

抑郁症细胞模型的研究进展

邢玉琦 李妍 王扬 李丽*

(哈尔滨体育学院, 哈尔滨 150008)

摘要 细胞模型是研究抑郁症发病机制的有效方法之一。近年来,通过建立体外抑郁症细胞模型进行发病机制的探索成为研究学者的关注热点。该文通过整理近年来抑郁症体外细胞模型的相关文献,从细胞模型使用的细胞系(PC12细胞、BV2细胞、HT22细胞和SH-SY5Y细胞)、诱导方式(皮质酮、脂多糖、谷氨酸和过氧化氢)和诱导多能干细胞这三个方面进行总结和分析,以期研究抑郁症的发病机制选择合适的细胞模型及进行抗抑郁药物筛选提供参考。

关键词 抑郁症; 细胞模型; 细胞系

Research Progress on Cell Models of Depression

XING Yuqi, LI Yan, WANG Yang, LI Li*

(Harbin Sport University, Harbin 150008, China)

Abstract Cell models are one of the effective methods to study the pathogenesis of depression. In recent years, the exploration of pathogenesis through the establishment of *in vitro* depression cell models has become a hot spot for research scholars. By sorting out the relevant literature on *in vitro* cell models of depression in recent years, this paper summarizes and systematically analyzes from the three aspects of the cell lines used in cell models (PC12 cells, BV2 cells, HT22 cells and SH-SY5Y cells), induction methods (corticosterone, lipopolysaccharide, glutamate and hydrogen peroxide) and induced pluripotent stem cells, in order to provide references for the selection of suitable cell models and for the later study of the pathogenesis of depression and the screening of antidepressant drugs.

Keywords depression; cell models; cell lines

抑郁症(depression)是一种由多种因素引起的情感障碍疾病,临床上主要表现为抑郁寡欢、情绪低落、失眠等症状。据世界卫生组织统计,全球抑郁症患者总数约为3.22亿,占世界总人口的4.4%^[1]。世界卫生组织预测,到2030年,精神疾病将成为全球头号疾病^[2]。抑郁症是一种具有高复发率、高自杀率、高负担的精神疾病^[3],严重的患者还会出现幻觉、暴力,甚至产生自杀的倾向,对自己及他人的生命安全造成威胁,为生活埋下未知的隐患。目前抑郁症已被广泛研究,但至今对其确切的发病机制仍然不是很清楚,严重阻碍了抑郁症的研究及治疗。

到目前为止很多关于抑郁症的假说已被提出,主要包括下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴功能失调、炎症反应、谷氨酸假说以及单胺类神经递质假说等,虽然这些假说的切入点各不相同,但是都为更清晰地阐明抑郁症的内在机制提供了可能性。

目前,有关抑郁症发病机制的研究主要在动物模型和细胞模型中进行。虽然动物模型能够更好地模拟体内真实的病理特征,但同时也存在实验个体差异较大、实验条件不易控制、实验过程中的不可控因素众多以及实验周期过长等多种问题;而细胞

收稿日期: 2023-04-01

接受日期: 2023-06-12

哈尔滨体育学院博士人才科研启动费项目(批准号: RYJ-2113)资助的课题

*通讯作者。Tel: 15114556558, E-mail: slshjiaoyanshi@163.com

Received: April 1, 2023

Accepted: June 12, 2023

This work was supported by the Harbin Sport University Doctoral Talent Research Start-Up Fund Project (Grant No.RYJ-2113)

*Corresponding author. Tel: +86-15114556558, E-mail: slshjiaoyanshi@163.com

模型具有实验周期短、能够克服个体局限性等特点,而且还能够基于抑郁症发病机制的不同选择符合研究目的的细胞模型。然而,目前国内外有关抑郁症细胞模型的文献还相对较少,因此,本文将从造模方式、建立细胞模型常用的细胞系及评价指标等几个方面进行综述,并依据抑郁症发病机制的不同将细胞模型的诱导方式分为皮质酮诱导模型、脂多糖诱导模型、谷氨酸诱导模型以及过氧化氢诱导模型这几类进行分类总结,为后续深入研究抑郁症发病机制及进行抗抑郁药物有效活性成分的筛选提供科学依据。

1 诱导方式

1.1 皮质酮诱导模型

HPA轴主要依靠糖皮质激素进行调节,皮质醇是人体内主要的糖皮质激素,而啮齿类动物体内主要的糖皮质激素是皮质酮(corticosterone, CORT)。HPA轴功能失调与应激刺激有密切关系,当人体受到一定外界刺激时HPA轴会发生负反馈调节,但是当人体长期受到持续性的应激刺激时,糖皮质激素(glucocorticoids, GCs)会一直处于较高的水平,糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)功能减弱,使得HPA轴负反馈调节异常,从而使机体表现出抑郁症的相关症状。ZHU等^[4]研究发现,GCs是导致慢性应激性抑郁行为和HPA轴过度活跃的原因,高浓度的糖皮质激素足以诱导抑郁行为和HPA轴过度活跃。因此,利用呈浓度梯度上升的CORT能够在较短的时间内使细胞内的代谢发生变化,同时研究者可以根据细胞诱导时间的长短及细胞系的类型来改变细胞的形态及功能。CORT能够降低细胞活力,导致细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平升高及线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)下降,从而诱导细胞毒性,导致神经元损伤而促进抑郁症的发生。目前,通常采用400 μmol/L的CORT建立体外抑郁细胞模型。

1.2 脂多糖诱导模型

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是一种内毒素,是革兰氏阴性细菌细胞壁的组成部分,是一种广泛应用的炎性刺激物。有研究发现,抑郁症患者体内含有的炎症标记物(如IL-6、TNF-α及IFN-γ等^[5])水平较高,促炎症因子能够激活HPA轴从而促进抑郁

症的发生^[6]。LPS是一种小胶质细胞激活的诱导剂,它由小胶质细胞膜上的Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)识别,TLR4激活骨髓分化初级反应蛋白88(myeloid differentiation primary response protein 88, MyD88),随后,MyD88激活MAPK、PI3K/Akt及NF-κB信号通路,导致促炎因子的激活增强^[7]。目前,LPS通常用于构建神经炎症的实验模型。研究采用100 ng/mL的LPS诱导BV2细胞,导致细胞活力下降,一氧化氮(nitric oxide, NO)、TNF-α、IL-6和IL-1β含量增多^[7]。

1.3 谷氨酸诱导模型

谷氨酸(glutamate, Glu)主要存在于脑和脑脊液中,是中枢神经系统内一种比较重要的兴奋性神经递质。谷氨酸受体,如N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体、α-氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸(α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionate, AMPA)受体、海人藻酸(kainate, KA)受体及代谢型谷氨酸受体(metabotropic glutamate receptors, mGluRs),在神经传递及神经递质释放等方面发挥了重要的作用。当谷氨酸的浓度处于较高水平时,会过度刺激NMDA型谷氨酸受体使其持续活化,细胞内Ca²⁺含量增加,触发一系列反应引起细胞兴奋性毒性,从而导致神经元损伤^[8]。有研究发现,抑郁症患者体内谷氨酸的含量与抑郁症的严重程度呈正相关^[9]。同时,细胞外Glu浓度过高会抑制半胱氨酸(GSH前体)的摄取,导致细胞内谷胱甘肽(glutathione, GSH)的水平降低,从而降低细胞的氧化应激能力,使细胞内ROS水平升高^[10]。由于高浓度的谷氨酸和NMDA受体(包括NMDAR1、NMDAR2及NMDAR3)的过度激活与抑郁症的发病机制密切相关,故谷氨酸及NMDA诱导的神经毒性被广泛用于构建神经细胞损伤模型。

1.4 过氧化氢诱导模型

过氧化氢(hydrogen peroxide, H₂O₂)作为一种强氧化剂,会使细胞内产生大量的ROS,过量ROS的产生与抗氧化能力之间关系失衡,导致神经元损伤,是建立体外神经细胞氧化应激损伤模型常用的诱导方式。研究报道,氧化应激会减少海马神经的发生,增加患抑郁症的风险^[11]。此外,有研究证实,H₂O₂能够使细胞内MMP下降,促进凋亡细胞因子的蛋白表达,提高细胞凋亡率,导致神经细胞的凋亡^[12],从而影响大脑的认知功能。

2 细胞模型及评价指标

2.1 细胞系

2.1.1 PC12细胞 PC12细胞是一种从大鼠肾上腺髓质嗜铬瘤细胞中分化而来的细胞系,其细胞膜上具有表达丰富的GC受体。PC12细胞具有未分化、低分化和高分化三种类型,它被神经生长因子(nerve growth factor, NGF)诱导分化后会发生明显的轴突生长。有研究报道,分化后的PC12细胞是具有典型的神经元特征并表达丰富的糖皮质激素受体的细胞系^[13],经常被用于神经生理及药理学研究。研究人员发现三种类型PC12细胞中,低分化的PC12细胞是研究抑郁症最合适的细胞^[14]。

PC12细胞常被用于构建神经元损伤的体外模型。目前,通常采用CORT^[15]、Glu^[16]、LPS^[17]、NMDA^[18]等诱导PC12细胞建立抑郁症体外模型,其具体的造模方法见表1。检测指标主要包括细胞活力、细胞凋亡率、氧化应激相关检测指标及炎症反应相关蛋白(表2)。

2.1.2 BV2细胞 BV2小胶质细胞是小鼠小胶质细胞通过逆转录病毒转染v-raf/v-myc后获得永生化的细胞系^[19],是中枢神经系统的免疫细胞,内源性化学刺激能够使其过度激活,从而释放炎症因子,导致海马神经元损伤及神经退行性病变^[20]。小胶质细胞过度激活介导的神经炎症反应是神经退行性疾病的重要特征。研究证实,过度激活的小胶质细胞会诱导合成大量促炎症因子(如TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-10)、NO及ROS等,加速神经元的损伤,甚至使其死亡,从而导致神经炎性、抑郁及相关疾病的发生^[21]。

目前,BV2细胞作为研究抑郁症发病机制的常用体外细胞模型之一。通常采用LPS^[7]、Glu^[22]等诱导BV2细胞建立抑郁症体外模型,药物干预时间大都为24 h,具体的造模方法及检测指标见表1和表2。

2.1.3 HT22细胞 HT22细胞是来源于HT4细胞的小鼠海马神经元细胞系,其细胞形态及功能与神经元相似,被广泛应用于神经退行性疾病、抑郁症等神经系统疾病的研究。研究发现,该细胞系具有胆碱能神经元的特性,未分化的HT22细胞也表达了可检测水平的一些胆碱能标记物和谷氨酸受体,而分化后的HT22细胞能够表达更高水平的胆碱能神经元必需的分子以及5-羟色胺能神经元所必需的分子,并且在形态和功能上与神经元细胞相似^[23]。分化的HT22细胞会导致NMDA受体的mRNA水平增加,因此更容易受到谷氨酸诱导的兴奋性毒性的影响,同

时分化的HT22细胞不仅表现出胆碱能标志物表达增加,而且表现出5-羟色胺能神经元的特征,因此更接近真实海马神经元的环境^[24]。目前,常用HT22细胞作为谷氨酸诱导神经毒性的体外研究模型。

HT22细胞作为研究抑郁症发病机制的常用体外细胞模型之一。研究人员通常采用CORT^[25]、NMDA^[26]、Glu^[27]等来构建抑郁症体外模型,其具体的造模方法及检测指标见表1和表2。

2.1.4 SH-SY5Y细胞 SH-SY5Y细胞是人神经母细胞瘤株,是SK-N-SH细胞系经三次克隆后的亚系(SK-N-SH \rightarrow SH-SY \rightarrow SH-SY5 \rightarrow SH-SY5Y)^[28],其形态、生理和生化功能与正常神经细胞相似。该细胞系属多巴胺(dopamine, DA)能神经元细胞,能释放儿茶酚胺类神经递质,目前被广泛应用于抑郁、神经系统疾病发病机制和药物作用机制方面的研究^[29]。

SH-SY5Y细胞是研究细胞神经毒性的常用模型。目前,常采用CORT^[29]、Glu^[10]、H₂O₂^[12]等来构建抑郁症体外模型,其具体的造模方法及检测指标见表1和表2。

2.2 诱导多能干细胞

诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)是指通过导入特定的转录因子将终末分化的体细胞重编程形成的多能性干细胞。目前临床上对于抑郁症多采用西药治疗,主要包括选择性5-羟色胺再摄取抑制剂(selective serotonin reuptake inhibitor, SSRI)和5-羟色胺-去甲肾上腺素再摄取抑制剂(serotonin-norepinephrine reuptake inhibitors, SNRIs)。SSRI是一类常用的抗抑郁药物,如氟西汀、西酞普兰及帕罗西汀等药物。基于这些药物的假设机制,研究人员将研究重点放在寻找单胺合成和信号传导途径中的遗传变异上^[30]。

体外建立与血清素能神经传递相关的神经精神疾病模型的尝试一直没有成功。直到2016年,有研究发现人成纤维细胞通过Ascl1、Foxa2、Lmx1b和FEV等转录因子的过表达能够直接转化为诱导血清素能(5-hydroxytryptamine, i5HT)神经元。同时,他们也观察到表达成熟血清素能神经元标记物的i5HT神经元具有Ca²⁺依赖的5-HT释放及选择性摄取功能,血清素能够显著提高自发动作电位的放电率,证实了快速有效产生i5HT神经元的方法能够用于许多血清素能神经元精神障碍类疾病的机制研究及药物开发^[31]。同年,另一组研究人员发现过表达的血

表1 不同抑郁症细胞模型的建立

Table 1 Establishment of different cell models of depression

| 细胞种类 Cell species | 诱导方式 Induction mode | 诱导浓度 Induced concentration | 干预时间 Intervention time | 培养基 Culture medium | 参考文献 Reference |
|----------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------|-----------------------------|-------------------|
| PC12 | CORT | 400 $\mu\text{mol/L}$ | 48 h | DMEM (10% FBS) | [15] |
| | Glu | 20 mmol/L | 24 h | DMEM (10% FBS) | [16] |
| | NMDA | 6 mmol/L | 6 h | DMEM (10% FBS) | [18] |
| | LPS | 0.25 $\mu\text{g/mL}$ | 24 h | DMEM (10% FBS) | [17] |
| HT22 | CORT | 200 $\mu\text{mol/L}$ | 7 h | DMEM | [25] |
| | NMDA | 300 $\mu\text{mol/L}$ | 24 h | DMEM (10% FBS) | [26] |
| | Glu | 15 mmol/L | 24 h | DMEM (10% FBS) | [27] |
| BV2 | LPS | 100 ng/mL | 24 h | DMEM (10% FBS) | [7] |
| | Glu | 30 mmol/L | 24 h | High glucose DMEM (10% FBS) | [22] |
| SH-SY5Y | CORT | 0.4 mmol/L | 36 h | DMEM (10% FBS) | [29] |
| | Glu | 10 mmol/L | 24 h | RPMI 1640 (10% FBS) | [10] |
| | H ₂ O ₂ | 200 $\mu\text{mol/L}$ | 24 h | DMEM (10% FBS) | [12] |

表2 不同抑郁症细胞模型的评价指标

Table 2 Evaluation indicators of different depression cell models

| 细胞种类 Cell species | 干预方式 Induction mode | 细胞活力 Cell viability | | 细胞凋亡 Apoptosis | 氧化应激 Oxidative stress | | | | | 炎症因子(TNF- α) Inflammatory factor (TNF- α) | 参考文献 Reference | |
|----------------------|-------------------------------|------------------------|-------|-------------------|--------------------------|----|-----|-----|-----|---|-------------------|------------------|
| | | MTT | CCK-8 | | ROS | NO | SOD | MMP | GSH | | | Ca ²⁺ |
| | | | | | | | | | | | | |
| PC12 | CORT | + | - | + | + | - | - | + | - | - | - | [15] |
| | Glu | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - | [16] |
| | NMDA | + | - | + | - | - | - | - | - | + | - | [18] |
| | LPS | - | + | - | - | - | - | - | - | - | + | [17] |
| HT22 | CORT | - | + | - | + | - | - | + | - | - | - | [25] |
| | NMDA | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | [26] |
| | Glu | + | - | - | + | - | - | - | - | - | - | [27] |
| BV2 | LPS | + | - | - | - | + | - | - | - | - | + | [7] |
| | Glu | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | [22] |
| SH-SY5Y | CORT | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | [29] |
| | Glu | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - | [10] |
| | H ₂ O ₂ | - | - | + | - | - | - | + | - | - | - | [12] |

清素转录因子(NKX2.2、FEV、GATA2、LMX1B)与神经元转录因子(ASCL1、NGN2)相结合,能够直接高效地将人成纤维细胞转化为5-羟色胺能神经元,该神经元能够产生自发动作电位,在体外释放5-HT且对SSRI有功能性反应,再次证实人成纤维细胞诱导产生的5-羟色胺能神经元能够作为研究健康和患病人群中5-HT神经传递的新工具^[32]。TRIEBEL-HORN等^[33]将来自8名重度抑郁症(major depressive disorder, MDD)患者和8名非抑郁症对照者的皮肤成纤维细胞进行重新编码并使其分化为神经元祖细胞(neural progenitor cells, NPCs)和iPS-神经元,将成纤

维细胞从非神经元细胞转变为神经元细胞,研究结果表明在成纤维细胞中观察到的疾病特异性改变也存在于诱导性NPCs中,并且可能在重新编程和分化后影响分化的iPS-神经元的生理,从而认为这种方法能够发现新的抗抑郁药物靶点和其他治疗方法,并且可为抑郁症的分子生物学和病理生理学带来新的见解。

iPSCs因其具有稳定的基因组以及能够培养、扩增和分化成不同类型组织的特点成为药物筛选的重要工具。尽管iPSCs在包括神经退行性疾病和精神情感障碍疾病等在内的无法痊愈或得到有效治疗的

疾病中已取得一定的进展,但仍然存在一定的局限性,比如,首先iPSCs细胞类型的遗传异质性降低了识别阳性结果的机会,说明需要更好的分化方案^[34];其次,需要控制和标准化培养条件及方案;再次,细胞类型必须稳健且与疾病相关;最后,仍然需要动物模型来验证基于iPSCs的筛查平台的阳性命中率^[35]。同样,iPSCs的产生及其诱导分化成神经元需要昂贵的费用及较长的时间,故研究样本量较小,尽管存在这些挑战,但这项技术仍然具有良好的发展前景。

3 总结

综上所述,抑郁症细胞模型已成为现在研究人员关注的焦点,具有实验周期短、干扰因素少且拥有明确的机制等特点,被广泛应用于神经退行性疾病及药物筛选等方面的研究。抑郁症细胞模型可供选择的造模方式及细胞种类较多,根据抑郁症的发病机制将细胞模型的诱导方式分为皮质酮诱导模型、脂多糖诱导模型、谷氨酸诱导模型以及过氧化氢诱导模型等;细胞种类主要包括PC12细胞、HT22细胞、BV2细胞及SH-SY5Y细胞等。具体的诱导浓度及时间要根据各细胞系的敏感性而定,故研究人员需要先筛选出诱导试剂的最佳浓度及干预时间然后进行后续实验。同时,可以根据不同种类细胞的特性而选择合适的培养基进行培养。查阅大量文献发现,抑郁症细胞模型的研究指标主要包括细胞凋亡,检测其细胞凋亡率;氧化应激,检测细胞的ROS、NO、SOD、MMP、GSH、Ca²⁺等指标;炎症反应,检测炎症因子如TNF- α 等。

笔者认为,研究人员可以根据实验需要来选择合适的造模方式及细胞系构建抑郁症体外细胞模型进行实验。目前,研究人员常采用CORT、Glu诱导PC12、HT22细胞建立抑郁症体外细胞模型,模拟抑郁症的HPA轴假说、谷氨酸假说等机制,深入研究抑郁症的发病机制。另外,也会采用LPS诱导细胞系来模拟抑郁症的炎症反应机制;通过H₂O₂诱导SH-SY5Y细胞来模拟抑郁症氧化应激损伤模型。采用神经源性肿瘤的细胞系构建细胞模型是研究神经毒性的有效手段,同时也为抗抑郁药的筛选与研制奠定了一定的基础。笔者虽然对研究抑郁症发病机制常用的细胞模型进行了综述,但仍存在很多细胞系没有被列出,故存在一定的局限性。

此外,近年来iPSCs技术发展迅速并为抑郁症等

神经精神障碍疾病的疾病建模开辟了新的道路。有研究发现人成纤维细胞重新编码产生iPSCs,经诱导分化生成神经胶质前体细胞(neuroglial precursor cell, GPC)后转化为星形胶质细胞,其在皮质醇刺激后表征出单胺类神经递质受体及相关信号转导关键通路失调,突出了它们在压力暴露后MDD病理生理学中的潜在作用^[36]。但是,iPSCs技术成本昂贵且耗时,重新编程技术也存在其自身的伦理和社会问题,需要仔细考虑。

总之,细胞模型能够根据研究需求模拟抑郁症的发病机制,并且能够用于研究抗抑郁药物的筛选。研究人员可以依据上文所述建立抑郁症体外模型进行抗抑郁药物的筛选,如LIN等^[15]通过CORT诱导PC12细胞建立抑郁症体外模型并对其作用机制进行了探讨,从多方面检测证明了常春藤皂苷元具有抗抑郁的作用;XU等^[7]通过LPS诱导BV2细胞建立体外模型,证实了尿石素可能通过抑制NF- κ B、MAPK和PI3K/Akt信号通路发挥抗神经炎症作用;CHEN等^[18]通过体内外模型对刺梨苷F1抗抑郁作用的机制进行了研究,证实了其对NMDA诱导的神经毒性的保护作用。在体外模型中,研究人员可以根据研究目的选择合适的技术,如果只是进行抗抑郁药的药效学研究或者对药物中抗抑郁的活性成分进行筛选,那么可以对细胞模型进行细胞活力测试,如CCK-8、MTT法等,除此之外也可以通过检测单胺类神经递质、BDNF、炎症因子等其他抑郁症生物标记物来进行测定;如果是研究抗抑郁药物的作用机制,那么可以添加通路抑制剂或激活剂,同时借助蛋白质免疫印迹、实时荧光定量PCR、蛋白质及代谢组学等技术进行更进一步的探讨。

目前,构建体外细胞模型探究抑郁症发病机制的方法应用较为广泛。尽管体外模型具有上文所述的优势,但是仍存在问题有待解决,比如抑郁症的发病机制复杂,而体外模型的诱导方式单一,不能完全模拟体内环境;细胞培养过程中所添加的胎牛血清成分及细胞生长过程中产生的代谢产物、离子等也会影响细胞的生长;生物机体是一个统一的整体,单纯的细胞层面难以全面地说明问题,存在一定的片面性。

因此,笔者认为研究人员应考虑机体内的代谢循环的整体性,充分运用分子细胞生物学、基因工程技术等多方面知识,在进一步深入研究中

的抑郁症体外细胞模型的造模方法进行优化, 多维度、多因素地深入探究抑郁症发病的分子机制, 并且在动物模型中验证结果的可信度, 为后续抑郁症的研究提供参考和理论基础。当然, 不管是抑郁症体内外细胞模型还是体内动物模型都不能完全的替代人类, 以后仍需要进行大量的临床研究。

参考文献 (References)

- [1] FLUX M C, LOWRY C A. Finding intestinal fortitude: Integrating the microbiome into a holistic view of depression mechanisms, treatment, and resilience [J]. *Neurobiol Dis*, 2020, 135: 104578.
- [2] JAMES S L, ABATE D, ABATE K H, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. *The Lancet*, 2018, 392(10159): 1789-858.
- [3] WANG Y, MA W, LI C. Protective effect of schisandrin on CORT-induced PC12 depression cell model by inhibiting cell apoptosis *in vitro* [J]. *Appl Bionics Biomech*, 2022, 2022: 1-7.
- [4] ZHU L J, LIU M Y, LI H. The different roles of glucocorticoids in the hippocampus and hypothalamus in chronic stress-induced HPA axis hyperactivity [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97689.
- [5] DOWLATI Y, HERRMANN N, SWARDFAGER W, et al. A meta-analysis of cytokines in major depression [J]. *Biol Psychiatry*, 2010, 67(5): 446-57.
- [6] LU R, ZHANG L, WANG H, et al. Echinacoside exerts antidepressant-like effects through enhancing BDNF-CREB pathway and inhibiting neuroinflammation via regulating microglia M1/M2 polarization and JAK1/STAT3 pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 13: 993483.
- [7] XU J, YUAN C, WANG G, et al. Urolithins attenuate LPS-induced neuroinflammation in BV2 microglia via MAPK, Akt, and NF- κ B signaling pathways [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(3): 571-80.
- [8] MEHTA A, PRABHAKAR M, KUMAR P. Excitotoxicity: bridge to various triggers in neurodegenerative disorders [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 698(1/2/3): 6-18.
- [9] WOO H, CHUN M, YANG J, et al. Plasma amino acid profiling in major depressive disorder treated with selective serotonin reuptake inhibitors [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2015, 21(5): 417-24.
- [10] ZHENG X X, LI Y C, YANG K L, et al. Icariin reduces glutamate-induced excitatory neurotoxicity via antioxidative and antiapoptotic pathways in SH-SY5Y cells [J]. *Phytother Res*, 2021, 35(6): 3377-89.
- [11] 刘星, 包金凤. 神经发生在抑郁症发生发展中的作用[J]. *中国细胞生物学学报*(LIU X, BAO J F. The functions of neurogenesis in the occurring and developing of depression [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*), 2019, 41(6): 1184-92.
- [12] 于婧文, 郭敏芳, 李苏垚. 黄芪甲苷通过调控线粒体功能抑制H₂O₂诱导的SH-SY5Y细胞凋亡[J]. *中国病理生理杂志*(YU J W, GUO M F, LI S Y. Astragaloside IV inhibits H₂O₂-induced apoptosis of SH-SY5Y cells by regulating mitochondrial function [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*), 2022, 38(9): 1553-60.
- [13] LIU Y, SHEN S, LI Z, et al. Cajanin stilbene acid protects corticosterone-induced injury in PC12 cells by inhibiting oxidative and endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis [J]. *Neurochem Int*, 2014, 78: 43-52.
- [14] TIAN J, LIU S, HE X, et al. Metabolomics studies on corticosterone-induced PC12 cells: a strategy for evaluating an *in vitro* depression model and revealing the metabolic regulation mechanism [J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2018, 69: 27-38.
- [15] LIN R, LIU L, SILVA M, et al. Hederagenin protects PC12 cells against corticosterone-induced injury by the activation of the PI3K/AKT pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 712876.
- [16] CHU Q, LI Y, HUA Z, et al. Tetrastigma hemsleyanum vine flavone ameliorates glutamic acid-induced neurotoxicity via MAPK pathways [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 1-12.
- [17] CHANG D, ZHAO J, ZHANG X, et al. Effect of ketamine combined with DHA on lipopolysaccharide-induced depression-like behavior in rats [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 75: 105788.
- [18] CHEN F, WANG L, JIN F, et al. Neuroprotection of Kaji-Ichigoside F1 via the BDNF/Akt/mTOR signaling pathways against NMDA-induced neurotoxicity [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 16150.
- [19] 王俊力, 邵卫, 杨运. 脂多糖通过TLR4-MYD88信号通路诱导BV2小胶质细胞激活模型的建立[J]. *华中科技大学学报(医学版)*(WANG J L, SHAO W, YANG Y. Establishment of a BV2 microglia activation model induced by lipopolysaccharide via TLR4-My88 signaling pathway [J]. *Acta Med Univ Sci Technol Huazhong*), 2020, 49(1): 45-9.
- [20] LUO Q, YAN X, BOBROVSKAYA L, et al. Anti-neuroinflammatory effects of grossamide from hemp seed via suppression of TLR-4-mediated NF- κ B signaling pathways in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia cells [J]. *Mol Cell Biol*, 2017, 428(1/2): 129-37.
- [21] WU Y, ZHONG L, YU Z. Anti-neuroinflammatory effects of tannic acid against lipopolysaccharide-induced BV2 microglial cells via inhibition of NF- κ B activation [J]. *Drug Dev Res*, 2018, 80(2): 262-8.
- [22] 李钻芳, 林如辉, 毛敬洁, 等. 栝楼桂枝汤对谷氨酸诱导的BV-2细胞损伤的保护作用[J]. *福建中医药大学学报*(LI Z F, LIN R H, MAO J J, et al. Protective effect of Gualou Guizhi Decoction on BV-2 cells injured by glutamate [J]. *Journal of Fujian University of TCM*), 2013, 23(5): 14-7.
- [23] LIU J, LI L, SUO W Z. HT22 hippocampal neuronal cell line possesses functional cholinergic properties [J]. *Life Sci*, 2009, 84(9/10): 267-71.
- [24] LIM J, BANG Y, KIM K, et al. Differentiated HT22 cells as a novel model for *in vitro* screening of serotonin reuptake inhibitors [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 13: 1062650.
- [25] JIN X, ZHU L, LU S, et al. Baicalin ameliorates CUMS-induced depression-like behaviors through activating AMPK/PGC-1 α pathway and enhancing NIX-mediated mitophagy in mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 938: 175435.
- [26] ZHANG H, ZHOU Z, CHEN Z. Ginsenoside Rg3 exerts antidepressive effect on an NMDA-treated cell model and a chronic mild stress animal model [J]. *J Pharmacol Sci*, 2017, 134(1): 45-54.
- [27] 葛渴敏, 王薇, 薛文达, 等. 越鞠丸合甘麦大枣汤加减对谷氨酸诱导的HT22细胞损伤模型的神经保护作用[J]. *中国实验方剂学杂志*(GE K M, WANG W, XUE W D, et al. Neuroprotec-

- tive effect of Modified Yuejuwan and Ganmai Dazao Tang on glutamate-induced HT22 cell injury model [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2019, 25(12): 22-7.
- [28] DE MEDEIROS L M, DE BASTIANI M A, RICO E P, et al. Cholinergic differentiation of Human neuroblastoma SH-SY5Y cell line and its potential use as an in vitro model for Alzheimer's disease studies [J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(11): 7355-67.
- [29] 赵海霞, 周小江, 胡园. 6种开心散类方对不同物质损伤神经细胞的保护作用[J]. *中国中药杂志*(ZHAO H X, ZHOU X J, HU Y. Protective effect of six Kaixin San formulas on nerve cells injured by different materials [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*), 2012, 37(22): 3472-6.
- [30] SOLIMAN M A, ABOHARB F, ZELTNER N, et al. Pluripotent stem cells in neuropsychiatric disorders [J]. *Mol Psychiatry*, 2017, 22(9): 1241-9.
- [31] XU Z, JIANG H, ZHONG P, et al. Direct conversion of human fibroblasts to induced serotonergic neurons [J]. *Mol Psychiatry*, 2016, 21(1): 62-70.
- [32] VADODARIA K C, MERTENS J, PAQUOLA A, et al. Generation of functional human serotonergic neurons from fibroblasts [J]. *Mol Psychiatry*, 2016, 21(1): 49-61.
- [33] TRIEBELHORN J, CARDON I, KUFFNER K, et al. Induced neural progenitor cells and iPS-neurons from major depressive disorder patients show altered bioenergetics and electrophysiological properties [J]. *Mol Psychiatry*, 2022, doi: 10.1038/s41380-022-01660-1.
- [34] ROWE R G, DALEY G Q. Induced pluripotent stem cells in disease modelling and drug discovery [J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(7): 377-88.
- [35] COLPO G D, TEIXEIRA A L. Induced pluripotent stem cells (iPSCs) technology: potential targets for depression [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1305: 493-501.
- [36] HEARD K J, SHOKHIREV M N, BECRONIS C, et al. Chronic cortisol differentially impacts stem cell-derived astrocytes from major depressive disorder patients [J]. *Transl Psychiatry*, 2021, 11(1): 608.