DOI:10.16016/j.1000-5404.201503171

论著

阻断促肾上腺皮质激素释放激素1受体对慢性束缚应激致大鼠类抑郁症状的改善

戴若以[1],顾小红[1],张云东[2],陈 卓[1] (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所:老年科[1],神经外科[2])

[摘要] **目的** 研究束缚应激对大鼠下丘脑脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor,BDNF)和生长相关蛋白(growth associated protein 43,GAP-43)表达的影响,并分析BDNF和GAP-43在慢性应激致类抑郁样症状发生中的作用以及CP-154526的治疗作用。**方法** 将30只雄性SD大鼠随机分成3组,即束缚应激组、CP-154526治疗组和对照组。束缚应激组采用每日束缚3 h、连续21 d的方法建立抑郁症模型,促肾上腺皮质激素释放激素1受体(corticotrophin-releasing hormone type 1 receptor,CRH1R)阻断剂CP-154526治疗组自实验开始用CP-154526对抑郁模型动物予以治疗,对照组注射CP-154526的溶剂DMSO。观测各组大鼠行为学变化;酶联免疫吸附实验检测血浆促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormonecorti, CRH)浓度;Western blot检测模型大鼠下丘脑BDNF、GAP-43蛋白表达表达情况。**结果** 束缚应激组与对照组和治疗组相比体质量增长下降($P<0.05$)、和糖水偏好率均显著下降($P<0.05$),在穿格次数、站立次数、修饰次数均少于对照组($P<0.05$);而治疗组与对照组以上实验结果无统计学差异($P>0.05$)。束缚应激组血浆CRH浓度较对照组升高($P<0.05$),但治疗组血浆CRH浓度较对照组无统计学差异($P>0.05$)。束缚应激组下丘脑BDNF、GAP-43表达较对照组与治疗组增多($P<0.05$)。**结论** 慢性束缚应激可致大鼠下丘脑BDNF、GAP-43蛋白表达上调,导致下丘脑发生可塑性变化,与下丘脑CRH分泌增多以及抑郁症行为的变化相关。CRH1R阻断剂CP-154526可逆转下丘脑BDNF和GAP-43蛋白的表达,改善类抑郁症状。

[关键词] 束缚应激;抑郁症;下丘脑;脑源性神经生长因子;生长相关蛋白
[中图法分类号] R-332;R363.271;R749.41 [文献标志码] A

Blocking corticotropin-releasing hormone 1 receptor regulates expression of BDNF and GAP-43 in hypothalamus of depression rats induced by chronic restraint stress

Dai Ruoyi[1], Gu Xiaohong[1], Zhang Yundong[2], Chen Zhuo[1] ([1]Department of Geriatrics, [2]Department of Neurologic Surgery, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of chronic restraint stress on the expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) and growth associated protein 43 (GAP-43) in the hypothalamus of rats, the role of BDNF and GAP-43 in the pathogenesis of depression induced by chronic restraint stress, and the regulation effect of CP-154526 [corticotrophin-releasing hormone type 1 receptor (CRH1R) antagonist]. **Methods** A total of 30 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 3 groups: restraint stress group, CP-154526 treatment group and control group. The rats were restrained for 3 h daily over a period of 21 d to construct depression model. The treatment group was injected with CP-154526 from the beginning of the experiment, while the control group was injected with dimethyl sulfoxide (solvent of CP-154526). Then the behaviors of the rats were observed. The level of corticotrophin-releasing hormone (CRH) in the blood serum was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the expression of BDNF and

[基金项目] 重庆市自然科学基金(cstc2013jjB10002)
[通信作者] 顾小红,电话:(023)68757890,E-mail:742738605@qq.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20151016.1309.018.html

GAP-43 in the hypothalamus was verified by Western blotting. **Results** Compared with the control group and the CP-154526 treatment group, the restraint stress group showed decreased body weight ($P<0.05$), reduced sucrose preference ($P<0.05$), and decreased spanning lattice times, standing times and modification times ($P<0.05$). There was no statistical difference between the CP-154526 treatment group and the control group in the above tests ($P>0.05$). The restraint stress group showed significant increase in the serum CRH concentration compared with the control group ($P<0.05$), but there was no significant difference between the CP-154526 treatment group and the control group ($P>0.05$). Compared with the control group and CP-154526 treatment group, the restraint stress group showed higher expression of BDNF and GAP-43 in the hypothalamus ($P<0.05$). **Conclusion** Chronic restraint stress can induce up-regulation of BDNF protein and GAP-43 protein in the hypothalamus, and lead to plastic changes in the hypothalamus, which are consistent with the changes of CRH secretion and depression-related behavior. CP-154526 significantly alleviates the symptoms of depression through inhibiting the up-regulation of BDNF protein and GAP-43 protein in the hypothalamus.

[**Key words**] restraint stress; depression; hypothalamus; brain derived neurotrophic factor; growth associated protein 43

Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2013jjB10002). Corresponding author: Gu Xiaohong, Tel: 86-23-68757890, E-mail: 742738605@qq.com

现代社会人类承受的生活、工作压力不断增加，会导致许多躯体或精神疾病[1-3]。下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamus-pituitary-adrenal, HPA)轴在应激导致类抑郁症状的发生和发展过程中起着重要作用，慢性应激后HPA轴功能亢进，促肾上腺皮质激素释放激素(corticotrophin releasing hormonecorti, CRH)过度分泌[4]。慢性应激时下丘脑形态、神经支配分布和蛋白表达会发生可塑性改变[5]。脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)对中枢神经系统的多种类型神经元的生长、发育、分化、维护和再生都具有显著作用[6]。生长相关蛋白(growth associated protein 43, GAP-43)是神经结构可塑性的分子标志物，在慢性应激的发生和发展中可能发挥重要的作用。促肾上腺皮质激素释放激素1受体(corticotropin-releasing hormone type 1 receptor, CRH1R)被视为治疗慢性应激后类抑郁症状的新靶标。阻断CRH1R能缓解应激后的类抑郁症状，CP-154526在血脑屏障通透性较高，可减少下丘脑CRH的合成，展现了拮抗应激的效能，但目前尚停留在临床试验阶段，其速效性及安全性尚待进一步验证[7]。

本研究采用慢性束缚应激方法建立抑郁症大鼠模型，检测其对大鼠行为学、血浆CRH浓度和下丘脑BDNF与GAP-43表达的影响及CRH1R阻断剂CP-154526对上述指标的干预作用，旨在探索可塑性和慢性应激反应的关系及CP-154526治疗应激后类抑郁症状的可能机制，从而为研究慢性应激后类抑郁症的产生机制和治疗方法提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

选成年(3个月)雄性SD大鼠30只(由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供)。领取大鼠后实验室适应性喂养7 d，12 h明/12 h暗周期(光照时间7:00/19:00)。室内温度保持为(22±2)℃，相对湿度保持为30%~40%，各组大鼠喂常规饲料，自由进食饮水。实验期间除了行为测试和应激处置时段，所有动物自由饮水、进食。用随机排列表法将大鼠分为3组：束缚应激组、CP-154526治疗组、对照组。

1.2 主要仪器和试剂

BCA蛋白定量试剂盒(欣百诺生物公司，上海)；人促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)ELISA试剂盒(Cloud-Clone Corp，美国)；兔抗大鼠GAP-43单克隆抗体(Abcam，英国)；兔抗大鼠BDNF单克隆抗体(abcam，英国)；羊抗兔HRP标记二抗(BOSTER，武汉)；α-tublin(Fantibody，美国)；CP-154526(Santa Cruz Biotechnology，美国)；电子秤(凯丰，浙江)；自制束缚管；酶标仪(BioTek，美国)；一大四小旷场箱(鼠博士，上海)；ChemiDoc MP(Bio-Rad，美国)。

1.3 模型的建立

参考文献[8]，采用束缚筒制动法造模。将应激模型组和CP-154526治疗组大鼠置于不能自由活动的束缚器内进行应激。束缚器管状，长约25 cm，筒口内径8.0 cm，前端设计着通气孔，尾端为可开关门。束缚组和治疗组大鼠每天都束缚应激1次，每次3 h，在

上午8:00到11:00之间进行,连续21 d。束缚应激治疗组为自造模第1天始,每日腹腔内注射CP-154526[5 mg/(kg·d),DMSO溶解],束缚应激组和对照组注射CP-154526的溶解剂DMSO作为参照。累计束缚21 d。未应激大鼠行抓取动作后放入饲养笼内,但在应激期间同束缚应激组大鼠一样禁食、禁水。

1.4 体质量测量

分别于束缚应激期间第1、7、14、21天对各组大鼠称量,取3组大鼠的体质量作统计比较大鼠体质量变化幅度。

1.5 旷场实验

于第21天造模结束后,3组大鼠分别进行旷场实验。采用Lipatova等[9]的方法,使用鼠博士一大四小旷场箱。实验前先把大鼠于行为学实验室内适应环境30 min。开始实验后抓住将大鼠尾巴轻放到旷场箱里,同时开始录像和计时。记录5 min之内大鼠的活动情况。实验结束后,抓出大鼠,再用毛巾蘸上清水和低浓度酒精擦拭旷场箱底部,等挥发干净后再进行下一组实验,避免留下气味干扰下一组的测试。观察指标包括:①穿格次数:三爪以上穿过格线的次数;②站立次数:前爪抬离开箱底面或者搭在侧壁,仅后腿支撑让身子站立的次数;③修饰次数:两前爪洗脸、理毛、舔爪的次数;④粪便粒数:每个大鼠实验中排泄的粪便粒数。

1.6 糖水实验

在糖水实验3 d前开始,对各组大鼠进行糖水、纯水饮用训练。训练第1天,给予各组大鼠1.5%蔗糖水,第2天同时给予1瓶1.5%蔗糖水和1瓶纯水。第3天禁食禁水24 h。实验时,大鼠单笼喂养,同时给予1瓶1.5%蔗糖水和1瓶纯水,大鼠自由饮食、饮水2 h。2 h后,记录每只大鼠的糖水和纯水消耗量,根据公式[糖水消耗量/(糖水消耗量+纯水消耗量)]计算糖水偏爱率。

1.7 血浆CRH浓度测定

实验第22天,将所有大鼠颈椎迅速脱臼,手术剪剖开胸腔,用注射器从左心房抽取约3 mL血,将血浆置于用EDTA-Na2抗凝剂处理过的试管内,混匀,4 ℃下1 509×g离心15 min,分离血浆,将上清转移至一新离心管,采用ELISA法测量CRH浓度。CRH的测定均严格按照Cloud-Clone Corp公司的(CRH)ELISA试剂盒说明书进行操作。

1.8 取材与Western blot实验

各组大鼠取血完毕后,立即剪开右心耳,插入灌流针管,用0.9%氯化钠进行灌流冲洗,直到灌流出的液体由血色变清(200~300)mL;迅速开颅分离出完整脑组织,在冰面分离下丘脑(视交叉、乳头体为前、后界,左右下丘脑沟为侧界,深1~1.5 mm,除去脑膜及血凝块),放入匀浆器,同时加入200 μL裂解RIPA裂解液(含PMSF)冰面上匀浆。冰上孵育30 min,然后4 ℃、24 149×g离心5 min,收集上清液分装,-20 ℃保存。BCA法蛋白定量。每个样品加入等体积2×Buffer上样缓冲液,混匀煮沸5 min使蛋白变性,进行10% SDS-PAGE电泳,然后电转移至PVDF膜上。丽春红染色,漂洗干净后,5% 的脱脂牛奶封闭约1 h。分别加入一抗(BDNF抗体,美国Abcam公司,1∶500稀释;GAP-43抗体,美国Abcam公司,1∶1 000稀释;α-tublin抗体,美国Fantibody公司,1∶3 000稀释)。4 ℃在侧摆摇床上孵育过夜。加入TBST在侧摆摇床上缓慢摇动洗膜3次,每次10 min。吸尽洗涤液后,以1∶3 000稀释的二抗室温孵育约100 min,再以最快速度TBST洗膜3次,ChemiDoc MP扫描成像。采用Scion Image软件分别分析BDNF、GAP-43和α-tublin条带灰度值,并计算BDNF、GAP-43和α-tublin灰度值比值。

1.9 统计学分析

使用SPSS 13.0统计软件进行统计分析,实验数据以$\bar{x}\pm s$表示,对所有的结果进行正态性及方差齐性检验后,对体重动态测量数据采用重复测量方差分析方法,其他数据采用单因素方差分析方法进行分析。

2 结果

2.1 体质量结果

各组大鼠在第1天的体质量比较,差异无统计学意义($P>0.05$);在造模第7、14、21天,束缚应激组大鼠体质量增长明显减缓,和对照组和治疗组大鼠体质量比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),在造模第1、7、14天,对照组和治疗组体质量比较差异无统计学意义($P>0.05$);造模第21天,治疗组大鼠体质量略低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$,表1)。

表1 各组大鼠体质量变化差异比较(g, $n=10$,$\bar{x}\pm s$)

组别	第1天	第7天	第14天	第21天
对照组	240.3±5.1	290.0±7.5	337.5±10.9	368.1±14.3[b]
束缚应激组	242.1±7.6	276.1±5.6[ab]	299.7±11.6[ab]	305.3±10.7[ab]
治疗组	239.4±4.4	285.1±6.6	327.2±12.9	345.1±9.4[a]

a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与治疗组比较

2.2 旷场实验结果

束缚应激组在穿格次数、站立次数、修饰次数均明显少于对照组($P<0.05$)。同时束缚应激组在穿格次数、站立次数、修饰次数上亦少于治疗组($P<0.05$)。

治疗组与对照组在穿格次数、站立次数、修饰次数上则无明显差异($P>0.05$)。3组大鼠在粪便粒数上无明显差异($P>0.05$,表2)。

表2 各组大鼠旷场实验结果($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

组别	穿格次数	站立次数	修饰次数	粪便粒数
对照组	42.01±5.31	8.61±3.69	7.70±2.96	2.87±1.32
束缚应激组	23.74±6.18[a]	3.04±2.91[a]	3.71±1.57[a]	2.96±1.19
治疗组	37.52±8.54[a]	6.37±2.83[a]	6.39±2.36[a]	3.39±1.49

a:$P<0.05$,与对照组比较

2.3 糖水实验结果

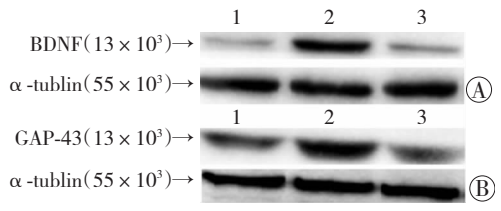
对照组、束缚应激组、治疗组大鼠糖水偏好率分别为(91.1±2.5)%、(84.9±4.4)%、(90.8±2.0)%。束缚应激组糖水偏好率最低,低于对照组($P<0.05$),也低于治疗组($P<0.05$);而治疗组和对照组之间糖水偏好率接近,差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 血浆CRH浓度

对照组、束缚应激组、治疗组大鼠血浆CRH浓度分别为(347.13±98.99)、(722.29±98.02)、(462.35±240.12) pg/mL。束缚应激组血浆GC浓度明显高于对照组($P<0.05$);束缚应激组血浆GC浓度也明显高于治疗组($P<0.05$);而CP-154526治疗组和对照组血浆GC浓度比较接近,差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.5 Western blot检测结果

Western blot检测结果显示(图1),对照组、束缚应激组、治疗组BDNF和α-tublin灰度值比值分别为(0.172±0.142)、(0.912±0.353)、(0.312±0.194)。束缚应激组下丘脑BDNF蛋白的表达明显高于对照组($P<0.05$),也高于治疗组($P<0.05$);治疗组下丘脑BDNF表达亦均高于对照组($P<0.05$)。而对照组、束缚应激组、治疗组GAP-43和α-tublin灰度值比值分别为(0.684±0.124)、(0.973±0.432)、(0.784±0.324)。束缚应激组下丘脑GAP-43蛋白的表达上调,高于对照组($P<0.05$)和治疗组($P<0.05$);同时治疗组下丘脑GAP-43的表达亦高于对照组($P<0.05$)。



A:BDNF蛋白;B:GAP-43蛋白 1:对照组;2:应激组;3:CP-154526治疗组

图1 Western blot检测各组大鼠下丘脑BDNF、GAP-43蛋白表达

3 讨论

束缚应激作为一种非损伤性刺激广泛运用于动物模型制备中。束缚刺激的时间长短可分为急性束缚应激(7 d以内)和慢性束缚应激(14 d以上)。其中慢性束缚应激是目前常用的抑郁症模型。慢性束缚应激通过将大鼠长期束缚在不可逃脱的密闭空间中,大鼠拼命挣扎,企图逃脱,但是仍不能摆脱束缚困境后,逐渐会出现类抑郁症状态,并诱发行为活动异常、精神消沉,此时动物模型的症状和体征与抑郁症类似[10]。既往研究证明慢性束缚应激达21 d时,大鼠相关抑郁症状和体征以及病理生理改变最为明显和稳定,故本研究采用束缚应激21 d方法造模。

对抑郁症模型的评价指标包括了表面效度、结构效度以及预测效度。其中的表面效度指的是动物模型的情绪表现应类似于人类相应的情绪表现,常用测量的方法为行为学检测。表面效度能够对动物模型能否模拟相关病症进行有效的综合评估。本研究主要通过体质量测量、旷场实验、糖水实验这些表面效度指标对造模效果进行评价。实验结果可见慢性束缚大鼠有效模拟出了抑郁症的临床表现,比如体质量增长减缓,运动与探索行为减少,糖水偏好率下降。慢性束缚大鼠体质量减轻,与抑郁症患者的食欲降低、消瘦相类似。而慢性束缚大鼠在旷场实验中各项指标下降,反映了模型的活动意愿下降,对新鲜环境好奇的程度降低。模型表现出的活动能力下降、抑郁行为状态、兴趣丧失同抑郁症临床表现中的活动和精神迟滞症,反应迟钝表现相似。慢性束缚大鼠糖水偏好率下降,反映了模型快感缺乏,模拟了抑郁症患者对幸福事件反应能力的降低,或者说奖赏反应性的降低,可以认为慢性束缚大鼠出现了特异性的快感缺乏。以上实验证明了本研究造模成功,可认为慢性束缚应激模型就是抑郁症模型。同时,本研究治疗组大鼠以上实验数据均明显有别于应激组大鼠,说明CRH1R阻断剂CP-154526可明显拮抗慢性束缚后的抑郁心理生理反应和改善抑郁症状。

ELISA实验结果提示,应激组大鼠血清CRH浓度明显高于对照组,因血清CRH含量和下丘脑分泌CRH量呈正比,表明应激组大鼠下丘脑CRH分泌增多,HPA轴处于亢进状态。而CP-154526干预后,大鼠血清CRH浓度则明显低于应激组,与对照组无明显差别。这说明CP-154526可抑制HPA轴高反应性,有效缓解应激后的神经内分泌反应。

神经可塑性变化主要是指外界或内部的各种刺激因子和神经内分泌反应长时间作用于神经细胞后后导

致的改变。神经系统可塑性改变可以分为结构可塑性与功能可塑性变化。BDNF和GAP-43作为常用的结构可塑性分子标志物,参与了抑郁症的病理生理过程。本实验通过对BDNF和GAP-43表达量进行监测从而量化应激后大鼠下丘脑生长分化、轴突生长等结构可塑性变化的幅度。

Western blot检测结果显示,正常大鼠下丘脑有少量的BDNF和GAP-43表达。而慢性束缚应激后,大鼠下丘脑BDNF和GAP-43蛋白的表达均明显增加。可塑性相关蛋白高表达说明慢性束缚应激导致下丘脑再生修复功能加强,细胞生长发育加快,凋亡减少,发生结构可塑性变化。而慢性束缚应激组血浆CRH浓度增高和相关行为学表现,提示下丘脑可塑性变化与下丘脑合成和分泌CRH增多有关,并导致机体出现心理和行为改变,呈抑郁症表现。而CP-154526干预后大鼠下丘脑BDNF与GAP-43蛋白表达低于束缚应激组,同时血浆CRH浓度也低于束缚应激组,说明CP-154526可逆转慢性束缚应激大鼠下丘脑的可塑性变化,减少下丘脑室旁核对CRH的合成和分泌。而CP-154526干预还可改善慢性应激大鼠类抑郁行为表现。

目前应激后类抑郁症状产生的确切机制还不明确,Duman等[11]总结了之前关于抑郁发生机制的研究,和BDNF及其他神经因子在神经再生与修复中的功能研究,提出抑郁发生的神经营养学说。依照神经营养学说的观点,抑郁症可能是与神经系统对外界刺激的适应性发生异常,相关区域神经可塑性和相关蛋白表达发生变化所致,神经系统可塑性可能直接影响抑郁的发生、发展过程。BDNF和GAP-43广泛分布于中枢神经系统,可能直接参与了慢性应激诱导抑郁症的过程。有研究表明应激可造成下丘脑神经细胞形态大小及神经支配分布的改变,同时发现下丘脑谷氨酸和去甲肾上腺素能的纤维增多[12],导致下丘脑CRH表达增加。BDNF和GAP-43蛋白可能通过促进下丘脑神经生长,提高新生神经的存活率和减少凋亡,加快神经成熟和分化,增强神经突触的可塑性和重构,从而增强CRH的分泌,维持HPA轴高反应性,同时影响行为表现。基于上述研究,可认为慢性应激后下丘脑可塑性改变可能导致了类抑郁症状的产生。CP-154526通过阻断CRH1R从而抑制下丘脑可塑性变化,拮抗HPA轴亢进,最终达到抗抑郁的功能。同时也说明慢性束缚应激是通过CRH1R介导引起下丘脑发生可塑性变,这也展示了CRH1R阻断剂广阔的抗抑郁前景。

本研究结果结合抑郁症发生的神经营养学说,认为慢性束缚应激可诱导下丘脑组织BDNF、GAP-43蛋白表达增高,发生可塑性变化。这与下丘脑CRH分泌增多以及抑郁症行为可能存在相关性。而CP-154526通过阻断CRH1R,可改善抑郁症状,拮抗下丘脑CRH分泌和下丘脑BDNF、GAP-43蛋白表达,最终逆转抑郁症的病理进程,达到抗抑郁效果。但是对于下丘脑BDNF、GAP-43蛋白与抑郁相关症状的具体关系和CP-154526抗抑郁的具体机制,目前还需进一步研究。

参考文献:

[1] Haczku A, Panettieri R A Jr. Social stress and asthma: the role of corticosteroid insensitivity[J]. J Allergy Clin Immunol, 2010, 125(3): 550-558.
[2] Belzung C, Willner P, Philippot P. Depression: from psychopathology to pathophysiology[J]. Curr Opin Neurobiol, 2015, 30: 24-30.
[3] Grippo A J, Johnson A K. Stress, depression and cardiovascular dysregulation: a review of neurobiological mechanisms and the integration of research from preclinical disease models[J]. Stress, 2009, 12(1): 1-21.
[4] 刘春林, 阮克锋, 高君伟, 等. 抑郁症的多机制发病[J]. 生理科学进展, 2013, 44(4): 253-257.
[5] Herman J P, Flak J, Jankord R. Chronic stress plasticity in the hypothalamic paraventricular nucleus[J]. Prog Brain Res, 2008, 170: 353-364.
[6] Grasselli G, Strata P. Structural plasticity of climbing fibers and the growth-associated protein GAP-43[J]. Front Neural Circuits, 2013, 7: 25.
[7] Zorrilla E P, Koob G F. Progress in corticotropin-releasing factor-1 antagonist development[J]. Drug Discov Today, 2010, 15(9/10): 371-383.
[8] Padival M A, Blume S R, Rosenkranz J A. Repeated restraint stress exerts different impact on structure of neurons in the lateral and basal nuclei of the amygdala[J]. Neuroscience, 2013, 246: 230-242.
[9] Lipatova O, Byrd D, Green J T, *et al*. Effects of continuous vs. cycling estrogen replacement on the acquisition, retention and expression of place- and response-learning in the open-field tower maze[J]. Neurobiol Learn Mem, 2014, 114: 81-89.
[10] Chen W Q, Zhao X L, Hou Y, *et al*. Protective effects of green tea polyphenols on cognitive impairments induced by psychological stress in rats[J]. Behav Brain Res, 2009, 202(1): 71-76.
[11] Duman R S, Monteggia L M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders[J]. Biol Psychiatry, 2006, 59(12): 1116-1127.
[12] Flak J N, Jankord R, Solomon M B, *et al*. Opposing effects of chronic stress and weight restriction on cardiovascular, neuroendocrine and metabolic function[J]. Physiol Behav, 2011, 104(2): 228-234.

(**收稿**:2015-03-25;**修回**:2015-05-23)
(编辑 王小寒)