

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research艾司氯胺酮通过调控 TREK-1 影响 BDNF/TrkB
通路改善小鼠产后抑郁的研究Research of esketamine alleviating postpartum depression in mice through
regulating TREK-1 to modulate the BDNF/TrkB pathway

蒋 飞, 朱 吉

(常州市妇幼保健院 药学部, 江苏 常州
213000)

JIANG Fei, ZHU Ji

(Department of Pharmacy, Changzhou
Maternal and Child Health Care
Hospital, Changzhou 213000, Jiangsu
Province, China)作者简介: 蒋飞(1986-), 女, 主管药师, 主要
从事药学方面的工作和研究

通信作者: 朱吉, 副主任药师

MP: 15961206898

E-mail: 13606120542@163.com

摘要:目的 探讨艾司氯胺酮(Esk)通过调控双孔钾通道相关蛋白(TWIK)相关钾离子通道1(TREK-1)激活脑源性神经营养因子(BDNF)/酪氨酸蛋白激酶受体B(TrkB)通路对小鼠产后抑郁(PPD)样行为的作用。方法 将50只C57BL/6J妊娠小鼠随机分为空白组、模型组、实验组、oe-NC组及oe-TREK-1组,每组10只。用慢性温和不可预知刺激(CUMS)法诱导妊娠小鼠建立PPD模型,空白组不建模,给予等量生理盐水;模型组经CUMS造模后给予等量生理盐水;实验组造模后腹腔注射Esk($5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$);oe-NC组尾静脉注射慢病毒包被的oe-NC后造模并给予Esk;oe-TREK-1组尾静脉注射慢病毒包被的oe-TREK-1后造模并给予Esk。通过糖水偏好实验(SPT)法和尾悬吊实验(TST)法评估小鼠抑郁样行为;用苏木精-伊红(HE)染色法和尼氏(Nissl)染色法评估海马组织病理特征;用实时荧光定量聚合酶链式反应法和蛋白质印迹法检测海马组织中TREK-1的表达情况;用酶联免疫吸附法测定血清性激素表达水平;用免疫组化法检测小胶质细胞标志蛋白表达情况;用蛋白质印迹法检测内质网应激相关蛋白表达;用免疫荧光法检测脑源性神经营养因子(BDNF)和酪氨酸蛋白激酶B(TrkB)相对表达水平。结果 空白组、模型组、实验组、oe-NC组和oe-TREK-1组小鼠的糖水偏好率分别为(84.74 ± 14.46)%、(19.08 ± 2.86)%、(79.62 ± 12.54)%、(80.15 ± 11.38)%和(52.44 ± 8.15)%,尾悬吊实验不动时间占比分别为(31.16 ± 4.63)%、(75.38 ± 14.62)%、(49.26 ± 8.59)%、(48.97 ± 7.82)%和(62.53 ± 9.24)%;海马组织中TREK-1 mRNA相对表达水平分别为 1.00 ± 0.15 、 2.87 ± 0.45 、 1.55 ± 0.21 、 1.56 ± 0.19 和 2.18 ± 0.36 ,TREK-1蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.16 、 2.75 ± 0.38 、 1.86 ± 0.27 、 1.84 ± 0.19 和 2.44 ± 0.34 ;血清雌二醇(E2)水平分别为($1\,263.55\pm 152.77$)、(638.16 ± 78.32)、(985.24 ± 107.48)、(981.67 ± 106.34)和(752.33 ± 116.45) $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$,孕酮(P)水平分别为(9.53 ± 1.06)、(3.48 ± 0.59)、(8.54 ± 1.07)、(8.47 ± 1.04)和(5.62 ± 1.02) $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,催乳素(PRL)水平分别为(15.98 ± 2.19)、(29.31 ± 4.62)、(19.25 ± 2.58)、(19.88 ± 2.67)和(23.47 ± 3.46) $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$;海马组织Iba-1蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.16 、 0.35 ± 0.05 、 0.87 ± 0.14 、 0.85 ± 0.13 和 0.61 ± 0.11 ,GRP78蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.17 、 1.58 ± 0.16 、 1.17 ± 0.14 、 1.09 ± 0.18 和 1.35 ± 0.17 ,CHOP蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14 、 1.71 ± 0.23 、 1.13 ± 0.16 、 1.11 ± 0.12 和 1.34 ± 0.18 ,Cleaved casp-12蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.16 、 1.45 ± 0.19 、 1.19 ± 0.13 、 1.16 ± 0.12 和 1.38 ± 0.16 ;BDNF的相对荧光强度分别为 1.00 ± 0.16 、 0.38 ± 0.06 、 0.84 ± 0.09 、 0.83 ± 0.11 和 0.64 ± 0.08 ,TrkB的相对荧光强度分别为 1.00 ± 0.17 、 0.57 ± 0.09 、 0.92 ± 0.14 、 0.91 ± 0.12 和 0.75 ± 0.11 ,模型组的上述指标与空白组比较,实验组的上述指标与模型组比较,oe-TREK-1组的上述指标与oe-NC组比较,在统计学上差异均有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$)。结论 艾司氯胺酮可以通过抑制TREK-1表达,

调节性激素平衡,改善小胶质细胞功能及内质网应激,进而激活 BDNF/TrkB 通路,最终缓解小鼠产后抑郁样行为。

关键词:艾司氯胺酮;产后抑郁症;双孔钾通道相关蛋白相关钾离子通道 1;脑源性神经营养因子/酪氨酸蛋白激酶受体 B

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.09.014

中图分类号:R971.2 **文献标志码:**A

文章编号:1001-6821(2026)09-1284-09

Abstract: Objective To investigate the mechanism of esketamine (Esk) ameliorating postpartum depression (PPD) – like behaviors in mice by regulating the two pore domain potassium channel (TWIK) – related K^+ channel 1 (TREK – 1) to activate the brain – derived neurotrophic factor (BDNF)/tyrosine kinase receptor B (TrkB) pathway, and to provide experimental evidence for clarifying the pathogenesis of PPD and developing novel targeted therapeutic strategies. **Methods** A total of 50 C57BL/6J pregnant mice were randomly divided into five groups ($n = 10$ per group): control group, model group, experimental group, oe – NC group and oe – TREK – 1 group. A PPD model was established in pregnant mice using the chronic unpredictable mild stress (CUMS) method. The control group was given an equal volume of normal saline; the model group was given normal saline after CUMS modeling; the experimental group was intraperitoneally injected with Esk ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) once daily for 3 weeks after modeling; the oe – NC group was injected with lentivirus – encapsulated oe – NC by the tail vein before modeling and subsequent Esk administration; the oe – TREK – 1 group was injected with lentivirus – encapsulated oe – TREK – 1 by the tail vein before modeling and subsequent Esk administration. Depressive – like behaviors were evaluated using the sucrose preference test (SPT) and tail suspension test (TST). Hematoxylin – eosin (HE) staining and Nissl staining were used to observe the pathological morphology of hippocampal tissue; real – time fluorescent quantitative polymerase chain reaction and Western blotting were employed to detect the relative expression levels of TREK – 1 in hippocampal tissue; enzyme – linked immunosorbent assay was utilized to measure the expression levels of serum sex hormones; immunohistochemistry was adopted to detect the expression of microglial marker proteins; Western blotting was used to determine the relative expression levels of endoplasmic reticulum stress – related proteins; immunofluorescence was applied to detect the relative expression levels of brain – derived neurotrophic factor (BDNF) and tyrosine protein kinase B (TrkB). **Results** The sucrose preference rates in the control, model, experimental, oe – NC and oe – TREK – 1 groups were $(84.74 \pm 14.46)\%$, $(19.08 \pm 2.86)\%$, $(79.62 \pm 12.54)\%$, $(80.15 \pm 11.38)\%$ and $(52.44 \pm 8.15)\%$, respectively; the immobility time ratios in the tail suspension test were $(31.16 \pm 4.63)\%$, $(75.38 \pm 14.62)\%$, $(49.26 \pm 8.59)\%$, $(48.97 \pm 7.82)\%$ and $(62.53 \pm 9.24)\%$, respectively; the relative expression levels of TREK – 1 mRNA in the hippocampal tissues were 1.00 ± 0.15 , 2.87 ± 0.45 , 1.55 ± 0.21 , 1.56 ± 0.19 and 2.18 ± 0.36 , respectively; the relative expression levels of TREK – 1 protein were 1.00 ± 0.16 , 2.75 ± 0.38 , 1.86 ± 0.27 , 1.84 ± 0.19 and 2.44 ± 0.34 , respectively; serum estradiol (E2) levels were $(1\ 263.55 \pm 152.77)$, (638.16 ± 78.32) , (985.24 ± 107.48) , (981.67 ± 106.34) and $(752.33 \pm 116.45) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; progesterone (P) levels were (9.53 ± 1.06) , (3.48 ± 0.59) , (8.54 ± 1.07) , (8.47 ± 1.04) and $(5.62 \pm 1.02) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; prolactin (PRL) levels were (15.98 ± 2.19) , (29.31 ± 4.62) , (19.25 ± 2.58) , (19.88 ± 2.67) and $(23.47 \pm 3.46) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the relative expression levels of Iba – 1 protein in the hippocampus were 1.00 ± 0.16 , 0.35 ± 0.05 , 0.87 ± 0.14 , 0.85 ± 0.13 and 0.61 ± 0.11 , respectively; the relative expression levels of GRP78 protein were 1.00 ± 0.17 , 1.58 ± 0.16 , 1.17 ± 0.14 , 1.09 ± 0.18 and 1.35 ± 0.17 , respectively; the relative expression levels of CHOP protein were 1.00 ± 0.14 , 1.71 ± 0.23 , 1.13 ± 0.16 , 1.11 ± 0.12 and 1.34 ± 0.18 , respectively; the relative expression levels of Cleaved caspase – 12 protein were 1.00 ± 0.16 , 1.45 ± 0.19 , 1.19 ± 0.13 , 1.16 ± 0.12 and 1.38 ± 0.16 , respectively; the relative fluorescence intensities of BDNF were 1.00 ± 0.16 , 0.38 ± 0.06 , 0.84 ± 0.09 , 0.83 ± 0.11 and 0.64 ± 0.08 , respectively; the relative fluorescence intensities of TrkB were 1.00 ± 0.17 , 0.57 ± 0.09 , 0.92 ± 0.14 , 0.91 ± 0.12 and 0.75 ± 0.11 , respectively. Statistically significant differences were observed in the above indicators between the model group and the control group, between the experimental group and the model group, and between the oe – TREK – 1 group and the oe – NC

group ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$). **Conclusion** Esketamine can alleviate PPD-like behaviors in mice by inhibiting TREK-1 expression, regulating sex hormone balance, improving microglial function and endoplasmic reticulum stress, and thereby activating the BDNF/TrkB pathway.

Key words: esketamine; postpartum depression; two pore domain potassium channel-related K^+ channel 1; brain-derived neurotrophic factor/tyrosine kinase B

产后抑郁(postpartum depression, PPD)是分娩后常见的严重精神障碍,全球患病率达9.5%~18.7%,不仅导致母亲情绪障碍、自杀风险升高,还会影响婴幼儿认知与情感发育,造成沉重的家庭与社会负担^[1]。艾司氯胺酮(esketamine, Esk)作为N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体非竞争性拮抗剂,已被证实具有快速抗抑郁效应,其作用涉及调节神经元兴奋性、抑制神经炎症及激活神经营养因子通路^[2]。脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)及其高亲和力受体酪氨酸蛋白激酶受体B(tyrosine kinase B, TrkB)组成的通路是抗抑郁治疗的核心靶点,BDNF/TrkB通路的下调是PDD的关键病理特征,而激活该通路可以通过促进突触可塑性、抑制神经元凋亡改善抑郁样行为^[3]。此外,双孔钾通道相关蛋白(two pore domain potassium channel, TWIK)相关钾离子通道1(TWIK-related K^+ channel 1, TREK-1)是调控神经元膜电位与兴奋性的关键分子,且已有研究证实,TREK-1可以通过调控胞内信号通路影响神经营养因子表达^[4]。基于此,本研究用慢性温和不可预测刺激(chronic unpredictable mild stress model, CUMS)诱导的小鼠PPD模型,探讨艾司氯胺酮是否通过调控TREK-1通道功能,进而激活BDNF/TrkB通路,最终改善PPD样行为,为阐明PPD的发病机制及开发新型靶向治疗策略提供实验依据。

材料与方法

1 材料

实验动物 SPF级C57BL/6J雌雄性小鼠各50只,鼠龄6~8周,体质量15~25 g,购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司,动物生产许可证号:SCXK(苏)2023-0009,动物使用许可证号:SYXK(苏)2023-0036,本实验经过常州市妇幼保健院伦理委员会批准,伦理批号:常妇幼伦理委2023[79]号。

药品与试剂 盐酸艾司氯胺酮注射液,规格:每支2 mL/50 mg,批号:241122BP,批准文号:国药准字H20193336,江苏恒瑞医药股份有限公司生产;

苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色试剂盒、尼氏(Nissl)染色液、实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real time polymerase chain reaction, qRT-PCR)试剂盒、雌二醇(estradiol, E_2)、孕酮(progesterone, P)和催乳素(prolactin, PRL)酶联免疫吸附实验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒,均购自上海碧云天生物科技有限公司;TREK-1、葡萄糖调节蛋白78(glucose regulated protein 78, GRP78)、C/EBP同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)和剪切后的半胱天冬酶-12(Cleaved casp-12)抗体、离子钙结合适配分子-1(ionized calcium binding adapter molecule 1, Iba-1)、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)和酪氨酸蛋白激酶受体B(tyrosine kinase receptor B, TrkB)一抗及同种属二抗,均购自英国Abcam生物公司。

仪器 SpectraMax i3x多功能酶标仪,美国Molecular Devices公司产品;Eclipse Ti-SR荧光显微镜,日本尼康公司产品;CX21光学显微镜,日本奥林巴斯公司产品;7300实时荧光定量聚合酶链式反应仪,美国ABI公司产品。

2 实验方法

2.1 模型构建^[5-6]

将雌雄小鼠按1:1比例合笼饲养12 h,次日早晨检查雌鼠阴道口,发现存在精栓者记为妊娠鼠。对妊娠雌鼠用CUMS诱导产后抑郁模型。从孕第1 d开始每日随机给予2种刺激方式,包括:5℃冰水游泳5 min(结束后立即擦干)、禁水12 h、禁食24 h、潮湿垫料(垫料100 g+水200 mL)持续24 h、夹尾1 min、饲养笼45°倾斜12 h、以及夜间持续光照。为排除小鼠对刺激的预期性,确保连续2天内不重复使用相同应激方式,持续28 d。

2.2 动物分组与处置方法^[7]

将妊娠小鼠随机分为空白组、模型组、实验组、oe-NC组和oe-TREK-1组。空白组每日给予等量生理盐水。模型组按照“2.1”所述进行造模,每日给予等量生理盐水。实验组基于模型组,小鼠产后第5 d腹腔注射艾司氯胺酮($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),每日1次,

持续3周。oe-NC组基于模型组,小鼠产后第3d尾静脉单次注射 $5 \times 10^5 \text{ TU} \cdot \text{mL}^{-1}$ oe-NC,再腹腔注射艾司氯胺酮($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),每日1次,持续3周。oe-TREK-1组基于模型组,小鼠产后第3d尾静脉单次注射 $5 \times 10^5 \text{ TU} \cdot \text{mL}^{-1}$ oe-TREK-1,再腹腔注射艾司氯胺酮($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),每日1次,持续3周。

2.3 动物行为学检测^[8]

糖水偏好实验(sucrose preference test, SPT)

首先给小鼠提供2瓶1%蔗糖溶液,连续3d,以建立它们的基线偏爱水平。每只小鼠在禁食和停水12h后被单独关在笼子里;每个笼子提供2个装有1%蔗糖溶液或水的瓶子。实验持续72h,每隔24h称1次瓶子并记录,并交换瓶位,以防止位置偏爱影响实验结果。蔗糖偏好指数=蔗糖溶液摄入量/(蔗糖溶液摄入量+水摄入量) $\times 100\%$ 。

尾悬吊实验(tail suspension test, TST) 将小鼠尾巴的后三分之一用胶带固定,并将小鼠悬挂在支架上,头部朝下,头部距离地面15cm。用视频记录小鼠不动时间,6min后停止记录。

2.4 HE染色法和尼氏染色法检测小鼠大脑海马组织^[9]

HE染色 将石蜡包埋的小鼠海马组织切片($4 \sim 5 \mu\text{m}$)依次经二甲苯脱蜡、(100%、95%、85%、75%)乙醇梯度水化后,浸入苏木精染液中染色8min,随后用蒸馏水流水冲洗以除去多余染液。接着将切片放入1%盐酸乙醇溶液中分化,并用0.5%氨水返蓝至切片呈明显蓝色,再经伊红染液复染1min。最后,切片依次经梯度乙醇脱水、二甲苯透明处理后,滴加中性树胶进行封片。

尼氏染色 石蜡切片经脱蜡、水化后,提前将0.1%甲苯胺蓝染液预热至 55°C ,再把石蜡切片置于染液中染色30min。用纯水充分漂洗后,再用95%乙醇进行分化,并于显微镜下观察分化程度,直至背景接近无色,且神经元胞质内尼氏体清晰呈现蓝紫色时终止分化。随后切片经无水乙醇快速脱水、二甲苯透明,并以中性树胶封片。

2.5 用实时荧光定量聚合酶链式反应(real-time fluorescence quantitative PCR, qRT-PCR)法检测TREK-1 mRNA表达水平^[10]

用Trizol法提取小鼠海马组织的总RNA并检测其纯度和浓度,用反转录酶将mRNA反转录为cDNA,并进行扩增。以GAPDH为内参进行样品间的校正,按照 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 进行定量分析。TREK-1上游引物序列为 $5' - \text{TCAAGCACATAGAAGGCTGG} - 3'$,下游引物

序列为 $5' - \text{ACGGATGTGGCAGCGTGG} - 3'$; GAPDH上游引物序列为 $5' - \text{CCAATGTCCGTCGTGGATCT} - 3'$,下游引物序列为 $5' - \text{GTTGAAGTCGCAGGAGACAACC} - 3'$ 。

2.6 蛋白质印迹法检测TREK-1和内质网应激相关蛋白GRP78、CHOP和Cleaved casp-12蛋白相对表达水平^[11]

将小鼠海马组织在裂解缓冲液中匀浆处理,随后离心取上清,并测定蛋白浓度。随后在还原条件下进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳,用PVDF膜进行蛋白质转印,用5%的脱脂奶粉封闭2h。加入目的蛋白一抗(稀释比例1:1000),于 4°C 过夜孵育,洗涤后加入二抗(稀释比例 $1:1.0 \times 10^5$)室温下孵育2h。再次洗涤后,用化学发光法检测系统对膜进行显影。

2.7 ELISA法检测E2、P和PRL的水平^[12]

收集小鼠全血,离心取上层血清, -80°C 冻存备用。按照相对应的ELISA试剂盒说明书进行操作,用酶标仪测定E2、P和PRL的含量。

2.8 免疫组化法检测各组小鼠海马组织小胶质细胞标志蛋白Iba-1表达水平^[13]

取石蜡包埋的小鼠海马组织切片,依次经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化后,将切片置于pH6.0柠檬酸盐缓冲液中,用高温高压进行抗原修复,自然冷却至室温。3% H_2O_2 溶液室温孵育10min以阻断内源性过氧化物酶活性,随后用磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffer solution, PBS)洗涤。滴加封闭液,室温孵育30min,弃去封闭液。滴加一抗(稀释比例1:2000), 4°C 孵育过夜。PBS洗涤3次,再滴加HRP标记山羊抗兔二抗(稀释比例1:500),室温孵育30min。再用PBS洗涤后,二氨基联苯胺显色试剂盒显色,显微镜下控制显色时间,蒸馏水冲洗终止显色。

2.9 免疫荧光法检测各组小鼠海马组织BDNF和TrkB蛋白相对表达水平^[14]

将经脱蜡、水化、抗原修复后的石蜡切片用PBS洗涤,再用5%山羊血清封闭液于室温处孵育,弃去封闭液,滴加BDNF一抗(稀释比例1:500)和TrkB一抗(稀释比例1:50)混合液, 4°C 孵育过夜。PBS洗涤3次,每次5min,滴加二抗混合液(稀释比例1:1000),于室温避光处孵育。再用4',6-二脒基-2-苯基吲哚染液室温避光孵育5min以染核,PBS洗涤后荧光淬灭抑制剂封片。

3 统计学处理

用SPSS 25.0软件进行统计学分析。计量资料用

$\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用单因素方差分析,进一步两两比较用 $LSD-t$ 检验。

结 果

1 艾司氯胺酮对产后抑郁模型小鼠行为学的影响

与空白组比较,模型组小鼠糖水偏好率显著降低,尾悬吊实验中不动时间占比显著增加(均 $P < 0.001$);与模型组比较,实验组小鼠糖水偏好率显著增加,尾悬吊实验中不动时间占比显著减少(均 $P < 0.001$);与实验组比较,oe-NC 组小鼠糖水偏好率和尾悬吊实验中不动时间在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);与 oe-NC 组比较,oe-TREK-1 组小鼠糖水偏好率显著降低,尾悬吊实验中不动时间占比显著增加($P < 0.01, P < 0.001$),见表 1。

2 艾司氯胺酮对产后抑郁模型小鼠海马组织病理的影响

用 HE 染色和尼氏染色评估小鼠海马组织病理特征显示,空白组小鼠海马组织形态正常,神经元细胞排列紧密、规则,尼氏小体丰富,状态良好。与空白组比较,模型组小鼠神经元细胞出现核固缩现象,形态不规则,尼氏小体显著减少。与模型组比较,实验组小鼠海马组织神经元排列的紧密性和有序性有所恢复,核固缩的神经元数量显著减少,神经元内尼氏小体含量增加。与实验组比较,oe-NC 组小鼠海马

组织病理形态无较大改变。与 oe-NC 组比较,oe-TREK-1 组小鼠海马组织病理损伤加重,见图 1。

3 艾司氯胺酮对产后抑郁模型小鼠海马组织中 TREK-1 mRNA 表达水平的影响

与空白组比较,模型组小鼠海马组织中 TREK-1 mRNA 和蛋白相对表达水平均显著升高(均 $P < 0.001$)。与模型组比较,实验组小鼠海马组织中 TREK-1 mRNA 和蛋白相对表达水平均显著下降(均 $P < 0.001$)。与实验组比较,oe-NC 组小鼠海

表 1 各组小鼠行为学实验结果的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of behavioral test results among mice in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Sucrose preference rate(%)	Proportion of immobility time(%)
Control	10	84.74 ± 14.46	31.16 ± 4.63
Model	10	19.08 ± 2.86***	75.38 ± 14.62***
Experimental	10	79.62 ± 12.54###	49.26 ± 8.59###
oe-NC	10	80.15 ± 11.38###	48.97 ± 7.82###
oe-TREK-1	10	52.44 ± 8.15### $\Delta\Delta\Delta$	62.53 ± 9.24 $\Delta\Delta\Delta$

Control group: Normal saline; Model group: Chronic unpredictable mild stress model; Experimental group: Intraperitoneal injection of esketamine ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); oe-NC group: After intravenous injection of lentivirus-encapsulated oe-NC, modeling was performed and $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ esketamine was administered; oe-TREK-1 group: After intravenous injection of lentivirus-encapsulated oe-TREK-1, modeling was performed and $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ esketamine was administered; Compared with the control group, *** $P < 0.001$; Compared with the model group, # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$; Compared with the oe-NC group, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$.

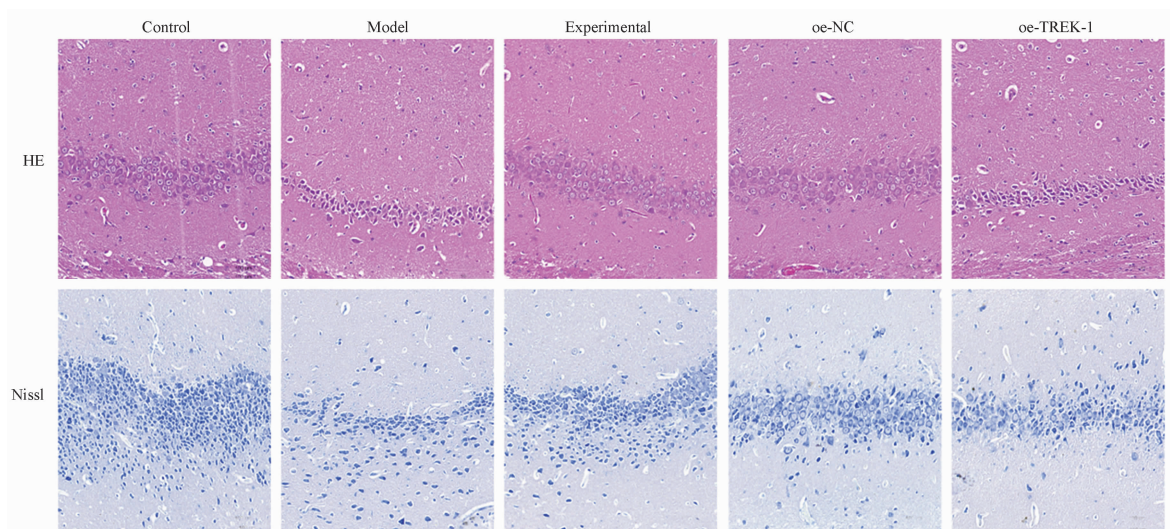


图 1 各组小鼠大脑海马组织病理特征(100 ×)

Figure 1 Pathological characteristics of hippocampal tissues in mice of each group (100 ×)

HE: Hematoxylin-eosin.

马组织中 *TREK-1* mRNA 和蛋白相对表达水平在统计学上差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。与 oe-NC 组比较, oe-*TREK-1* 组小鼠海马组织中 *TREK-1* mRNA 和蛋白相对表达水平均显著升高 (均 $P < 0.001$), 见表 2 和图 2。

4 艾司氯胺酮通过调控 *TREK-1* 对产后抑郁模型小鼠 E_2 、P 和 PRL 水平的影响

与空白组比较, 模型组小鼠血清中 E_2 和 P 水平均显著降低, PRL 水平显著增加 (均 $P < 0.001$)。与模型组比较, 实验组小鼠血清中 E_2 和 P 水平均显著增加, PRL 水平显著降低 (均 $P < 0.001$)。与实验组比较, oe-NC 组小鼠血清中 E_2 、P 和 PRL 水平在统计学上差异均无统计意义 (均 $P > 0.05$)。与 oe-NC 组比较, oe-*TREK-1* 组小鼠血清中 E_2 和 P 水平均显著降低 (均 $P < 0.001$), PRL 水平显著增加 ($P < 0.05$), 见表 3。

5 艾司氯胺酮通过调控 *TREK-1* 对产后抑郁模型小鼠小胶质细胞的影响

空白组、模型组、实验组、oe-NC 组和 oe-*TREK-1* 组小鼠海马组织中 Iba-1 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.16 、 0.35 ± 0.05 、 0.87 ± 0.14 、 0.85 ± 0.13 和 0.61 ± 0.11 。模型组的上述指标与空白组比较, 实验组的上述指标与模型组比较, oe-*TREK-1* 组的上述指标与 oe-NC 组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.001$), 见图 3。

表 2 各组小鼠海马组织中双孔钾通道相关蛋白 (TWIK) 相关钾离子通道 1 (*TREK-1*) mRNA 和蛋白的相对表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the relative expression levels of two pore domain potassium channel (TWIK) - related K^+ channel 1 (*TREK-1*) mRNA and protein in the hippocampal tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>TREK-1</i> mRNA	<i>TREK-1</i> protein
Control	1.00 ± 0.15	1.00 ± 0.16
Model	$2.87 \pm 0.45^{***}$	$2.75 \pm 0.38^{***}$
Experimental	$1.55 \pm 0.21^{###}$	$1.86 \pm 0.27^{###}$
oe-NC	$1.56 \pm 0.19^{###}$	$1.84 \pm 0.19^{###}$
oe- <i>TREK-1</i>	$2.18 \pm 0.36^{###\Delta\Delta\Delta}$	$2.44 \pm 0.34^{\Delta\Delta\Delta}$

Dose and n refer to table 1. Compared with the control group, $***P < 0.001$; Compared with the model group, $^{##}P < 0.01$, $^{###}P < 0.001$; Compared with the oe-NC group, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$.

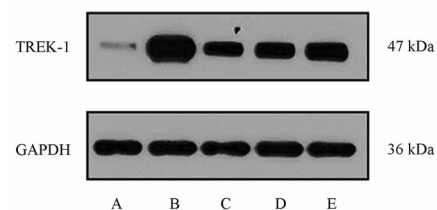


图 2 蛋白质印迹法检测各组小鼠 *TREK-1* 蛋白相对表达水平

Figure 2 The relative expression levels of *TREK-1* protein in mice of each group detected by Western blot

A: Control group; B: Model group; C: Experimental group; D: oe-NC group; E: oe-*TREK-1* group.

表 3 各组小鼠血清中雌二醇 (E_2)、孕酮 (P) 和催乳素 (PRL) 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of levels of estrogen (E_2), progesterone (P) and prolactin (PRL) in serum of mice in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	E_2 ($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	P ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	PRL ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)
Control	1263.55 ± 152.77	9.53 ± 1.06	15.98 ± 2.19
Model	$638.16 \pm 78.32^{***}$	$3.48 \pm 0.59^{***}$	$29.31 \pm 4.62^{***}$
Experimental	$985.24 \pm 107.48^{###}$	$8.54 \pm 1.07^{###}$	$19.25 \pm 2.58^{###}$
oe-NC	$981.67 \pm 106.34^{###}$	$8.47 \pm 1.04^{###}$	$19.88 \pm 2.67^{###}$
oe- <i>TREK-1</i>	$752.33 \pm 116.45^{\Delta\Delta\Delta}$	$5.62 \pm 1.02^{###\Delta\Delta\Delta}$	$23.47 \pm 3.46^{##\Delta}$

Dose and n refer to table 1. Compared with the control group, $***P < 0.001$; Compared with the model group, $^{#}P < 0.05$, $^{##}P < 0.01$, $^{###}P < 0.001$; Compared with the oe-NC group, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$.

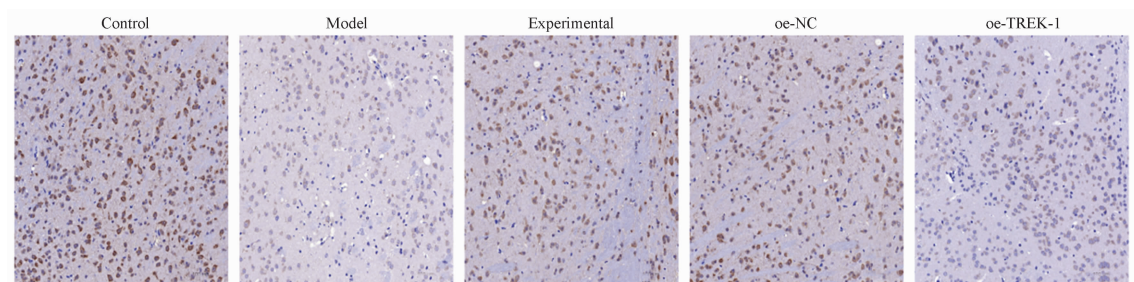


图 3 免疫组化法检测各组小鼠海马组织中离子钙结合适配分子-1 (Iba-1) 蛋白表达情况 (100 $\times$)

Figure 3 Immunohistochemistry was used to detect the expression of ionized calcium binding adapter molecule 1 (Iba-1) protein in the hippocampal tissue of mice in each group (100 $\times$)

6 艾司氯胺酮通过调控 TREK-1 对产后抑郁模型小鼠内质网应激相关蛋白的影响

与空白组比较,模型组小鼠海马组织中 GRP78、CHOP 和 Cleaved casp-12 蛋白相对表达水平均显著上升(均 $P < 0.001$)。与模型组比较,实验组小鼠海马组织中 GRP78、CHOP 和 Cleaved casp-12 蛋白相对表达水平均显著下降($P < 0.01$, $P < 0.001$)。与实验组比较,oe-NC 组小鼠海马组织中 GRP78、CHOP 和 Cleaved casp-12 蛋白相对表达水平在统计学上差异均无统计意义(均 $P > 0.05$)。与 oe-NC 组比较,oe-TREK-1 组小鼠海马组织中 GRP78、CHOP 和 Cleaved casp-12 蛋白相对表达水平均显著上升(均 $P < 0.01$),见表4和图4。

7 艾司氯胺酮通过调控 TREK-1 对 BDNF/TrkB 信号通路的影响

空白组、模型组、实验组、oe-NC 组和 oe-TREK-1 组小鼠海马组织中 BDNF 的相对荧光强度分别为 1.00 ± 0.16 、 0.38 ± 0.06 、 0.84 ± 0.09 、 0.83 ± 0.11 和 0.64 ± 0.08 , TrkB 的相对荧光强度分别为

1.00 ± 0.17 、 0.57 ± 0.09 、 0.92 ± 0.14 、 0.91 ± 0.12 和 0.75 ± 0.11 。模型组的上述指标与空白组比较,实验组的上述指标与模型组比较,oe-TREK-1 组的上述指标与 oe-NC 组比较,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.001$)。

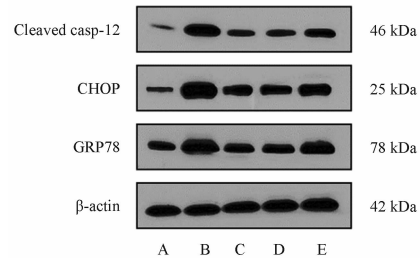


图4 蛋白质印迹法检测各组小鼠海马组织中 GRP78、CHOP 和 Cleaved casp-12 蛋白相对表达水平

Figure 4 The relative expression levels of GRP78, CHOP and Cleaved casp-12 protein in hippocampal tissues of mice in each group detected by Western blot

A: Control group; B: Model group; C: Experimental group; D: oe-NC group; E: oe-TREK-1 group.

表4 各组小鼠海马组织中葡萄糖调节蛋白78 (GRP78)、C/EBP同源蛋白(CHOP)和剪切后的半胱天冬酶(Cleaved casp-12)蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of the relative expression levels of glucose-regulated protein 78 kDa (GRP78), C/EBP homologous protein (CHOP) and Cleaved caspase-12 (Cleaved casp-12) proteins in the hippocampal tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	GRP78	CHOP	Cleaved casp-12
Control	1.00 ± 0.17	1.00 ± 0.14	1.00 ± 0.16
Model	$1.58 \pm 0.16^{***}$	$1.71 \pm 0.23^{***}$	$1.45 \pm 0.19^{***}$
Experimental	$1.17 \pm 0.14^{###}$	$1.13 \pm 0.16^{###}$	$1.19 \pm 0.13^{##}$
oe-NC	$1.09 \pm 0.18^{###}$	$1.11 \pm 0.12^{###}$	$1.16 \pm 0.12^{###}$
oe-TREK-1	$1.35 \pm 0.17^{##\Delta\Delta}$	$1.34 \pm 0.18^{###\Delta\Delta}$	$1.38 \pm 0.16^{\Delta\Delta}$

Dose and n refer to table 1. Compared with the control group, $***P < 0.001$; Compared with the model group, $^{##}P < 0.01$, $^{###}P < 0.001$; Compared with the oe-NC group, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$.

讨 论

本研究用 CUMS 法成功建立了产后抑郁小鼠模型,系统观察了艾司氯胺酮的药效学作用。模型小鼠在糖水偏好实验和尾悬吊实验中分别表现出显著的快乐感缺失与行为绝望,与既往 CUMS 诱导的抑郁模型表现一致^[15]。艾司氯胺酮干预后,PPD 小鼠在糖水偏好实验中的快乐感缺失和尾悬吊实验中的行为绝望均得到显著改善,HE 和尼氏染色提示海马神经元排列趋于整齐、尼氏体染色加深,表明艾司氯胺酮具有良好的抗抑郁样效应及神经保护作用。海马是情绪调控的重要脑区,其结构和功能改变与抑郁症高度相

关^[16]。这些行为学与组织学水平的药效学观察,与既往研究证明氯胺酮类药物能够快速增强突触可塑性、恢复神经环路功能的研究一致^[17-18]。

为阐明艾司氯胺酮发挥上述药效的分子靶点,本研究聚焦于 TREK-1 双孔钾通道。TREK-1 作为双孔钾通道家族成员,是调控神经元膜电位与兴奋性的关键分子,在抑郁模型中常表现为表达异常^[19]。既往研究表明, TREK-1 基因敲除小鼠具有抗抑郁样表型,其抗抑郁效果甚至与传统选择性五羟色胺再摄取抑制剂相当^[20]。本研究发现,模型组小鼠海马组织 TREK-1 mRNA 及蛋白表达水平显著升高,而艾司氯胺酮干预可以显著抑制其表达;进一步通过过表达 TREK-1 实验证实, TREK-1 的过度表达可以显著削

弱艾司氯胺酮在行为学、组织结构上的改善作用。这一“干预-阻断”的实验范式强有力地证明, *TREK-1* 是艾司氯胺酮发挥抗产后抑郁及神经保护作用的关键分子靶点。本研究的创新之处在于通过 PPD 动物模型中系统验证了 *TREK-1* 在艾司氯胺酮作用路径中的关键位置, 进一步支持“艾司氯胺酮-*TREK-1*-神经可塑性恢复”这一机制轴, 为女性特异性抑郁的治疗提供新的理论基础。

在明确 *TREK-1* 介导艾司氯胺酮核心药效的基础上, 本研究进一步探究了该靶点下游的系列生物学效应。在性激素调节层面, 性激素水平紊乱是 PPD 的重要诱因, 孕期至产后的雌激素、孕激素骤降可以直接诱发抑郁样行为^[21]。本研究中, PPD 小鼠血清中 E2 和 P 水平均显著降低, PRL 水平显著升高, 而艾司氯胺酮干预可以逆转上述激素失衡, 且过表达 *TREK-1* 后该调节效应被显著削弱。这提示 *TREK-1* 是介导艾司氯胺酮调节产后激素失衡的关键节点。在神经免疫方面, 小胶质细胞作为中枢神经系统的固有免疫细胞, 其功能异常与神经炎症及抑郁发生密切相关^[22]。Iba-1 是小胶质细胞的特异性标志蛋白, 其表达水平可反映小胶质细胞的活化状态^[23]。本研究免疫组化实验显示, 模型组小鼠海马组织 Iba-1 蛋白表达显著降低, 提示 PPD 模型中小胶质细胞活化受抑, 而艾司氯胺酮干预可以显著上调 Iba-1 表达, 过表达 *TREK-1* 则逆转该效应。在细胞内信号转导层面, 本研究聚焦于 BDNF/TrkB 通路与内质网应激。BDNF/TrkB 通路是抗抑郁治疗的核心靶点, 激活该通路可以改善抑郁样行为^[24]。内质网应激过度激活可以诱发神经元凋亡, GRP78、CHOP 和 Cleaved casp-12 是内质网应激的关键标志蛋白^[25]。本研究显示, 艾司氯胺酮可以显著激活 PPD 小鼠海马内被抑制的 BDNF/TrkB 通路, 并抑制过度激活的 GRP78、CHOP 和 Cleaved casp-12 表达。而预先过表达 *TREK-1* 可以阻断上述效应, 这证实, 艾司氯胺酮可以通过抑制 *TREK-1* 表达激活 BDNF/TrkB 通路, 进而抑制内质网应激介导的神经元损伤, 这可能是其改善 PPD 的重要分子机制。

但本研究仍存在一定的局限性。本研究用腹腔注射与尾静脉注射的系统性干预方式, 虽基于 *TREK-1* 在海马高度富集及艾司氯胺酮对该脑区的明确作用, 聚焦于海马进行观察, 但不能完全排除药物与病毒对前额叶皮层、杏仁核等其他情绪相关脑区的潜在效应。未来研究可以借助脑区特异性基因干预技术, 精准解析不同脑区在艾司氯胺酮-

TREK-1 轴中的差异化贡献, 以推动靶向性更优的治疗策略开发。

本研究提示, 艾司氯胺酮对产后抑郁有效, 从行为、组织、激素、炎症、应激及神经可塑性多维度共同构建了“艾司氯胺酮-*TREK-1*-BDNF/TrkB”产后抑郁样行为的完整调控链, 为 PPD 的发病机制提供了新的理论依据。

参考文献:

- [1] FU Y, ZHANG M, LIN X, *et al.* The chain mediating effect of family function and resilience between cognitive reactivity and depression among postpartum women in China [J]. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2025, 25(1):1251.
- [2] 潘利彪, 何洋, 王贯, 等. 快速起效抗抑郁药物研究进展[J]. *中国科学: 化学*, 2025, 55(8):2439-2451.
- [3] 夏宝妹, 陈畅, 唐娟娟, 等. 越鞠甘麦大枣汤对产后抑郁小鼠前额叶 BDNF-TrkB 通路的影响[J]. *南京中医药大学学报*, 2020, 36(2):211-214.
- [4] SONG Y, SONG Y, DU W, *et al.* *TREK-1* channel blockade mediates the antidepressant-like effects of hydroxynorketamine [J/OL]. *Neuropharmacology*, 2026, 283:110751. 2025-10-28 [2026-01-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41167417/>.
- [5] 唐超智, 翟自晗, 张玉玲, 等. 细叶远志皂苷抑制 NF- κ B 信号通路发挥抗抑郁作用研究[J/OL]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2025, 53(6):117-124.
- [6] ANTONIUK S, BIJATA M, PONIMASKIN E, *et al.* Chronic unpredictable mild stress for modeling depression in rodents: Meta-analysis of model reliability[J/OL]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2019, 99:101-116. 2018-12-06 [2026-01-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30529362/>.
- [7] WANG T, WENG H, ZHOU H, *et al.* Esketamine alleviates postoperative depression-like behavior through anti-inflammatory actions in mouse prefrontal cortex[J/OL]. *J Affect Disord*, 2022, 307:97-107. 2022-01-15 [2026-01-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35378150/>.
- [8] QIN H, YU M, HAN N, *et al.* Antidepressant effects of esketamine via the BDNF/AKT/mTOR pathway in mice with postpartum depression and their offspring[J/OL]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2024, 132:110992. 2024-05-01 [2026-01-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38484929/>.
- [9] 金玉, 王翠, 王非, 等. 醒脑开窍针刺调控 P2X7R/NLRP3/IL-1 β 通路对卒中后抑郁大鼠抑郁行为的影响[J]. *中国比较医学杂志*, 2026, 36(1):51-61.
- [10] 杨栋, 喻妍, 杨萍, 等. 慢性应激抑郁模型大鼠海马 *TREK-1*、GFAP 表达情况及氟西汀的干预作用[J]. *中国临床心理学杂志*, 2018, 26(1):43-46.
- [11] WEI L, KAN L Y, ZENG H Y, *et al.* BDNF/TrkB pathway mediates the antidepressant-like role of H2S in CUMS-exposed rats by inhibition of hippocampal ER stress[J]. *Neuromolecular Med*, 2018, 20(2):252-261.

- [12] ZHOU J, WU Z, FENG Z, *et al.* Comparison of the estrogen withdrawal and chronic restraint stress and the maternal separation in mice postpartum depression modeling[J/OL]. *Physiol Behav*, 2025,300:115033. 2025-06-14 [2026-01-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40680874/>.
- [13] 罗紫龙,匡洛逸,杨铁柱,等. 逍遥散对抑郁模型小鼠前额皮质小胶质细胞极化的调节作用[J/OL]. *中华中医药学刊*, 2025, 1—17. 2025-11-12 [2026-01-31]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.R.20251112.1026.028>.
- [14] HU Y, ALI T, MOU S, *et al.* PKR inhibition prevents neuroinflammation and rescues depressive-like behaviors via BDNF/TrkB signaling[J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2025, 20(1):13.
- [15] WILLNER P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage[J/OL]. *Neurobiol Stress*, 2016, 6: 78—93. 2016-09-24 [2026-01-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28229111/>.
- [16] 任静,莫唯一,王玲,等. 多巴胺系统参与调节海马相关脑功能的作用研究进展[J]. *生理学报*, 2025, 77(5): 893—904.
- [17] ZANOS P, GOULD T D. Mechanisms of ketamine action as an antidepressant[J]. *Mol Psychiatry*, 2018, 23(4): 801—811.
- [18] 周艳秋,张成栋,李彦东. 艾司氯胺酮在产后抑郁症中的应用进展[J]. *中国医药科学*, 2025, 15(17): 38—42,63.
- [19] XU J, LI M, HU Y, *et al.* Esketamine reduces postoperative depression in breast cancer through TREK-1 channel inhibition and neurotransmitter modulation[J]. *Cancer Cell Int*, 2025, 25(1): 51.
- [20] HEURTEAUX C, LUCAS G, GUY N, *et al.* Deletion of the background potassium channel TREK-1 results in a depression-resistant phenotype[J]. *Nat Neurosci*, 2006, 9(9): 1134—1141.
- [21] BLOCH M, SCHMIDT P J, DANACEAU M, *et al.* Effects of gonadal steroids in women with a history of postpartum depression[J]. *Am J Psychiatry*, 2000, 157(6): 924—30.
- [22] WANG H, HE Y, SUN Z, *et al.* Microglia in depression: An overview of microglia in the pathogenesis and treatment of depression[J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1): 132.
- [23] SHI F J, XIE H, ZHANG C Y, *et al.* Is Iba-1 protein expression a sensitive marker for microglia activation in experimental diabetic retinopathy? [J]. *Int J Ophthalmol*, 2021, 14(2): 200—208.
- [24] CASTRÉN E, MONTEGGIA L M. Brain-derived neurotrophic factor signaling in depression and antidepressant action[J]. *Biol Psychiatry*, 2021, 90(2): 128—136.
- [25] CHEN X, SHI C, HE M, *et al.* Endoplasmic reticulum stress: Molecular mechanism and therapeutic targets[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 352.
- (本文编辑:崔兰卿 收稿日期 2026-01-30)

· 科学文摘 ·

维恩妥尤单抗和帕博利珠单抗治疗膀胱癌围术期的临床研究

引自:VULSTEKE C, ADRA N, DANCHAIVIJITR P, *et al.* Perioperative enfortumab vedotin and pembrolizumab in bladder cancer[J]. *N Engl J Med*, 2026, 394(13): 1257—1269.

本研究为一项3期开放标签临床试验,将不符合标准或拒绝接受基于顺铂的化疗的患有肌肉浸润性膀胱癌的患者随机分为试验组和对照组。试验组在围手术期(新辅助和辅助)用维恩妥尤单抗(共9个周期,第1天和第8天按每公斤体重1.25 mg给药)联合帕博利珠单抗(17个周期,每3周第1天给药200 mg)治疗,治疗3个周期后进行手术,对照组仅手术。主要终点是无事件生存期。关键的次要终点是总生存率和病理完全反应(手术切除后无活肿瘤)。其他次要终点包括安全性。共344例患者接受了随机分组,其中试验组170例,对照组174例。在数据截止时,中位随访时间为25.6个月(范围11.8~53.7)。试验组中87.6%的患者接受了手术,对照组中89.7%的患者接受了手术。2年时,试验组和对照组的估计无事件生存率在分别为74.7%和39.4%[事件或死亡的风险比为0.40;95%置信区间(CI)为0.28~0.57;双侧 $P<0.001$];估计总生存率分别为79.7%和63.1%(死亡风险比为0.50;95%CI为0.33~0.74;双侧 $P<0.001$);病理完全缓解率分别为57.1%和8.6%(估计差异为48.3个百分点;95%CI为39.5~56.5;双侧 $P<0.001$)。试验组的所有患者都发生了不良事件(≥ 3 级,71.3%; ≥ 3 级与药物有关,45.5%),对照组有64.8%患者发生了不良事件(≥ 3 级,45.9%)。在顺铂治疗为主的肌肉浸润性膀胱癌患者中,围手术维恩妥尤单抗联合帕博利珠单抗和手术治疗显著改善了无事件生存率和总体生存率,与单独手术相比,病理学完全缓解的受试者比例更高。