DOI:10.16016/j.1000-5404.202104120

母婴分离对子代大鼠海马 Wnt 信号分子的影响

张玉荣[1],王瑞忠[2],王 莉[1],赵丽丽[1],陈 琳[3],陈 蕊[4] 710077 西安,西安医学院第一附属医院:科研科[1],药学部[3],妇科[4];710077 西安,西安大兴医院制剂中心[2]

[**摘要**] **目的** 探索母婴分离(maternal and infant separation, MS)对子代大鼠焦虑和抑郁样行为、海马 Wnt 信号分子及其受体的影响。**方法** 将体质量 240~260 g 的 16 只 SD 母鼠分为 2 组:对照组(CON, $n=8$)在产后不进行任何处理。母婴分离组(MS, $n=8$)在正常分娩后给予母婴分离应激,母鼠与子代大鼠每天分离 3 h,连续 14 d。采用高架十字迷宫实验(elevated plus maze test, EPMT)及强迫游泳实验(forced swimming test, FST)评估 1 月龄子代大鼠的焦虑样和抑郁样行为。采用实时定量 PCR 检测海马中 Wnt 分子的变化,通过 Western blot 测定大鼠海马 Wnt2 和 Wnt3a 蛋白的表达及 Wnt 信号通路抑制分子 DKK1 和 sFRP3 的表达。**结果** 与 CON 组相比,MS 组的子代大鼠高架十字迷宫实验中入臂总次数(OAE+CAE)差异无统计学意义,进入开放臂次数百分比显著降低($P<0.01$),开放臂滞留时间百分比显著降低($P<0.05$);MS 组子代大鼠的不动时间显著延长($P<0.05$),子代大鼠产生明显的焦虑、抑郁样行为。MS 组子代大鼠海马 Wnt2 和 Wnt3a 的 mRNA 表达水平显著降低($P<0.01$)。同时,MS 组子代大鼠海马 DKK1 和 sFRP3 表达水平显著升高($P<0.01$)。**结论** 母婴分离导致子代大鼠产生抑郁和焦虑样行为,可能与海马 Wnt 信号分子紊乱相关。

[**关键词**] 母婴分离;Wnt 信号分子;抑郁;海马;抑制分子
[**中图法分类号**] R363.15; R363.21; R749.94 [**文献标志码**] A

Effects of maternal and infant separation on Wnt signaling molecules in hippocampus of offspring rats

ZHANG Yurong[1], WANG Ruizhong[2], WANG Li[1], ZHAO Lili[1], CHEN Lin[3], CHEN Rui[4] [1]Department of Scientific Research Affairs, [3]Department of Pharmacy, [4]Department of Gynecology, First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an, Shaanxi Province, 710077; [2]Pharmaceutical Preparation Center, Xi'an Daxing Hospital, Xi'an, Shaanxi Province, 710077, China

[**Abstract**] **Objective** To determine the effects of maternal and infant separation (MS) on anxiety and depression-like behaviors, Wnt signaling molecules and receptors in the hippocampus of offspring rats. **Methods** Sixteen Sprague-Dawley (SD) pregnant rats (240~260 g) were randomly and equally divided into 2 groups. The offspring rats from the control group (CON) received no postpartum intervention, while those of the experiment group (MS) were given maternal-infant separation 3 h per day for 14 consecutive days since delivery. Elevated plus maze test (EPMT) and forced swimming test (FST) were conducted to evaluate the anxiety and depression-like behaviors of 1-month-old offspring rats. Real-time quantitative PCR was used to detect the levels of Wnt molecules in the hippocampus of the offspring rats, and Western blotting was adopted to determine the expression of Wnt2 and Wnt3a proteins as well as the Wnt signaling pathway inhibitory molecules DKK1 and sFRP3 in the hippocampus. **Results** The total number of arm entries (including open-arm and close-arm entries) was not statistically different between the MS and CON groups. However, the MS

[**基金项目**] 西安市科技计划项目[2019114613YX001SF040(7)]
[**通信作者**] 陈 蕊,E-mail:missruichen@sina.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

group had significantly lower percentages of open-arm entries ($P<0.01$) and open-arm time ($P<0.05$), and longer stationary time ($P<0.05$) in the FST than the CON group, indicating obvious anxiety and depression-like behaviors. Moreover, the mRNA levels of Wnt2 and Wnt3a in the hippocampus were notably decreased ($P<0.01$), while the protein levels of DKK1 and sFRP3 were increased remarkably ($P<0.01$) in the MS group than the CON group. **Conclusion** Maternal and infant separation leads to depression and anxiety-like behaviors in offspring rats, which may be associated to the disorder of Wnt signaling molecules in the hippocampus.

[**Key words**] maternal and infant separation; Wnt signaling molecules; depression; hippocampus; inhibitors

Supported by the Project of Xi'an Science and Technology Plan [2019114613YX001SF040(7)]. Corresponding author: CHEN Rui, E-mail: missruichen@sina.com

生命早期是神经发育的重要时期,这一时期机体受到严重的压力应激事件,是诱发抑郁、焦虑等多种情绪障碍的关键风险因素[1]。母婴分离(maternal and infant separation, MS)在发育阶段对大脑发育有着负面影响,同时可以引起抑郁的发生。母婴分离动物模型已被用于精神疾病的研究,比如抑郁[2-3]。越来越多的研究关注于生命早期的不良事件对神经发育的影响,而母婴分离对子代抑郁症的病理机制的研究也逐渐成为研究热点[4]。我国的留守儿童,是母婴分离模型的真实写照,从小由于各种原因,与父母长期分开,享受不到父母的照顾与关爱,对其幼小的心灵产生一些不良影响,严重者会导致各种情绪精神障碍[5-6]。研究发现留守儿童出现抑郁、焦虑的问题较非留守儿童多[7]。

Wnt 信号通路在胚胎发生、神经系统发育和成年海马神经发生过程中起着重要作用[8-10]。以往研究表明,由产前应激诱导子代大鼠的抑郁样行为与下游的 Wnt/β-catenin 信号通路相关[11]。Wnt 是一类分泌型糖蛋白,经研究发现,有 6 种 Wnt 分子(Wnt2, Wnt3, Wnt3a, Wnt4, Wnt5a, Wnt7a)可能与神经再生有关,同时在海马中高表达[12-15],其中 Wnt2 和 Wnt3 具有抗抑郁作用,抗抑郁治疗可使海马 Wnt2 和 Wnt3 的表达升高[16]。Wnt 的拮抗剂分为 2 种类型:Dickkopf (Dkk) 和分泌卷曲相关蛋白(secreted frizzied related protein, sFRP)。Wnt 信号通路下游的抑制分子 Dkk1 和 sFRP3 对发育过程中海马的神经发生起负调控作用。有研究报道慢性和急性应激可使海马 Wnt 信号通路的内源性抑制分子 Dkk1 的表达水平升高[17]。天然分泌的 Wnt 信号通路抑制分子 sFRP3 是抗抑郁作用的重要介质。有研究者发现服用抗抑郁药物可降低 sFRP3 mRNA 的表达水平,sFRP3 的敲除小鼠表现出抑郁行为的减少[18]。

本研究探讨母婴分离对子代大鼠抑郁样行为的影响及对海马 Wnt 信号通路的影响,以期为母婴分离诱导子代抑郁的预防及治疗提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物与材料

240~260 g 健康 Sprague-Dawley 雌性大鼠(西安交通大学医学院动物中心)。磺基水杨酸(上海邦景实业有限公司);RT-PCR 引物(陕西先锋生物科技有限公司);动物组织 RNA 提取试剂盒(陕西先锋生物科技有限公司);RNA 反转录试剂盒(Thermo 公司,美国);SYBR 定量试剂盒(Thermo 公司,美国);Wnt2 抗体(Abcam,美国);Wnt3a 抗体(Abcam,美国);DKK1 抗体(Abcam,美国);sFRP3 抗体(Abcam,美国);β-actin 抗体(陕西先锋生物科技有限公司)。

1.2 实验动物分组及模型建立

雌雄大鼠 3∶1合笼交配,对雌鼠进行阴道涂片镜检呈精子阳性为受孕,受孕后单笼喂养。受孕母鼠分为对照组($n=8$)和母婴分离组($n=8$)。对照组母鼠于产后不进行任何处理。母婴分离组母鼠于分娩后 P1~P14 天每天与子鼠分离,并将子鼠移置孵育箱,3 h 后放回母鼠身边,连续分离 14 d[19]。第 21 天断奶,第 26~28 天分笼饲养。1 月龄子代大鼠分为对照组(CON 组, $n=8$)和母婴分离组(MS 组, $n=8$)。

1.3 高架十字迷宫实验

高架十字迷宫装置是由对称的两组开放臂(长 50 cm,宽 10 cm)和闭合臂(长 50 cm,宽 10 cm,高 40 cm)组成的十字平台,开放臂和闭合臂均为黑色医用有机板,装置离地面 50~70 cm。将受试大鼠头向开放臂放入装置中央平台区,同时在安静条件下电脑开始记录并录像大鼠 5 min 内的自由活动。记录受试大鼠进入闭合臂和开放臂的次数、停留时间。计算:①进入开放臂和闭合臂的总次数(OAE+CAE),反映大鼠的自由活动能力;②进入开放臂次数百分比(%OAE)=

进入开放臂次数/(进入开放臂次数+进入闭合臂次数)×100%;③开放臂滞留时间百分比(%OAT)=开放臂滞留时间/(开放臂滞留时间+闭合臂滞留时间)×100%,以进入开放臂次数百分比和开放臂滞留时间百分比反映大鼠的焦虑行为。每只受试大鼠完成实验后,清理排泄物,并用75%酒精擦拭平台。

1.4 强迫游泳实验

高架十字迷宫实验结束后,将子代大鼠放置于圆柱形塑料桶(高50 cm×直径20 cm×深40 cm)中,水温约24 ℃。摄像机拍摄记录6 min时间内,后4 min子代大鼠的不动累积时间。

1.5 取材

行为学实验完成后,腹腔注射20%的乌拉坦(1~2 mL/100 g)对大鼠进行麻醉,断头取脑,冰盒上迅速分离双侧海马组织,于-80 ℃保存备用。

1.6 实时定量PCR

使用动物组织RNA提取试剂盒提取总RNA;按照说明书的步骤依次加入要求的试剂完成反应体系。反应条件按说明书上的要求进行设置,得到cDNA。根据荧光定量试剂盒依次加入的说明进行实验操作,操作环境避光,在冰盒上进行。扩增条件为:95 ℃变性15 s,60 ℃退火30 s,40个循环周期,最后72 ℃延伸30 s。由Bio-Rad荧光定量PCR仪自动分析得出Ct值。

1.7 Western blot检测

海马组织蛋白用含有蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液进行提取,将定量的蛋白质溶液用5×loading buffer进行稀释并煮沸3~5 min。加样(10%SDS-PAGE凝胶)分离,参照Marker进行裁胶,湿法转移至PVDF膜上,PBST配制5%的脱脂奶粉封闭2 h,与Wnt2(1∶1 000)、Wnt3a(1∶1 000)、DKK1(1∶1 000)、sFRP3(1∶1 000)抗体4 ℃过夜孵育。次日,用PBST洗膜,每次10 min×3次,与荧光标记的二抗室温孵育1~2 h,PBST清洗后,用ECL试剂液(ChampChemi Professional型全自动多色荧光及化学发光凝胶成像系统)进行发光显色。并以各条带与内参β-actin的比值进行相对定量分析。

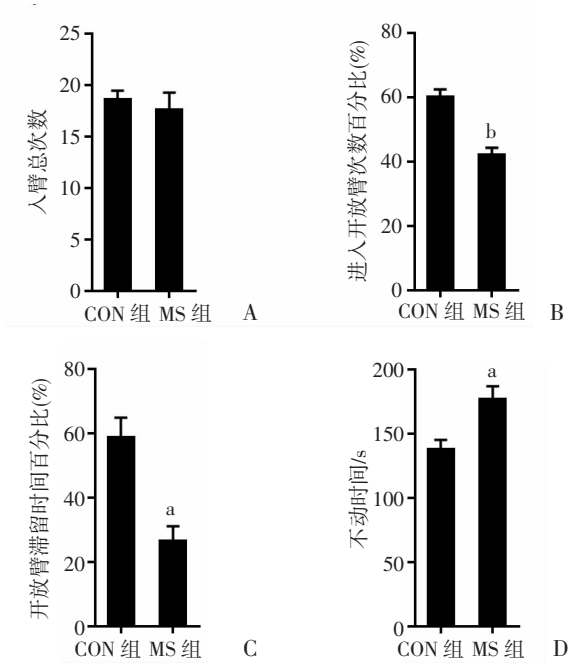
1.8 统计学分析

数据采用SPSS18.0软件进行统计分析,荧光定量测得的mRNA相对含量以$2^{-\Delta\Delta Ct}$表示,数据均采用$\bar{x}\pm s$表示,2组比较采用独立样本t检验,$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 母婴分离对子代大鼠抑郁样、焦虑样行为的影响

CON组入臂总次数(OAE+CAE)与MS组比较差异无统计学意义($P>0.05$,图1A)。与CON组相比,MS组子代大鼠进入开放臂次数百分比显著降低($P<0.01$,图1B),MS组子代大鼠开放臂滞留时间百分比显著降低($P<0.05$,图1C)。强迫游泳实验中,与CON组相比,母婴分离显著延长子代大鼠的不动时间($P<0.05$,图1D)。



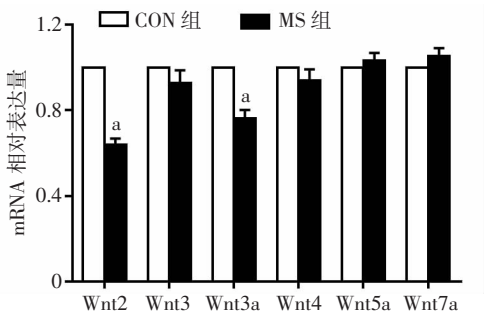
a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与CON组比较

A:入臂总次数;B:进入开放臂次数百分比;C:开放臂滞留时间百分比;D:不动时间

图1 母婴分离对子代大鼠焦虑和抑郁样行为的影响

2.2 母婴分离能导致子代大鼠海马Wnt2和Wnt3a表达降低

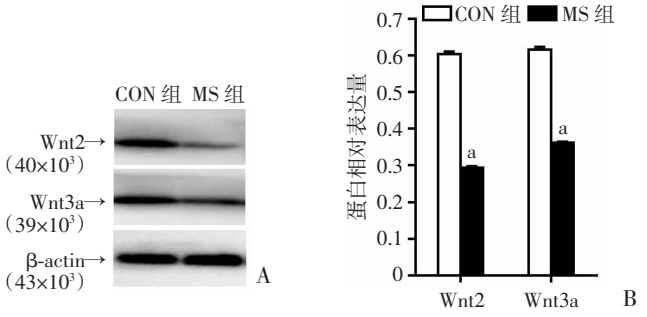
采用实时定量PCR检测MS对6种Wnt分子(Wnt2,Wnt3,Wnt3a,Wnt4,Wnt5a,Wnt7a)表达的影响。结果显示,在MS组子代大鼠海马中只有Wnt2和Wnt3a的mRNA水平显著降低($P<0.01$,图2)。



a:$P<0.01$,与CON组比较

图2 母婴分离对子代大鼠海马Wnt分子mRNA表达的影响

采用 Western blot 检测母婴分离引起的 Wnt2 和 Wnt3a mRNA 水平降低对蛋白表达的影响。结果显示,MS 组子代大鼠海马 Wnt2 和 Wnt3a 蛋白表达显著降低($P<0.01$,图 3),与 mRNA 变化一致。



a: $P<0.01$,与 CON 组比较

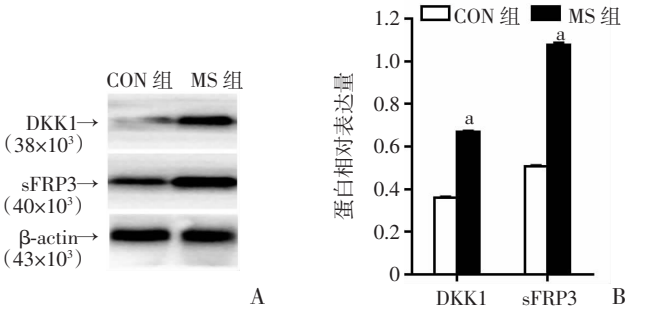
A: Western blot 电泳结果;B:半定量分析结果

图 3 母婴分离对子代大鼠海马 Wnt2 和 Wnt3a 蛋白表达的影响

上述结果表明,母婴分离引起子代大鼠海马中 Wnt2 和 Wnt3a 选择性降低表达,海马中 Wnt2 和 Wnt3a 可能在 MS 诱导的子代大鼠的抑郁和焦虑样行为中起到了关键作用。

2.3 MS 能导致子代大鼠海马 DKK1 和 sFRP3 表达升高

与 CON 组相比,MS 组子代大鼠海马组织中 DKK1 和 sFRP3 表达水平显著升高($P<0.01$),见图 4。



a: $P<0.01$,与 CON 组比较

A: Western blot 电泳结果;B:半定量分析结果

图 4 母婴分离对子代大鼠海马 DKK1 和 sFRP3 蛋白表达的影响

3 讨论

众所周知,母婴分离可以引起情绪障碍[19-20]。高架十字迷宫(EPM)是公认的评价大鼠焦虑样行为的实验,更接近于人类焦虑状态[21]。本研究结果显示,母婴分离使子代大鼠进入开放臂次数百分比和开放臂滞留时间百分比显著下降,表明子代大鼠表现出焦虑样行为。母婴分离子代大鼠在强迫游泳实验中表现出绝望状态。上述结果表明,母婴分离可诱导子代大鼠产生焦虑样和抑郁样行为。

先前的研究表明 Wnt/β-catenin 经典信号通路在抑郁和焦虑样行为中发挥着重要作用[11,22-23]。抑郁和焦虑样行为的发生可能与 β-catenin 下调或失活、Wnt1 的表达下降有关[24]。Wnt 激动剂可以逆转抑郁和焦虑样行为以及低水平 β-catenin 的表达[25],具体哪一个 Wnt 分子与 MS 引起的抑郁和焦虑样行为相关尚不清晰。Wnt2 信号传导通过 β-catenin 在树突的活性依赖性形成中起着关键作用。Wnt2 表达升高可以产生抗抑郁作用[26],抗抑郁药可使海马 Wnt3a 的表达升高[27]。有研究干扰 Wnt2,发现可以损伤细胞增殖和神经元的存活,说明 Wnt2 可能与海马神经再生有关[16],进而引起抑郁行为的发生[28]。据报道,成年海马神经发生的调节是通过 Wnt3a 发生的[10],神经干细胞通过 Wnt3a 的促进而向神经元分化。同时,Wnt3a 在中枢神经系统的生长发育及海马神经细胞的增殖分化中起着重要作用。有研究发现 Wnt3a 可对损伤的神经系统进行保护和修复[29],而且 Wnt/β-catenin 信号通路是由 Wnt3a 蛋白的激活而产生作用的[30-31]。有研究发现小鼠脑内敲除 Wnt3a,使其失去前体细胞增殖的能力,引起海马发育异常[32]。ZHOU 等[16]研究发现慢性束缚应激使腹侧海马 Wnt2 和 Wnt3 的表达减少,而且敲除 Wnt2 和 Wnt3 可以消除抗抑郁药的作用。本研究发现母婴分离使子代大鼠海马 Wnt2 和 Wnt3a 的表达降低。

DKK 和 sFRP 是 Wnt 信号通路的抑制分子,它们通过阻断配体-受体的相互作用或抑制 Wnt 受体成熟来拮抗 Wnt 信号通路[33]。DKK1 是一种负性调节 Wnt 途径的分泌蛋白,在应激后含量增加[17]。sFRP3 的缺失可减少悬尾实验和强迫游泳实验中与抑郁相关行为的反应[18],抑制 sFRP3 的活性会增加 Wnt 信号通路,激活神经发生[34]。DKK1 和 sFRP3 的下调具有抗抑郁效应。本研究结果发现母婴分离使子代大鼠海马 DKK1 和 sFRP3 表达升高。

综上所述,生命早期的母婴分离会引起子代大鼠抑郁、焦虑样行为的产生。而且母婴分离可能通过海马 Wnt 信号通路因子的表达变化,导致子代大鼠行为异常的产生。本研究不仅可以丰富生命早期应激的神经分子生物学基础,也能为临床治疗早期干预(如为留守儿童得到及时有效的社会支持)提供指导依据。

参考文献:

[1] SILBERMAN D M, ACOSTA G B, ZORRILLA ZUBILETE M

A. Long-term effects of early life stress exposure: Role of epigenetic mechanisms[J]. Pharmacol Res, 2016, 109: 64-73. DOI: 10.1016/j.phrs.2015.12.033.

[2] BAEK S S, JUN T W, KIM K J, *et al*. Effects of postnatal treadmill exercise on apoptotic neuronal cell death and cell proliferation of maternal-separated rat pups[J]. Brain Dev, 2012, 34(1): 45-56. DOI: 10.1016/j.braindev.2011.01.011.

[3] MARAIS L, VAN RENSBURG S J, VAN ZYL J M, *et al*. Maternal separation of rat pups increases the risk of developing depressive-like behavior after subsequent chronic stress by altering corticosterone and neurotrophin levels in the Hippocampus[J]. Neurosci Res, 2008, 61(1): 106-112. DOI: 10.1016/j.neures.2008.01.011.

[4] 林泽斯, 王洪琦. 肠易激综合征母婴分离模型应用进展[J]. 中国实验动物学报, 2015, 23(4): 434-439. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2015.04.020.
LIN Z S, WANG H Q. Review of the application of neonatal maternal separation model in irritable bowel syndrome (IBS) studies[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2015, 23(4): 434-439. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2015.04.020.

[5] 刁玲. 农村留守儿童教育问题的社会支持研究: 以A村为例[D]. 深圳: 深圳大学, 2017.
DIAO L. Study on the social support of the rural left-behind children's education problem—based on the survey in A village[D]. Shenzhen: Shenzhen University, 2017.

[6] ZHOU M, ZHANG G S, ROZELLE S, *et al*. Depressive symptoms of Chinese children: prevalence and correlated factors among subgroups[J]. Int J Environ Res Public Health, 2018, 15(2): E283. DOI: 10.3390/ijerph15020283.

[7] 崔雪梅, 孟业清, 王甲娜. 师生互动风格对留守儿童抑郁焦虑的影响[J]. 中国卫生统计, 2019, 36(3): 397-399.
CUI X M, MENG Y Q, WANG J N. The influence of teacher-student interaction style on depression and anxiety of left-behind children[J]. Chin J Heal Stat, 2019, 36(3): 397-399.

[8] LOGAN C Y, NUSSE R. The Wnt signaling pathway in development and disease[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2004, 20: 781-810. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.20.010403.113126.

[9] FREESE J L, PINO D, PLEASURE S J. Wnt signaling in development and disease[J]. Neurobiol Dis, 2010, 38(2): 148-153. DOI: 10.1016/j.nbd.2009.09.003.

[10] LIE D C, COLAMARINO S A, SONG H J, *et al*. Wnt signalling regulates adult hippocampal neurogenesis[J]. Nature, 2005, 437(7063): 1370-1375. DOI: 10.1038/nature04108.

[11] 张玉荣, 王瑞忠, 陈蕊, 等. 产前应激子代大鼠海马Wnt/β-catenin信号通路的改变诱导抑郁和焦虑样行为[J]. 南方医科大学学报, 2019, 39(2): 222-226. DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2019.09.15.
ZHANG Y R, WANG R Z, CHEN R, *et al*. Changes of Wnt/β-catenin signaling pathway in the hippocampus caused by prenatal stress induce depression-and anxiety-like behaviors in rats[J]. J South Med Univ, 2019, 39(2): 222-226. DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2019.09.15.

[12] SOUSA K M, VILLAESCUSA J C, CAJANEK L, *et al*. Wnt2 regulates progenitor proliferation in the developing ventral midbrain[J]. J Biol Chem, 2010, 285(10): 7246-7253. DOI: 10.1074/jbc.M109.079822.

[13] YOSHINAGA Y, KAGAWA T, SHIMIZU T, *et al*. Wnt3a promotes hippocampal neurogenesis by shortening cell cycle duration of neural progenitor cells[J]. Cell Mol Neurobiol, 2010, 30(7): 1049-1058. DOI: 10.1007/s10571-010-9536-6.

[14] ANDERSSON E R, SALTÓ C, VILLAESCUSA J C, *et al*. Wnt5a cooperates with canonical Wnts to generate midbrain dopaminergic neurons *in vivo* and in stem cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(7): E602-E610. DOI: 10.1073/pnas.1208524110.

[15] QU Q, SUN G, MURAI K, *et al*. Wnt7a regulates multiple steps of neurogenesis[J]. Mol Cell Biol, 2013, 33(13): 2551-2559. DOI: 10.1128/mcb.00325-13.

[16] ZHOU W J, XU N, KONG L, *et al*. The antidepressant roles of Wnt2 and Wnt3 in stress-induced depression-like behaviors[J]. Transl Psychiatry, 2016, 6(9): e892. DOI: 10.1038/tp.2016.122.

[17] MATRISCIANO F, BUSCETI C L, BUCCI D, *et al*. Induction of the Wnt antagonist Dickkopf-1 is involved in stress-induced hippocampal damage[J]. PLoS ONE, 2011, 6(1): e16447. DOI: 10.1371/journal.pone.0016447.

[18] JANG M H, KITABATAKE Y, KANG E, *et al*. Secreted frizzled-related protein 3 (sFRP3) regulates antidepressant responses in mice and humans[J]. Mol Psychiatry, 2013, 18(9): 957-958. DOI: 10.1038/mp.2012.158.

[19] 张玉荣, 王瑞忠, 赵阳, 等. 干酪乳杆菌对母婴分离诱导产后抑郁大鼠抑郁样行为及海马NR1和NR2A受体表达的影响[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2019, 28(10): 903-908. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-6554.2019.10.008.
ZHANG Y R, WANG R Z, ZHAO Y, *et al*. Effect of Lactobacillus casei on the depressive behavior and the expression of NR1 and NR2A receptors in hippocampus of rats with postpartum depression induced by maternal separation[J]. Chin J Behav Med Brain Sci, 2019, 28(10): 903-908. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-6554.2019.10.008.

[20] LI M, XUE X F, SHAO S, *et al*. Cognitive, emotional and neurochemical effects of repeated maternal separation in adolescent rats[J]. Brain Res, 2013, 1518: 82-90. DOI: 10.1016/j.brainres.2013.04.026.

[21] AFSAR T, RAZAK S, KHAN M R, *et al*. Anti-depressant and anxiolytic potential of Acacia hydaspica R. Parker aerial parts extract: Modulation of brain antioxidant enzyme status [J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17(1): 1-12. DOI: 10.1186/s12906-017-1671-x.

[22] GOULD T D, EINAT H, O'DONNELL K C, *et al*. Beta-catenin overexpression in the mouse brain phenocopies lithium-sensitive behaviors [J]. Neuropsychopharmacol, 2007, 32(10): 2173-2183. DOI: 10.1038/sj.npp.1301338.

[23] GOULD T D, O'DONNELL K C, PICCHINI A M, *et al*. Generation and behavioral characterization of beta-catenin forebrain-specific conditional knock-out mice [J]. Behav Brain Res, 2008, 189(1): 117-125. DOI: 10.1016/j.bbr.2007.12.028.

[24] LIU R, DANG W, JIANTING M, *et al*. Citalopram alleviates chronic stress induced depression-like behaviors in rats by activating GSK3β signaling in dorsal Hippocampus[J]. Brain Res, 2012, 1467: 10-17. DOI: 10.1016/j.brainres.2012.05.030.

[25] 张夏. 母婴分离增加子代雄鼠暴露在慢性温和性应激后的抑郁、焦虑样行为以及 WNT 激动剂的干预作用[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2020.
ZHANG X. Maternal separation increased male off-springs' depression-and anxiety-like behaviors when exposed to chronic mild stress and the intervention effect of WNT agonist [D]. Shenyang: China Medical University, 2020.

[26] OKAMOTO H, VOLETI B, BANASR M, *et al*. Wnt2 expression and signaling is increased by different classes of antidepressant treatments [J]. Biol Psychiatry, 2010, 68(6): 521-527. DOI: 10.1016/j.biopsych.2010.04.023.

[27] PINNOCK S B, BLAKE A M, PLATT N J, *et al*. The roles of BDNF, pCREB and Wnt3a in the latent period preceding activation of progenitor cell mitosis in the adult dentate gyrus by fluoxetine [J]. PLoS ONE, 2010, 5(10): e13652. DOI: 10.1371/journal.pone.0013652.

[28] SCHOENFELD T J, CAMERON H A. Adult neurogenesis and mental illness [J]. Neuropsychopharmacol, 2015, 40(1): 113-128. DOI: 10.1038/npp.2014.230.

[29] 李卓, 姜惠丽, 刘殿玮, 等. Wnt3a 在蛛网膜下腔出血后早期脑损伤中对神经发生的作用[J]. 山东大学学报(医学版), 2014, 52(5): 15-19. DOI: 10.6040/j.issn.1671-7554.0.2013.635.
LI Z, JIANG H L, LIU D W, *et al*. Effects of Wnt3a on the neurogenesis in rats during early brain injury after subarachnoid hemorrhage[J]. J Shandong Univ Heal Sci, 2014, 52(5): 15-19. DOI: 10.6040/j.issn.1671-7554.0.2013.635.

[30] NELSON W J, NUSSE R. Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways [J]. Science, 2004, 303(5663): 1483-1487. DOI: 10.1126/science.1094291.

[31] LIU F, VAN DEN BROEK O, DESTRÉE O, *et al*. Distinct roles for Xenopus Tcf/Lef genes in mediating specific responses to Wnt/beta-catenin signalling in mesoderm development[J]. Development, 2005, 132(24): 5375-5385. DOI: 10.1242/dev.02152.

[32] TOLEDO E M, COLOMBRES M, INESTROSA N C. Wnt signaling in neuroprotection and stem cell differentiation[J]. Prog Neurobiol, 2008, 86(3): 281-296. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2008.08.001.

[33] CRUCIAT C M, NIEHRS C. Secreted and transmembrane wnt inhibitors and activators[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2013, 5(3): a015081. DOI: 10.1101/cshperspect.a015081.

[34] JANG M H, BONAGUIDI M A, KITABATAKE Y, *et al*. Secreted frizzled-related protein 3 regulates activity-dependent adult hippocampal neurogenesis [J]. Cell Stem Cell, 2013, 12(2): 215-223. DOI: 10.1016/j.stem.2012.11.021.

(**收稿**:2021-04-20;**修回**:2021-06-04)

(编辑 张艺霖)