.基础研究.

含音乐的丰富环境对慢性温和不可预知应激大鼠抑郁样行为及其海马神经可塑性的影响

陈霄1 尹露2 安云2 闫慧新2 严隽陶2

¹上海中医药大学附属曙光医院,上海 201203; ²上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院, 上海 200437

通信作者:严隽陶, Email: doctoryjt@163.com

【摘要】 目的 观察含音乐的丰富环境对慢性温和不可预知应激(CUMS)模型大鼠抑郁样行为及其神 经可塑性相关蛋白的蛋白激酶 A(PKA)、环磷腺苷效应元件结合蛋白(CREB)、磷酸化 CREB 蛋白 (p-CREB)、脑源性神经营养因子(BDNF)表达的影响。方法 选取雄性 SD 大鼠 40 只,按照随机数字表法将 其分为空白组、模型对照组、无音乐丰富环境组和含音乐丰富环境组,每组大鼠10只。模型对照组、无音乐丰 富环境组和含音乐丰富环境组进行 CUMS 造模。造模成功后,空白组和模型对照组均于常规鼠笼中接受常规 饲养 21 d, 无音乐丰富环境组则给予丰富环境干预 21 d, 含音乐丰富环境组在普通丰富环境中增加音乐治疗。 4 组大鼠均于干预 21 d 后分别进行糖水偏爱实验、旷场实验和强迫游泳实验。行为学检测结束后,4 组大鼠 断头取脑,采用免疫组化法和免疫蛋白印迹法分别检测其海马区 PKA、CREB、p-CREB、BDNF 蛋白的表达。 结果 干预 21 d 后,模型对照组大鼠的糖水偏爱率,旷场内活动总距离,中心区活动距离,站立次数和游泳不 动时间与空白组比较,差异均有统计学意义(P<0.05);无音乐丰富环境组的糖水偏爱率、旷场内活动总距离、 中心区活动距离和游泳不动时间与模型对照组比较,差异均有统计学意义(P<0.05);含音乐丰富环境组的糖 水偏爱率、旷场内活动总距离、站立次数和游泳不动时间与模型对照组比较,差异均有统计学意义(P<0.05); 无音乐丰富环境组的游泳不动时间为(110.94 s \pm 37.56 s),与含音乐丰富环境组的(66.78 s \pm 46.47 s)比较,差 异有统计学意义(P<0.05)。干预 21 d 后,模型对照组大鼠海马区 CREB、p-CREB、BDNF 蛋白的阳性面积百 分比较空白组均显著下降(P<0.05);无音乐丰富环境组和含音乐丰富环境组的 CREB、p-CREB、BDNF 蛋白的 阳性面积百分比与模型对照组比较,差异均有统计学意义(P<0.05),且以含音乐丰富环境组更为显著,与无 音乐丰富环境组比较,差异有统计学意义(P<0.05)。干预 21 d 后,模型对照组大鼠海马区 PKA、CREB、p-CREB、BDNF的蛋白表达水平与空白组比较,差异均有统计学意义(P<0.05);无音乐丰富环境组PKA、CREB、 p-CREB的蛋白表达水平较模型对照组均明显升高(P<0.05);含音乐丰富环境组PKA、CREB、p-CREB、BDNF 蛋白表达水平较模型对照组和无音乐丰富环境组,均显著升高(P<0.05)。结论 丰富环境可显著改善大鼠 的抑郁样行为,而在丰富环境中增加音乐可提高其抗抑郁的疗效,且丰富环境的抗抑郁机制可能与其可上调 PKA、CREB、p-CREB、BDNF 蛋白表达水平有关。

【关键词】 抑郁症; CUMS 模型; 丰富环境; 音乐; 神经可塑性; 海马

基金项目: SMC 中国传统康复医学研究项目(SMC2013);上海市卫生健康系统重点扶持学科-康复医学(2023ZDFC0301)

DOI: 10.3760/cma.j.cn421666-20230131-00074

Effects of enriched environment with music on depressive behavior and hippocampal neuroplasticity in rats $Chen\ Xiao^{1}$, $Yin\ Lu^{2}$, $An\ Yun^{2}$, $Yan\ Huixin^{2}$, $Yan\ Juntao^{2}$

¹Department of Rehabilitation Medicine, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; ²Department of Rehabilitation Medicine, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China Corresponding author: Yan Juntao, Email: doctoryjt@163.com

[Abstract] Objective To observe any effect of environmental enrichment on depressive behavior and the expression of the neuroplasticity-related protein kinase A (PKA), cAMP response element binding protein (CREB), phosphorylated CREB (p-CREB), and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in rats subjected to chronic, unpredictable mild stress (CUMS). Methods Forty male Sprague-Dawley rats were divided at random into a blank group, a model control group, a no-music-environmental enrichment (NMEE) group and a music-environmental enrichment (MEE) group, each of 10. CUMS was induced in all except the blank group. After successful modeling, the

rats in the blank and model control groups were housed in conventional cages for 21 days, while the MEE group received 21 days of environmental enrichment with music and the NMEE group was similarly housed without the music. After the intervention, all groups underwent a sugar water preference experiment, an open field experiment, and a forced swimming experiment. They were then sacrificed and hippocampal PKA, CREB, p-CREB and BDNF protein expressions were detected using immunohistochemistry and western blotting. Results After the intervention there were significant differences between the model control and blank groups in their sugar water preference, the total distance of their open field activities, the central area distance of their activities, their time spent standing up, and the duration of immobility during swimming. Those indicators were also significantly different between the MEE and model control groups. The average duration of swimming immobility of the NMEE group was significantly longer than the MEE group's average. The percentage the hippocampus positive for CREB, p-CREB or BDNF protein had decreased significantly in the model control group compared to the blank group, while those percentages in the NMEE and especially the MEE group were significantly different from those of the model control group. PKA, CREB, p-CREB and BDNF protein expression in the model control group was significantly different from that in the blank group, while those levels in the NMEE group were significantly higher than in the model control group on average. The levels in the MEE group were the highest of all. Conclusions Environmental enrichment can significantly improve depressive behavior resulting from CUMS, at least in rats. Adding music to an enriched environment can enhance its anti-depressant efficacy. The anti-depressant mechanism of environmental enrichment may be related to its upregulation of PKA, CREB, p-CREB and BDNF protein expression.

[Key words] Depression; Stress; Environmental enrichment; Music; Neural plasticity; Hippocampus

Funding: An SMC Chinese Traditional Rehabilitation Medicine Research Project (SMC2013); A Shanghai Health System Key Project Supporting Discipline Construction (2023ZDFC0301)

DOI: 10.3760/cma.j.cn421666-20230131-00074

抑郁症(major depressive disorder, MDD)是指患者出现情绪沮丧、兴趣丧失、认知功能减退,并可伴有不同程度躯体不适症状的一种情绪障碍综合征^[1]。抑郁症的发生涉及生物、心理、社会、环境等诸多因素,压力和其他负面刺激引起的神经可塑性功能障碍在抑郁症发生发展中的作用是近年来的研究热点^[2]。

作为神经可塑性的主要参与者,脑源性神经营养 因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 在涉及 情绪和认知功能的脑区域中广泛表达,并参与蛋白激 酶 A(protein kinase A, PKA)-环磷腺苷效应元件结合 蛋白(cAMP response element blinding protein, CREB) 细胞内信号传导通路,可促进神经损伤后修复、结构功 能重组和调节突触可塑性[34]。临床研究发现,抑郁症 患者血清的 BDNF 水平下降,而外源性 BDNF 可缓解 其抑郁症状[5]。一项针对慢性温和不可预知应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS)刺激的动物 实验观察到, CUMS 模型大鼠的海马 CREB 磷酸化和 BDNF 蛋白的表达明显减少,且其 CREB-BDNF 信号转 导受损[6]。由此可见,抑郁症的发生可能与海马BDNF 和 CREB 的表达密切相关,且有动物实验还发现,抗抑 郁药物的功效不仅依赖于神经发生,还与海马区域的 神经元重塑有关[7]。因此,神经可塑性的重建可能是 抗抑郁、改善情绪的关键。

丰富环境是提供认知、感觉、运动和社交联系等

多方面刺激的特殊环境,可促使大脑和神经系统的形态结构和功能活动产生相应改变,提高生物体对外界环境的抵御力^[8]。丰富环境设计包括认知训练、各种感觉刺激、自发性运动、社会联系等特定要素,目前尚不能明确各个要素影响整体的效应大小。目前,已有学者证实,运动锻炼和社交联系是丰富环境中重要的组成部分^[8-9]。本研究旨在通过观察感觉刺激中的听觉刺激(音乐)在丰富环境中的影响及相关作用机制,以期为今后丰富环境的基础和临床研究提供指导。

材料与方法

一、实验动物

雄性 Sprague-Dawley(SD)大鼠 50 只,体重(180±20)g,由上海吉辉实验动物饲养有限公司提供,合格证号 SYXK(沪)2017-0012,饲养于上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院实验动物中心,整个实验过程严格遵守实验动物伦理准则和相关实验室规定。

二、主要仪器和试剂

本研究主要实验仪器包括:SMART 3.0 版动物行为学视频采集和分析仪(西班牙 Panlab 公司)和电子高清显微镜(日本奥林巴斯有限公司)。主要试剂包括:一抗 BDNF(美国 Abcam 公司,AB108319)、一抗 p-CREB(美国 Abcam 公司,AB32096)、一抗 CREB(武汉

塞维尔生物科技有限公司,GB11052)、PKA(武汉塞维尔生物科技有限公司,GB11598)、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)山羊抗兔二抗(武汉塞维尔生物科技有限公司,GB23303)。

三、动物分组

雄性 SD 大鼠 50 只适应性饲养 5 d,称重编号后按随机数字表法将其分为空白组 10 只和模型组40 只,模型组进行 21 d 的造模,将最终造模成功的大鼠 30 只(剔除行为学检测未达造模标准的 10 只大鼠)按随机数字表法再分为模型对照组、无音乐丰富环境组和含音乐丰富环境组,每组大鼠 10 只。

四、造模方法

抑郁模型的建立参考前期文献[10]。采用 CUMS 刺激联合单笼饲养的方法进行模型的复制,空白组大鼠自然喂养,模型组大鼠单笼饲养并每天随机接受一种应激刺激,共9种,分别为束缚2h、鼠笼拥挤12h、禁食禁水24h、4℃水游泳5 min、45℃水游泳5 min、垫料潮湿24h、昼夜颠倒、夹尾1 min、摇晃5 min,刺激时间为21d,同一应激刺激不连续用3d,以免大鼠对刺激产生预见性。

五、行为学检测和造模成功标准

空白组、模型对照组、无音乐丰富环境组和含音乐丰富环境组均于干预前(即模型对照组、无音乐丰富环境组和含音乐丰富环境组造模成功后)和干预 21 d 后分别进行糖水偏爱实验、旷场实验和强迫游泳实验。

(一)行为学检测方法

- 1.糖水偏爱实验^[11]:正式实验前进行糖水适应训练,于第一天晚上8时每笼外放2瓶1%蔗糖水;第二天晚上8时用纯水代替其中1瓶蔗糖水,12h后交换位置;第三天晚8时禁食禁水12h;第四天上午8时每笼外随机放1%蔗糖水和纯水各1瓶,6h后交换位置,12h后称重并记录测试前、后水瓶的重量,计算糖水偏爱率,糖水偏爱率=糖水消耗量/(糖水+纯水消耗量)×100%。
- 2.旷场实验^[12]:每次实验上午9时开始测试,实验前先适应20 min,结束后,实验人员抓住大鼠尾巴,将大鼠放入旷场中央,摄像同步计时,Smart 3.0 软件记录分析5 min 内大鼠旷场内活动总距离、中心区活动距离、运动轨迹及站立次数。时间到后取出大鼠,75%酒精清洗旷场底部,防止残留气味干扰。
- 3.强迫游泳实验^[13]:每次实验上午9时开始测试,将大鼠放入高40 cm,直径20 cm 的透明玻璃桶中,水深约30 cm,强迫其游泳,摄像同步计时。Smart 3.0软件记录6 min 内大鼠漂浮时间,取后4 min 大鼠漂浮不动的时间(漂浮水面不动,四肢停止挣扎)进行统计。

(二)造模成功标准

记录模型对照组、无音乐丰富环境组、含音乐丰富环境组大鼠造模后的糖水偏爱实验、旷场实验、强迫游泳实验的行为学结果,并与空白组大鼠比较,若组间差异均有统计学意义(P<0.05),则判定造模成功^[14]。造模成功后的行为学结果仅用于判定造模是否成功,因此在本研究结果中不罗列4组大鼠造模成功后的行为学结果。

六、干预方法

4 组大鼠均饲养于 42 cm×27 cm×20 cm 的常规鼠笼中,每笼放 3~4 只。空白组和模型对照组均于常规鼠笼中接受常规饲养 21 d,无音乐丰富环境组则给予丰富环境干预,含音乐丰富环境组在普通丰富环境中增加音乐治疗。

丰富环境笼参考文献自行设计^[15],由透明亚克力塑料制成 100 cm×60 cm×45 cm 的鼠笼,笼内布置有不同颜色和形状的跑轮、爬梯、双层木屋、磨牙饼干、草窝、原木拱桥等饰品和啃咬物品,并放有充足的食物和水。为适应大鼠习性,干预时间为每晚上 8 时~次日上午 8 时,共 12 h,持续干预 21 d。含音乐的丰富环境组在上述丰富环境中每晚 8 时~9 时增加 1 h 的音乐干预,播放柔和舒缓的国内外古典纯音乐,包括《梁祝》《春江花月夜》《渔舟唱晚》《moonglow》和《莫扎特K448》节选等,持续干预 21 d。

七、免疫组化法

干预 21 d 后,4 组大鼠各选取 6 只断头取脑,放入固定液中固定,固定成功后修剪组织块制成石蜡切片,石蜡切片脱蜡后进行抗原修复,以双氧水阻断内源性过氧化物酶,避光孵育,血清封闭,滴加一抗、二抗孵育,二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色后复染细胞核,脱水封片后拍照。选择阳性表达密集区域,在 400 倍光学显微镜下随机选取 3 个视野,采用 Image Pro Plus 6.0 版图像处理和分析软件计算每个视野中CREB、磷酸化环磷腺苷效应元件结合蛋白(proteincAMP response element blinding protein, CREB, p-CREB)、BDNF蛋白的阳性面积百分比,取平均值进行统计分析。

八、Western blot 法

于免疫组化法断头取脑的同时进行,收集新鲜脑组织,冰上分离双侧海马,剪碎组织块,彻底匀浆,提取目的蛋白,测定蛋白浓度,加入蛋白上样缓冲液,沸水浴变性,10%十二烷基磺酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)-聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gelelectrophoresis,PAGE)分离后,转膜,滴加一抗、二抗孵育,曝光显影,用 Adobe Photoshop 11.0 版图像处理和分析软件处理并分析目标条带的灰度值,以此表示目的蛋白

相对表达水平。

九、统计分析

采用 SPSS 24.0 版统计学软件对本研究数据进行分析。数据以($\bar{x}\pm s$)表示,若满足正态性、方差齐性,组间比较采用单因素方差分析;不满足正态性、方差齐性,则采用非参数检验。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

一、4 组大鼠干预 21 d 后的行为学测试结果比较 干预 21 d 后,模型对照组大鼠的糖水偏爱率与空 白组比较显著下降(P<0.05);无音乐丰富环境组和含 音乐丰富环境组大鼠的糖水偏爱率与模型对照组比 较,差异均有统计学意义(P<0.05);无音乐丰富环境 组与含音乐丰富环境组大鼠的糖水偏爱率组间比较, 差异均无统计学意义(P>0.05),详见表 1。

干预 21 d 后,模型对照组大鼠的旷场内活动总距离、中心区活动距离和站立次数与空白组比较,均明显减少(P<0.05);无音乐丰富环境组大鼠的旷场内活动总距离、中心区活动距离与模型对照组比较,差异均有统计学意义(P<0.05),但站立次数无明显差异(P>0.05);含音乐丰富环境组大鼠的旷场内活动总距离和

站立次数与模型对照组比较,差异均有统计学意义 (*P*<0.05),但两组间的中心区活动距离差异无统计学 意义(*P*>0.05),详见表 1。

干预 21 d 后,模型对照组大鼠的游泳不动时间与空白组比较,显著延长(P<0.05);无音乐丰富环境组和含音乐丰富环境组大鼠的游泳不动时间与模型对照组比较,差异均有统计学意义(P<0.05);含音乐丰富环境组大鼠的游泳不动时间与无音乐丰富环境组比较,差异有统计学意义(P<0.05),详见表 1。

二、4 组大鼠干预 21 d 后的蛋白免疫组化表达结果比较

阳性细胞通常呈棕黄色或棕褐色斑块, CREB、p-CREB一般以胞核染色为主, BDNF 一般以胞浆或胞膜染色为主, 详见图 1、2、3。干预 21 d 后, 模型对照组大鼠海马区 CREB、p-CREB、BDNF 蛋白的阳性面积百分比较空白组均显著下降(P<0.05); 无音乐丰富环境组和含音乐丰富环境组均能够有效上调CREB、p-CREB、BDNF 蛋白的阳性面积百分比, 与模型对照组比较, 差异均有统计学意义(P<0.05), 且以含音乐丰富环境组的上调更为显著, 与无音乐丰富环境组比较, 差异均有统计学意义(P<0.05), 详见表 2。

表 1 4 组大鼠干预 21 d 后的行为学测试结果比较 $(\bar{x}\pm s)$

组别	只数	糖水偏爱率	旷场内活动总距离	中心区活动距离	站立次数	游泳不动时间
		(%)	(cm)	(cm)	(次)	(s)
空白组	10	90.45 ± 7.28	1856.96±422.13	88.93±49.23	7.20 ± 3.16	33.55 ± 29.05
模型对照组	10	67.07 ± 16.92^{a}	1130.04±353.10 ^a	46.10±24.67 ^a	3.10 ± 2.18^{a}	164.42±62.85 ^a
无音乐丰富环境组	10	83.79 ± 4.02^{b}	$1684.88 \pm 543.34^{\rm b}$	87.65 ± 42.18^{b}	6.10 ± 3.07	110.94±37.56 ^{ab}
含音乐丰富环境组	10	86.45 ± 12.05^{b}	1959.90±911.77 ^b	76.57±25.59	$8.40 \pm 4.84^{\rm b}$	66.78±46.47 ^{bc}

注:与空白组比较, ${}^{a}P<0.05$;与模型对照组比较, ${}^{b}P<0.05$;与无音乐丰富环境组比较, ${}^{c}P<0.05$

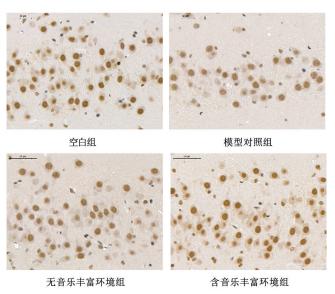


图 1 4 组大鼠海马区 CREB 蛋白的表达(免疫组化法,×400)

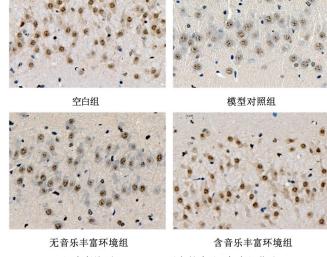
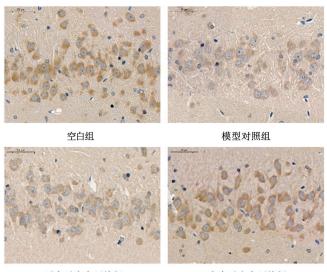


图 2 4 组大鼠海马区 p-CREB 蛋白的表达(免疫组化法,×400)



无音乐丰富环境组

含音乐丰富环境组

图 3 4 组大鼠海马区 BDNF 蛋白的表达(免疫组化法,×400)

表 2 4 组大鼠 CREB、p-CREB、BDNF 蛋白阳性面积百分比 比较(%, x̄±s)

组别	只数	CREB	p-CREB	BDNF
空白组	6	6.49±1.54	3.60±0.58	10.24±1.71
模型对照组	6	3.09 ± 1.05^a	1.97 ± 0.42^{a}	4.26 ± 0.78^a
无音乐丰富环境组	6	5.40 ± 2.18^{b}	$3.16 \pm 0.68^{\rm b}$	7.37 ± 1.62^{ab}
含音乐丰富环境组	6	$7.20 \pm 0.72^{\rm bc}$	$4.99\!\pm\!0.22^{abc}$	10.84±1.85 ^{bc}

注:与空白组比较, ^{a}P <0.05;与模型对照组比较, ^{b}P <0.05;与无音乐丰富环境组比较, ^{c}P <0.05

三、4 组大鼠干预 21 d 后的蛋白 Western blot 检测 结果比较

干预 21 d 后,模型对照组大鼠海马区 PKA、CREB、p-CREB、BDNF 的蛋白表达水平与空白组比较,差异均有统计学意义(P<0.05)。干预 21 d 后,无音乐丰富环境组 PKA、CREB、p-CREB 的蛋白表达水平较模型对照组均明显升高(P<0.05),但其BDNF蛋白表达水平与模型对照组比较,差异无统计学意义(P>0.05);含音乐丰富环境组 PKA、CREB、p-CREB、BDNF蛋白表达水平较模型对照组和无音乐丰富环境组,均显著升高(P<0.05),详见表 3 和图 4。

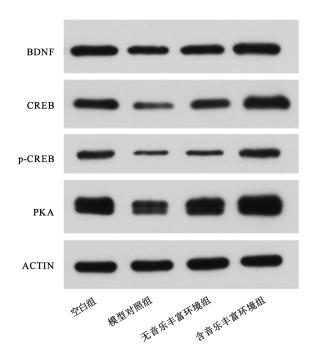


图 4 4 组大鼠 PKA、CREB、p-CREB、BDNF 蛋白表达条带图

讨 论

本研究结果显示,含音乐的丰富环境可提高CUMS模型抑郁大鼠的糖水偏爱率和旷场活动距离,缩短强迫游泳不动时间,同时其神经可塑性信号通路相关蛋白 PKA、CREB、p-CREB、BDNF 蛋白表达水平亦均显著增加。该结果提示,丰富环境可显著改善快感缺乏、行为绝望、运动能力下降、探索欲望降低等抑郁样行为,且在丰富环境中增加音乐后,可进一步促进PKA、CREB、p-CREB、BDNF蛋白的表达,使其抗抑郁作用更明显。

抑郁症具有发病率高、致残率高等特点,严重影响患者生活质量,且多种医学疾病如失眠、疼痛、糖尿病等均可共病或伴发抑郁焦虑状态,严重阻碍患者的康复进程^[16]。临床观察发现,在抑郁症发作前常常会暴露于应激性生活事件^[17],负性应激能够导致大脑海马体积缩小、神经元细胞树突萎缩、棘突密度下降、神经发生减少、神经营养因子水平下降、谷氨酸信号转导

表 3 4 组大鼠 PKA、CREB、p-CREB、BDNF 蛋白表达水平比较(x±s)

分组	例数	PKA	CREB	p-CREB	BDNF
空白组	4	13.41±0.63	9.19±1.00	5.42±0.62	9.77±1.28
模型对照组	4	6.45±2.31 ^a	5.00 ± 1.49^{a}	2.70±0.91 ^a	5.45±1.31 ^a
无音乐丰富环境组	4	11.13 ± 1.03 ab	7.01 ± 1.14^{ab}	$4.01\pm0.78^{\rm ab}$	7.31±0.52 ^a
含音乐丰富环境组	4	$15.53\!\pm\!1.26^{\rm bc}$	11.22 ± 0.64 ^{abc}	$6.71 \pm 0.98^{\rm abc}$	$12.04 \pm 2.05^{\mathrm{abc}}$

破坏等一系列与情绪相关脑区的改变,正常的情绪神经环路失去平衡,从而出现各种精神症状^[3,18-19]。本研究中,大鼠经 21 d 应激造模后,其海马区 PKA、CREB、p-CREB、BDNF蛋白的表达均显著下降,其神经元细胞正常的生长、成熟、分化等过程遭到破坏,进而引发抑郁样行为。

有研究报道,给予生物体感觉刺激或运动活动, 能够激活大脑内"情感-运动"神经环路,调节情绪, 改善抑郁症状,并将其称为自下而上的情绪调节方 法[20]。丰富环境可为大鼠提供主动参与运动、玩耍、 多感官刺激及社会交往联系等可能性,可充分给予 实验动物良性的环境刺激,从而改善或重建因损伤 而丧失的脑功能及其支配的行为表现。本研究结果 显示,无音乐丰富环境组和含音乐丰富环境组均可 提高大鼠糖水偏爱率,减少强迫游泳不动时间,增加 旷场内活动总距离,该结果表明,丰富环境可有效地 改善大鼠抑郁样行为,然而无音乐丰富环境组在站 立次数和含音乐丰富环境组在中心区活动距离的指 标上虽各有一定程度的改善,但均未显示出明显的 优势。与无音乐丰富环境组相比,含音乐丰富环境 组在增加中心区活动距离这个指标上并未显示出优 势,但能够显著缩短大鼠游泳不动时间,改善行为绝 望状态,在糖水偏爱率、站立次数、旷场内活动总距 离三个指标上虽未出现统计学上的差异,但均出现 好转趋势,这也进一步地表明,加入音乐的丰富环境 对抑郁样行为的改善更具优势。考虑到上述部分行 为学指标虽出现好转的趋势,但未呈显著的统计学 差异,这可能与本研究中音乐的干预时长每日仅1h 有关。有研究表明,音乐能够减少动物的压力、焦虑 和攻击性行为,但对于音乐选择方面目前仍没有规 范性的指南,本研究是参考相关文献[21-23]选择了使 用频率较高,且疗效明显的舒缓纯音乐,对乐曲的选 择思路较为简单,在后续研究中会进一步地改进和 完善。

CREB 是细胞核内的一种转录因子,是神经系统多条细胞内信号转导通路的枢纽点,可通过其上游调节剂 PKA 的激活被磷酸化,成为磷酸化的 CREB 蛋白会与下游靶基因 BDNF 启动子中的特定序列结合调节转录,从而参与神经递质释放、细胞生长分化和突触可塑性,并影响行为适应、免疫和代谢调节等一系列生物学功能^[24-25]。研究发现,常规抗抑郁药物能够促进海马和皮质中 BDNF mRNA 表达的增加,如果直接向脑室或海马注入 BDNF 也可诱发相对快速和持续的抗抑郁作用^[26]。Wang 等^[27]的研究发现,慢性压力可降低抑郁模型大鼠中 cAMP、PKA、CREB 和 BDNF 的蛋白表达,而经抗抑郁治疗可逆转

上述改变。本研究结果显示,与模型对照组比较,无音乐丰富环境组和含音乐丰富环境组大鼠海马区PKA、CREB、p-CREB、BDNF蛋白的表达水平均有不同程度的增加,且以含音乐丰富环境组大鼠增加的更为显著,该结果提示,丰富环境可能促进海马区PKA、CREB、p-CREB、BDNF蛋白的表达,调节大脑神经可塑性,进而发挥抗抑郁效应,改善抑郁样行为,而在此基础上增加音乐,则可能更进一步地提高疗效。

综上所述,丰富环境可显著改善大鼠抑郁样行为,而在丰富环境中增加音乐可提高其抗抑郁的疗效,且丰富环境的抗抑郁机制可能与其可上调 PKA、CREB、p-CREB、BDNF蛋白的表达水平有关。

参考文献

- [1] Femenía T, Gómez-Galán M, Lindskog M, et al. Dysfunctional hippocampal activity affects emotion and cognition in mood disorders [J]. Brain Res, 2012, 1476:58-70. DOI: 10.1016/j.brainres.2012.03.053.
- [2] Uchida S, Yamagata H, Seki T, et al. Epigenetic mechanisms of major depression: Targeting neuronal plasticity[J]. Psychiatry Clin Neurosci, 2018, 72(4):212-227. DOI: 10.1111/pcn.12621.
- [3] Levy MJF, Boulle F, Steinbusch HW, et al. Neurotrophic factors and neuroplasticity pathways in the pathophysiology and treatment of depression[J]. Psychopharmacology, 2018, 235(8):2195-2220. DOI: 10.1007/s00213-018-4950-4.
- [4] Phillips C. Brain-derived neurotrophic factor, depression, and physical activity: making the neuroplastic connection [J]. Neural Plast, 2017, 2017;7260130. DOI: 10.1155/2017/7260130.
- [5] Zhang E, Liao P. Brain-derived neurotrophic factor and post-stroke depression[J]. J Neurosci Res, 98, 537-548. DOI: 10.1002/jnr. 24510.
- [6] Tan P, Xue T, Wang Y, et al. Hippocampal NR6A1 impairs CREB-BDNF signaling and leads to the development of depression-like behaviors in mice [J]. Neuropharmacology. 2022; 209:108990. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2022.108990.
- [7] Shi HJ, Wu DL, Chen R, et al. Requirement of hippocampal DG nNOS-CAPON dissociation for the anxiolytic and antidepressant effects of fluoxetine [J]. Theranostics, 2022, 12 (8): 3656-3675. DOI: 10. 7150/thno.70370.
- [8] Normann MC, Cox M, Akinbo OI, et al. Differential paraventricular nucleus activation and behavioral responses to social isolation in prairie voles following environmental enrichment with and without physical exercise[J]. Soc Neurosci, 2021, 16 (4): 375-390. DOI: 10.1080/ 17470919.2021.1926320.
- [9] Brenes JC, Rodríguez O, Fornaguera J. Differential effect of environment enrichment and social isolation on depressive-like behavior, spontaneous activity and serotonin and norepinephrine concentration in prefrontal cortex and ventral striatum[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2008,89(1):85-93. DOI: 10.1016/j.pbb.2007.11.004.
- [10] Antoniuk S, Bijata M, Ponimaskin E, et al. Chronic unpredictable mild stress for modeling depression in rodents: meta-analysis of model

- reliability [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2019, 99:101-116. DOI: 10. 1016/j.neubiorev.2018.12.002.
- [11] Stepanichev MY, Tishkina AO, Novikova MR, et al. Anhedonia but not passive floating is an indicator of depressive-like behavior in two chronic stress paradigms [J]. Acta Neurobiol Exp, 2016, 76(4): 324-333. DOI: 10.21307/ane-2017-031.
- [12] Larke RH, Toubiana A, Lindsay KA, et al. Infant titi monkey behavior in the open field test and the effect of early adversity [J]. Am J Primatol, 2017, 79(9):10.1002. DOI:10.1002/ajp.22678.
- [13] Unal G, Canbeyli R. Psychomotor retardation in depression: A critical measure of the forced swim test[J]. Behav Brain Res, 2019, 372: 112047. DOI:10.1016/j.bbr.2019.112047.
- [14] 欧喜燕. 舒郁方对抑郁模型动物神经可塑性调节的研究[D]. 吉林:长春中医药大学, 2019.
- [15] Shilpa BM, Bhagya V, Harish G, et al. Environmental enrichment a-meliorates chronic immobilisation stress-induced spatial learning deficits and restores the expression of BDNF, VEGF, GFAP and glucocorticoid receptors [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2017, 76;88-100. DOI:10.1016/j.pnpbp.2017.02.025.
- [16] Huang Y, Wang Y, Wang H, et al. Prevalence of mental disorders in china; a cross-sectional epidemiological study [J]. Lancet Psychiatry, 2019, 6(3):211-224.DOI:10.1016/S2215-0366(18)30511-X.
- [17] Chiappelli J, Kvarta M, Bruce H, et al. Stressful life events and openness to experience; relevance to depression[J]. J Affect Disord, 2021, 295;711-716. DOI;10.1016/j.jad.2021.08.112.
- [18] Liu W, Ge T, Leng Y, et al. The role of neural plasticity in depression: from hippocampus to prefrontal cortex[J]. Neural Plast, 2017, 2017;6871089. DOI:10.1155/2017/6871089.
- [19] Cantone M, Bramanti A, Lanza G, et al. Cortical plasticity in depression [J]. ASN Neuro, 2017, 9 (3): 1759091417711512. DOI: 10. 1177/1759091417711512.

- [20] Canbeyli R. Sensory stimulation via the visual, auditory, olfactory and gustatory systems can modulate mood and depression [J]. Eur J Neurosci. 2022, 55(1);244-263. DOI:10.1111/ejn.15507.
- [21] 孙嘉绿,赵凡,乔田,等.音乐疗法对慢性应激性高血压大鼠的 预防作用初探[J].四川生理科学杂志,2018,40(1):1-3,11.
- [22] 耿宝军, 邱良武, 李军. 音乐疗法与运动疗法对老年小鼠海马细胞凋亡影响的比较[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(18): 4524-4526. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2019.18.049.
- [23] Papadakakis A, Sidiropoulou K, Panagis G. Music exposure attenuates anxiety and depression-like behaviors and increases hippocampal spine density in male rats[J]. Behav Brain Res, 2019, 372:112023. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.112023.
- [24] Ruan J, Liu L, Shan X, et al. Anti-depressant effects of oil from fructus gardeniae via PKA-CREB-BDNF signaling[J]. Biosci Rep., 2019, 39(4); BSR20190141. DOI: 10.1042/BSR20190141.
- [25] Wang H, Xu J, Lazarovici P, et al. cAMP response element-binding protein (CREB): a possible signaling molecule link in the pathophysiology of schizophrenia [J]. Front Mol Neurosci, 2018, 11:255. DOI:10.3389/fnmol.2018.00255.
- [26] Duman RS, Deyama S, Fogaça MV. Role of BDNF in the pathophysiology and treatment of depression: activity-dependent effects distinguish rapid-acting antidepressants [J]. Eur J Neurosci. 2021, 53(1): 126-139. DOI:10.1111/ejn.14630.
- [27] Wang C, Guo J, Guo R. Effect of xingpijieyu decoction on spatial learning and memory and cAMP-PKA-CREB-BDNF pathway in rat model of depression through chronic unpredictable stress [J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17(1):73. DOI:10.1186/s12906-016-1543-9.

(修回日期:2024-10-29) (本文编辑:阮仕衡)

·读者·作者·编者·

中华医学会系列杂志版权声明

中华医学会系列杂志上刊载的所有内容,包括但不限于版面设计、数字资源、文字报道、图片、声音、录像、图表、标志、标识、广告、商标、商号、域名、软件、程序、版面设计、专栏目录与名称、内容分类标准以及为注册用户提供的任何或所有信息,均受《中华人民共和国著作权法》《中华人民共和国商标法》《中华人民共和国专利法》及适用之国际公约中有关著作权、商标权、专利权及/或其它财产所有权法律的保护,为中华医学会及/或相关权利人专属所有或持有。中华医学会授权《中华医学杂志》社有限责任公司管理和经营。

使用者将中华医学会系列杂志提供的内容与服务用于非商业用途、非盈利、非广告目的而纯作个人消费时,应遵守著作权法以及其他相关法律的规定,不得侵犯中华医学会、《中华医学杂志》社有限责任公司及/或相关权利人的权利。

使用者将中华医学会系列杂志提供的内容与服务用于商业、盈利、广告性目的时,需征得《中华医学杂志》社有限责任公司及/或相关权利人的书面特别授权,注明作者及文章出处,并按有关国际公约和中华人民共和国法律的有关规定向相关权利人支付相关费用。

未经《中华医学杂志》社有限责任公司的明确书面特别授权,任何人不得变更、发行、播送、转载、复制、重制、改动、散布、表演、展示或利用中华医学会系列杂志的局部或全部的内容或服务或在非《中华医学杂志》社有限责任公司所属的服务器上作镜像,否则以侵权论,依照《中华人民共和国著作权法》及相关法律追究经济赔偿和其它侵权法律责任。