论　著

枸橼酸坦度螺酮组合物通过抑制神经元氧化损伤和调节小胶质细胞活化发挥抗抑郁作用

邓　岚[1]，曾　娟[1]，王征琴[1]，唐新新[1]，陈　刚[2]，吴建明[1]，吴安国[1]
1.西南医科大学 药学院（泸州646000）；2.四川科瑞德制药股份有限公司（泸州646000）

【摘　要】目的 筛选不同组成的枸橼酸坦度螺酮组合物（tandospirone citrate compositions，TCCs），以评估其改善小鼠抑郁症行为的效果，并探究枸橼酸坦度螺酮的神经保护作用。**方法** 采用动物行为实验和体外细胞实验的方法。在动物实验中，通过强迫游泳测试（forced swimming test，FST）和尾悬挂测试（tail suspension test，TST），评估五种TCCs对小鼠抑郁样行为的影响。在体外细胞实验中，研究表现最佳的组合物TCC-4在抑制过氧化氢（hydrogen peroxide，H_2O_2）诱导的PC-12细胞损伤和脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）诱导的BV-2细胞神经炎症的作用。**结果** 在FST和TST实验中，TCCs显著减少了小鼠的不动时间（$P < 0.05$），显示出其抗抑郁样效果。体外细胞实验中发现，表现最佳的TCC-4能有效抑制H_2O_2诱导的PC-12细胞死亡、活性氧（reactive oxygen species，ROS）的产生及线粒体膜电位（mitochondrial membrane potential，MMP）的降低（$P < 0.001$），且减轻了LPS诱导的BV-2细胞激活和吞噬作用（$P < 0.001$）。**结论** TCCs，尤其是TCC-4，显示出良好的抗抑郁效果。其作用机制可能与抑制神经元的氧化损伤和调节小胶质细胞的活化有关。这些发现为TCC-4作为新型抗抑郁药物的潜力提供了支持，并为其在临床应用的进一步研究奠定了理论基础。

【关键词】抑郁症；枸橼酸坦度螺酮组合物；氧化应激；神经炎症；小胶质细胞
【中图分类号】R964　　**文献标志码：**A　　**DOI：**10.3969/j.issn.2096-3351.2024.02.014

Tandospirone citrate composition exerts antidepressant effects by inhibiting neuronal oxidative damage and microglial activation

DENG Lan[1], ZENG Juan[1], WANG Zhengqin[1], TANG Xinxin[1], CHEN Gang[2], WU Jianming[1], WU Anguo[1]
1. *School of Pharmacy, Southwest Medical Univisity, Luzhou 646000, China*; 2. *Sichuan Credit Pharmaceutical CO., Ltd., Luzhou 646000, China*

【Abstract】Objective Different tandospirone citrate compositions (TCCs) were screened to assess their effectiveness in improving depressive behaviors in mice and to explore the neuroprotective effects of the most effective combinations. **Methods** Animal behavioral experiments and in vitro cellular experiments were used. In animal experiments, the effects of five TCCs on depression-like behaviors in mice were evaluated by the forced swim test (FST) and tail suspension test (TST). In vitro experiments were conducted to investigate the effects of TCC-4, which exhibited the best performance, on inhibiting hydrogen peroxide (H_2O_2)-induced damage in PC-12 cells and lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammation in BV-2 cells. **Results** In FST and TST experiments, TCCs significantly reduced the resting time of mice ($P < 0.05$), showing their antidepressant-like effects. In H_2O_2-induced PC-12 cells, the best-performing TCC-4 was found to effectively inhibit cell death, reactive oxygen species (ROS) production, and mitochondrial membrane potential (MMP) reduction ($P < 0.001$). Additionally, TCC-4 could attenuate LPS-induced BV-2 cell activation and phagocytosis ($P < 0.001$). **Conclusion** TCCs, especially TCC-4, showed favorable antidepressant effects. The mechanism of action might be related to the inhibition of oxidative damage in neurons and the regulation of microglia activation. These findings provided support for the potential of TCC-4 as a novel antidepressant drug and laid the foundation for further studies on its clinical application.

【Key words】Depression; Tandospirone citrate compositions; Oxidative stress; Neuroinflammation; Microglia

抑郁症作为全球性的公共卫生问题，严重影响数百万患者的生活质量，并对社会经济造成了沉重的负担[1]。现虽有多种抗抑郁药物，但因其在治疗效果、作用机制的延迟和不良反应等方面的局限性，凸显了急需探索新的治疗策略[2-3]。特别是针对抑郁症的多样化病理生理学，这些尚未被充分理解和有效应对的问题，寻求新策略显得更为重要。近年，科学研究开始关注神经生物学过程与精神障碍（尤其是抑郁症）之间的复杂相互作用[4]。其中，神经元的氧化应激和小胶质细胞的激活被认为是抑郁症发病机制中的关键因素[5]。氧化应激可以导致神经元损伤和细胞死亡，破坏神经回路，进而引发抑郁症的临床症状[6-7]。同时，作为大脑免疫反应的关键参与者，小胶质细胞的激活可能会加剧神经炎症，从而进一步影响神经元的健康和功能[8-9]。因此，瞄准这些途径的治疗方法为开发新型抗抑郁药物提供了新的希望。

基金项目：国家自然科学基金青年项目（81903829）
通信作者：吴安国，E-mail:wuanguo@swmu.edu.cn
引用本文：邓岚，曾娟，王征琴，等.枸橼酸坦度螺酮组合物通过抑制神经元氧化损伤和调节小胶质细胞活化发挥抗抑郁作用[J].西南医科大学学报，2024，47（2）：166-171.DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2024.02.014

枸橼酸坦度螺酮(tandospirone citrate,TC)最初因其作为选择性5-HT1A受体激动剂的抗焦虑特性而受到关注,近年来在治疗抑郁症的新领域中显示出了潜力[10-11]。除了调节血清素神经递质传导外,本研究进一步发现TC可能具有神经保护特性,能同时解决抑郁症的氧化和炎症问题。我们全面研究了枸橼酸坦度螺酮组合物(tandospirone citrate compositions,TCCs)的抗抑郁潜力。本研究不仅增进了对TCC-4药理特性的理解,而且通过提出一种新的抑郁症干预策略,为不断发展的神经精神药理学领域做出了贡献。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

本研究使用的五种TCCs均由四川科瑞德制药股份有限公司制备和提供。具体组分中的化合物比例见表1。化合物I、II、III及TC的化学结构见图1。氟西汀盐酸盐由四川科瑞德制药股份有限公司提供。N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine,NAC)由上海拓普科技有限公司提供。二氢乙啶(dihydroethidium,DHE)和四甲基罗丹明甲脂(tetramethylrhodamine methyl ester,TMRM)由美国Thermo Fisher Scientific公司提供。Hoechst 33342和碘化丙啶(propidium iodide,PI)购自美国Sigma Aldrich公司。

表1 TCC1至TCC5中化合物I、II、III的含量

Table 1 Ratios of compound I,II,III in TCC1 to TCC5

化合物名称	TCC-1	TCC-2	TCC-3	TCC-4	TCC-5
化合物I	0.62%	0.50%	0.05%	0.05%	0.001%
化合物II	0.46%	0.40%	0.003%	—	—
化合物III	0.25%	0.20%	—	—	—

注:“—”表示不含该成分。

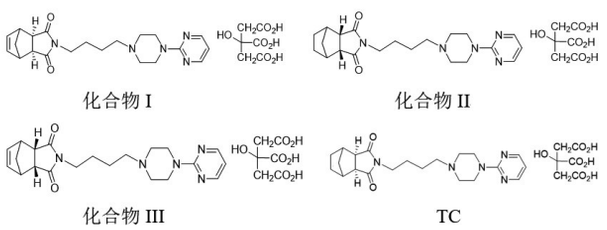


图1 化合物I、II、III和TC的化学结构

Figure 1 The chemical structure of compound I,compound II,compound III,and TC

1.2 动物

实验动物选取年龄为8至10 w的成年雄性ICR小鼠,SPF级,购自北京华阜康生物科技股份有限公司。小鼠在控制环境中饲养(温度20 ~ 25℃,湿度40% ~ 60%),并实施12 h光照/黑暗循环。实验期间,动物可自由获取食物和水。实验方案获得西南医科大学动物伦理与使用委员会的批准,并按国家卫生研究院的实验动物伦理和使用指南执行(批准号:20150105)。

1.3 小鼠给药

经过1 w的适应期后,将84只小鼠按照随机数字表法分为7组,每组12只:包括溶剂对照组(去离子水溶液)、氟西汀(给药剂量为15 mg/kg)组,以及分别用10 mg/kg给药剂量的TCC-1至TCC-5治疗的5组。实验小鼠灌胃口服给药。灌胃体积根据动物体重计算,对照组灌胃等体积的去离子水溶液。

1.4 尾悬挂实验

尾悬挂实验(TST)为公认的评估药物抗抑郁活性的方法。这项试验基于一个假设,即处于短暂不可避免压力下的小鼠会展现出可由抗抑郁药物改变的行为。具体操作如下:将小鼠的尾尖1厘米处粘贴倒置悬挂,用胶布固定在挂钩上使其呈倒悬状态头部距离实验台约15厘米。在操作过程中,需确保尾部不受物理伤害。试验持续6 min,前2 min为适应期,后续4 min进行行为评估。实验期间记录小鼠的不动时间。判断不动的标准为小鼠停止挣扎,呈倒悬状态,静止不动。不动时间的减少表明药物具有抗抑郁活性。

1.5 强迫游泳实验

强迫游泳实验(FST)是评估药物抗抑郁活性,尤其是在减轻小鼠抑郁样行为方面的标准方法[12-13]。该实验基于这样的原理:当啮齿类动物处于压力大、无法逃避的环境中时,会表现出一种特有的静止行为,而这种特有的静止行为可以被抗抑郁剂或抗抑郁药物减轻。FST在直径10 cm、高度20 cm的有机玻璃缸中进行,有机玻璃缸内装有水(温度25 ± 1°C),高度15 cm,以确保小鼠不能触及容器底部。每只小鼠在水中进行为期6 min的测试,前2 min为适应期,后续4 min进行行为评估。实验期间,记录实验小鼠的不动时间,不动时间的判断为动物在水中停止挣扎,呈漂浮状态,只有细小的肢体运动以保持头部浮在水面上。不动时间的减少,表明药物可能具有抗抑郁效果。

1.6 细胞培养

PC-12细胞系(编号CL-0481)和BV-2细胞系(编号CL-0493A)均由武汉普诺赛生命科技有限公司提供。通过短串联重复序列(short tandem repeats,STR)分析对细胞进行鉴定。PC-12细胞和BV-2细胞分别在DMEM和RPMI 1640培养基中进行培养,培养基中添加10%胎牛血清(fetal bovine serum,FBS)、100 U/mL的青霉素和100 μg/mL的链霉素。细胞置于37 °C、5% CO_2的恒温湿润培养箱中进行培养。

1.7 MTT法检测评估细胞活力

本研究采用3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT)法检测并评估细胞接受药物处理后的细胞活力。在细胞接受药物处理后,在每个孔中加入10 μL的MTT溶液(5 mg/mL),再将其置于37 °C条件下孵育4 h,使代谢活跃的细胞产

生甲酰胺晶体。随后，小心移除培养基，并向每个孔中加入100 μL的二甲基亚砜（dimethyl sulfoxide，DMSO）以溶解甲酰胺晶体。轻轻摇动培养板15 min，确保晶体完全溶解。使用微孔板读取器在570 nm波长处测量吸光度，并使用630 nm波长作为参考以校正背景。以DMSO溶液作为空白对照。细胞活力按以下公式计算：细胞活力（%）=［（实验组OD值－空白对照OD值）/（对照组OD值－空白对照OD值）］×100%。

1.8 DHE染色检测ROS

采用二氢乙啶（dihydroethidium，DHE）染色法检测细胞内活性氧（reactive oxygen species，ROS）。DHE是一种在氧化后能特异性与DNA结合的荧光染料，使其成为检测超氧化物（一种主要的ROS类型）的敏感工具[14]。药物处理后，细胞先用phosphate buffered saline（PBS）洗涤以去除残留培养基和非附着细胞。然后，在37 ℃、黑暗条件下用10 μM DHE溶液孵育细胞30 min。孵育结束后，再次用PBS洗涤以去除多余染料。之后用4%的甲醛固定细胞，再次用PBS洗涤以去除残留固定剂。采用配备有适用于DHE（激发/发射波长518/605 nm）滤光片的荧光显微镜观察染色细胞。所有样本图像均在相同设置下捕获，以确保可比性。使用ImageJ分析软件1.50i（美国国立卫生研究院）对荧光强度进行量化，计算每个细胞的平均荧光强度，并将数据相对于对照组进行标准化。

1.9 TMRM染色评估线粒体膜电位

TMRM为阳离子染料，能积聚在活跃的线粒体中，被用于测量评估线粒体膜电位（mitochondrial membrane potential，MMP）的一种检测方式[15]。细胞在无血清培养基中加入500 nM TMRM，并在37 ℃、黑暗条件下孵育20 min。孵育后，使用PBS轻轻洗涤以去除未结合的染料。之后，利用配备有适宜滤光片（TMRM激发/发射波长485/535 nm）的荧光显微镜进行细胞观察。所有样本的图像都在相同的设置下捕获，以保证可比性。随后使用ImageJ分析软件对荧光强度进行量化，计算每个细胞的平均荧光强度，并将数据相对于对照组进行标准化。

1.10 观察BV-2细胞激活的形态变化

本研究评估了TCC-4处理后，lipopolysaccharide（LPS）刺激的BV-2小胶质细胞形态变化[16]。BV-2细胞在24孔板中以5×10^4细胞/孔密度培养。细胞分别暴露于不同浓度的TCC-4（62.5 ng/mL、125 ng/mL、250 ng/mL和500 ng/mL），并添加或不添加400 ng/mL LPS，持续培养24 h。处理后，用4%甲醛溶液固定15 min，室温下用PBS洗涤两次，每次10 min。使用光学显微镜观察BV-2细胞形态变化，重点关注小胶质细胞激活的迹象，如细胞大小、形状和细胞过程的复杂性变化。随后，使用ImageJ分析软件定量分析这些形态变化。

1.11 吞噬作用检测

BV-2细胞先用LPS（400 ng/mL）刺激，以模拟神经炎症条件下的小胶质细胞激活状态。LPS处理后，24孔板中的BV-2细胞使用250 ng/mL的TCC-4进行处理。随后，添加包被微球至孔中，孵育2 h以促进吞噬作用。之后，用PBS洗涤细胞以去除外部微球，并用4%甲醛溶液固定。利用荧光显微镜可视化并量化BV-2细胞内吞噬的微球情况。在多个视野下计算每个细胞内吞噬的微球数量，并计算吞噬指数，表示每个细胞平均吞噬的微球数量。

1.12 统计学分析

采用SPSS软件进行统计分析。对符合正态分布的数据，使用单因素方差分析（Analysis of variance，ANOVA）分析。当ANOVA显示显著差异时，采用Tukey诚实显著差异（Honestly Significant Difference，HSD）检验进行事后分析，以确定特定组别间的差异。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 TCC-4显著降低小鼠TST中的不动时间

在探究TCCs的抗抑郁效果时，对照组仅接受空白溶剂（去离子水）处理，5组TCCs组合物均以10 mg/kg的一致剂量灌胃给药。给予药物干预后，小鼠在TST中的累计不动时间如表2所示。

表2 实验小鼠在TST中的累计不动时间

Table 2 Cumulative immobility time of mice in TST

组别名称	累计不动时间(s)
对照组	172.23 ± 9.89
氟西汀	92.47 ± 11.25[b]
TCC-1	147.95 ± 11.26[a]
TCC-2	146.08 ± 11.43[a]
TCC-3	108.48 ± 9.73[b]
TCC-4	91.71 ± 10.42[b]
TCC-5	106.62 ± 10.05[b]

注：a与对照组相比，$P<0.05$；b与对照组相比，$P<0.01$。

2.2 TCC-4显著降低小鼠FST中的不动时间

在评估TCCs在FST中的不动时间时，对照组接受空白溶剂（去离子水）处理，5组TCCs组合物均以10 mg/kg的一致剂量灌胃给药。药物干预后，各组小鼠在FST中的累计不动时间如表3所示。

2.3 TCC-4提高H_2O_2诱导的PC-12细胞活性

MTT检测结果显示1 000 ng/mL的TCC-4在PC-12上并未显示出显著的细胞毒性，差异无统计学意义（$P>0.05$），见图2A。接下来以H_2O_2诱导PC-12的细胞氧化损伤模型，并在给予药物干预后应用MTT检测细胞活性以及显微镜观察细胞形态。结果如图2B所示：H_2O_2显著降低了PC-12细胞的活性（$P<0.001$），而TCC-4和NAC显著提高了PC-12细胞的活性（$P<0.05$）。图2C结果显示：TCC-4和NAC能有效地恢复

H_2O_2诱导的PC-12细胞形态，且TCC-4的效果呈剂量依赖性。

表3 实验小鼠在FST中的累计不动时间

Table 3 Cumulative immobility time of mice in the FST

组别名称	累计不动时间(s)
对照组	162.71 ± 11.25
氟西汀	90.62 ± 10.43[b]
TCC-1	139.08 ± 10.26[a]
TCC-2	138.89 ± 10.11[a]
TCC-3	95.44 ± 8.79[b]
TCC-4	88.79 ± 9.52[b]
TCC-5	96.08 ± 9.68[b]

注：a与对照组相比，$P < 0.05$；b与对照组相比，$P < 0.01$。

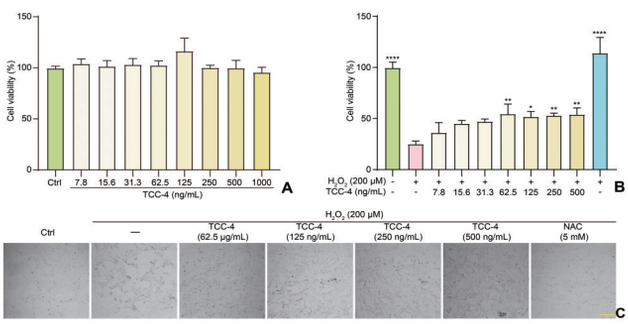


图2 TCC-4增强H_2O_2诱导的PC-12细胞的活性

Figure 2 TCC-4 enhances the viability of H_2O_2-induced PC-12 cells

注：A.用浓度梯度的TCC-4处理PC-12细胞24 h后的细胞活性；B.H_2O_2处理的PC-12细胞在用或不用TCC-4处理24 h后的细胞活性；C.H_2O_2处理的PC-12细胞在用或不用TCC-4和NAC处理24 h后的细胞形态；与模型组相比，* $P < 0.05$，** $P < 0.01$，*** $P < 0.001$，放大倍数10×标尺：200 μm。

2.4 TCC-4减少H_2O_2诱导的PC-12细胞死亡

我们用Hoechst/PI染色法检测了PC-12细胞的死亡。在用H_2O_2诱导PC-12的同时给予药物进行干预。24 h后进行Hoechst/PI染色，结果显示，与对照组相比，模型组显著增加了PC-12细胞中PI/Hoechst染色的比例（$P < 0.001$），而TCC-4和NAC的处理显著降低了其比例（$P < 0.001$），见图3。

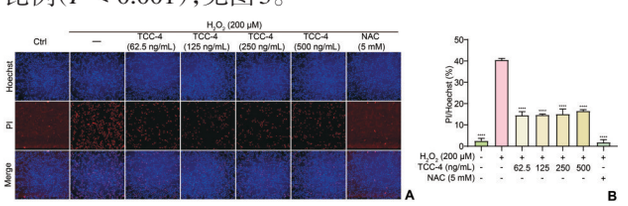


图3 TCC-4减少H_2O_2诱导的PC-12细胞死亡

Figure 3 TCC-4 reduced H_2O_2-induced PC-12 cell death

注：A.H_2O_2处理的PC-12细胞在用或不用TCC-4和NAC处理24 h后的细胞Hoechst/PI染色图像；B. PC-12细胞中Hoechst/PI的比率，与模型组相比，*** $P < 0.001$，放大倍数10×标尺：200 μm。

2.5 TCC-4降低H_2O_2诱导的PC-12细胞内ROS水平

与对照组相比，模型组的DHE荧光强度明显增加（$P < 0.001$）。与模型组相比，TCC-4或NAC处理的PC-12细胞能显著降低其DHE荧光强度（$P < 0.001$），见图4。

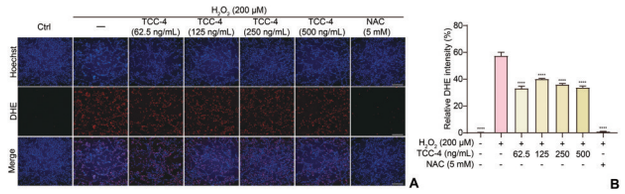


图4 TCC-4降低H_2O_2诱导的PC-12细胞内ROS水平

Figure 4 TCC-4 reduced H_2O_2-induced intracellular ROS levels in PC-12 cells

注：A.H_2O_2处理的PC-12细胞在用或不用TCC-4和NAC处理24 h后的细胞Hoechst/DHE染色图像；B. PC-12细胞中的相对DHE荧光强度；与模型组相比，*** $P < 0.001$，放大倍数10×标尺：200 μm。

2.6 TCC-4恢复H_2O_2诱导PC-12细胞的线粒体膜电位

与对照组相比，H_2O_2能显著降低PC-12细胞中的荧光强度（$P < 0.001$），在给予了TCC-4和NAC处理后，细胞中的荧光强度得到明显恢复（$P < 0.001$），见图5。

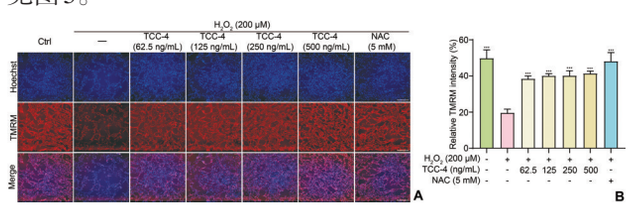


图5 TCC-4恢复H_2O_2诱导的PC-12细胞的线粒体膜电位

Figure 5 TCC-4 restores the mitochondrial membrane potential of PC-12 cells induced by H_2O_2

注：A.H_2O_2处理的PC-12细胞在用或不用TCC-4和NAC处理24 h后的细胞Hoechst/TMRM染色图像；B. PC-12细胞中的相对TMRM荧光强度；与模型组相比，*** $P < 0.001$，放大倍数10×标尺：200 μm。

2.7 TCC-4抑制脂多糖(LPS)诱导的BV-2细胞激活

我们首先检测了TCC-4对BV-2的细胞活性的影响。MTT结果显示500 ng/mL及以下浓度的TCC-4对BV-2细胞不会产生毒性（$P > 0.05$），见图6A。接下来，使用LPS刺激细胞以模拟大脑中的炎症反应。MTT结果显示，TCC-4和LPS共处理不会显著影响BV-2细胞的活性（$P > 0.05$，见图6B）。此外，我们应用显微镜观察了BV-2细胞的形态。结果如图6C、D显示，与对照组相比，LPS组显著提高了BV-2细胞的激活率（$P < 0.001$）。与LPS相比，加入TCC-4干预后，BV-2细胞的激活率明显降低（$P < 0.001$）。

2.8 TCC-4抑制LPS诱导的BV-2细胞吞噬能力

与对照组相比，模型组吞噬绿色荧光微球的细胞数量明显增加（$P < 0.001$）。与模型组相比，加入TCC-4干预后，吞噬绿色荧光微球的BV-2细胞数量明显减少，提示，TCC-4抑制了LPS诱导BV-2细胞的吞噬能力（$P < 0.001$），见图7。

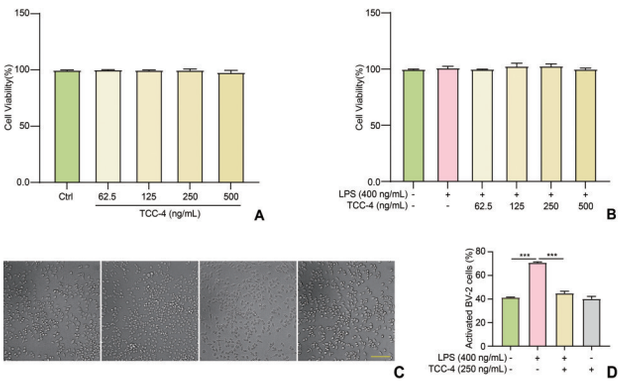


图6 TCC-4抑制LPS诱导的BV-2细胞激活

Figure 6 TCC-4 inhibits LPS-induced activation of BV-2 cells

注：A. 浓度梯度的TCC-4处理BV-2细胞24 h后的细胞活性；B. LPS处理的BV-2细胞在用或不用TCC-4处理24 h后的细胞活性；C. LPS处理的BV-2细胞在用或不用TCC-4处理24 h后的细胞形态；D. 相对激活的BV-2细胞；与模型组相比，*** $P < 0.001$，放大倍数10×标尺：200 μm。

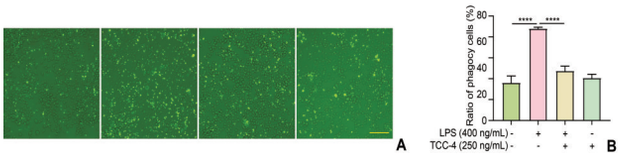


图7 TCC-4抑制LPS诱导的BV-2细胞吞噬能力

Figure 7 TCC-4 inhibits LPS-induced phagocytosis of BV-2 cells

注：A.LPS处理的BV-2细胞在用或不用TCC-4处理24 h后吞噬绿色荧光微球的细胞图像；B. BV-2细胞的相对吞噬能力；与模型组相比，*** $P < 0.001$，放大倍数10×，标尺：200 μm。

3 讨论

坦度螺酮，主要用于治疗焦虑症[17]，其充当5-羟色胺1A受体的部分激动剂[18]。特别是在多系统萎缩-小脑共济失调（multiple system atrophy - cerebellar subtype，MSA-C）患者中，坦度螺酮治疗焦虑和抑郁症状的有效性已获得认可[19]。研究显示，与抗抑郁药物艾司西酞普兰相比，坦度螺酮在改善抑郁和焦虑症状及某些小脑共济失调症状方面表现更佳[20]。该药物的作用机制包括调节大脑的5-羟色胺系统，这对于治疗焦虑和抑郁非常关键[21-22]。

本研究对TCCs的抗抑郁效果提供了重要证据，尤其关注了TCC-4在动物行为和细胞模型中的应用。神经元氧化损伤在抑郁症发展中起着关键作用，影响大脑的重要功能和过程，其中包括神经递质系统的改变、神经炎症、神经可塑性的损害、海马区的损伤以及线粒体功能障碍[23-24]。研究结果表明，TCC-4在减少小鼠抑郁样行为及保护神经细胞免受氧化损伤和神经炎症方面显示出显著潜力。在行为模型中，通过TST和FST的结果可见，TCC-4有效减少了小鼠的抑郁样行为，显著降低了这些测试中实验小鼠的不动时间，显示出强大的抗抑郁效果。减少的不动时间与已知抗抑郁药物氟西汀相当，表明TCC-4可能是一个效果强大的替代选择，且可能带来更少的副作用。在细胞层面，TCC-4对H_2O_2诱导的PC-12细胞表现出抗氧化应激的保护作用。TCC-4恢复了H_2O_2诱导的PC-12细胞活力的丧失。研究通过Hoechst/PI染色法用来区分活细胞和死细胞，Hoechst染料，一种蓝色荧光染料，能结合所有细胞的DNA，而PI染料，一种红色荧光染料，特异性染色已失去膜完整性的死亡细胞[23]，TCC-4处理的PC-12细胞的PI/Hoechest比例降低，表明TCC-4能减少H_2O_2诱导的细胞死亡。氧化应激是抑郁症病理生理中的一个关键因素，影响神经元健康和功能[25]。DHE染色涉及使用一种能与ROS反应并发出荧光的荧光染料，从而提供对ROS水平的视觉和量化测量[26]，DHE染色结果也显示出TCC-4可以降低细胞ROS水平，减少细胞ROS产生，表明TCC-4对抗这些影响的能力突显了其治疗潜力。TMRM是一种对MMP变化敏感的荧光染料，能够进行定量的荧光测量，从而反映出细胞中MMP的状态，研究表明TCC-4对PC-12细胞的线粒体膜电位产生了显著的积极影响。恢复线粒体膜电位对于维持神经细胞健康至关重要，因为线粒体功能障碍是包括抑郁症在内的多种神经精神疾病的一个标志[27-28]。结果表明，TCC-4可能通过维持线粒体完整性来发挥其抗抑郁效果。神经炎症越来越被认为是抑郁症发展的一个重要因素，因其在大脑中的慢性炎症可干扰情绪调节相关的神经递质系统和神经回路，可能导致抑郁症状的发生和加剧，将神经炎症过程直接与抑郁症的病理生理学联系起来。在本研究中，我们用LPS来诱导BV-2模拟体外神经炎症的发生。研究结果发现TCC-4抑制了LPS刺激的BV-2细胞的激活和吞噬作用，凸显了其在缓解与抑郁症病理相关的神经炎症方面的潜在作用。通过减少小胶质细胞的激活和相关炎症反应，TCC-4可能有助于创造一个更健康的神经环境，从而缓解抑郁症状。

4 结论与展望

本研究结果显示，TCC-4将是治疗抑郁症具有前景的重要药物。在动物实验中，它展现了显著的抗抑郁效果，同时在细胞模型上也显示出对神经元氧化损伤和神经炎症的有效防护作用。TCC-4在抑郁症的行为及细胞层面上的双重功效，预示了未来抗抑郁治疗研究和发展的新趋势。这种双管齐下的治疗策略凸显了该化合物作为全面治疗方案的巨大潜力，为更高效的抑郁症治理开辟了新的希望，且可能伴有更少的副作用或不良反应。这些成果预示了继续在该领域深入研究的必要性，以便全面了解TCC-4的作用机制，并将研究成果转化为临床应用，以期彻底改变抑郁症的治疗方法。

5 参考文献

[1] GREENBERG P E, FOURNIER A A, SISITSKY T, *et al*. The Economic Burden of Adults with Major Depressive Disorder in the United States (2010 and 2018) [J]. Pharmacoeconomics, 2021,39(6): 653-665.
[2] STRAWN J R, MILLS J A, POWELEIT E A, *et al*. Adverse effects of antidepressant medications and their management in children and adolescents[J]. Pharmacotherapy,2023,43(7): 675-690.
[3] 邓佳慧,李素霞,董问天,等. 难治性抑郁症治疗的研究进展 [J]. 中国神经精神疾病杂志,2014,40(3): 706-709.
[4] 王睿,刘吉成,罗春娟,等. 葛根素对围绝经期抑郁症模型小鼠神经元凋亡的影响及机制研究 [J]. 医学研究杂志,2017,46(8): 121-125.
[5] CORREIA A S, CARDOSO A, VALE N. Oxidative Stress in depression: the link with the stress response, neuroinflammation, serotonin, neurogenesis and synaptic plasticity[J]. Antioxidants, 2023,12(2): 470.
[6] AIT TAYEB A E K, POINSIGNON V, CHAPPELL K, *et al*. Major depressive disorder and oxidative stress: a review of peripheral and genetic biomarkers according to clinical characteristics and disease stages[J]. Antioxidants (Basel),2023,12(4): 492.
[7] JI N, LEI M, CHEN Y, *et al*. How oxidative stress induces depression? [J]. ASN neuro,2023,15: 1-26.
[8] LI C, LIU B, XU J, *et al*. Phloretin decreases microglia-mediated synaptic engulfment to prevent chronic mild stress-induced depression-like behaviors in the mPFC [J]. Theranostics,2023,13(3): 955-972.
[9] AFRIDI R, SUK K. Microglial responses to stress-induced depression: causes and consequences[J]. Cells,2023,12(11): 1521.
[10] HUANG X, YANG J, YANG S, *et al*. Role of tandospirone, a 5-HT1A receptor partial agonist, in the treatment of central nervous system disorders and the underlying mechanisms [J]. Oncotarget, 2017,8(60): 102705-102720.
[11] 王颖,孙美珍. 5-羟色胺1A受体激动剂枸橼酸坦度螺酮对癫痫后抑郁与焦虑的疗效研究 [J]. 中华脑科疾病与康复杂志(电子版),2014,4(02): 85-88.
[12] BRANDAO A A C, DEUS D L S, DUARTE L A M S, *et al*. Nebulized and intraperitoneal ketamine have equivalent antidepressant-like effect in the forced swim and tail suspension tests in mice [J]. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2023,233: 173674.
[13] YANKELEVITCH-YAHAV R, FRANKO M, HULY A, *et al*. The forced swim test as a model of depressive-like behavior [J]. Journal of Visualized Experiments,2015,(97): e52587.
[14] SEO J S, PARK J Y, CHOI J, *et al*. NADPH oxidase mediates depressive behavior induced by chronic stress in mice [J]. Journal of Neuroscience,2012,32(28): 9690-9699.
[15] OKKELMAN I A, PAPKOVSKY D B, DMITRIEV R I. Estimation of the mitochondrial membrane potential using fluorescence lifetime imaging microscopy[J]. Cytometry Part A,2020,97(5): 471-482.
[16] 何超平,陈煜,彭莎,等. 乙酰水杨酸姜黄素酯通过TLR4/NF-κB通路拮抗LPS诱导的BV-2小胶质细胞炎症损伤 [J]. 湖南中医药大学学报,2022,42(07): 1070-1075.
[17] 董春瑶. 坦度螺酮联合帕罗西汀治疗癫痫并发焦虑抑郁的疗效 [J]. 当代医学,2022,28(1): 21-23.
[18] SMITH A L H C J, COWEN P J,MURPHY, S E. The serotonin 1A (5-HT1A) receptor as a pharmacological target in depression [J]. CNS Drugs,2023,37(7): 571-585.
[19] TAKEI A, HAMADA S, HOMMA S, *et al*. Difference in the effects of tandospirone on ataxia in various types of spinocerebellar degeneration: an open-label study[J]. Cerebellum, 2010, 9(4): 567-570.
[20] QUAN M A, GAO J, XU S, *et al*. Comparison of tandospirone and escitalopram as a symptomatic treatment in Multiple System Atrophy-cerebellar ataxia: An open-label, non-controlled, 4 weeks observational study [J]. Journal of Psychiatric Research, 2023,168: 133-139.
[21] 陈欣怡,李永丰,徐晨曦,等. 针刺干预抑郁症在中枢5-羟色胺系统的效应机制研究进展 [J]. 中华中医药学刊,2022,40(07): 150-154.
[22] YOHN C N, GERGUES M M, SAMUELS B A. The role of 5-HT receptors in depression [J]. Molecular Brain,2017,10(1): 28.
[23] WU A G, TENG J F, WONG V K, *et al*. Novel steroidal saponin isolated from Trillium tschonoskii maxim. exhibits anti-oxidative effect via autophagy induction in cellular and Caenorhabditis elegans models [J]. Phytomedicine,2019,65: 153088.
[24] BAKUNINA N, PARIANTE CM, ZUNSZAIN PA. Immune mechanisms linked to depression via oxidative stress and neuroprogression [J]. Immunology,2015,144(3): 365-373.
[25] BAJPAI A, VERMA AK, SRIVASTAVA M, *et al*. Oxidative stress and major depression [J]. Journal of Clinical and Diagnostic Research,2014,8(12): CC04-CC07.
[26] LU X, GUO X, WASSALL CD, *et al*. Reactive oxygen species cause endothelial dysfunction in chronic flow overload [J]. Journal of Applied Physiology,2011,110(2): 520-527.
[27] WANG X, DING Q, TIAN Y, *et al*. In situ fluorescence imaging reveals that mitochondrial H2O2 mediates lysosomal dysfunction in depression [J]. Chemical Communications, 2022, 58 (43): 6320-6323.
[28] FAIRLEY L H, LEJRI I, GRIMM A, *et al*. Spermidine rescues bioenergetic and mitophagy deficits induced by disease-associated tau protein[J]. International Journal of Molecular Sciences,2023, 24(6).

(利益冲突:无)

(收稿日期:2023-12-05;修回日期:2024-01-18)