

网络出版时间:2024-12-05 13:58:35 网络出版地址:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.12.010

# 创伤后应激障碍大鼠海马区炎症激活及髓鞘改变

杨罗东<sup>1,2</sup>,石岩<sup>2</sup>,张子维<sup>2</sup>,李斌<sup>2</sup>,张桂青<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>石河子大学第一附属医院临床心理科,石河子 832000;

<sup>2</sup>石河子大学医学院临床医学系,石河子 832000)

**摘要** 目的 研究创伤后应激障碍(PTSD)大鼠海马区神经元、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体、小胶质细胞及髓鞘的变化。方法 通过单一连续刺激(SPS)的方法建立 PTSD 大鼠模型,分别通过旷场实验、高架十字迷宫和 Morris 水迷宫实验检测大鼠的焦虑及学习记忆能力。然后通过 HE 染色观察 PTSD 大鼠海马区神经元的病理表现,免疫荧光染色观察海马区 NLRP3、iba-1(小胶质细胞标志物)的表达水平,免疫组化染色、劳克坚牢蓝染色观察海马区髓鞘的改变情况。结果 PTSD 大鼠海马区神经元出现损伤,NLRP3 炎症小体及小胶质细胞激活,髓鞘含量增加。结论 PTSD 的发病机制可能与海马区神经元损伤、炎症反应及髓鞘改变有关。

**关键词** 创伤后应激障碍;海马;NLRP3;髓鞘;神经元;小胶质细胞

**中图分类号** R 395.4

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2024)12-2135-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.12.010

创伤后应激障碍(post-traumatic stress disorder, PTSD)是一种与应激相关的复杂慢性精神障碍,在直接或间接暴露于创伤事件之后发生,表现为高反应、过度警惕、回避和再体验<sup>[1]</sup>。近年来研究表明 PTSD 的患病率有逐渐升高的趋势<sup>[2]</sup>。尽管,目前人们对 PTSD 的研究越来越多,但其发生发展的病理生理学机制尚未完全清楚<sup>[3]</sup>。核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLR-family pyrin domain-containing protein 3, NLRP3)是大脑内研究最多的炎症小体,一般在细胞应激后激活,靶向抑制 NLRP3 炎症小体的激活可以减轻炎症反应,促进神经细胞存活,从而达到神经保护的作用<sup>[4]</sup>。近年来研究<sup>[5]</sup>显示 NLRP3 炎症小体在 PTSD 小鼠海马区激活,但在 PTSD 大鼠中尚未见报道。髓鞘是中枢神经系统中重要的组成部分,目前在国内 PTSD 与髓鞘相关的研究较少见报道。因此,该研究通过单一连续刺激(single-prolonged stress, SPS)的造模方法建立了 PTSD 大鼠模型,并通过行为学检测、HE 染色、免疫组化、免疫荧光染色等实验方法,旨在观察海马区炎症及髓鞘的改变,为 PTSD 的发病机制提供可能的依据。

2024-11-12 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:32260208)

作者简介:杨罗东,男,硕士,住院医师;

张桂青,女,教授,主任医师,博士生导师,通信作者, E-mail: firstli@126.com

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 选择 20 只雄性 SPF 级 Sprague-Dawley(SD)大鼠(7~8 周),体质量约为 200 g,购自河南斯克贝斯生物科技股份有限公司,实验动物许可证号[SCXK(YU)2020-0005]。大鼠饲养环境温度(23±2)℃、相对湿度(55±5)%、光暗循环 12 h 交替,所有大鼠可自由获取食物和水,每笼 4 只喂养。在进行实验之前,至少让大鼠有 1 周时间来适应环境,在造模前 5 d 开始,对大鼠进行轻柔抚摸处理,以减轻大鼠对实验人员的恐惧。本研究通过石河子大学第一附属医院伦理委员会的批准(批准号:A2022-047-01),动物的处理符合美国国立卫生研究院《实验动物的护理和使用指南》。

**1.1.2 主要仪器与试剂** NLRP3 抗体(货号:BA3677)购自武汉博士德公司,离子钙结合衔接分子 1(ionized calcium binding adaptor molecule 1, iba-1)抗体(小胶质细胞标志物)(货号:GB12105-100)、髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)抗体(货号:GB11226)、Alexa Fluor 488 标记的山羊抗小鼠 IgG 抗体(货号:GB25301)、Cyanine 3 标记的驴抗兔 IgG 抗体(货号:GB21403)、甘氨酸(货号:GC304019-500g)及劳克坚牢蓝(luxol fast blue, LFB)染色试剂盒(货号:G1030-100ML)购自武汉赛维尔公司, Triton X-100(货号:20107ES20)、牛血清

白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) (货号: 36101ES60) 购自上海翌圣生物, 苏木精 - 伊红 (HE) 染色试剂盒 (货号: G1120)、抗荧光衰减封片剂 (货号: S2100)、抗体稀释液 (货号: A1800)、DAPI (货号: C0065) 购自北京索莱宝公司。动物行为轨迹记录系统 (Tracking Master V4.0) 购自北京众实迪创科技有限公司, 荧光显微镜 (型号: Eclipse E200) 购自日本 Nikon 公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 实验分组及 PTSD 模型的建立** 选择 20 只健康的雄性 Sprague-Dawley 大鼠随机分为对照组和 PTSD 组。按照先前 Liberzon et al<sup>[6]</sup> 的描述用 SPS 方法造模。即先将 SD 大鼠置于一次性薄膜束缚 2 h; 之后立即放入装满水的塑料容器内强迫其游泳 20 min, 水温 (24 ± 1) °C; 然后擦干水让大鼠在笼子中休息 15 min; 最后将大鼠置于有乙醚的塑料箱子中直至其失去意识。随后将大鼠放回干净笼子中单独饲养。

**1.2.2 大鼠行为学测定** 实验流程如图 1 所示。两组大鼠在 SPS 后第 8 天开始进行旷场实验 (open field test, OFT)、高架十字迷宫 (elevated plus maze, EPM) 实验和 Morris 水迷宫 (Morris water maze, MWM) 实验来测定大鼠的焦虑症状及空间学习记忆障碍程度。旷场实验中记录大鼠在中心区域花费的时间及在中心区域停留的距离; 高架十字迷宫实验中记录大鼠进入开放臂的次数和在开放臂花费的时间; Morris 水迷宫实验中记录大鼠的逃避潜伏期及在目标象限中花费的时间百分比。行为学实验结束后用戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 经腹腔麻醉大鼠, 首先用 0.9% 的生理盐水灌注, 后改为 4% 的多聚甲醛继续灌注, 当大鼠出现全身抽搐及身体变硬后, 停止灌注。完整地剥离大鼠的整个大脑, 放入 4% 多聚甲醛中固定, 后经石蜡包埋, 切片。

**1.2.3 苏木精 - 伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色** 大鼠脑组织标本固定在石蜡中, 用切片机切为 4

μm 的切片。然后将石蜡切片烘干, 脱蜡、水化并行 HE 染色, 在封片后置于光学显微镜下观察海马神经元的病理学情况。

**1.2.4 免疫荧光** 大鼠海马组织切片脱蜡后, 用 EDTA (pH = 9.0) 进行抗原修复, 用 3% 的过氧化氢室温封闭 10 min, 然后室温下用 0.1% Triton X-100、10% BSA 和 22.5 mg/ml 甘氨酸渗透及封闭 70 min。用兔抗 NLRP3 抗体 (1:200, 博士德, 中国) 和小鼠抗 iba1 抗体 (1:750, 赛维尔, 中国) 在 4 °C 孵育过夜。然后, 复温 30 min, 与 Cy3 驴抗兔 (1:200, 赛维尔, 中国) 和 Alexa Fluor 488 山羊抗小鼠 (1:300, 赛维尔, 中国) 37 °C 孵育 2 h。使用 DAPI 染色 5 min, 滴加抗荧光淬灭剂, 指甲油封片。置于荧光显微镜下采集图片, 在摄过程中, 实验组与对照组均采用同等拍摄参数, 并尽量控制两组拍摄时激光照射时间相同。最终采用平均荧光强度进行组间比较。

**1.2.5 免疫组化** MBP 是髓鞘中主要的蛋白之一, 可以评估髓鞘的损伤情况。大鼠海马组织切片脱蜡水化后, 用柠檬酸盐缓冲液 (pH = 6.0) 进行抗原修复, 然后, 滴加 3% 的过氧化氢室温封闭 10 min, 以减少内源性过氧化物酶。切片滴加抗 MBP (1:600, 赛维尔, 中国) 4 °C 孵育过夜, 室温孵育通用型试剂盒 (小鼠/兔聚合物法检测系统) 二抗 30 min。滴加 DAB 显色液, 苏木精浸染 3 min, 用自来水冲洗。封片后置于光学显微镜下观察海马髓鞘的改变, 组间免疫组化的结果采用阳性面积占比进行分析。

**1.2.6 劳克坚牢蓝 (luxol fast blue, LFB)** 劳克坚牢蓝染色为髓鞘的特异性染色方法, 可以观察髓鞘的改变情况; 将大鼠海马组织石蜡切片脱蜡至水, 在预热的髓鞘染液 A 中 65 °C 染色 4 h, 自来水冲洗, 浸入髓鞘染液 B 中快速分化 5 s, 置于髓鞘染液 C 中快速分化 10 s, 冲洗终止分化。光学显微镜下观察图像。

**1.3 统计学处理** 采用 GraphPad Prism 9.0 软件

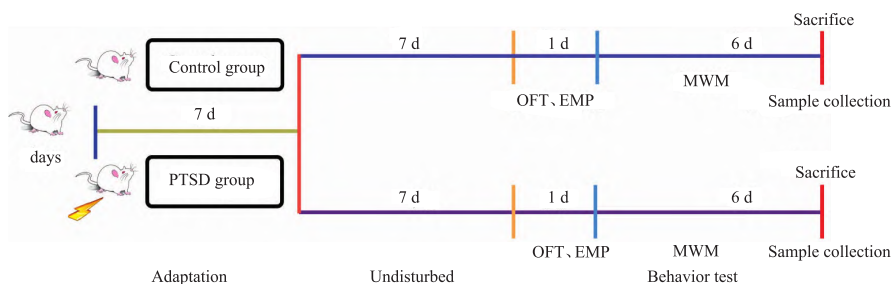


图 1 实验流程图

Fig. 1 Experimental flow chart

进行数据分析。使用 Shapiro-Wilk 检验数据是否符合正态分布,所有数据以(均值 ± 标准误)表示,使用两独立样本  $t$  检验进行两组间比较,所有分析均以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PTSD 大鼠表现出焦虑及空间记忆障碍

在 OFT 中,PTSD 组和对照组大鼠之间行走的总路程没有显著差异( $t = 2.16, P > 0.05$ ,图 2B),然而,与对照组相比,PTSD 组大鼠在中心区域行走的距离和在

中心区域停留的时间缩短( $t = 4.13, 2.37$ ,均  $P < 0.05$ ,图 2C、2D)。在 EPM 中,与对照组大鼠相比,PTSD 组进入开放臂的次数和在开放臂花费的时间减少( $t = 2.25, 2.92$ ,均  $P < 0.05$ ,图 2F、2G)。在 MWM 中,与对照组相比,PTSD 组大鼠在实验第 3 天开始逃避潜伏期长于对照组大鼠( $t = 2.82, 2.93, 2.76$ ,均  $P < 0.05$ ,图 2I),且在目标象限停留的时间明显减少( $t = 5.59, P < 0.001$ ,图 2J)。这些行为学结果表明,PTSD 组大鼠表现出焦虑样症状及空间学习及记忆障碍。

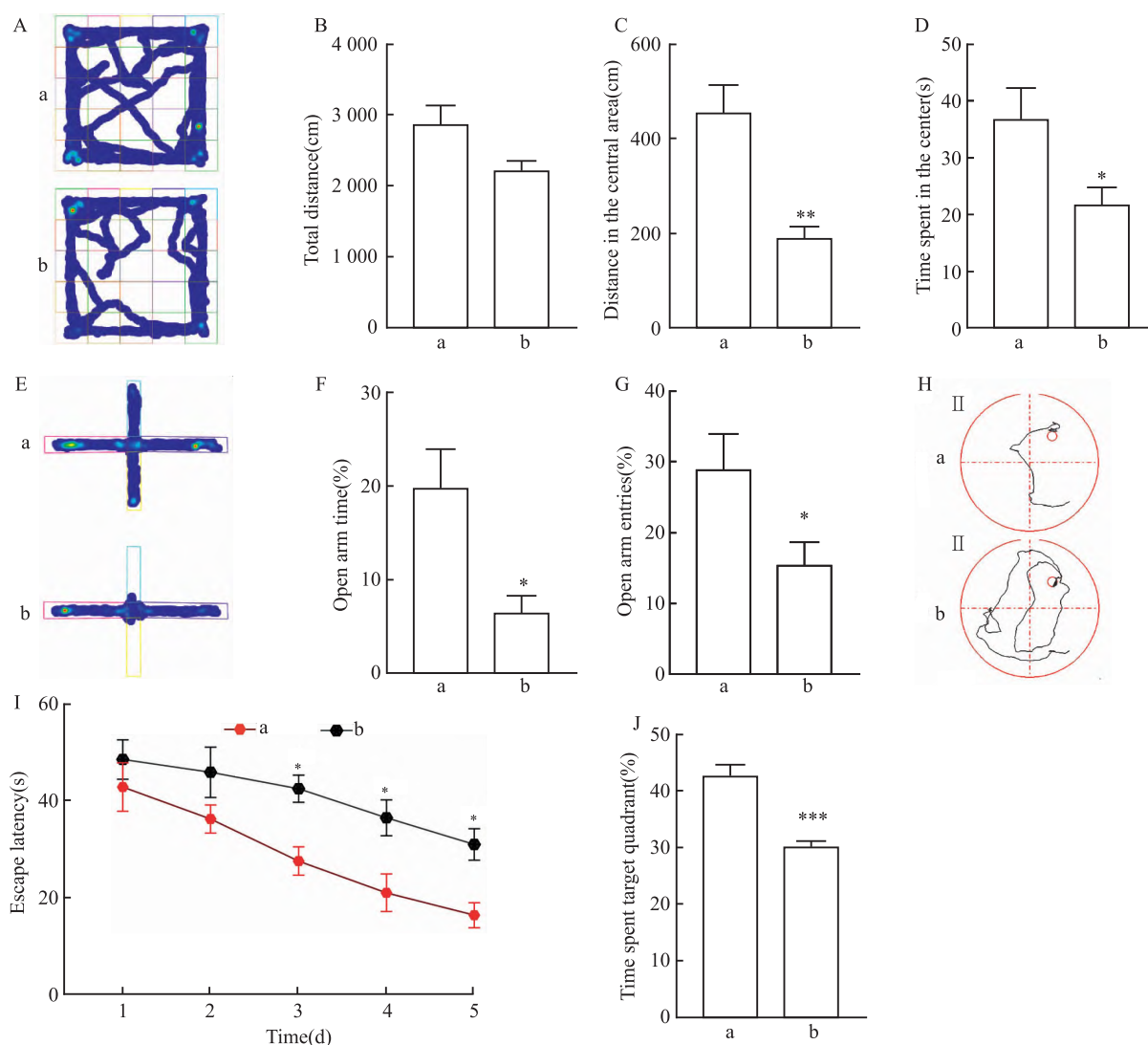


图 2 对照组与 PTSD 组大鼠的行为学表现情况 ( $n = 6$ )

Fig. 2 Behavioral performance of rats in control group and PTSD group ( $n = 6$ )

A - D: In the OFT, the representative trajectory map of the two groups of rats, the total distance of activity, the distance of activity in the central region and the time spent in the central region were compared; E - G: In the EPM, the representative trajectory map of the two groups of rats, the time spent in the open arms and the number of entries into the open arms were compared; H - J: In the MWM, the representative trajectory maps of the two groups of rats on the fifth day of the experiment, the average latency to escape during the five days of training, and the percentage of time spent in the target quadrant were compared; a: Control group; b: PTSD group; \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$  vs Control group; PTSD: post-traumatic stress disorder; OFT: open field test; EPM: elevated plus maze; MWM: Morris water maze.

**2.2 PTSD 大鼠海马区神经元发生了改变** HE 染色的结果显示,对照组大鼠海马区神经元结构完整,细胞形态规则,排列整齐,轮廓清楚;PTSD 组大鼠海马区神经元形态改变,排列紊乱、部分神经细胞肿胀和空泡,轮廓不清。见图 3。

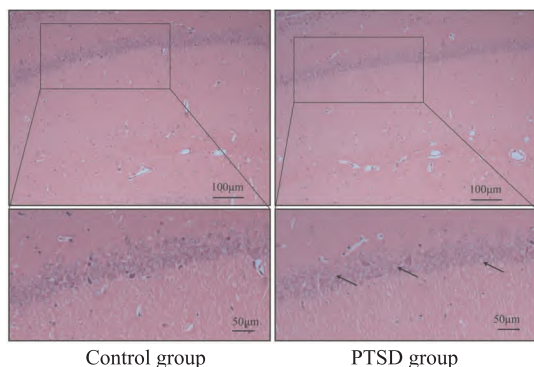


图 3 对照组与 PTSD 组大鼠海马组织的 HE 染色 ×200

Fig. 3 HE staining of hippocampal tissue in control and PTSD group of rats ×200

Arrows indicate neuronal swelling and vacuolation, exhibiting unclear outlines compared to the control group.

**2.3 PTSD 组大鼠海马区 NLRP3 炎症小体和小胶质细胞激活** NLRP3 是中枢神经系统研究最多的炎症小体,而小胶质细胞是中枢神经系统中的巨噬细胞。免疫荧光染色发现,与对照组相比,PTSD 组大鼠海马区 iba-1 ( $t = 5.09, P < 0.01$ ,图 4A、4B)和 NLRP3 炎症小体 ( $t = 4.61, P < 0.01$ ,图 4C、4D)表达升高,且在 PTSD 组中小胶质细胞的形态发生了改变,表现为胞体增大,分支增多。

**2.4 PTSD 组大鼠海马区髓鞘含量增加** 本研究通过劳克坚牢蓝染色可以看到,与对照组比较,PTSD 组大鼠海马区髓鞘含量增加(图 5A);同样,免疫组化染色结果也表明 PTSD 组大鼠海马区髓鞘含量的增加 ( $t = 2.83, P < 0.05$ ,图 5B、5C)。免疫组化的结果提示创伤应激会造成大鼠海马区髓鞘的增加。

### 3 讨论

PTSD 是一种常见的精神疾病,不但影响患者的

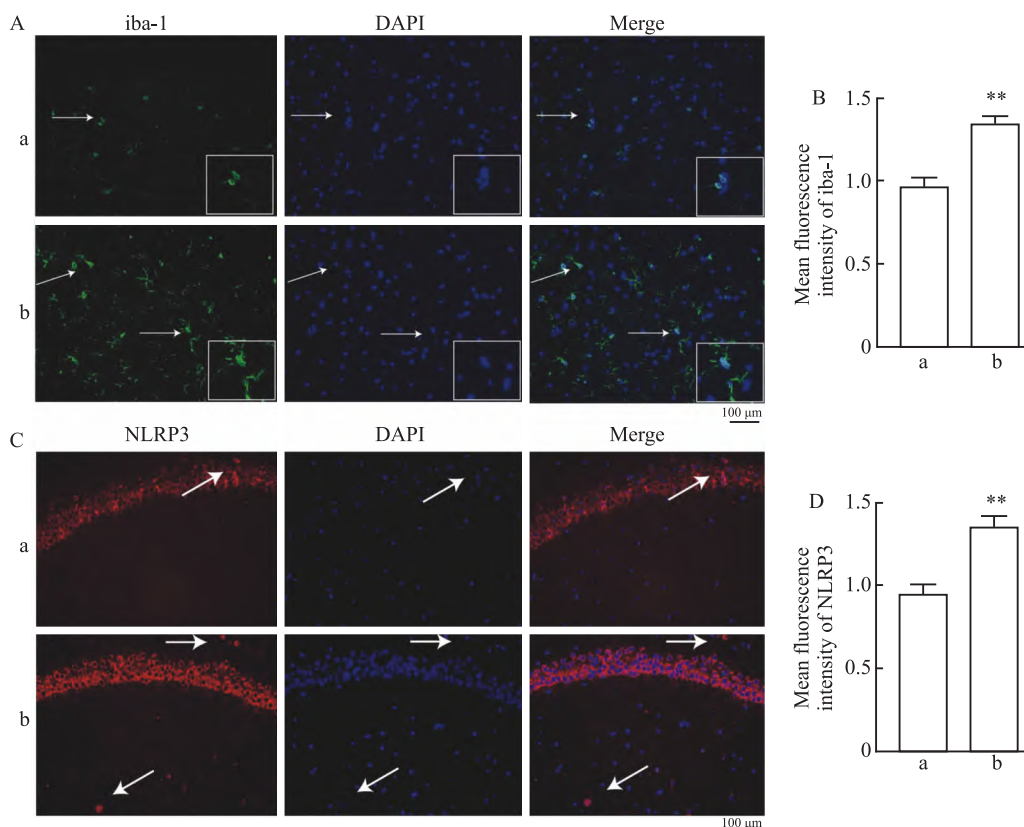


图 4 对照组与 PTSD 组大鼠海马区 NLRP3 和 iba-1 的表达情况 ×200

Fig. 4 Expression of NLRP3 and iba-1 in the hippocampal region in control and PTSD group of rats ×200

A: Expression levels of iba-1 (green) and DAPI (blue) in the hippocampal regions of both groups of rats; B: Statistical analysis results of iba-1 immunofluorescence (comparison made using average fluorescence intensity); C: Expression levels of NLRP3 (red) and DAPI (blue) in the hippocampal regions of both groups of rats; D: Statistical analysis results of NLRP3 immunofluorescence (comparison made using average fluorescence intensity); a: Control group; b: PTSD group; \*\*  $P < 0.05$  vs Control group.

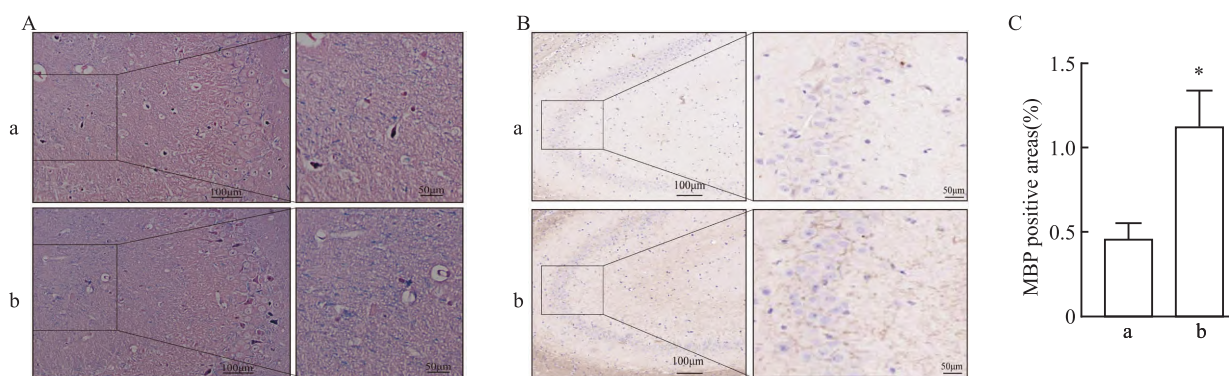


图5 对照组与 PTSD 组大鼠海马区髓鞘染色的结果 ×200

Fig. 5 Results of myelin staining of the hippocampal region in control and PTSD group of rats ×200

A: Luxol Fast Blue staining under microscopy; B: Immunohistochemical staining under microscopy; C: Statistical analysis results of immunohistochemistry; a: Control group; b: PTSD group; \*  $P < 0.01$  vs Control group.

健康和生 活,还增加患者的经济负担,特别是在人们经历了 COVID-19 危机之后,普通大众的创伤经历已经变得十分普遍。虽然 PTSD 的发病机制并不清楚,但可以肯定的是 PTSD 的发病与海马功能和结构的改变密切相关,在 PTSD 的临床和基础研究中均发现了海马改变的证据。如功能性核磁共振的研究<sup>[7]</sup>表明较小的海马体体积是 PTSD 的危险因素,并且发生 PTSD 后海马神经元的完整性将会减少<sup>[8]</sup>,在本研究中也显示 PTSD 大鼠海马区神经元结构的改变,这与之前的研究结果一致。

SPS 模型是 PTSD 大鼠中最常用的模型,用来模拟 PTSD 的症状,研究<sup>[9]</sup>表明 SPS 引起的行为和生理变化与 PTSD 相关症状相似,包括焦虑增强、高警觉和恐惧记忆,以及空间记忆和社会互动的受损。本研究通过 SPS 的方法建立了 PTSD 大鼠模型, OFT、EPM 及 MWM 的行为学实验方法测试发现,与对照组相比,PTSD 组大鼠表现出焦虑样症状及空间学习记忆障碍。这证明本研究建立的 PTSD 模型是成功的。

目前,在 PTSD 与海马相关炎症的研究<sup>[10]</sup>中发现 PTSD 与免疫系统和炎症反应有关,并且持续较低程度的炎症可以解释 PTSD 患者中自身免疫性疾病和加速衰老发病的原因。此外,临床研究<sup>[11]</sup>也表明,PTSD 患者外周血中促炎反应增加,而在 PTSD 的动物实验中发现抑制海马区的炎症的水平可以缓解啮齿动物焦虑、抑郁症状及改善学习记忆功能等<sup>[12]</sup>,起到一定的治疗作用。小胶质细胞是中枢神经系统常驻的巨噬细胞,是大脑免疫功能的主要效应物,其激活是中枢神经系统炎症反应的关键调节因子。在应激、感染、创伤或损伤期间,驻留的小胶

质细胞会被激活为促炎表型和抗炎表型<sup>[13]</sup>,异常激活的小胶质细胞通过增加细胞的数量和改变形态来发挥作用。本研究发现 PTSD 大鼠小胶质细胞激活,表现为胞体增大,分支增多,且小胶质细胞标志物 iba-1 表达增加。此外,既往研究<sup>[14]</sup>还报道了短期的足部电击刺激后小鼠海马区小胶质细胞的激活,这与本研究结果一致。而 NLRP3 作为第一个在大脑内被研究的炎症小体,主要位于小胶质细胞中,既往研究<sup>[15]</sup>表明在小胶质细胞中激活的 NLRP3 可以促进炎症因子的分泌,其相关功能已经在精神心理疾病中被广泛研究。如之前在 PTSD 的研究<sup>[16]</sup>中发现,电刺激、束缚及捕食者气味造成的 PTSD 小鼠模型中 NLRP3 在小胶质细胞中激活,但在 PTSD 大鼠中尚未见报道,而在本研究中使用 SPS 的造模方法,验证了 PTSD 大鼠海马中 NLRP3 炎症小体的激活。

髓鞘是神经系统重要的组成成分,其可塑性在学习和记忆中具有重要的作用。在压力与应激相关疾病的研究中,髓鞘改变的证据并不一致。在动物模型中,社会压力和慢性压力可能导致脱髓鞘<sup>[17]</sup>,而小鼠早期断奶则会增加杏仁核髓磷脂<sup>[18]</sup>,幼年期暴露于单一应激中也会增加雄性小鼠杏仁核、海马和灰质中髓磷脂的含量<sup>[19]</sup>。鉴于上述研究结果的不一致性,开展了相关研究,本研究显示 PTSD 大鼠海马区髓鞘含量增加,推测这可能与恐惧记忆有关,因为 PTSD 较为明显的症状就是恐惧记忆和病理性记忆的损伤,而最新证据也表明在恐惧学习期间神经元的活动会指示新髓鞘的形成,从而保存远距离恐惧记忆<sup>[20]</sup>。

综上所述,PTSD 的发病机制可能与神经元的损伤有关,而炎症反应可能在其中发挥着重要作用;此

外,PTSD 大鼠海马区髓鞘含量增加,这可能与其恐惧记忆相关。但其具体机制尚不明确,未来还需进一步去研究。

### 参考文献

- [1] Pathak G A, Singh K, Choi K W, et al. Genetic liability to post-traumatic stress disorder symptoms and its association with cardio-metabolic and respiratory outcomes[J]. *JAMA Psychiatry*,2024, 81(1):34-44. doi:10.1001/jamapsychiatry.2023.4127.
- [2] Salehi M, Amanat M, Mohammadi M, et al. The prevalence of post-traumatic stress disorder related symptoms in coronavirus outbreaks: a systematic-review and meta-analysis[J]. *J Affect Disord*,2021,282:527-38. doi:10.1016/j.jad.2020.12.188.
- [3] Bisson J I, Olf M. Prevention and treatment of PTSD: the current evidence base [J]. *Eur J Psychotraumatol*. 2021, 12 (1): 1824381. doi:10.1080/20008198.2020.1824381.
- [4] Yu Q, Zhao T, Liu M, et al. Targeting NLRP3 inflammasome in translational treatment of nervous system diseases: an update[J]. *Front Pharmacol*,2021,12:707696. doi:10.3389/fphar.2021.707696.
- [5] Xie P, Chen L, Wang J, et al. Polysaccharides from polygonatum cyrtoneura prevent post-traumatic stress disorder behaviors in mice: mechanisms from the perspective of synaptic injury, oxidative stress, and neuroinflammation[J]. *J Ethnopharmacol*,2024, 319(Pt1):117165. doi:10.1016/j.jep.2023.117165
- [6] Liberzon I, Krstov M, Young E A. Stress-restress: effects on ACTH and fast feedback[J]. *Psychoneuroendocrinology*,1997,22(6):443-53. doi:10.1016/s0306-4530(97)00044-9.
- [7] Del Casale A, Ferracuti S, Barbetti A S, et al. Grey matter volume reductions of the left hippocampus and amygdala in PTSD: a coordinate-based meta-analysis of magnetic resonance imaging studies[J]. *Neuropsychobiology*, 2022, 81(4):257-64. doi:10.1159/000522003.
- [8] Ressler K J, Berretta S, Bolshakov V Y, et al. Post-traumatic stress disorder: clinical and translational neuroscience from cells to circuits[J]. *Nat Rev Neurol*,2022,18(5):273-88. doi:10.1038/s41582-022-00635-8.
- [9] Jia Y, Han Y, Wang X, et al. Role of apoptosis in the post-traumatic stress disorder model-single prolonged stressed rats[J]. *Psychoneuroendocrinology*,2018,95:97-105. doi:10.1016/j.psyneuen.2018.05.015.
- [10] Peruzzolo T L, Pinto J V, Roza T H, et al. Inflammatory and oxidative stress markers in post-traumatic stress disorder: a systematic review and meta-analysis[J]. *Mol Psychiatry*,2022,27(8):3150-63. doi:10.1038/s41380-022-01564-0.
- [11] Fonkoue I T, Marvar P J, Norrholm S, et al. Symptom severity impacts sympathetic dysregulation and inflammation in post-traumatic stress disorder (PTSD)[J]. *Brain Behav Immun*,2020,83:260-9. doi:10.1016/j.bbi.2019.10.021.
- [12] Torres-Rodríguez O, Rivera-Escobales Y, Castillo-Ocampo Y, et al. Purinergic P2X7 receptor-mediated inflammation precedes PTSD-related behaviors in rats[J]. *Brain Behav Immun*,2023, 110:107-18. doi:10.1016/j.bbi.2023.02.015.
- [13] Orihuela R, McPherson C A, Harry G J. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states[J]. *Br J Pharmacol*,2016,173(4):649-65. doi:10.1111/bph.13139.
- [14] Wang W, Wang R, Xu J, et al. Minocycline attenuates stress-induced behavioral changes via its anti-inflammatory effects in an animal model of post-traumatic stress disorder[J]. *Front Psychiatry*, 2018,9: 558. doi:10.3389/fpsy.2018.00558.
- [15] Cui Y, Zhang N N, Wang D, et al. Modified citrus pectin alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by inhibiting NLRP3 inflammasome activation via TLR4/NF-κB signaling pathway in microglia[J]. *J Inflamm Res*,2022,15:3369-85. doi:10.2147/JIR.S366927.
- [16] Dong Y, Li S, Lu Y, et al. Stress-induced NLRP3 inflammasome activation negatively regulates fear memory in mice[J]. *J Neuroinflammation*,2020,17(1):205. doi:10.1186/s12974-020-01842-0.
- [17] Huang C X, Xiao Q, Zhang L, et al. Stress-induced myelin damage in the hippocampal formation in a rat model of depression[J]. *J Psychiatr Res*,2022,155:401-9. doi:10.1016/j.jpsychires.2022.09.025.
- [18] Ono M, Kikusui T, Sasaki N, et al. Early weaning induces anxiety and precocious myelination in the anterior part of the basolateral amygdala of male Balb/c mice[J]. *Neuroscience*,2008,156(4):1103-10. doi:10.1016/j.neuroscience.2008.07.078.
- [19] Breton J M, Barraza M, Hu K Y, et al. Juvenile exposure to acute traumatic stress leads to long-lasting alterations in grey matter myelination in adult female but not male rats[J]. *Neurobiol Stress*, 2021,14:100319. doi:10.1016/j.ynstr.2021.100319.
- [20] Pan S, Mayoral S R, Choi H S, et al. Preservation of a remote fear memory requires new myelin formation[J]. *Nat Neurosci*, 2020,23(4):487-99. doi:10.1038/s41593-019-0582-1.

## Inflammatory activation and myelin alterations in the hippocampus of post-traumatic stress disorder rats

Yang Luodong<sup>1,2</sup>, Shi Yan<sup>2</sup>, Zhang Ziwei<sup>2</sup>, Li Bin<sup>2</sup>, Zhang Guiqing<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Dept of Clinical Psychology, The First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832000;

<sup>2</sup>Dept of Clinical Medicine, Shihezi University Medical School, Shihezi 832000)

**Abstract Objective** To investigate the alterations in hippocampal neurons, nucleotide-binding oligomerization

网络出版时间:2024-12-05 14:00:01 网络出版地址:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.12.011

# 肝癌细胞通过 eNAMPT-INSR 轴促进人脐静脉内皮细胞血管生成

吴俊杰<sup>1</sup>,李世州<sup>2</sup>,高成明<sup>2</sup>,曹鹏博<sup>2</sup>,周钢桥<sup>1,2</sup><sup>(1)</sup> 安徽医科大学生命科学学院,合肥 230032;<sup>(2)</sup> 中国人民解放军军事科学院军事医学研究院,北京 100850)

**摘要** 目的 探究肝癌细胞分泌的胞外烟酰胺磷酸核糖基转移酶(eNAMPT)对人脐静脉内皮细胞(HUVEC)血管生成的影响及潜在机制。方法 通过低氧刺激肝癌细胞分泌 eNAMPT,并通过血管生成实验探究 eNAMPT 对 HUVEC 血管形成的影响;利用 eNAMPT 刺激后的 HUVEC 转录组测序探究 eNAMPT-胰岛素受体(INSR)轴影响 HUVEC 血管生成的分子机制;通过 Western blot 检测 eNAMPT-INSR 轴影响 HUVEC 胞内相关节点分子的蛋白表达变化;通过 qRT-PCR 检测 eNAMPT-INSR 轴影响 HUVEC 胞内相关靶基因的表达变化。结果 ELISA 和 Western blot 结果显示低氧刺激后肝癌细胞培养上清中 eNAMPT 蛋白水平显著升高,体外血管生成实验结果显示 eNAMPT 显著增加 HUVEC 的血管生成结节数与总长度;HUVEC 的转录组测序结果显示 eNAMPT 能够作为胰岛素类似物参与调控 HUVEC 的细胞迁移、血管生成等生物学过程并可能通过激活类胰岛素相关信号通路促进血管生成;Western blot 结果显示 eNAMPT-INSR 轴影响 HUVEC 内 PI3K-AKT 和 MAPK-ERK1/2 信号通路中 p-AKT、p-ERK1/2 的蛋白水平变化;qRT-PCR 结果显示 eNAMPT-INSR 轴影响 HUVEC 内血管生成相关靶基因 *MMP2*、*MMP9*、*VEGF* 的表达变化。结论 肝癌细胞分泌的 eNAMPT 通过与 INSR 结合激活 PI3K-AKT 和 MAPK-ERK1/2 信号通路促进血管生成。

**关键词** 肝癌;烟酰胺磷酸核糖基转移酶;胰岛素受体;血管生成

**中图分类号** Q 257

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2024)12-2141-09

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.12.011

烟酰胺磷酸核糖基转移酶(nicotinamide phos-

phoribosyl transferase, NAMPT)是一种磷酸核糖基转移酶,分为细胞内 NAMPT(intracellular Nicotinamide phosphoribosyl transferase, iNAMPT)和细胞外 NAMPT(extracellular Nicotinamide phosphoribosyl transferase, eNAMPT)两种形式<sup>[1-2]</sup>。iNAMPT 是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(Nicotinamide adenine dinucle-

2024-09-15 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:82172707)

作者简介:吴俊杰,男,硕士研究生;

周钢桥,男,博士,研究员,通信作者, E-mail: zhougq114@126.com

domain-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome, microglia, and myelin in rats with post-traumatic stress disorder (PTSD). **Methods** A PTSD rat model was established using the single prolonged stress (SPS) paradigm. Anxiety and cognitive functions were evaluated through the open field test, elevated plus maze, and Morris water maze. Histopathological changes in hippocampal neurons were assessed using hematoxylin and eosin (HE) staining. The expression levels of NLRP3 and iba-1 (a microglial marker) in the hippocampus were examined using immunofluorescence staining. Immunohistochemical staining and Luxol Fast Blue staining were performed to investigate alterations in hippocampal myelin. **Results** Hippocampal neurons in PTSD rats exhibited damage, with increased activation of the NLRP3 inflammasome and microglia, and elevated myelin content. **Conclusion** The pathogenesis of PTSD may be associated with hippocampal neuronal damage, inflammatory responses, and changes in myelin.

**Key words** post-traumatic stress disorder; hippocampus; NLRP3; myelin; neurons; microglia

**Fund program** National Natural Science Foundation of China (No. 32260208)

**Corresponding author** Zhang GuiQing, E-mail: firstli@126.com