

[文章编号] 1000-4718(2017)05-0896-06

人参皂苷 Rg1 对创伤后应激障碍大鼠行为学变化和海马神经元自噬的影响 *

吴仲敏^{1,2}, 程正文², 倪桂莲², 邵爱民², 崔融^{2△}(台州学院医学院解剖学教研室, 浙江 台州 318000; ²临海市第一人民医院神经内科, 浙江 临海 317000)

[摘要] 目的: 研究人参皂苷 Rg1 对创伤后应激障碍(PTSD)大鼠行为学变化和海马神经元自噬的影响。方法: 将 SD 大鼠随机分为 5 组: 对照组; 模型组; 人参皂苷 Rg1 低、高剂量(20 和 40 mg/kg)组; 阳性药(氟西汀)组。采用连续单一应激和足底电击相结合方法制备 PTSD 模型, 人参皂苷 Rg1 低、高剂量组和阳性药组分别连续灌胃给药 21 d, 对照组及模型组每日等体积生理盐水灌胃。造模前后各组大鼠分别作旷场试验和僵立行为测定, Nissl 染色法观察海马神经元形态结构变化, 免疫荧光双标记法观察海马 beclin 1 和 LC3 阳性神经元, Western blot 法检测海马 beclin 1、LC3-I、LC3-II 蛋白水平以及 LC3-II/LC3-I 比率。结果: 与对照组相比, 模型组大鼠在旷场箱内活动次数减少, 木僵率提高, 海马神经元排列疏松, 出现空泡样结构, 伴有不同程度的细胞固缩, beclin 1 和 LC3 阳性神经元明显增多, beclin 1 蛋白水平增高, LC3-II/LC3-I 比率增大。人参皂苷 Rg1 低、高剂量组大鼠在旷场箱内活动次数增加, 木僵率下降, 海马神经元空泡样结构减少, 细胞数量增多, beclin 1 和 LC3 阳性神经元减少, beclin 1 蛋白水平下降, LC3-II/LC3-I 比率减少。其中, 人参皂苷 Rg1 高剂量组较 Rg1 低剂量组上述改变更为明显。结论: PTSD 模型大鼠存在明显的海马神经元自噬增强和行为学异常表现。人参皂苷 Rg1 对 PTSD 症状有明显改善作用, 其机制可能与抑制海马神经元异常自噬活动有关。

[关键词] 创伤后应激障碍; 人参皂苷 Rg1; 海马; 自噬**[中图分类号]** R925; R363**[文献标志码]** A

doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2017.05.021

Effect of ginsenoside Rg1 on behavioral changes and autophagy of hippocampal neurons of rats with post-traumatic stress disorder

WU Zhong-min^{1,2}, CHENG Zheng-wen², NI Gui-lian², SHAO Ai-min², CUI Rong²(¹Department of Anatomy, Taizhou University School of Medicine, Taizhou 318000, China; ²Department of Neurology, First People's Hospital of Linhai City, Linhai 317000, China. E-mail: Cuirong1949@163.com)

[ABSTRACT] **AIM:** To investigate the effects of ginsenoside Rg1 on the behavioral changes and the autophagy of hippocampal neurons of the rats with post-traumatic stress disorder (PTSD). **METHODS:** The Sprague-Dawley rats were randomly divided into 5 groups: control group, model group, fluoxetine group, low-dose ginsenoside Rg1 group and high-dose of ginsenoside Rg1 group. The combination of single prolonged stress and foot shock was performed to induce PTSD-like animal model. The rats in fluoxetine group was administered with fluoxetine by gavage at dose of 10 mg/kg for 21 d, while the rats in low and high doses of ginsenoside Rg1 groups were administered with ginsenoside Rg1 by gavage at doses of 20 mg/kg and 40 mg/kg for 21 d, respectively. The rats in control group and model group were both given saline by gavage for 21 d. The open-field test and stiff behavior test were used to examine the behavioral changes of the rats. The morphological structure and numerical changes of the hippocampal neurons were observed by Nissl-staining method. We adopted immunofluorescence labeling to observe the beclin 1 and LC3 positive hippocampal neurons and the levels of beclin 1 and LC3-II/LC3-I ratio in rat hippocampus. **RESULTS:** Compared with control group, decreased vertical movement time and horizontal movement time in open-field test and increased rate of stiff behavior in the stiff behavior test were observed in model group. Hippocampal neurons in model group were loosely arranged with vacuole-like structures and different degrees of cell shrinkage in contrast with control group. More beclin 1 and LC3 positive cells were identified, and higher protein levels of beclin 1 and ratio of LC3-II/LC3-I in model group were found as compared with control group. However, in-

[收稿日期] 2016-12-26

[修回日期] 2017-03-02

* [基金项目] 浙江省公益性应用研究计划(实验动物)项目(No. 2014C37026; No. 2017C37124)

△通讯作者 Tel: 0576-85170001; E-mail: Cuirong1949@163.com

crease in movement in open-field test and decrease in stiff behavior were detected in the rats treated with low - and high-dose ginsenoside Rg1 as compared with the model rats. Meanwhile, vacuole structures, the numbers of beclin 1 and LC3 positive neurons, the protein expression of beclin 1 and LC3, and the total cell numbers were increased. Higher dose of ginsenoside Rg1 had more profound effects on these observed results. **CONCLUSION:** Ginsenoside Rg1 alleviates the abnormal behaviors in the PTSD rats, which might be related to the inhibition of abnormal autophagy of hippocampal neurons.

[**KEY WORDS**] Post-traumatic stress disorder; Ginsenoside Rg1; Hippocampus; Autophagy

创伤后应激障碍(post-traumatic stress disorder, PTSD)是指由突发性、威胁性或灾难性生活事件导致长期持续存在的精神障碍^[1]。其临床表现以再度体验创伤为特征,并伴有情绪的易激惹和回避行为^[2]。近年来,随着严重自然灾害、重大传染病流行和突发事件的不断发生,PTSD 呈明显上升趋势^[3],对其发病机制的研究已成为目前的研究热点之一。已有的研究认为,PTSD 的发生与海马神经元萎缩、凋亡、异常自噬以及突触萎缩等改变相关联^[4-5],其中 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)系统在 PTSD 海马的病理变化中扮演重要角色,5-HT 系统功能低下被认为是 PTSD 的主要病因^[6-7],但其确切的发病机制尚不明。人参皂苷 Rg1(ginsenoside Rg1)是人参的主要活性成分,具有神经保护和神经营养作用^[8],能促进神经发生,提高免疫功能^[9],但其对 PTSD 是否有干预作用,目前尚未见文献报道。本研究通过连续单一应激(single prolonged stress)和足底电击(foot stock)相结合的方法制备 PTSD 大鼠模型^[10],观察人参皂苷 Rg1 对 PTSD 大鼠行为学变化和海马神经元自噬的影响,探讨人参皂苷 Rg1 对 PTSD 大鼠的干预作用及机制。

材 料 和 方 法

1 实验仪器、药物及试剂

行为学自动观察分析系统:采用 Noldus 行为学研究设备,含计算机、摄像监控及 Observer、EthoVision 等分析软件。人参皂苷 Rg1 由上海同田生物技术有限公司提供;盐酸氟西汀分散片,每片含盐酸氟西汀相当于氟西汀 20 mg,由 Lilly 生产;兔抗 beclin 1 抗体和兔抗 LC3 抗体均购自 Abcam;放射免疫沉淀实验(radioimmunoprecipitation assay, RIPA)裂解液和二喹啉甲酸(bicinchonic acid, BCA)蛋白质定量试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司。

2 实验动物及分组

清洁级健康成年雄性 SD 大鼠,体重(200 ± 20) g,由浙江大学实验动物中心提供,动物合格证编号为 SYXK-2012-0178;适应性饲养 7 d 后,进行旷场实验,剔除水平和垂直活动总分低于 10 的大鼠。而后采用完全随机设计,将旷场实验合格的大鼠 50 只,

随机分成 5 组,即对照组、模型组、阳性药(氟西汀)组和人参皂苷 Rg1 低、高剂量组,每组 10 只。

3 实验方法

3.1 PTSD 模型的建立及干预方法 大鼠适应性单笼饲养 7 d 后,除对照组外,其余大鼠均采用连续单一应激和足底电击相结合方法制备 PTSD 模型:先给予单一连续应激(禁锢 2 h,强迫游泳 20 min,乙醚麻醉至昏迷),30 min 后大鼠置于电击箱(40 cm × 30 cm × 25 cm)适应 196 s 后给予 15 个循环周期(电流 0.8 mA,持续 10 s,间歇 10 s)的足底电击。对照组大鼠放入相同的电击箱 10 min,不给予足底电击。电击结束后把动物放回鼠笼静养。饲养条件为:22 ~ 25 ℃,昼夜节律,自由饮水摄食。实验期间每天 9:00 予阳性药组大鼠灌服氟西汀,氟西汀的用药剂量为 10 mg/kg;人参皂苷低、高剂量组大鼠分别灌服人参皂苷 Rg1 20 和 40 mg/kg^[11-12],均溶于生理盐水中;对照组及模型组每日等体积生理盐水灌胃。各组灌胃容积均为 5 mL/kg,连续给药 21 d 后测试实验效应。

3.2 旷场实验检测大鼠焦虑水平 连续给药 21 d 后分别取各组大鼠进行旷场实验,实验在安静环境下进行,采用特制的旷场箱(100 cm × 100 cm × 40 cm),由浙江大学实验动物中心提供,箱体为立方体,内侧壁及底面为灰色,用黑线划分为 25 格,每格形制均为 20 cm × 20 cm。沿侧壁的格称为外周格(16 个周边正方形),其余为中央格(9 个中心正方形)。正中格正上方安置摄像头。将动物放入箱内底面正中格内,同时用自动观察分析系统摄像,观察大鼠在 5 min 内穿越格数(4 爪均进入方格才记数,为水平运动得分)和后肢直立次数(2 前爪腾空或攀附墙壁,为垂直运动得分)。每只大鼠仅进行 1 次测定。每一次测定完毕后彻底清洁方箱内壁及底面再进行下一只观察,以免上次动物余留的信息(如动物的大、小便和气味)影响下次测试结果。

3.3 僵立行为测试大鼠恐惧表达 旷场实验结束后对大鼠进行僵立行为测试,将大鼠置于原造模电击箱中,测 4 min 内的僵立行为,每 10 s 测 1 次,表现为僵立行为时为阳性,所得阳性次数之和占总次数的百分比为木僵率。僵立行为是一种普遍见

于啮齿类动物的防御行为,表现为刻板式的蹲伏姿势,可以有一定程度的摇摆,大鼠外观除呼吸运动以外其余的肌肉运动均消失,是大鼠恐惧表达的一种行为方式。

3.4 Nissl 染色法观察海马神经元形态结构 行为学测试完毕后,随机抽取各组大鼠 5 只,经腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)深麻醉,经升主动脉灌注 4% 多聚甲醛(0.1 mol/L PB,pH 7.4)内固定,固定后取出脑块,再固定 2 h,Leica 恒冷箱冰冻切片连续切片,切片梯度乙醇降至水,0.1% 焦油紫染色 5~10 min,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封片,光镜下观察海马神经元形态结构改变。

3.5 免疫荧光双标记法检测海马组织 beclin 1 和 LC3 阳性神经元 分别取各组大鼠固定后的脑块,连续冰冻切片,片厚 20 μm,隔 2 取 1,分为 3 套切片,依次裱贴于经明胶处理的载玻片上,切片入 PBS 液洗涤 3 遍,80% 甲醇(含 0.03% 过氧化氢)溶液处理 30 min,然后滴加抗体稀释液 4 ℃ 冰箱内过夜。其中第 1 套切片进行 NeuN 和 beclin 1 双标记染色,首先切片入兔抗 beclin 1 (1:1 000)抗体中孵育 48 h;再在生物素化的羊抗兔 IgG (1:200, Vector) 中孵育 24 h;然后在 avidin 结合的 FITC (1:200, Vector) 中孵育 6 h,经 PBS 液洗涤 3 遍后,再次将切片置于鼠抗 NeuN (1:1 000, Abcam) 抗体中孵育 48 h;用生物素化的羊抗鼠 IgG (1:200, Vector) 孵育 24 h;在 avidin 结合的 Texas-red (1:200, Vector) 中孵育 6 h。以上步骤均在 4 ℃ 避光条件下进行,经 PBS 甘油 (1:1) 封片。第 2 套切片用于 NeuN 和 LC3 双标记染色,染色步骤同上。第 3 套切片作为阴性对照(用 PBS 液替代 I 抗,其余实验步骤不变)。

在激光共聚焦显微镜下分别观察红色 Texas-red 标记(细胞核)的 NeuN 阳性神经元中绿色 FITC 标记(细胞浆)的 beclin 1 和 LC3。阳性细胞记数:随机抽取每个海马组织双标记阳性的 4 张切片,200 倍视野下用显微镜目镜测微尺(上海光学仪器厂)计数单位面积内(mm²) beclin 1 和 LC3 阳性细胞数量的平均值。

3.6 Western blot 法检测海马组织 beclin 1 和 LC3 蛋白水平 行为学测试完毕后,另取各组大鼠 5 只,经腹腔注射戊巴比妥钠(60 mg/kg)深麻醉,大鼠断头速取新鲜海马组织,分别称量各组海马组织 100 mg,按比例加入 RIPA 裂解液,冰浴充分研磨,离心取上清为海马组织总蛋白,参照 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度,按 30 μg 蛋白量上样,应用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分

离蛋白,湿法转膜,5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h,加入目标蛋白 I 抗(1:1 000)或 β-actin I 抗(1:500),4 ℃ 反应过夜。次日洗膜,加入辣根过氧化物酶标记的 II 抗(1:1 000, Vector),室温孵育 1 h,洗膜后加 ECL 显色剂,胶片曝光显影,采用 ImageJ 软件分析 Beclin 1 和 LC3 蛋白表达情况。

4 统计学处理

全部资料用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。各组数据以均数 ± 标准差(mean ± SD)表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 行为学实验指标改变明显

1.1 人参皂苷 Rg1 作用后 PTSD 大鼠旷场箱内垂直和水平运动得分增加 如表 1 所示,给予不同的干预因素 21 d 后,5 组间垂直运动(直立次数)和水平运动均有显著差异(*P* < 0.01)。其中模型组大鼠在垂直运动、水平运动方面均明显低于对照组(*P* < 0.01);与模型组相比,人参皂苷 Rg1 低、高剂量组大鼠垂直运动和水平运动得分均显著增加(*P* < 0.05),氟西汀组的垂直运动和水平运动得分也显著高于模型组(*P* < 0.01)。

1.2 人参皂苷 Rg1 作用后 PTSD 大鼠木僵率降低 5 组间僵立行为百分率均有显著差异(*P* < 0.01)。其中与对照组比较,模型组大鼠木僵率明显提高(*P* < 0.01);与模型组相比,人参皂苷 Rg1 低、高剂量组大鼠木僵率显著降低(*P* < 0.05),氟西汀组的木僵率也显著低于模型组(*P* < 0.01),见表 1。

表 1 各组大鼠旷场行为和僵立行为测试结果比较

Table 1. Comparison of the locomotor activity in open-field test and the stiff rate in stiff behavior test among groups (mean ± SD. *n* = 10)

Group	Open-field test		Stiff behavior test
	Horizontal movement	Vertical movement	Rate of stiff behavior (%)
Control	57.6 ± 6.3	12.4 ± 1.7	6.8 ± 1.3
PTSD	28.8 ± 3.5**	3.8 ± 0.5**	52.6 ± 8.6**
Rg1-20 mg/kg	38.4 ± 7.5 ^Δ	4.8 ± 0.5 ^Δ	33.6 ± 8.3 ^Δ
Rg1-40 mg/kg	47.8 ± 3.7 ^{ΔΔ}	7.3 ± 0.5 ^{ΔΔ}	23.5 ± 4.2 ^{ΔΔ}
Fluoxetine	53.6 ± 5.8 ^{ΔΔ}	9.2 ± 1.2 ^{ΔΔ}	18.4 ± 3.3 ^{ΔΔ}

** *P* < 0.01 vs control group; ^Δ *P* < 0.05, ^{ΔΔ} *P* < 0.01 vs PTSD group.

2 人参皂苷 Rg1 作用后 PTSD 海马神经元形态结构趋于完整

如图 1 所示,对照组海马神经元排列整齐,细胞形态结构完整,模型组海马神经元排列疏松,出现空泡样结构,伴有不同程度的细胞固缩;人参皂苷 Rg1 组较之模型组海马神经元排列趋向整齐,细胞结构

日趋完整,空泡样结构不断减少,细胞数量也有所增加,尤以高剂量组改变明显;氟西汀组海马神经元的数量、排列和细胞结构与人参皂苷 Rg1 高剂量组相似。

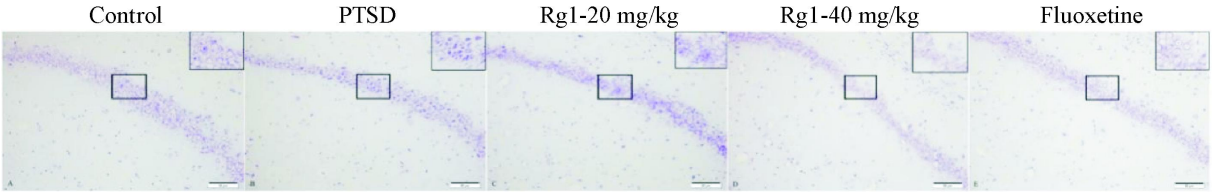


Figure 1. The distribution of hippocampal neurons in rats (Nissl staining). Scale bar = 50 μm .

图 1 Nissl 染色观察大鼠海马神经元的形态与分布

3 人参皂苷 Rg1 作用后 PTSD 海马 beclin 1 和 LC3 阳性神经元减少

激光共聚焦显微镜下观察海马荧光双标记阳性神经元,经统计学检验,5 组间 beclin 1 和 LC3 阳性

神经元均有显著差异,模型组显著高于对照组 ($P < 0.01$),人参皂苷 Rg1 高剂量组和氟西汀组的 beclin 1 和 LC3 阳性神经元明显少于模型组 ($P < 0.01$),略高于对照组,但无显著差异,见图 2、表 2。

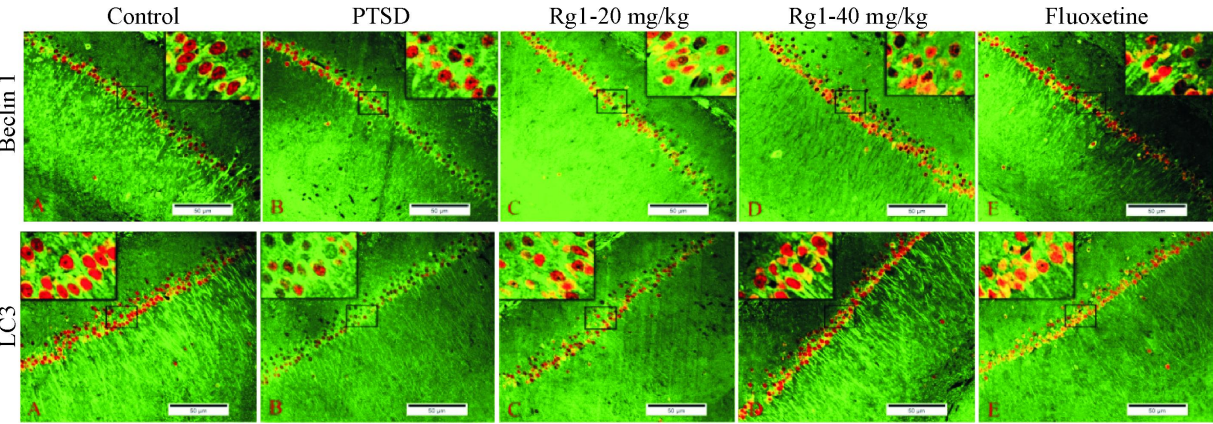


Figure 2. Distribution of beclin 1 and LC3 positive neurons in hippocampus of the rats (immunofluorescence labeling). Scale bar = 50 μm .

图 2 免疫荧光标记大鼠海马 beclin 1 和 LC3 阳性神经元的形态与分布

表 2 各组大鼠海马 beclin 1 标记阳性和 LC3 标记阳性神经元的数量

Table 2. Numbers of beclin 1-positive neurons and LC3-positive neurons in rat hippocampus (mm^{-2} . Mean \pm SD. $n = 5$)

Group	Beclin 1-positive neurons	LC3-positive neurons
Control	4.5 \pm 1.1	5.8 \pm 1.3
PTSD	45.6 \pm 7.2 **	57.6 \pm 10.1 **
Rg1-20 mg/kg	32.4 \pm 4.5 Δ	33.6 \pm 5.3 Δ
Rg1-40 mg/kg	21.8 \pm 3.7 $\Delta\Delta$	23.5 \pm 4.2 $\Delta\Delta$
Fluoxetine	11.2 \pm 2.2 $\Delta\Delta$	11.4 \pm 3.3 $\Delta\Delta$

** $P < 0.01$ vs control group; Δ $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ $P < 0.01$ vs PTSD group.

4 人参皂苷 Rg1 作用后 PTSD 海马神经元自噬水平减低

海马组织 Western blot 结果见图 3、表 3,经统计

学检验,5 组间 beclin 1 和 LC3-II/LC3-I 比值均有显著差异。模型组 beclin 1 蛋白水平和 LC3-II/LC3-I 比值均明显高于对照组 ($P < 0.01$),人参皂苷 Rg1 高剂量组的 beclin 1 蛋白水平和 LC3-II/LC3-I 比值均明显低于模型组 ($P < 0.01$),略高于对照组;人参皂苷 Rg1 高剂量组的 beclin 1 蛋白水平和 LC3-II/LC3-I 比值均低于低剂量组 ($P < 0.05$)。

讨 论

PTSD 的临床表现主要为对创伤事件的病理性重现、对创伤相关线索回避、持续性高唤醒,以及对创伤经历的选择性遗忘和情感麻木等。本研究采用连续单一应激和足底电击相结合方法制备 PTSD 大鼠模型,通过旷场行为检测和僵立次数变化来验证模型制备效果,实验结果表明连续单一应激 + 足底电击应激能较好地诱发大鼠多种 PTSD 样精神和行

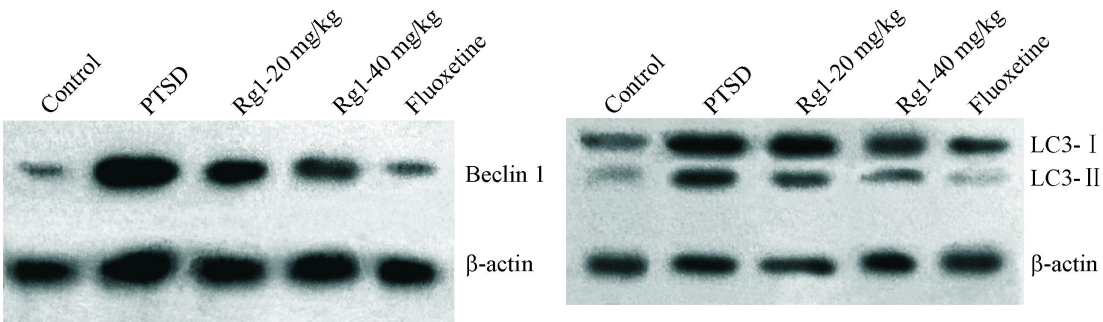


Figure 3. The changes of beclin 1 and LC3-I /LC3-II protein levels in the hippocampus of the rats determined by Western blot .

图3 Western blot 检测大鼠海马 beclin 1 和 LC3-I /LC3-II 蛋白水平的变化

表3 各组大鼠海马 beclin 1 蛋白表达水平和 LC3-II/LC3-I 蛋白表达水平比值的定量结果

Table 3. Protein quantification of beclin 1 and the expression ratio of LC3-II to LC3-I in rat hippocampus (Mean ± SD, n = 5)

Group	Beclin 1	LC3-II/LC3-I
Control	1 142. 5 ± 655. 1	0. 218 ± 0. 013
PTSD	2 545. 6 ± 877. 2 **	0. 676 ± 0. 021 **
RG1-20 mg/kg	1 832. 4 ± 754. 5 [△]	0. 433 ± 0. 023 [△]
RG1-40 mg/kg	1 311. 8 ± 683. 7 ^{△△}	0. 265 ± 0. 018 ^{△△}
Fluoxetine	1 278. 2 ± 852. 5 ^{△△}	0. 211 ± 0. 015 ^{△△}

** $P < 0. 01$ vs control group; [△] $P < 0. 05$, ^{△△} $P < 0. 01$ vs PTSD group.

为异常表现,显示本模型为研究 PTSD 发病机制及药理机制的较理想的动物模型。

人参皂苷 Rg1 是人参的标志性成分,对老年痴呆、脑缺血、帕金森病等神经退行性疾病有一定改善作用,它还能够增加神经发生和突触可塑性,具有重要的神经保护作用^[13],而人参皂苷 Rg1 是否具有抗 PTSD 作用未见报道。本研究通过连续单一应激 + 足底电击应激刺激制备 PTSD 大鼠模型,依据王巧云等^[11]和李彦东等^[12]的灌胃剂量与方法,观察人参皂苷 Rg1 抗 PTSD 的活性,并探讨人参皂苷 Rg1 抗 PTSD 的机制。旷场实验和僵立行为测试结果发现,人参皂苷 Rg1 组大鼠的穿格次数和直立次数显著增加,僵立次数明显减少,说明人参皂苷 Rg1 可以改善大鼠的 PTSD 样行为,对 PTSD 具有明显调节作用。

PTSD 的海马组织存在明显萎缩、体积缩小现象^[14-15],海马作为中枢边缘系统的主要结构,与情绪、记忆以及应激联系密切,海马损伤会导致海马相关的空间记忆、应激、情感控制和对新奇事物的反应处理等过程的缺陷^[16]。本研究发现 PTSD 模型大鼠海马神经元排列疏松,出现空泡样结构,伴有不同程度的细胞固缩;人参皂苷 Rg1 低、高剂量组海马神经元数量均有不同程度增加,空泡样结构明显减少;阳

性药氟西汀组海马神经元在数量、排列和结构方面的变化均与人参皂苷 Rg1 高剂量组相似。这说明人参皂苷 Rg1 和氟西汀均具有促进海马神经元增殖和减缓 PTSD 海马病理进程的作用。

有研究报道 PTSD 大鼠的海马神经元存在过度自噬^[17],因此过度自噬可能是海马体积缩小的重要原因。临床上推荐的抗 PTSD 一线药物氟西汀是典型的选择性 5-HT 再摄取抑制剂,新近的研究认为其作用机制与抑制海马神经元过度自噬,改善海马神经元突触重塑性有关^[18]。Beclin 1 是调控自噬的关键因子,也是自噬体的标志分子之一^[19];LC3 则是自噬的关键蛋白,分为 I 型和 II 型,采用蛋白印迹法测定 LC3-II/LC3-I 比值是一种评价自噬活性简单易行的办法^[20],本研究首先采用免疫荧光双标记法标记各组大鼠海马 beclin 1 和 LC3 阳性神经元,在激光共聚焦显微镜下观察 beclin 1 和 LC3 阳性神经元,并采用蛋白印迹法检测 beclin 1 蛋白水平和 LC3-II/LC3-I 比值,结果显示 PTSD 大鼠 beclin 1、LC3 阳性神经元明显增多,海马 beclin 1 蛋白水平显著增高,LC3-II/LC3-I 比值明显增大,提示自噬参与了 PTSD 的病理进程。实验同时发现,人参皂苷 Rg1 低、高剂量组和氟西汀组大鼠海马 beclin 1 和 LC3 阳性神经元均不断减少,beclin 1 蛋白水平和 LC3-II/LC3-I 比值均有不同程度下降,其中,人参皂苷 Rg1 高剂量组较之 Rg1 低剂量组上述改变更为明显。由此,可以认为人参皂苷 Rg1 是通过减缓 PTSD 大鼠海马神经元的异常自噬活动而产生良好的抗 PTSD 作用,这为临床用药开拓了广阔前景。

综上所述,本研究通过成功复制 PTSD 大鼠模型,探讨人参皂苷 Rg1 对 PTSD 大鼠行为学和海马神经元自噬的影响,实验结果表明人参皂苷 Rg1 与阳性药氟西汀均具有调节大鼠 PTSD 样行为作用,且二者的抗 PTSD 作用机制均与其抑制 PTSD 大鼠海马神经元异常自噬以及促进海马神经元增殖作用有关。据此认为,人参皂苷 Rg1 对 PTSD 具有一定的治

疗作用,至于何等剂量的人参皂苷 Rg1 作用最为理想以及人参皂苷 Rg1 抗 PTSD 作用的确切机制有待进一步研究。

【参 考 文 献】

- [1] Andero R, Ressler KJ. Fear extinction and BDNF: translating animal models of PTSD to the clinic [J]. *Genes Brain Behav*, 2012, 11(5):503-512.
- [2] 王庆松,王正国,朱佩芳. PTSD 样情感行为异常大鼠海马 ATP 酶活性与 Ca^{2+} /CaM 改变[J]. *中国病理生理杂志*, 2002, 18(9):1046-1049.
- [3] 董强利,叶兰仙,张玉堂. 创伤后应激障碍的影响因素及心理危机干预[J]. *精神医学杂志*, 2012, 25(1):72-74.
- [4] Kitayama V, Vaccarino M, Kutner P, et al. Magnetic resonance imaging (MRI) measurement of hippocampal volume in posttraumatic stress disorder: a meta-analysis[J]. *J Affect Disord*, 2005, 88(1):79-86.
- [5] Castilla-Ortega E, Hoyo-Becerra C, Pedraza C, et al. Aggravation of chronic stress effects on hippocampal neurogenesis and spatial memory in LPA_1 receptor knockout mice[J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e25522.
- [6] Hoskins M, Pearce J, Bethell A, et al. Pharmacotherapy for post-traumatic stress disorder: systematic review and meta-analysis[J]. *Br J Psychiatry*, 2015, 206(2):93-100.
- [7] Jans LA, Riedel WJ, Markus CR, et al. Serotonergic vulnerability and depression: assumptions, experimental evidence and implications [J]. *Mol Psychiatry*, 2007, 12(6): 522-543.
- [8] 吴 露,黄小平,邓常清,等. 人参皂苷 Rg1 对小鼠脑缺血再灌注后脑组织损伤及 Nrf2/HO-1 途径的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2013, 29(11):2066-2071.
- [9] Jiang B, Xiong Z, Yang J, et al. Antidepressant-like effects of ginsenoside Rg1 are due to activation of the BDNF signalling pathway and neurogenesis in the hippocampus[J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 166(6):1872-1887.
- [10] Wang W, Liu Y, Zheng H, et al. A modified single prolonged stress model for post-traumatic stress disorder [J]. *Neurosci Lett*, 2008, 441(2):237-241.
- [11] 王巧云,吴峰阶. 人参皂苷 Rg1 对局灶性脑缺血再灌注大鼠脑组织 NOS 活性和蛋白表达的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(12):2328-2332.
- [12] 李彦东,李 沫,苏亚楠. 人参皂苷 Rg1 对阿尔茨海默病大鼠海马细胞周期依赖性蛋白激酶和 p-tau 的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(23):6732-6734.
- [13] 逯 丹,舒晓明,张婵娟,等. 人参皂苷 Rg1 抑制叔丁基过氧化氢诱导的原代大鼠皮层神经元损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2014, 30(3): 479-485.
- [14] Golub Y, Kaltwasser SF, Mauch CP, et al. Reduced hippocampus volume in the mouse model of posttraumatic stress disorder[J]. *J Psychiatr Res*, 2011, 45(5): 650-659.
- [15] Schmahl C, Berne K, Krause A, et al. Hippocampus and amygdala volumes in patients with borderline personality disorder with or without posttraumatic stress disorder [J]. *J Psychiatry Neurosci*, 2009, 34(4):289-295.
- [16] Wu ZM, Zheng CH, Zhu ZH, et al. SiRNA-mediated serotonin transporter knockdown in the dorsal raphe nucleus rescues single prolonged stress-induced hippocampal autophagy in rats[J]. *J Neurol Sci*, 2016, 360:133-140.
- [17] 隋竹欣,刘 昊,王海涛,等. 创伤后应激障碍大鼠海马、杏仁核神经元自噬和凋亡改变[J]. *西安交通大学学报:医学版*, 2014, 35(1):136-138.
- [18] 沈忠飞,王志坚,潘巍巍,等. 氟西汀调控 CUMS 抑郁大鼠海马突触重塑[J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32(9):1642-1647.
- [19] Pattingre S, Espert L, Biard-Piechaczyk M, et al. Regulation of macroautophagy by mTOR and Beclin-1 complexes [J]. *Biochimie*, 2008, 90(2):313-323.
- [20] Scherz-Shouval R, Shvets E, Elazar Z. Oxidation as a post-translational modification that regulates autophagy [J]. *Autophagy*, 2007, 3(4):371-373.

(责任编辑:林白霜,罗 森)