the hippocampal neuron of CUS rats via inhibiting NLRP3 inflammasome activation.

**【Key words】** Olanzapine Depression NLRP3 inflammasome

抑郁症是常见的精神疾病,以情绪低落、快感缺失、长期失眠及认知障碍为主要临床表现,重度抑郁症患者往往具有自杀倾向<sup>[1]</sup>。随着都市生活节奏的

\* 河南省科技攻关项目(No. 182102310242)资助

△ 通信作者, E-mail: zzzzx9268@tom.com

加快,人们承受的压力日益增大,抑郁症发病率逐年增高。全球目前约有 3.5 亿人受到抑郁症的困扰,探索抑郁症的治疗方法成为医学界研究热点<sup>[2]</sup>。奥氮平(OAL)是一种作用于多巴胺和 5-羟色胺受体的非典型抗精神病药,可通过拮抗多巴胺受体减少精神病患者的阳性症状,如幻觉、妄想、言语、思维及行为紊乱,通过拮抗 5-羟色胺受体减少精神病患者的阴性症状,如情绪低落、冷漠、快感缺失及注意力不足<sup>[3]</sup>。同时,OAL 也是治疗双相抑郁症的主要药物之一<sup>[4]</sup>,其与氟西汀联合使用可显著地缓解双相抑郁症状<sup>[5]</sup>。目前,OAL 在国内临床应用时间并不长,其对患者海马神经元产生的影响还有待深入研究。因此,本实验通过建立大鼠慢性不可预见性应激(CUS)模型,对 OAL 在海马神经元中的影响及作用机制进行深入探究。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物和试剂

42 只 3 周龄 SPF 级 SD 大鼠购自河南远大生物制药有限公司,许可证号:SYXK(豫)2017-0014;OAL 购自美国 Eli Lilly;Tunnel 试剂盒及 BCA 试剂盒购自上海碧云天;白介素(IL)-1 $\beta$  及 IL-18 ELISA 试剂盒购自美国 Invitrogen;实验所用蛋白抗体均购自美国 Cell Signaling Technology;二抗均购自北京中杉金桥;si-Atg5 购自上海生工生物。

### 1.2 大鼠分组及处理

将 42 只 SD 大鼠分为对照,CUS、OAL (0.5、1、2 mg/kg)、si-Atg5 及 OAL (2 mg/kg)+si-Atg5 组,每组 6 只。除对照组以外,其余各组均建立大鼠 CUS 抑郁症模型,OAL 用药浓度<sup>[6]</sup>及大鼠 CUS 抑郁症模型建立方法<sup>[7]</sup>参考既往文献。通过旷场实验、糖水偏好实验检测造模情况。造模成功后,OAL(0.5、1、2 mg/kg)组分别灌胃给予 0.5、1、2 mg/kg OAL,si-Atg5 组用 si-Atg5 腺病毒转染大鼠,OAL (2 mg/kg)+si-Atg5 组用 si-Atg5 腺病毒转染大鼠并灌胃给予 2 mg/kg OAL,CUS 组则给予等量生理盐水,每日 1 次,持续给予 3 周后,收集大鼠外周血,处死大鼠后剥离大脑海马 CA3 区组织,石蜡包埋脑组织,用于后期检测。

### 1.3 旷场实验

造模前后将各组大鼠单独置于透明观察室,适应 10 min 后,记录其 5 min 内自发活动路程。观察后,每只大鼠用清洁剂清洗并干燥。

### 1.4 糖水偏好实验

将各组大鼠单独置于饲养笼中,进行预实验,第一日,笼中放置 2 瓶 1%蔗糖溶液,第二日用自来水取代其中 1 瓶蔗糖溶液。适应后,断粮水供应 24 h,于上午 9 点进行正式实验。笼中分别放置 100 mL 自来水及蔗糖溶液各 1 瓶,1 h 后,记录蔗糖溶液及自来水消耗体积,糖水偏好率=糖水消耗量/(水消耗量+糖水消耗量) $\times 100\%$ 。

### 1.5 HE 染色

将脑海马区组织石蜡包埋切片,然后将切片脱蜡、水洗、苏木精液染色、水洗;再用 1%盐酸酒精分化,水洗;0.6%氨水返蓝,水洗;0.5%伊红液染色,水洗;接着脱水,二甲苯透明;最后中性树脂封片,每组取 6 张切片,在 400 倍显微镜观察海马区组织损伤情况。

### 1.6 Tunnel 检测

将大鼠大脑海马组织石蜡切片脱蜡修复,内源性过氧化物酶作用 5 min 后,PBS 洗涤。滴加 Tunnel 检测液 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 1 h 后,PBS 洗涤。利用 DAB 显色液避光显色,苏木精复染。暗室内观察切片,显微镜视野下,棕色为凋亡细胞,蓝色为正常细胞。每组取 6 张切片于 400 倍镜下观察。凋亡率(%)=凋亡细胞数/细胞总数 $\times 100\%$ 。

### 1.7 ELISA 检测大鼠血清 IL-1 $\beta$ 和 IL-18 质量浓度

利用 ELISA 试剂盒测定 IL-1 $\beta$ 、IL-18 血清质量浓度,步骤参考试剂盒说明书。避光显色,利用酶标仪读取吸光度(A)值,根据标准样品曲线公式计算各样品 A 值对应的蛋白质量浓度。

### 1.8 Western blot 检测海马 CA3 区脑组织蛋白水平

RIPA 裂解海马 CA3 区脑组织,提取总蛋白。BCA 试剂盒将蛋白定量并调平。取蛋白 30 g,10% SDS-PAGE 将蛋白分离,湿转法将蛋白转移至 PVDF 膜,脱脂奶粉室温封闭 2 h,各蛋白对应一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,二抗 37 $^{\circ}\text{C}$  1 h,最后曝光显色,以 GAPDH 为内参,薄膜由 Bio-rad 凝胶 DocEZ 成像仪拍摄,利用 Image J 软件分析检测 Capase-3、-9、NLRP3、LC3、Beclin1 和 P62 蛋白条带的灰度值与内参蛋白带的灰度值比值。

### 1.9 统计学方法

所有数据先进行正态分布和方差齐性分析,符合条件的选用单因素方差分析或 *t* 检验,不符合条件的选用秩和检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 旷场实验及糖水偏好实验结果

造模前各组大鼠自发活动总路程长度差异无统计学意义。造模后,与对照组比较,CUS组、si-Atg5组和DAL+si-Atg5组大鼠自发活动总路程长度、糖水消耗量及偏好率降低( $P<0.01$ ),说明造模成功。

表 1 造模前后各组大鼠旷场实验和糖水偏好实验结果( $n=6$ )

Table 1 Open field tests and post-intervention sucrose preference tests on rats ( $n=6$ )

Group	The total moving distance/cm		Sucrose preference rate/%		
	Before model	After model	Before model	After model	After drug
Control	336.4±45.6	489.7±78.2	74.9±2.3	75.0±4.3	75.2±6.9
CUS	328.6±58.3	125.3±54.4**	74.8±3.2	45.7±6.5**	45.8±9.6**
OAL (0.5 mg/kg)	331.3±47.6	378.3±96.5#	75.1±2.2	45.8±5.3**	55.2±9.6*#
OAL (1 mg/kg)	352.2±68.2	421.6±87.3#	74.9±2.4	45.6±6.8**	64.3±10.6#
OAL (2 mg/kg)	345.7±52.1	463.2±89.7#	75.2±2.7	45.9±5.9**	74.9±9.6#
si-Atg5	324.1±66.5	88.6±18.9***#	74.8±3.4	45.8±4.9**	27.3±5.2***#
OAL+si-Atg5	336.3±72.3	217.6±36.5***&#	75.0±4.5	45.7±5.2**	55.8±6.9*#&

\*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ , vs. control group; #  $P<0.05$ , ##  $P<0.01$ , vs. CUS group; &  $P<0.05$ , &#  $P<0.01$ , vs. OAL (2 mg/kg) group

### 2.2 OLA 对 CUS 大鼠海马神经细胞病理的影响

见图 1。与对照组比较,CUS组大鼠海马 CA3 区发生明显的病理损伤,细胞核浓缩,细胞质减少,细胞核染色加深;与 CUS 组比较,大鼠经过不同质量浓度的 OAL 治疗后,细胞核逐渐舒展,细胞形态恢复正常,神经突出逐渐长出;并且随着药物剂量的

干预 3 周后,与 CUS 组比较,OAL (0.5 mg/kg)、(1 mg/kg)及(2 mg/kg)组中大鼠自发活动总路程长度、糖水消耗量及偏好率升高( $P<0.05$ );si-Atg5 组大鼠自发活动总路程长度、糖水消耗量及偏好率降低( $P<0.05$ )。与 OAL (2 mg/kg) 组比较,OAL (2 mg/kg)+si-Atg5 组大鼠自发活动总路程长度、糖水消耗量及偏好率降低( $P<0.05$ )。见表 1。

增加,组织细胞形态越接近对照组;si-Atg5 组大鼠海马 CA3 区病理损伤加重,细胞核浓缩程度、细胞质减少程度、细胞核染色均加重;与 OAL (2 mg/kg)组比较,OAL (2 mg/kg)+si-Atg5 组大鼠海马区细胞核浓缩程度、细胞质减少程度、细胞核染色均加重。

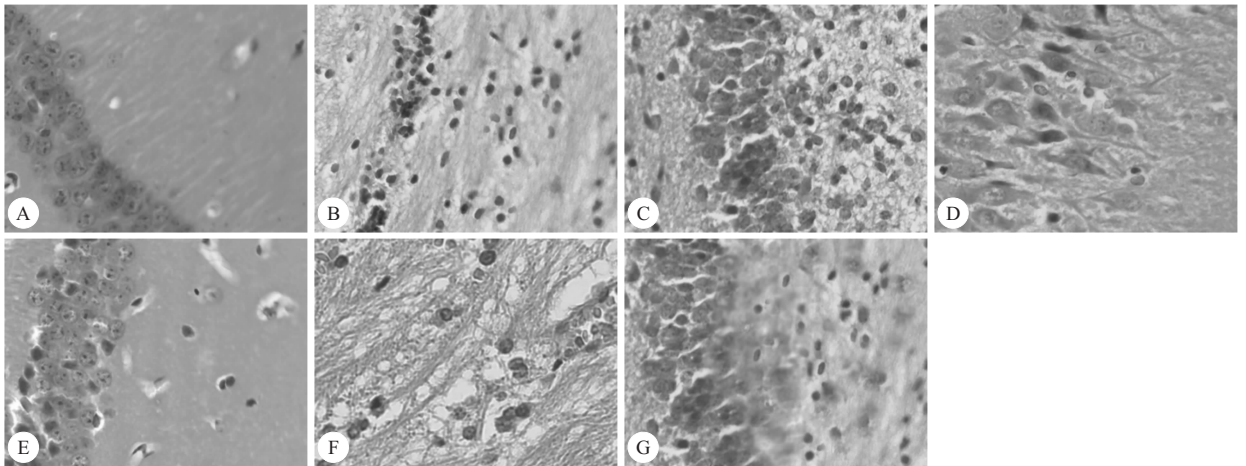


图 1 各组大鼠海马 CA3 区细胞损伤。HE ×400

Fig 1 The injury of tissue cells in the CA3 region of hippocampus by group. HE ×400

A: Control group; B: CUS group; C: OAL (0.5 mg/kg) group; D: OAL (1.0 mg/kg) group; E: OAL (2.0 mg/kg) group; F: si-Atg5 group; G: OAL (2 mg/kg)+si-Atg5 group

### 2.3 OLA 对 CUS 大鼠海马神经细胞凋亡的影响

见图 2~图 4。与对照组比较,CUS组、OAL (0.5、1 mg/kg)组、si-Atg5 组及 OAL (2 mg/kg)+si-Atg5 组大鼠海马 CA3 区凋亡细胞百分比( $P<$

0.01)、cleaved Caspase-3 及 cleaved Caspase-9 表达( $P<0.01$ )升高。与 CUS 组比较,OAL (0.5 mg/kg)、(1 mg/kg)及(2 mg/kg)组中凋亡细胞百分比降低( $P<0.01$ );OAL (0.5 mg/kg)组 cleaved

Caspase-3 表达无明显变化,cleaved Caspase-9 表达降低( $P < 0.05$ );OAL (1 mg/kg)及(2 mg/kg)组中 cleaved Caspase-3、cleaved Caspase-9 表达均降低( $P < 0.05, P < 0.01$ );si-Atg5 组凋亡细胞百分比升高( $P < 0.01$ ),cleaved Caspase-3、cleaved Caspase-9 表达均升高( $P < 0.01$ )。与 OAL (2 mg/kg)组比较,OAL (2 mg/kg) + si-Atg5 组凋亡细胞百分比升高 ( $P < 0.01$ ),cleaved Caspase-3、cleaved Caspase-9 表达均升高( $P < 0.01$ )。

### 2.4 OLA 对 CUS 大鼠神经细胞炎症反应的影响

见图 5、图 6。与对照组比较,CUS 组、OAL (0.5、1 mg/kg)组、si-Atg5 组及 OAL (2 mg/kg) + si-Atg5 组大鼠 IL-1 $\beta$ 、IL-18 血清质量浓度、海马 CA3 区 cleaved Caspase-1、NLRP3 表达升高( $P < 0.01$ )。与 CUS 组比较,OAL (0.5 mg/kg)组 IL-1 $\beta$  质量浓度差异无统计学意义,OAL (1 mg/kg)及 OAL (2 mg/kg)组中 IL-1 $\beta$  质量浓度降低 ( $P < 0.01$ );同时,OAL (0.5 mg/kg)、

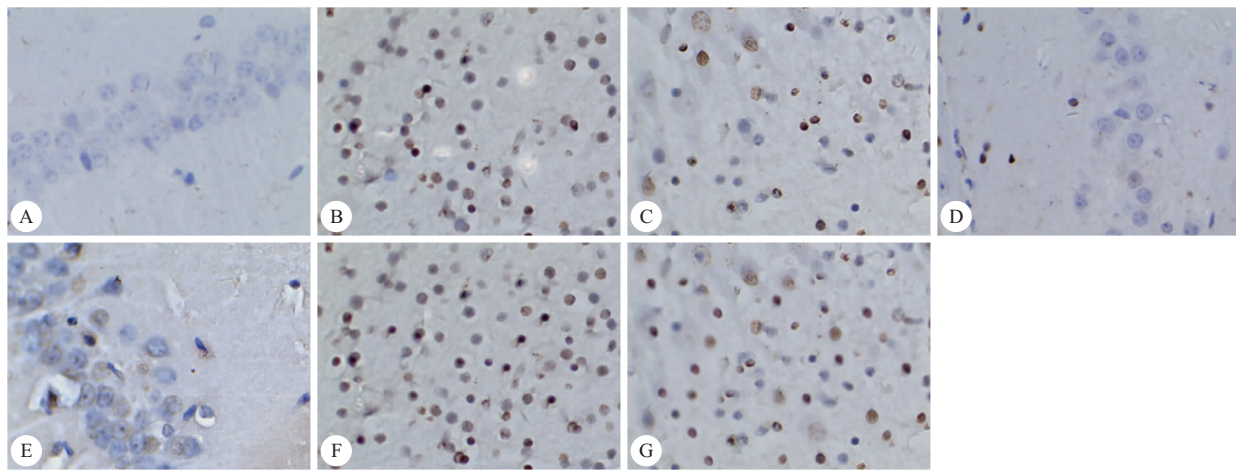


图 2 各组大鼠海马 CA3 区凋亡细胞。Tunnel 染色  $\times 400$

Fig 2 Cell apoptosis in the CA3 region of hippocampus by group. Tunnel staining  $\times 400$

A-G denote the same as fig 1

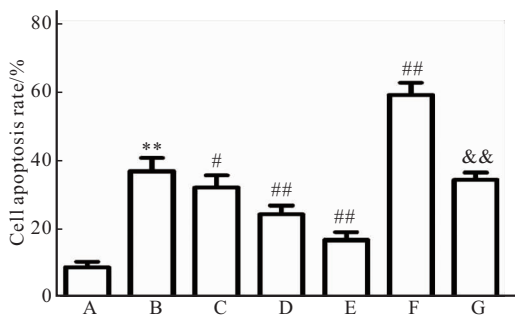


图 3 各组大鼠海马 CA3 区凋亡细胞百分比

Fig 3 The apoptosis rate of cells in the CA3 region of hippocampus by group

A-G denote the same as fig 1. \*  $P < 0.01$ , vs. control group; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ , vs. CUS group; &&  $P < 0.01$ , vs. OAL (2 mg/kg) group

(1 mg/kg)及(2 mg/kg)组中 IL-18 质量浓度( $P < 0.05, P < 0.01$ )、cleaved Caspase-1、NLRP3 表达( $P < 0.05, P < 0.01$ )均降低;si-Atg5 组大鼠 IL-1 $\beta$ 、IL-18 血清质量浓度 ( $P < 0.01$ )、海马 CA3 区

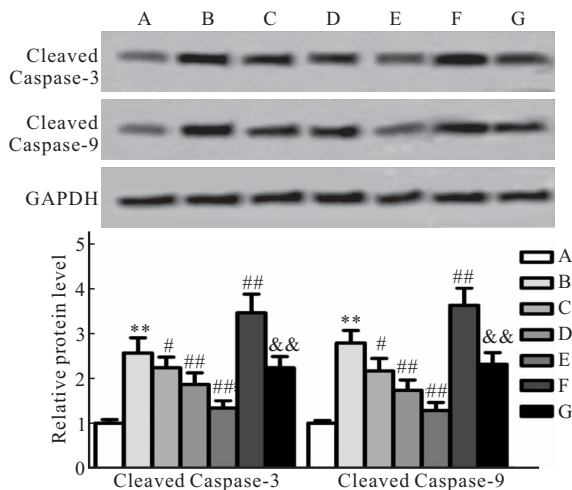


图 4 各组中 cleaved Caspase-3、cleaved Caspase-9 的表达

Fig 4 The expressions of cleaved Caspase-3 and cleaved Caspase-9 in the CA3 region of hippocampus by group

A-G denote the same as fig 1. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , vs. control group; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ , vs. CUS group; &  $P < 0.05$ , &&  $P < 0.01$ , vs. OAL (2 mg/kg) group

cleaved Caspase-1、NLRP3 表达 ( $P < 0.01$ ) 升高。与 OAL (2 mg/kg) 组比较, OAL (2 mg/kg) + si-Atg5 组大鼠 IL-1 $\beta$ 、IL-18 血清质量浓度 ( $P < 0.01$ )、海马 CA3 区 cleaved Caspase-1、NLRP3 表达 ( $P < 0.01$ ) 升高。

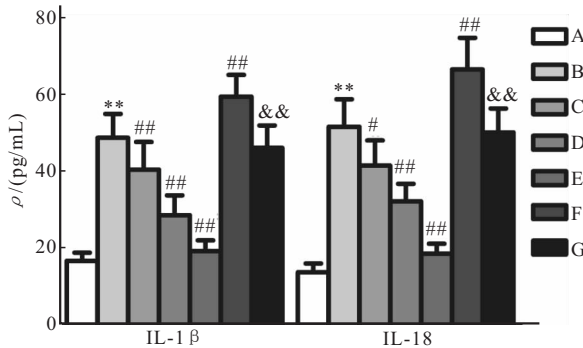


图 5 各组大鼠血清 IL-1 $\beta$ 、IL-18 质量浓度

Fig 5 Serum concentrations of IL-1 $\beta$  and IL-18 by group

A-G denote the same as fig 1. \*  $P < 0.01$ , vs. control group; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ , vs. CUS group; &  $P < 0.01$ , vs. OAL (2 mg/kg) group

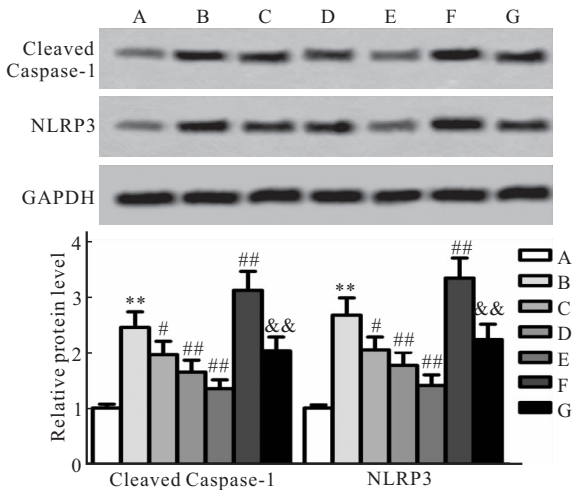


图 6 各组大鼠海马 CA3 区组织 cleaved Caspase-1、NLRP3 的表达

Fig 6 The expressions of cleaved Caspase-1 and NLRP3 in the CA3 region of hippocampus by group

A-G denote the same as fig 1. \*  $P < 0.01$ , vs. control group; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ , vs. CUS group; &  $P < 0.01$ , vs. OAL (2 mg/kg) group

### 2.5 OLA 对 CUS 大鼠神经细胞自噬的影响

见图 7。与对照组比较, CUS 组大鼠海马 CA3 区 LC3 II/LC3 I 比值、Beclin1 表达降低, P62 表达升高 ( $P < 0.01$ )。与 CUS 组比较, OAL (0.5 mg/kg)、(1 mg/kg) 及 (2 mg/kg) 组中 LC3 II/LC3 I 比值、Beclin1 表达升高 ( $P < 0.01$ ); OAL (0.5 mg/kg)

组 P62 表达差异无统计学意义, (1 mg/kg) 及 (2 mg/kg) 组中 P62 表达均降低 ( $P < 0.01$ ); si-Atg5 组 LC3 II/LC3 I 比值、Beclin1 表达降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), P62 表达升高 ( $P < 0.01$ )。与 OAL (2 mg/kg) 组比较, OAL (2 mg/kg) + si-Atg5 组 LC3 II/LC3 I 比值、Beclin1 表达降低 ( $P < 0.01$ ), P62 表达升高 ( $P < 0.01$ )。

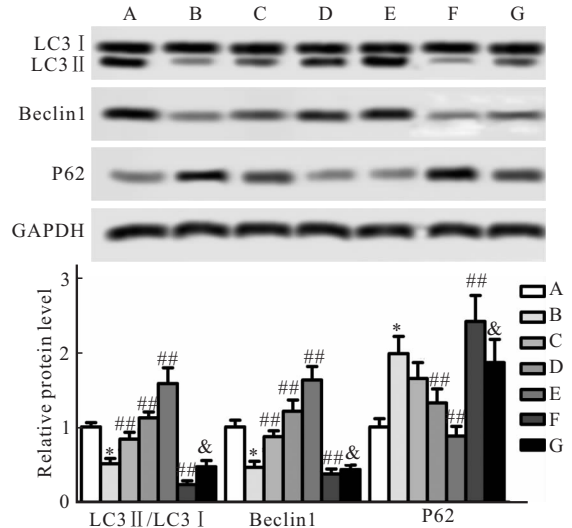


图 7 各组中 LC3、Beclin1、P62 的表达

Fig 7 The expressions of LC3, Beclin1 and P62 in the CA3 region of hippocampus by group

A-G denote the same as fig 1. \*  $P < 0.01$ , vs. control group; ##  $P < 0.01$ , vs. CUS group; &  $P < 0.01$ , vs. OAL (2 mg/kg) group

### 3 讨论

抑郁症可引起患者精神沉郁、快感缺失, 改善患者精神状态是抑郁症治疗药物的首要目的<sup>[8]</sup>。研究发现, 脑组织中 5-羟色胺水平降低是引起抑郁症发生的重要原因<sup>[9]</sup>, 抗抑郁药 OAL 是多巴胺/5-羟色胺受体双摄取抑制剂, 主要用于治疗双相抑郁症。有报道表明, OAL 联合 5-羟色胺再摄取抑制剂可显著提高神经元细胞培养上清中 5-羟色胺的浓度<sup>[10]</sup>。本研究发现, 0.5、1、2 mg/kg OAL 均可显著提高 CUS 大鼠自发活动总路程、糖水消耗量及偏好率, 且随 OAL 浓度的增加, 其对 CUS 大鼠的作用愈明显。通过对大鼠行为学表现评估表明, OAL 可显著改善 CUS 大鼠的精神状态。

有研究发现, 在抑郁症患者脑组织中, 海马区神经元细胞发生过度凋亡<sup>[11]</sup>。海马 CA3 区是介导应激反应的主要脑区, 也是调控人类情绪、记忆及内分泌的重要部位, 抑制海马神经元细胞凋亡已成为有



效治疗抑郁症的目标<sup>[12]</sup>。研究表明, OAL 对神经元细胞具有显著保护作用, 可显著减弱血清戒断诱导的神经元细胞凋亡<sup>[13]</sup>, 降低氧化应激条件下神经元的凋亡水平<sup>[14]</sup>。在本研究中也发现 1、2 mg/kg OAL 均可显著降低大鼠海马 CA3 区凋亡细胞百分比, cleaved Caspase-3、cleaved Caspase-9 及 cleaved Caspase-1 的表达。cleaved Caspase-3、cleaved Caspase-9 及 cleaved Caspase-1 均属于 Caspase 蛋白水解酶家族, 凋亡信号可通过触发 Caspase 级联反应完成细胞凋亡程序<sup>[15]</sup>。

炎症反应可显著诱导抑郁症的发生, 同时, 抑郁症可显著引起脑组织炎症性浸润<sup>[16]</sup>。因此, 抑制机体炎症反应是阻碍抑郁症发生发展的有效手段。研究发现, 在神经退行性疾病多系统萎缩中, OAL 可显著抑制模型小鼠中核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 的核易位, 降低炎症因子 IL-1 $\beta$  的表达水平<sup>[17]</sup>; 在应激模型小鼠中, OAL 可显著降低小鼠 IL-1 $\beta$  和 IL-6 血清浓度<sup>[18]</sup>。在本研究中, 1、2 mg/kg OAL 可显著降低 CUS 大鼠 IL-18 及 IL-1 $\beta$  血清浓度, 同时, 0.5、1、2 mg/kg OAL 可显著抑制海马 CA3 区 NLRP3 炎症小体的表达。NLRP3 炎症小体是炎症反应的关键核心, 能招募并活化 Caspase-1, 促进炎症因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18 成熟, 可作为各种炎症疾病的治疗靶点<sup>[19]</sup>。NLRP3 炎症小体过度激活还可诱导神经元细胞凋亡的发生, 抑制 NLRP3 炎症小体活化可显著减轻 CUS 模型小鼠抑郁样行为<sup>[20]</sup>。本实验结果提示, OAL 可通过阻碍 NLRP3 炎症小体激活减轻 CUS 大鼠的炎症反应。

研究表明, 自噬对抑郁症有正向调节作用, 如抗抑郁药阿米替林及西酞普兰可提高神经元自噬水平, 显著改善模型大鼠抑郁症状<sup>[21]</sup>; 锂可通过诱导自噬显著减少病理肌蛋白的表达水平<sup>[22]</sup>。本研究中, 0.5、1、2 mg/kg OAL 均可提高大鼠海马 CA3 区 LC3 II/LC3 I 比值及 Beclin1 表达, 1、2 mg/kg OAL 可降低 P62 表达。Beclin1 是促自噬蛋白, 可诱导自噬相关蛋白定位于自噬体膜上, P62 是自噬特异性底物, 在自噬发生过程中被不断降解, LC3 II 和 LC3 I 是 LC3 的不同表现形式, LC3 I 转变成 LC3 II 标志着自噬的形成<sup>[23]</sup>。本实验结果表明, OAL 可显著提高 CUS 大鼠海马 CA3 区神经元细胞自噬水平。

据报道, 自噬与 NLRP3 炎症小体密切相关, 自噬水平的升高可显著抑制 NLRP3 炎症小体的激活<sup>[24]</sup>, NLRP3 炎症小体过度活化可引起自噬水平

显著降低<sup>[25]</sup>。Atg5 是重要的自噬相关介质, 沉默 Atg5 可诱发 NLRP3 炎症小体过度活化<sup>[21]</sup>。本研究利用 si-Atg5 诱导 NLRP3 炎症小体过度激活发现, CUS 大鼠海马 CA3 区 LC3 II/LC3 I 比值及 Beclin1 表达降低, cleaved Caspase-1、cleaved Caspase-3、cleaved Caspase-9 表达升高, CUS 大鼠自发活动总路程、糖水消耗量及偏好率显著减小。同时, 2 mg/kg OAL 对 CUS 大鼠产生的影响被 si-Atg5 显著减弱。实验结果表明, NLRP3 炎症小体过度激活可显著降低 CUS 大鼠海马 CA3 区神经元自噬水平, 提高炎症反应及细胞凋亡水平, 加剧 CUS 大鼠抑郁症状, 并减弱 OAL 产生的作用。虽然自噬与凋亡在代谢途径和形态学方面有着显著区别, 但是他们发挥作用的信号通路却有着交互作用。此外也有研究报道, 喜树碱可以通过促进 NSCLC 自噬而阻止细胞发生程序性死亡<sup>[26]</sup>。

综上所述, OAL 可阻碍 NLRP3 炎症小体激活, 显著减轻 CUS 大鼠炎症反应, 抑制大鼠海马 CA3 区神经元细胞凋亡, 提高神经元细胞自噬水平, 改善大鼠的精神状态。同时, NLRP3 炎症小体过度激活可显著降低 CUS 大鼠海马 CA3 区神经元自噬水平, 提高炎症反应及细胞凋亡水平, 加剧 CUS 大鼠抑郁症状, 并减弱 OAL 产生的作用。提示 OAL 可通过抑制 NLRP3 炎症小体激活对抑郁症模型大鼠海马神经元产生保护作用, 为 OAL 临床应用提供理论依据。

## 参 考 文 献

- [1] SONG W, LI H, GUO T, *et al.* Effect of affective reward on cognitive event-related potentials and its relationship with psychological pain and suicide risk among patients with major depressive disorder. *Suicide Life Threat Behav*, 2018 Nov 2 [2018-12-19]. <https://doi.org/10.1111/sltb.12524>.
- [2] SOLEM S, HAGEN R, WANG C E, *et al.* Metacognitions and mindful attention awareness in depression: a comparison of currently depressed, previously depressed and never depressed individuals. *Clin Psychol Psychother*, 2017, 24(1): 94-102.
- [3] DAVIES S J C, MULSANT B H, FLINT A J, *et al.* SSRI-antipsychotic combination in psychotic depression: Sertraline pharmacokinetics in the presence of olanzapine, a brief report from the STOP-PD study. *Hum Psychopharmacol*, 2016, 31(3): 252-255.
- [4] CITROME L. Treatment of bipolar depression: making sensible decisions. *CNS Spectr*, 2014, 19 Suppl 1: 4-11.
- [5] TOHEN M, VIETA E, CALABRESE J, *et al.* Efficacy of olanzapine and olanzapine-fluoxetine combination in the

- treatment of bipolar I depression. *Arch Gen Psychiatry*, 2003,60(11):1079-1088.
- [6] NINAN I, KULKARNI S K. Preferential inhibition of dizocilpine-induced hyperlocomotion by olanzapine. *Eur J Pharmacol*,1999,368(1):1-7.
- [7] BANERJEE R, HAZRA S, GHOSH A K, *et al*. Chronic administration of bacopa monniera increases BDNF protein and mRNA expressions; a study in chronic unpredictable stress induced animal model of depression. *Psychiatry Investig*,2014,11(3):297-306.
- [8] WILLIAMS L J, PASCO J A, JACKSON H, *et al*. Depression as a risk factor for fracture in women; a 10 year longitudinal study. *J Affect Disord*,2016,192:34-40.
- [9] CHHIBBER A, WOODY S K, KARIM RUMI M A, *et al*. Estrogen receptor beta deficiency impairs BDNF-5-HT2A signaling in the hippocampus of female brain; a possible mechanism for menopausal depression. *Psychoneuroendocrinology*,2017,82:107-116.
- [10] ASAOKA N, NAGAYASU K, NISHITANI N, *et al*. Olanzapine augments the effect of selective serotonin reuptake inhibitors by suppressing GABAergic inhibition via antagonism of 5-HT (6) receptors in the dorsal raphe nucleus. *Neuropharmacology*,2015,95:261-268.
- [11] QIN T, FANG F, SONG M, *et al*. Umbelliferone reverses depression-like behavior in chronic unpredictable mild stress-induced rats by attenuating neuronal apoptosis via regulating ROCK/Akt pathway. *Behav Brain Res*,2017,317:147-156.
- [12] LIU W X, WANG J, XIE Z M, *et al*. Regulation of glutamate transporter 1 via BDNF-TrkB signaling plays a role in the anti-apoptotic and antidepressant effects of ketamine in chronic unpredictable stress model of depression. *Psychopharmacology*,2016,233(3):405-415.
- [13] KIM N R, PARK S W, LEE J G, *et al*. Protective effects of olanzapine and haloperidol on serum withdrawal-induced apoptosis in SH-SY5Y cells. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*,2008,32(3):633-642.
- [14] WANG H, XU H, DYCK L E, *et al*. Olanzapine and quetiapine protect PC12 cells from beta-amyloid peptide(25-35)-induced oxidative stress and the ensuing apoptosis. *J Neurosci Res*,2005,81(4):572-580.
- [15] BELMOKHTAR C A, HILLION J, SEGALBENDI-RDJIAN E. Staurosporine induces apoptosis through both caspase-dependent and caspase-independent mechanisms. *Oncogene*,2001,20(26):3354-3362.
- [16] KIECOLT-GLASER J K, DERRY H M, FAGUNDES C P. Inflammation;depression fans the flames and feasts on the heat. *Am J Psychiatry*,2015,172(11):1075-1091.
- [17] VALERA E, UBHI K, MANTE M, *et al*. Antidepressants reduce neuroinflammatory responses and astroglial alpha-synuclein accumulation in a transgenic mouse model of multiple system atrophy. *Glia*,2014,62(2):317-337.
- [18] THOMAS J, KHANAM R, VOHORA D. Activation of indoleamine 2, 3-dioxygenase pathway by olanzapine augments antidepressant effects of venlafaxine in mice. *Psychiatry Res*,2017,258:444-448.
- [19] ZHONG Z, SANCHEZ-LOPEZ E, KARIN M. Autophagy, NLRP3 inflammasome and auto-inflammatory/immune diseases. *Clin Exp Rheumatol*,2016,34 (4 Suppl 98):12-16.
- [20] DU R H, TAN J, SUN X Y, *et al*. Fluoxetine inhibits NLRP3 inflammasome activation; implication in depression. *Int J Neuropsychopharmacol*,2016,19(9). pii:pyw037[2018-10-13]. doi:10.1093/ijnp/pyw037. print2016 sep.
- [21] ALCOCER-GOMEZ E, CASAS-BARQUERO N, WILLIAMS M R, *et al*. Antidepressants induce autophagy dependent-NLRP3-inflammasome inhibition in major depressive disorder. *Pharmacol Res*,2017,121:114-121.
- [22] HEISEKE A, AGUIB Y, RIEMER C, *et al*. Lithium induces clearance of protease resistant prion protein in prion-infected cells by induction of autophagy. *J Neurochem*,2009,109(1):25-34.
- [23] KWON D H, KIM L. pH-dependent regulation of SQSTM1/p62 during autophagy. *Autophagy*,2019,15(1):180-181.
- [24] SHEN L, YANG Y, OU T, *et al*. Dietary PUFAs attenuate NLRP3 inflammasome activation via enhancing macrophage autophagy. *J Lipid Res*,2017,58(9):1808-1821.
- [25] DAI J, ZHANG X, LI L, *et al*. Autophagy inhibition contributes to ROS-producing NLRP3-dependent inflammasome activation and cytokine secretion in high glucose-induced macrophages. *Cell Physiol Biochem*,2017,43(1):247-256.
- [26] CHIU Y H, HSU S H, HSU H W, *et al*. Human non-small cell lung cancer cells can be sensitized to camptothecin by modulating autophagy. *Int J Oncol*,2018,53(5):1967-1979.

(2019-02-19 收稿,2019-05-29 修回)

编辑 汤洁