

# 帕罗西汀通过调节HPA轴功能 及激活cAMP/PKA/CREB/BDNF通路 在CUMS小鼠中的抗抑郁样作用研究

杨柳<sup>1\*</sup> 张新宇<sup>2</sup> 张惠明<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>张家口市沙岭子医院精神四科, 张家口 075000; <sup>2</sup>张家口市沙岭子医院精神二科, 张家口 075000)

**摘要** 该研究旨在深入探讨帕罗西汀在慢性不可预知温和应激(CUMS)小鼠模型中的抗抑郁样作用机制,并聚焦于其对下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴功能的调节作用以及对cAMP/PKA/CREB/BDNF通路的激活效应。将小鼠随机分为5组: Control组、CUMS组、L-PX组(灌胃2.5 mg/kg的帕罗西汀)、H-PX组(灌胃10 mg/kg的帕罗西汀)和H-PX+H-89组(灌胃10 mg/kg的帕罗西汀+腹腔注射5 mg/kg的H-89),每组12只。利用CUMS构建小鼠抑郁模型。采用行为学实验(蔗糖偏好实验、悬尾实验和强迫游泳实验)评估抑郁样行为。采用苏木精-伊红(HE)和尼氏染色评估小鼠海马组织神经元损伤情况。采用试剂盒检测小鼠5-HT、DA、NE、CRH、ACTH、CORT和cAMP水平。采用高尔基染色观察小鼠树突棘密度。采用蛋白免疫印迹法检测PKA、p-CREB/CREB和BDNF水平。与Control组相比,CUMS组小鼠的糖水偏好率,5-HT、DA、NE和cAMP水平,树突棘密度,PKA、p-CREB/CREB和BDNF表达水平显著降低( $P<0.05$ );悬尾实验和强迫游泳实验静止时间显著延长,CRH、ACTH、CORT含量显著增加( $P<0.05$ )。与CUMS组相比,L-PX组和H-PX组小鼠的糖水偏好率,5-HT、DA、NE和cAMP水平,树突棘密度,PKA、p-CREB/CREB和BDNF表达水平显著增加( $P<0.05$ );悬尾实验和强迫游泳实验静止时间显著缩短,CRH、ACTH、CORT含量显著降低( $P<0.05$ )。与L-PX组相比,H-PX组小鼠的糖水偏好率,5-HT、DA、NE和cAMP水平,树突棘密度,PKA、p-CREB/CREB和BDNF表达水平显著增加( $P<0.05$ );悬尾实验和强迫游泳实验静止时间显著缩短,CRH、ACTH、CORT含量显著降低( $P<0.05$ )。与H-PX组相比,H-PX+H-89组小鼠的糖水偏好率,5-HT、DA、NE和cAMP水平,树突棘密度,PKA、p-CREB/CREB和BDNF表达水平显著降低( $P<0.05$ );悬尾实验和强迫游泳实验静止时间显著延长,CRH、ACTH、CORT含量显著增加( $P<0.05$ )。这提示帕罗西汀可能通过调节HPA轴功能及激活cAMP/PKA/CREB/BDNF通路发挥抗抑郁样作用。

**关键词** 帕罗西汀;慢性不可预知温和应激;抑郁;HPA轴;cAMP/PKA/CREB/BDNF信号通路

## Antidepressant-Like Effects of Paroxetine via Regulation of HPA Axis Function and Activation of the cAMP/PKA/CREB/BDNF Pathway in Mice Subjected to CUMS (Chronic Unpredictable Mild Stress)

YANG Liu<sup>1\*</sup>, ZHANG Xinyu<sup>2</sup>, ZHANG Huiming<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Department of Psychiatry IV, Shalingzi Hospital of Zhangjiakou, Zhangjiakou 075000, China;

<sup>2</sup>Department of Psychiatry II, Shalingzi Hospital of Zhangjiakou, Zhangjiakou 075000, China)

收稿日期: 2025-11-19

接受日期: 2026-02-09

张家口市科学技术研究与发展计划(批准号: 1821101D)资助的课题

\*通信作者。Tel: 0313-5039369, E-mail: yangliuqing9969@163.com

Received: November 19, 2025

Accepted: February 9, 2026

This work was supported by the Science and Technology Research and Development Project of Zhangjiakou City (Grant No.1821101D)

\*Corresponding author. Tel: +86-313-5039369, E-mail: yangliuqing9969@163.com

**Abstract** This study aimed to investigate the mechanisms underlying the antidepressant-like effects of paroxetine in a mouse model of CUMS (chronic unpredictable mild stress), focusing on its regulation of HPA (hypothalamic-pituitary-adrenal) axis function and activation of the cAMP/PKA/CREB/BDNF pathway. Mice were randomly divided into five groups ( $n=12$  per group): Control, CUMS, L-PX (administered by gavage with 2.5 mg/kg paroxetine), H-PX (administered by gavage with 10 mg/kg paroxetine), and H-PX+H-89 (administered 10 mg/kg paroxetine by gavage and 5 mg/kg H-89 via intraperitoneal injection). A mouse depression model was established using the CUMS procedure. Depression-like behaviors were assessed using behavioral tests (sucrose preference test, tail suspension test, and forced swim test). HE (hematoxylin-eosin) and Nissl staining were used to detect neuronal damage in the mouse hippocampus. The levels of 5-HT, DA, NE, CRH, ACTH, CORT, and cAMP were measured using commercial assay kits. Dendritic spine density was quantified via Golgi staining. The protein expression levels of PKA, p-CREB/CREB, and BDNF were detected by Western blot. Compared with the Control group, the CUMS group showed significantly decreased sucrose preference rate, the levels of 5-HT, DA, NE, cAMP, dendritic spine density, as well as the protein expression levels of PKA, p-CREB/CREB, and BDNF ( $P<0.05$ ), while immobility time in the tail suspension and forced swim tests, and the contents of CRH, ACTH, and CORT were significantly increased ( $P<0.05$ ). Compared with the CUMS group, both the L-PX and H-PX groups exhibited significantly increased sucrose preference rate, the levels of 5-HT, DA, NE, cAMP, dendritic spine density, as well as the protein expression levels of PKA, p-CREB/CREB, and BDNF ( $P<0.05$ ), along with significantly decreased immobility time in the tail suspension and forced swim tests, and the contents of CRH, ACTH, and CORT ( $P<0.05$ ). Compared with the L-PX group, the H-PX group showed significantly greater increases in the sucrose preference rate, the levels of 5-HT, DA, NE, cAMP, dendritic spine density, as well as the protein expression levels of PKA, p-CREB/CREB, and BDNF ( $P<0.05$ ), and significantly greater decreases in immobility time and the contents of CRH, ACTH, and CORT ( $P<0.05$ ). Compared with the H-PX group, the H-PX+H-89 group showed significantly reduced sucrose preference rate, the levels of 5-HT, DA, NE, cAMP, dendritic spine density, as well as the protein expression levels of PKA, p-CREB/CREB, and BDNF ( $P<0.05$ ), and significantly increased immobility time and the contents of CRH, ACTH, and CORT ( $P<0.05$ ). Paroxetine exerts antidepressant-like effects, potentially by regulating HPA axis function and activating the cAMP/PKA/CREB/BDNF signaling pathway.

**Keywords** paroxetine; chronic unpredictable mild stress; depression; HPA axis; cAMP/PKA/CREB/BDNF signaling pathway

抑郁症是一种常见的、易复发的精神疾病。患者常出现深度悲伤、绝望感、对日常活动丧失兴趣、注意力涣散,以及睡眠和食欲紊乱等症状,该病具有高致残率和高自杀风险<sup>[1]</sup>。据统计,人一生中患抑郁症的概率约为15%~18%,且女性患病率显著高于男性,这可能与激素水平、社会角色及心理因素等多方面作用有关。该病还常与焦虑障碍等精神疾病,以及糖尿病、心血管疾病等躯体疾病合并发生<sup>[2]</sup>。目前,抗抑郁药物是治疗抑郁症的主要手段之一。近年来,新型抗抑郁药物不断涌现,其作用机制呈现多元化特点。其中,选择性5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)再摄取抑制剂和去甲肾上腺素再摄取抑制剂是两类典型的新型药物<sup>[3]</sup>。以帕罗西汀(paroxetine

hydrochloride, PX)为代表的SSRI类药物,可通过特异性抑制突触前膜对5-HT的再摄取,发挥良好的抗抑郁作用。该类物质因选择性高、与其他药物相互作用少,已在抑郁症临床治疗中广泛应用<sup>[4]</sup>,但其抗抑郁作用机制仍未完全明确。

下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA)轴是机体应对应激源的关键内分泌调节系统<sup>[5]</sup>,其过度活跃会导致神经化学失衡及全身适应障碍,进而增加抑郁症等精神疾病的发生风险<sup>[6]</sup>。环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)/蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)/cAMP效应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)/脑源性神经营养因子(brain-derived

neurotrophic factor, BDNF)信号通路作为抑郁症研究的核心通路<sup>[7]</sup>,已被证实参与HPA轴活性的调控<sup>[8]</sup>。最新研究表明,帕罗西汀可通过调节cAMP/CREB信号通路减轻DSS诱导的小鼠结肠炎症状<sup>[9]</sup>。基于此,本研究采用慢性不可预知温和应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)小鼠模型,旨在探究帕罗西汀能否通过调控HPA轴功能及激活cAMP/PKA/CREB/BDNF通路发挥抗抑郁作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

5周龄C57BL/6J雄性小鼠[生产许可证号:SYXK(冀)2024-002]购自博晖生物制药股份有限公司。实验动物饲养于温度控制在23℃~25℃、相对湿度为50%~70%且通风条件良好的动物房内,每日光照时长设定为12 h,动物可自由摄取食物与饮水。经过为期1周的适应性饲养后,正式开展实验。本实验方案已通过张家口市沙岭子医院动物伦理委员会的审查与批准(批号:20240273),并严格遵循中华人民共和国国务院颁布的《实验动物管理条例》相关要求。

### 1.2 主要试剂及仪器

帕罗西汀(纯度:99.79%,货号:HY-122272)和PKA抑制剂H-89(纯度:≥98%,货号:HY-15979A)购自美国MedChemExpress公司;尼氏染色液(货号:R32856)、苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(货号:R20570)和高尔基染色试剂盒(货号:R41743)购自上海源叶生物科技有限公司;5-羟色胺(5-HT,货号:ml277519)、多巴胺(dopamine, DA, 货号:ml077133)、去甲肾上腺素(norepinephrine, NE, 货号:ml063805)、促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin-releasing hormone, CRH, 货号:ml32569)、皮质酮(corticosterone, CORT, 货号:ml037564)试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司;促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)试剂盒(货号:A105509)购自上海抚生生物有限公司;cAMP试剂盒(货号:JL48119)购自上海江莱生物科技有限公司;PKA抗体(货号:ab75991)、CREB抗体(货号:ab32515)、p-CREB抗体(货号:ab220798)、BDNF抗体(货号:ab108319)和GAPDH抗体(货号:ab181602)购自英国Abcam公司;D3024R型离心机购自北京DragonLab公司;Nikon Eclipse E100型正置光学显微镜购自日本Nikon公司;RT-6100型酶标仪购自深圳

Rayto公司。

### 1.3 实验动物造模与分组

本研究采用慢性不可预知温和应激(CUMS)方法构建抑郁模型,具体操作参照既往研究<sup>[10]</sup>:每日对小鼠施加两种不同类型的应激刺激,且相邻两天不重复同种刺激。CUMS刺激类型涵盖以下不可预知性温和应激源:24 h禁食、24 h禁水、12 h束缚、12 h湿笼处理、5 min夹尾刺激、6 h 45°笼具倾斜处理、5 min摇晃刺激、5 min冰水游泳及昼夜节律颠倒等。模型成功判定标准为:与正常对照组相比,造模小鼠蔗糖偏好率显著下降,且在悬尾实验和强迫游泳实验中的静止时间显著延长( $P<0.05$ )。将48只造模成功的小鼠纳入实验,按照随机数字表法分为4组,每组12只:CUMS组、L-PX组(灌胃2.5 mg/kg的帕罗西汀)、H-PX组(灌胃10 mg/kg的帕罗西汀)和H-PX+H-89组(灌胃10 mg/kg的帕罗西汀+腹腔注射5 mg/kg的H-89),每日1次,连续干预28天。本研究中的药物剂量参考既往研究<sup>[11-12]</sup>并基于前期预实验确定。另取12只正常小鼠为Control组,Control组和CUMS组每日给予等体积生理盐水灌胃及腹腔注射。

### 1.4 行为学检测

1.4.1 糖水偏好实验 该实验分适应、测试两期进行,全程共4天。首日两瓶1%蔗糖水适应24 h,次日换为一瓶蔗糖水、一瓶纯水适应24 h,第3天禁食禁水24 h后检测2 h内小鼠摄入的蔗糖水和纯水重量,按照公式计算糖水偏好率:糖水偏好率=(糖水摄入量/总液体摄入量)×100%。

1.4.2 悬尾实验 实验时,将小鼠尾部后三分之一位置用胶带固定,使其悬空挂于支架上,确保小鼠头部距台面高度为15 cm。整个观察过程持续6 min,其中前2 min作为小鼠的适应阶段,后4 min则统计小鼠处于不动状态的总时长(即静止时间)。

1.4.3 强迫游泳实验 实验时,将小鼠置于直径13 cm、深25 cm且装水高度15 cm的透明圆桶内,水温控制在23℃±1℃,以模拟慢性应激压迫环境。实验全程记录时长为6 min,前2 min为小鼠适应阶段,后4 min则统计其处于不动状态的总时长(即静止时间)。

### 1.5 样品采集

在行为学检测结束24 h后,对小鼠进行眼球取血,4℃、3 000 r/min离心10 min后取上清液,冻存于-80℃冰箱备用。从每组小鼠中随机选取6只,按

0.4 mL/100 g剂量腹腔注射1%戊巴比妥钠麻醉,随后实施断头取脑。将小鼠置于冰盘上,快速、小心分离脑组织。将每只小鼠左侧脑组织置于4%多聚甲醛溶液中,室温固定24 h,用于HE染色和尼氏染色;将右侧海马组织放入冻存管,置于-80 °C冰箱,为后续Western blot和ELISA检测做准备。此外,采用颈椎脱臼法处死每组剩余的6只小鼠,快速分离其海马组织用于高尔基染色。

### 1.6 HE染色

将固定好的海马组织依次进行脱水处理、石蜡包埋、切片以及脱蜡等常规操作步骤。于室温环境,用苏木精染色5 min,接着以自来水冲洗10 min,再用盐酸乙醇分化3 s,随后自来水冲洗10 min,之后伊红染色1 min。完成梯度脱水、透化(常规步骤)后,用中性树胶封片,最后用Nikon Eclipse E100型正置光学显微镜观察海马组织神经元形态学改变。

### 1.7 尼氏染色

取1.6中制备好的脱蜡切片,使用尼氏染液染色40 min,之后用蒸馏水冲洗1 min,再以95%乙醇进行分化,接着用二甲苯透明,最后用中性树胶封片(常规条件)。将封片后的切片置于Nikon Eclipse E100型正置光学显微镜下,观察小鼠海马CA1区域的尼氏小体形态学变化。

### 1.8 ELISA检测

将各组海马组织于冰上制成匀浆后,置于4 °C环境下,以1 500 r/min的转速离心20 min,随后取上清液。按照试剂盒操作说明,检测小鼠海马组织中5-HT、DA、NE水平,以及血清中CRH、CORT和ACTH水平。

### 1.9 高尔基染色

取1.5中分离的海马组织,按高尔基染色试剂盒步骤,A、B液混合后避光浸泡组织14天,加C液室温反应1天,再加D液室温显色。梯度乙醇脱水、中性树胶封片(常规条件),Nikon Eclipse E100型正置光学显微镜拍照,用Image Pro Plus软件分析海马体CA1区锥体神经元的树突分支,计算每10 μm树突棘密度。

### 1.10 蛋白免疫印迹

取1.5中冻存的小鼠海马组织,冰上加入含有蛋白酶抑制剂与磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液,充分研磨均匀。随后,将组织匀浆混合液于4 °C条件下1 500 r/min离心20 min,收集上清液。利用BCA蛋

白定量试剂盒测定所得蛋白样品的浓度。接着,对蛋白样品进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,之后转印至PVDF膜上,再用5%脱脂牛奶室温封闭处理2 h。随后分别加入一抗PKA(稀释比1:1 000)、CREB(稀释比1:2 000)、p-CREB(稀释比1:1 000)、BDNF(稀释比1:500)以及GAPDH(稀释比1:2 000),于4 °C环境中孵育过夜。次日,用TBST洗膜3次(每次5 min),再加入二抗(稀释比1:5 000)于室温孵育2 h。孵育结束后,再次用TBST洗膜3次(每次5 min),滴加ECL化学发光液显影成像,使用ImageJ软件进行灰度分析。

### 1.11 统计学分析

采用SPSS 23.0软件对本研究所有实验数据进行统计学分析。所有数据经检验均服从正态分布且方差齐,以均值±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。多组样本均数比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)检验,组间差异进一步采用SNK-*q*检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组小鼠行为学的比较

与Control组相比,CUMS组小鼠的糖水偏好率显著降低,悬尾实验和强迫游泳实验静止时间显著延长( $P<0.05$ );与CUMS组相比,L-PX组和H-PX组的糖水偏好率显著增加,悬尾实验和强迫游泳实验静止时间显著缩短( $P<0.05$ );与L-PX组相比,H-PX组的糖水偏好率显著增加,悬尾实验和强迫游泳实验静止时间显著缩短( $P<0.05$ );与H-PX组相比,H-PX+H-89组小鼠的糖水偏好率显著降低,悬尾实验和强迫游泳实验静止时间显著延长( $P<0.05$ );见表1。

### 2.2 各组小鼠海马组织组织学染色结果的比较

Control组海马组织内的神经元结构完整,细胞排列紧密且有序,细胞核内染色质分布均匀一致。而CUMS组则表现出明显的海马组织病理变化,海马神经元间隙增宽、排列无序,细胞体出现肿胀,细胞核呈现固缩状态。L-PX组与H-PX组的海马神经元排列情况有所改善,逐渐趋于整齐,且细胞间隙有所减小。在H-PX+H-89组中,小鼠海马组织的破坏程度较H-PX组显著加重。见图1A。

进一步观察尼氏小体,Control组中的尼氏小体结构清晰完整,形态正常。CUMS组则出现大量

尼氏小体破裂的现象,胞质染色变浅,排列杂乱无章。L-PX组与H-PX组较CUMS组仅有少量尼氏小体发生破裂,其结构相对完整,排列也较为规整。在H-PX+H-89组中,尼氏小体的破坏程度较H-PX组明显加重。见图1B。

### 2.3 各组小鼠海马组织5-HT、DA及NE水平的比较

与Control组相比,CUMS组海马组织内5-HT、DA及NE水平显著降低( $P<0.05$ );与CUMS组相比,L-PX组和H-PX组的5-HT、DA及NE水平显著升高( $P<0.05$ );与L-PX组相比,H-PX组的5-HT、DA及NE水平显著升高( $P<0.05$ );与H-PX组相比,H-PX+H-89组的5-HT、DA及NE水平显著降低( $P<0.05$ );见表2。

### 2.4 各组小鼠神经元树突棘密度的比较

与Control组相比,CUMS组海马神经元树突棘密度显著降低( $P<0.05$ );与CUMS组相比,L-PX组和

H-PX组的树突棘密度显著增加( $P<0.05$ );与L-PX组相比,H-PX组的树突棘密度显著增加( $P<0.05$ );与H-PX组相比,H-PX+H-89组的树突棘密度显著降低( $P<0.05$ );见表3、图2。

### 2.5 各组小鼠血清CRH、ACTH、CORT含量的比较

与Control组相比,CUMS组血清中CRH、ACTH、CORT含量显著增加( $P<0.05$ );与CUMS组相比,L-PX组和H-PX组的CRH、ACTH、CORT含量显著降低( $P<0.05$ );与L-PX组相比,H-PX组的CRH、ACTH、CORT含量显著降低( $P<0.05$ );与H-PX组相比,H-PX+H-89组的CRH、ACTH、CORT含量显著增加( $P<0.05$ );见表4。

### 2.6 各组小鼠cAMP/PKA/CREB/BDNF通路相关蛋白表达水平的比较

与Control组相比,CUMS组海马组织内cAMP

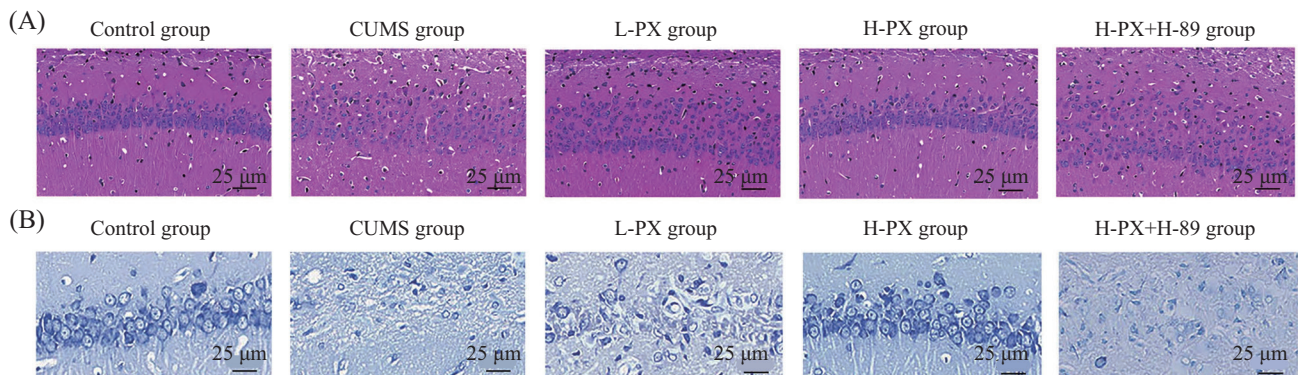
表1 各组小鼠行为学指标的比较

Table 1 Comparison of behavioral indexes of mice in each group

组别 Group	糖水偏好率/% Sugar preference rate /%	悬尾实验静止时间/s Immobility time in the tail suspension test /s	强迫游泳实验静止时间/s Immobility time in the forced swim test /s
Control group	76.25±5.83	78.94±4.65	80.45±7.59
CUMS group	40.01±4.36*	162.42±14.26*	175.34±18.99*
L-PX group	51.23±5.77 <sup>#</sup>	131.87±11.59 <sup>#</sup>	140.78±15.29 <sup>#</sup>
H-PX group	66.14±5.63 <sup>#Δ</sup>	96.34±7.53 <sup>#Δ</sup>	101.32±9.65 <sup>#Δ</sup>
H-PX+H-89 group	53.81±4.39 <sup>▽</sup>	123.76±10.59 <sup>▽</sup>	137.26±10.08 <sup>▽</sup>
<i>F</i>	85.790	30.467	96.693
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

\* $P<0.05$ ,与Control组比较;<sup>#</sup> $P<0.05$ ,与CUMS组比较;<sup>Δ</sup> $P<0.05$ ,与L-PX组比较;<sup>▽</sup> $P<0.05$ ,与H-PX组比较。 $n=12$ , $\bar{x}\pm s$ 。

\* $P<0.05$  compared with the Control group; <sup>#</sup> $P<0.05$  compared with CUMS group; <sup>Δ</sup> $P<0.05$  compared with L-PX group; <sup>▽</sup> $P<0.05$  compared with H-PX group.  $n=12$ ,  $\bar{x}\pm s$ .



A: HE染色; B: 尼氏染色。

A: HE staining; B: Nissl staining.

图1 各组小鼠海马组织组织学染色结果的比较

Fig.1 Comparison of histological staining results of hippocampus of mice in each group

表2 各组小鼠海马组织5-HT、DA及NE水平的比较

Table 2 Comparison of 5-HT, DA and NE levels in hippocampus of mice in each group

组别 Group	5-HT /pg·mL <sup>-1</sup>	DA /pg·mL <sup>-1</sup>	NE /pg·mL <sup>-1</sup>
Control group	261.34±19.82	88.46±7.12	136.89±10.57
CUMS group	183.23±12.49*	32.10±2.63*	57.94±3.71*
L-PX group	209.41±15.27 <sup>#</sup>	46.89±4.41 <sup>#</sup>	82.76±6.95 <sup>#</sup>
H-PX group	241.05±18.67 <sup>#△</sup>	72.37±7.53 <sup>#△</sup>	115.32±10.01 <sup>#△</sup>
H-PX+H-89 group	205.71±16.34 <sup>▽</sup>	50.39±3.94 <sup>▽</sup>	90.69±8.46 <sup>▽</sup>
<i>F</i>	20.502	99.799	80.189
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

\**P*<0.05, 与Control组比较; <sup>#</sup>*P*<0.05, 与CUMS组比较; <sup>△</sup>*P*<0.05, 与L-PX组比较; <sup>▽</sup>*P*<0.05, 与H-PX组比较。n=6,  $\bar{x}\pm s$ 。

\**P*<0.05 compared with Control group; <sup>#</sup>*P*<0.05 compared with CUMS group; <sup>△</sup>*P*<0.05 compared with L-PX group; <sup>▽</sup>*P*<0.05 compared with H-PX group. n=6,  $\bar{x}\pm s$ .

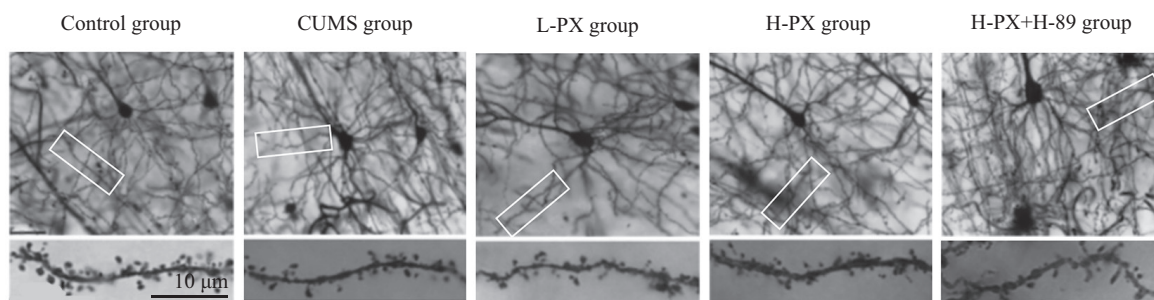
表3 各组小鼠神经元树突棘密度的比较

Table 3 Comparison of dendritic spine density in neurons of mice in each group

组别 Group	树突棘密度(每10 μm) Dendritic spine density (per 10 μm)
Control group	11.05±0.89
CUMS group	2.64±0.37*
L-PX group	4.97±0.53 <sup>#</sup>
H-PX group	8.72±0.92 <sup>#△</sup>
H-PX+H-89 group	5.53±0.61 <sup>▽</sup>
<i>F</i>	135.208
<i>P</i>	<0.001

\**P*<0.05, 与Control组比较; <sup>#</sup>*P*<0.05, 与CUMS组比较; <sup>△</sup>*P*<0.05, 与L-PX组比较; <sup>▽</sup>*P*<0.05, 与H-PX组比较。n=6,  $\bar{x}\pm s$ 。

\**P*<0.05 compared with Control group; <sup>#</sup>*P*<0.05 compared with CUMS group; <sup>△</sup>*P*<0.05 compared with L-PX group; <sup>▽</sup>*P*<0.05 compared with H-PX group. n=6,  $\bar{x}\pm s$ .



白色方框标示代表性神经元树突棘。

White boxes marked representative neuronal dendritic spines.

图2 各组小鼠神经元树突棘密度的比较

Fig.2 Comparison of dendritic spine density of neurons of mice in each group

含量, PKA、p-CREB/CREB和BDNF表达水平显著降低(*P*<0.05); 与CUMS组相比, L-PX组和H-PX组的cAMP含量, PKA、p-CREB/CREB和BDNF表达水平显著升高(*P*<0.05); 与H-PX组相比, H-PX+H-89组的cAMP含量, PKA、p-CREB/CREB和BDNF表达水平显著降低(*P*<0.05); 见表5、图3。

### 3 讨论

压力是抑郁症发生发展的重要诱因。CUMS是一种经广泛验证的抑郁动物造模方法, 通过持续施加不同轻度应激方案, 如社会隔离、昼夜节律紊乱以及日常生活习惯改变等, 能够有效模拟人类长期处于低强度应激状态<sup>[13]</sup>。海马体是与情绪反应相

表4 各组小鼠血清CRH、ACTH、CORT含量的比较

Table 4 Comparison of the contents of CRH, ACTH and CORT in serum of mice in each group

组别 Group	CRH /pg·mL <sup>-1</sup>	ACTH /pg·mL <sup>-1</sup>	CORT /ng·mL <sup>-1</sup>
Control group	69.59±3.12	58.43±3.52	179.94±6.27
CUMS group	102.67±5.29*	79.82±2.97*	238.76±4.54*
L-PX group	89.73±3.37 <sup>#</sup>	70.54±3.23 <sup>#</sup>	209.48±5.37 <sup>#</sup>
H-PX group	73.25±4.05 <sup>#Δ</sup>	63.79±3.07 <sup>#Δ</sup>	185.63±4.29 <sup>#Δ</sup>
H-PX+H-89 group	82.34±4.26 <sup>▽</sup>	71.08±2.92 <sup>▽</sup>	203.18±3.95 <sup>▽</sup>
<i>F</i>	126.156	79.265	263.116
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

\**P*<0.05, 与Control组比较; <sup>#</sup>*P*<0.05, 与CUMS组比较; <sup>Δ</sup>*P*<0.05, 与L-PX组比较; <sup>▽</sup>*P*<0.05, 与H-PX组比较。n=6,  $\bar{x}\pm s$ 。

\**P*<0.05 compared with Control group; <sup>#</sup>*P*<0.05 compared with CUMS group; <sup>Δ</sup>*P*<0.05 compared with L-PX group; <sup>▽</sup>*P*<0.05 compared with H-PX group. n=6,  $\bar{x}\pm s$ 。

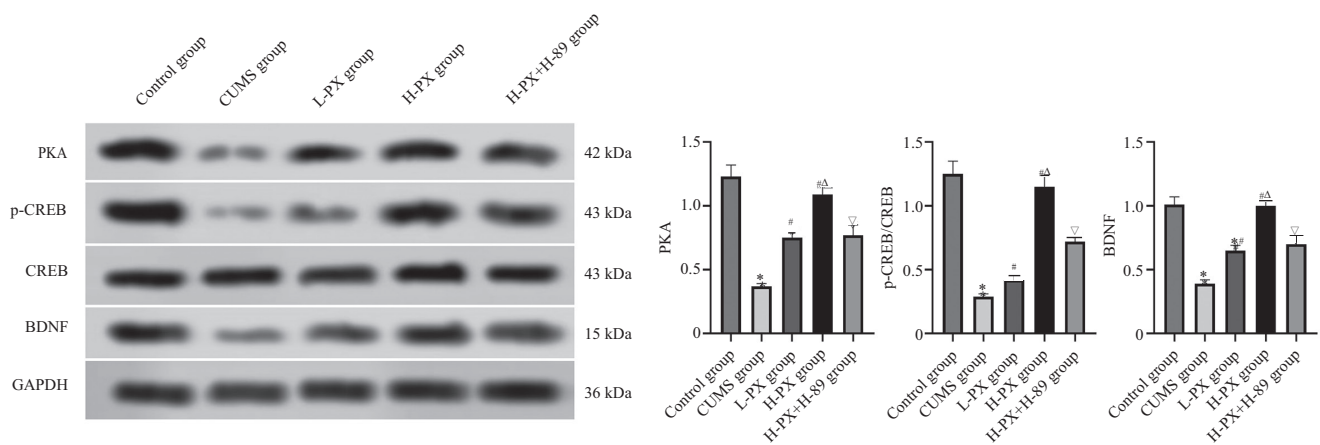
表5 各组小鼠cAMP水平的比较

Table 5 Comparison of cAMP levels of mice in each group

组别 Group	cAMP /nmol·L <sup>-1</sup>
Control group	1.65±0.11
CUMS group	0.86±0.09*
L-PX group	1.15±0.10 <sup>#</sup>
H-PX group	1.47±0.12 <sup>#Δ</sup>
H-PX+H-89 group	1.22±0.08 <sup>▽</sup>
<i>F</i>	54.324
<i>P</i>	<0.001

\**P*<0.05, 与Control组比较; <sup>#</sup>*P*<0.05, 与CUMS组比较; <sup>Δ</sup>*P*<0.05, 与L-PX组比较; <sup>▽</sup>*P*<0.05, 与H-PX组比较。n=6,  $\bar{x}\pm s$ 。

\**P*<0.05 compared with Control group; <sup>#</sup>*P*<0.05 compared with CUMS group; <sup>Δ</sup>*P*<0.05 compared with L-PX group; <sup>▽</sup>*P*<0.05 compared with H-PX group. n=6,  $\bar{x}\pm s$ 。



\**P*<0.05, 与Control组比较; <sup>#</sup>*P*<0.05, 与CUMS组比较; <sup>Δ</sup>*P*<0.05, 与L-PX组比较; <sup>▽</sup>*P*<0.05, 与H-PX组比较。n=6,  $\bar{x}\pm s$ 。

\**P*<0.05 compared with Control group; <sup>#</sup>*P*<0.05 compared with CUMS group; <sup>Δ</sup>*P*<0.05 compared with L-PX group; <sup>▽</sup>*P*<0.05 compared with H-PX group. n=6,  $\bar{x}\pm s$ 。

图3 各组小鼠PKA/CREB/BDNF通路相关蛋白表达水平的比较

Fig.3 Comparison of the expression levels of PKA/CREB/BDNF pathway-related proteins of mice in each group

关的边缘结构之一,也是抑郁症研究中关注最多的大脑区域。本研究采用CUMS方法成功构建小鼠抑郁模型。经CUMS处理后,模型小鼠表现精神萎靡、易惊厥、糖水摄入量减少等抑郁样行为,且在悬尾实验与强迫游泳实验中,静止时间显著延长。组织学检查发现,小鼠海马区细胞呈现溶解性改变,细胞排列失去正常结构,这证实了CUMS造模可诱导小鼠海马组织发生病理性损伤。帕罗西汀属于苯哌啶衍生物,是选择性血清素再摄取抑制剂中疗效较强、选择性较高的药物之一。其主要通过阻断神经元突触前膜5-HT的转运体,抑制5-HT的重吸收,使突触间隙中5-HT浓度升高,促进5-HT神经传导,从而缓解抑郁、焦虑及睡眠障碍等症状<sup>[14]</sup>。同时,5-HT神经递质活性的增强还能有效改善运动功能。因此,帕罗西汀不仅可缓解抑郁与焦虑症状,亦有助于海马神经可塑性恢复<sup>[15]</sup>。本研究结果表明,帕罗西汀干预后,CUMS模型小鼠惊厥易感性降低,糖水偏好率显著提升,悬尾与强迫游泳实验中的静止时间明显缩短。组织学分析显示,海马区神经元排列趋于规整,细胞出现溶解破坏的现象减少。同时,海马组织中神经递质5-HT、DA及NE含量较CUMS组显著升高。此外,CUMS诱导的持续慢性应激可诱导突触可塑性损伤。临床与动物研究已证实,突触可塑性损伤是抑郁症发生发展的关键病理机制之一<sup>[16]</sup>。因此,本研究进一步检测了帕罗西汀对突触可塑性的影响,结果显示,帕罗西汀治疗可显著提高小鼠树突棘密度。上述结果提示,帕罗西汀可能通过减轻海马组织损伤、改善突触可塑性及调节神经递质系统功能,发挥抗抑郁作用。

HPA轴在抑郁症等情感障碍的进程中发挥关键调控作用<sup>[17]</sup>。病理生理学研究表明,慢性应激可引发HPA轴功能亢进,促使CRH、ACTH及糖皮质激素(如CORT)等异常分泌,造成神经内分泌调节回路代偿失调<sup>[18]</sup>。此类激素的持续高水平状态对边缘系统具有显著神经毒性,特别是海马区锥体细胞树突重塑障碍及神经发生抑制,这一病理改变是抑郁症特征性损伤的重要分子基础<sup>[19]</sup>。本实验通过ELISA检测发现,CUMS模型组实验动物血清中CRH、ACTH与CORT含量显著高于对照组,进一步证实抑郁模型小鼠HPA轴稳态失衡的典型特征。临床研究表明,巴戟天寡糖联合帕罗西汀治疗可抑制抑郁症患者血清ACTH表达,进而缓解其抑郁及焦虑状态<sup>[20]</sup>。

另有研究报道,帕罗西汀联合柴胡加龙骨牡蛎汤治疗围绝经期冠心病伴焦虑抑郁(肾虚肝郁证)患者后,其血清CRH、ACTH和CORT水平显著降低<sup>[21]</sup>。本研究也同样发现,CUMS模型小鼠经帕罗西汀治疗后血清CRH、ACTH与CORT含量显著降低,提示帕罗西汀可通过调节HPA轴稳态失衡,改善抑郁小鼠神经功能。

cAMP和BDNF被认为是抗抑郁治疗的潜在靶点。cAMP是G蛋白偶联受体受特定信号刺激后产生的第二信使<sup>[22]</sup>。在脑细胞中,cAMP水平升高可激活cAMP/PKA/CREB/BDNF信号通路,促进BDNF的积累。积累后的BDNF会进一步与TrkB结合,激活TrkB受体,从而调控神经元的存活、生长以及突触可塑性<sup>[23]</sup>。据相关研究报道,长期慢性应激会减少神经元内cAMP的生成,损害伏隔核区域的血脑屏障完整性,增强个体对压力的易感性<sup>[24]</sup>。而促进cAMP与PKA结合,可通过调节突触可塑性和恢复HPA轴功能发挥抗抑郁作用<sup>[22,25]</sup>。此外,激活CREB/BDNF信号通路也可减轻皮质醇诱导的海马神经元损伤,进而减轻抑郁症状<sup>[26]</sup>。另有研究指出,BDNF与TrkB结合,能进一步激活CREB,调节神经系统的突触可塑性与神经再生,从而缓解抑郁症状<sup>[27-28]</sup>。此外,研究证实,BDNF参与慢性约束应激诱导的情绪障碍中HPA轴功能的调节<sup>[5]</sup>。多项研究报道显示,在抑郁状态下,脑内PKA、CREB、BDNF的表达水平显著降低,恢复其水平可发挥抗抑郁治疗作用<sup>[29-30]</sup>。上述发现共同表明,cAMP/PKA/CREB/BDNF信号通路在抑郁症的发生发展中扮演关键角色。本研究结果显示,CUMS抑郁模型小鼠海马组织中cAMP水平及PKA、p-CREB/CREB、BDNF表达水平均出现下降,表明cAMP/PKA/CREB/BDNF信号通路在抑郁症小鼠中受到抑制。这一结果与抑郁症发病机制中cAMP/PKA/CREB/BDNF信号通路下调导致神经可塑性受损进而导致抑郁行为的经典理论相符。经帕罗西汀预处理后,抑郁模型小鼠海马组织cAMP含量及PKA、p-CREB/CREB、BDNF表达水平均显著升高,提示帕罗西汀可能通过激活海马cAMP/PKA/CREB/BDNF信号通路减轻小鼠抑郁样行为。该结果不仅验证了“cAMP水平升高可激活PKA/CREB/BDNF轴”这一关键环节,也在CUMS模型中通过药物干预证实了该通路的完整调控作用。为进一步明确其机制,本研究在给予抑郁模型

小鼠帕罗西汀预处理的基础上, 施加了PKA抑制剂干预。结果显示, 与帕罗西汀预处理组相比, 施加PKA抑制剂后, 小鼠海马组织中cAMP/PKA/CREB/BDNF信号通路激活受到抑制, 树突棘密度降低, HPA轴活性增强, 同时抑郁行为加重。这种“通路抑制—行为恶化-HPA轴激活”的连锁反应, 与经典理论中“HPA轴持续激活可通过糖皮质激素受体抑制cAMP生成”的负反馈机制相互印证, 形成完整调控环路。进一步说明促进海马cAMP/PKA/CREB/BDNF信号通路激活是帕罗西汀减轻抑郁样行为的作用机制之一。值得关注的是, 本研究通过PKA抑制剂干预实验, 在CUMS小鼠体内验证了“帕罗西汀需通过激活cAMP/PKA/CREB/BDNF通路才能发挥抗抑郁作用”的因果关系, 为经典理论提供了关键的行为学与分子生物学证据。

综上所述, 帕罗西汀可通过调节HPA轴功能及激活cAMP/PKA/CREB/BDNF通路发挥抗抑郁样作用。本研究为抑郁症的发病机制研究和临床治疗提供了新的理论依据, 但具体的分子机制仍需进一步深入研究。未来可深入探讨其具体分子机制, 以及这些作用与抑郁症其他病理生理特征之间的关系, 为开发更有效的抗抑郁药物提供新的靶点和思路。

### 参考文献 (References)

- [1] CHEN Y, ZHANG Y, WANG J Y, et al. Anti-neuroinflammation effects of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation against depression-like behaviors via hypothalamic  $\alpha 7nAChR/JAK2/STAT3/NF-\kappa B$  pathway in rats exposed to chronic unpredictable mild stress [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2023, 29(9): 2634-44.
- [2] RATAJCZAK P, MARTYŃSKI J, ZIĘBA K J, et al. Comparative efficacy of animal depression models and antidepressant treatment: a systematic review and meta-analysis [J]. *Pharmaceutics*, 2024, 16(9): 846-55.
- [3] AGHAJANI R, NADERI N, SADEGHI N, et al. Distribution of plasma one-carbon metabolism factors and amino acids profile in depression state treated with paroxetine: a model study [J]. *Cell J*, 2023, 25(3): 165-75.
- [4] KOWALSKA M, NOWACZYK J, FIJAŁKOWSKI L, et al. Paroxetine-overview of the molecular mechanisms of action [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 1662.
- [5] GENG X W, WU H Y, LI Z F, et al. Jie-Yu-He-Huan capsule ameliorates anxiety-like behaviours in rats exposed to chronic restraint stress via the cAMP/PKA/CREB/BDNF signalling pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 1703981.
- [6] GEORGIU P, FARMER C A, MEDEIROS G C, et al. Associations between hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis hormone levels, major depression features and antidepressant effects of ketamine [J]. *J Affect Disord*, 2025, 373: 126-32.
- [7] CHEN D K, WANG J K, CAO J, et al. cAMP-PKA signaling pathway and anxiety: where do we go next [J]? *Cell Signal*, 2024, 122: 111311.
- [8] LU R R, ZHANG L, WANG H 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*, 2022, 13: 993483.
- [9] ZHANG J W, ZHANG X Z, LU M D, et al. GRK2 mediates macrophage polarization by regulating EP4-cAMP-pCREB signaling in ulcerative colitis and the therapeutic effect of paroxetine on mice with DSS-induced colitis [J]. *Pharmaceutics*, 2023, 16(5): 664.
- [10] 卢杨君, 陈磊, 伍春桃, 等. 白术多糖对CUMS模型小鼠抑郁样行为及其脑肠轴和HPA轴的影响 [J]. *天然产物研究与开发* (LU Y J, CHEN L, WU C T, et al. Effects of atractylodes macrocephala polysaccharides on depressive-like behavior, brain-gut axis and HPA axis in CUMS model mice [J]. *Natural Product Research and Development*), 2025, 37(1): 1-9.
- [11] 魏乐, 黄欣怡, 颜梦园, 等. 帕罗西汀对慢性应激性小鼠抑郁样行为和干细胞因子的影响 [J]. *湖北民族大学学报(医学版)* (WEI L, HUANG X Y, YAN M Y, et al. Effects of paroxetine on depression-like behaviors and stem cell factors in chronic stress mice [J]. *Journal of Hubei Minzu University, Medical Edition*), 2022, 39(3): 8-11.
- [12] 陈羽, 王佳斌, 颜建宏, 等. 基于cAMP/PKA/CREB信号通路探讨柴胡皂苷对多发性抽动症小鼠的治疗作用 [J]. *山东医药* (CHEN Y, WANG J B, YAN J H, et al. Therapeutic effect of saikosaponin on Tourette syndrome mice based on cAMP/PKA/CREB signaling pathway [J]. *Shandong Medical Journal*), 2024, 64(19): 25-9.
- [13] BASHIR M I, ABDUL AZIZ N H K, MOHAMED NOOR D A. Antidepressant-like effects of polygonum minus aqueous extract in chronic ultra-mild stress-induced depressive mice model [J]. *Behav Sci*, 2022, 12(6): 196.
- [14] YUAN L L, CHEN T Y, HUANG Z Q. Effects of paroxetine hydrochloride combined with idebenone on inflammatory factors and antioxidant molecules in treatment of depression after ischemic stroke [J]. *Pak J Med Sci*, 2023, 39(1): 17-22.
- [15] JIANG L L, WU Y L, MO Y, et al. The effects of paroxetine therapy on depressive symptom and motor function in the treatment of depression with Parkinson's disease: a meta-analysis [J]. *Medicine* 2023, 102(34): e34687.
- [16] 刘畅, 郭紫文, 宋婷宇, 等. 基于NLRP3/GSDMD信号通路探究栀子厚朴汤及其药对的抗抑郁作用 [J]. *中国实验方剂学杂志* (CHEN C, GUO Z W, SONG T Y, et al. Mechanisms of antidepressant effect of Zhizi Houputang and its herbal pairs based on NLRP3/GSDMD signaling pathway [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*), 2026, 32(6): 72-80.
- [17] WANG H, HU J, HU J, et al. Antidepressant effect of 4-Butyl-alpha-agarofuran via HPA axis and serotonin system [J]. *Brain Res Bull*, 2023, 198: 3-14.
- [18] LEITE J A, ORELLANA A M, ANDREOTTI D Z, et al. Ouabain reverts CUS-induced disruption of the HPA axis and avoids long-term spatial memory deficits [J]. *Biomedicines*, 2023, 11(4): 1177.
- [19] LIU J W, MENG T W, WANG C J, et al. Natural products for the

- treatment of depression: insights into signal pathways influencing the hypothalamic-pituitary-adrenal axis [J]. *Medicine*, 2023, 102(44): e35862.
- [20] 刘欣, 唐颖, 王亚男, 等. 巴戟天寡糖联合帕罗西汀对老年抑郁症患者血清FGF-22及ACTH表达的影响[J]. *西部中医药* (LIU X, TANG Y, WANG Y N, et al. Influence of morinda citrifolia oligosaccharide joined with paroxetine on the expressions of serum FGF-22 and ACTH in senile patients with depression [J]. *Western Journal of Traditional Chinese Medicine*), 2024, 37(1): 128-31.
- [21] 徐丹丹, 苏星宇, 武星旭. 柴胡加龙骨牡蛎汤联合帕罗西汀治疗围绝经期冠心病伴焦虑抑郁肾虚肝郁证效果观察[J]. *临床误诊误治* (XU D D, SU X Y, WU X X. Observation on the effect of Chaihu Longgu Muli decoction combined with paroxetine in the treatment of perimenopausal coronary heart disease in patients with anxiety and depression of kidney deficiency and liver depression syndrome [J]. *Clinical Misdiagnosis & Mitherapy*), 2025, 38(14): 94-9.
- [22] GAO F, YANG S J, WANG J, et al. cAMP-PKA cascade: an outdated topic for depression [J]? *Biomed Pharmacother*, 2022, 150: 113030.
- [23] SHAO Q F, LI Y, JIN L, et al. Semen cuscutae flavonoids activated the cAMP-PKA-CREB-BDNF pathway and exerted an antidepressant effect in mice [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1491900.
- [24] ZHANG Y, LU W H, WANG Z B, et al. Reduced neuronal cAMP in the nucleus accumbens damages blood-brain barrier integrity and promotes stress vulnerability [J]. *Biol Psychiatry*, 2020, 87(6): 526-37.
- [25] ZHANG Z Y, LIU Y F, ZHANG S J, et al. Rescue of CUMS-induced HPA axis hyperfunction and hypothalamic synaptic deficits by *Citrus aurantium* L. cv. Daidai essential oil via the cAMP/PKA/Grin2b pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 343: 119423.
- [26] MO F F, TANG Y X, DU P, et al. GPR39 protects against corticosterone-induced neuronal injury in hippocampal cells through the CREB-BDNF signaling pathway [J]. *J Affect Disord*, 2020, 272: 474-84.
- [27] GONG G W, GANESAN K, WANG Y J, et al. Ononin ameliorates depression-like behaviors by regulating BDNF-TrkB-CREB signaling *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 320: 117375.
- [28] 王文瑞, 韩文华, 董爱爱, 等. 腧穴“解郁方”对慢性不可预测轻度应激抑郁大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴及BDNF/TrkB/CREB通路的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志* (WANG W R, HAN W H, DONG A A, et al. Effects of acupuncture “Jieyu Formula” on hypothalamic-pituitary-adrenal axis and BDNF/TrkB/CREB pathway in rats with chronic and unpredictable mild stress-induced depression [J]. *Chinese Journal of Integrative Medicine on Cardio-Cerebrovascular Disease*), 2024, 22(8): 1416-22.
- [29] 雷晶晶, 何乾超, 高玉广, 等. 基于cAMP/PKA/CREB/BDNF通路的中药治疗抑郁症的药理机制研究进展[J]. *环球中医药* (LEI J J, HE Q C, GAO Y G, et al. Research progress in the treatment of depression with traditional Chinese medicine based on cAMP/PKA/CREB/BDNF pathway [J]. *Global Traditional Chinese Medicine*), 2025, 18(2): 339-47.
- [30] A R H, GONG Q, TUO Y J, et al. *Syringa oblata* Lindl extract alleviated corticosterone-induced depression via the cAMP/PKA/CREB/BDNF pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 341: 119274.