

慢性痛通过损害海马神经可塑性诱发抑郁样行为的机制研究

尚嘉馨¹, 雒雪婷¹, 杨亮¹, 刘霞^{1,2}, 白占涛^{1,2*}

(1. 延安大学生命科学学院, 陕西 延安 716000;

2. 陕西省区域生物资源保育与利用工程技术研究中心, 陕西 延安 716000)

摘要:目的 探索慢性疼痛引发的抑郁样行为与海马神经细胞可塑性变化。方法 采用尿酸钠(monosodium urate, MSU)晶体构建小鼠慢性疼痛模型, 监测建模后疼痛值与抑郁样行为。在模型建立过程中, 通过行为学实验检测小鼠的机械痛觉敏化和抑郁样行为; 通过BrdU、DCX、GFAP、Iba1免疫荧光染色探究海马区神经发生及迁移, 以及小胶质细胞和星形胶质细胞的激活状态; 通过Western blot方法检测p-CREB蛋白的表达变化。结果 模型小鼠长期存在机械痛觉超敏和抑郁样行为。在慢性疼痛诱发的抑郁情绪下, 海马神经发生受到明显损害, 具体表现为模型小鼠BrdU标记的新生细胞数量下降($P < 0.01$), 以及DCX阳性未成熟神经元数量减少($P < 0.01$)。此外, 海马齿状回中星形胶质细胞数目($P < 0.01$)及分支数量($P < 0.01$)均显著降低, 呈现激活态, 小胶质细胞数目($P < 0.01$)与分支数量($P < 0.01$)均有显著增加, 形成神经炎症环境对神经发生产生负向影响。在造模的第5周($P < 0.0001$)和第7周($P < 0.05$), p-CREB蛋白水平也均显著下降。结论 慢性疼痛可诱发小鼠出现持续的抑郁样行为, 其发生与海马神经可塑性受损密切相关。海马神经发生过程受到显著抑制, 同时伴随星形胶质细胞与小胶质细胞的持续活化及神经炎症反应, CREB信号转导通路的下调可能参与上述病理生理学过程。

关键词:尿酸钠; 慢性痛; 抑郁; 海马; 神经细胞

中图分类号: R96 文献标识码: A 文章编号: 1672-2639(2026)03-0030-08

Study on hippocampal neuronal plasticity in chronic pain-induced depressive-like behavior

Shang Jiixin¹, Luo Xueting¹, Yang Liang¹, Liu Xia^{1,2}, Bai Zhantao^{1,2*}

(1. School of Life Sciences, Yan'an University, Yan'an 716000, China; 2. Shaanxi Provincial

Engineering Research Center for Conservation and Utilization of Regional Biological Resources,

Yan'an 716000, China)

Abstract: Objective This study explored the relationship between chronic pain-induced depression-like behaviors and changes in hippocampal neuronal plasticity. **Methods** A chronic pain model in mice was established using monosodium urate (MSU) crystals, followed by monitor pain values and depression-like behaviors after modeling. During model establishment, behavioral tests were conducted to assess mechanical pain hypersensitivity and depression-like behaviors in mice; BrdU, DCX, GFAP, and Iba1 immunofluorescence staining were used to investigate hippocampal neurogenesis and migration, as well as the activation status of microglia and astrocytes; Western blot was used to detect changes in p-CREB protein expression. **Results** Model mice exhibited long-term

基金项目:陕西省重点研发计划项目(2023-YBSF-543, 2024NC-YBXM-172); 延安大学科研项目(2023KXJ-001, 2023JBZR-004)

作者简介:尚嘉馨(1999—), 女, 陕西渭南人, 在读硕士研究生。研究方向: 神经生物学。

* **通信作者:**白占涛(1971—), 男, 陕西延安人, 教授, 硕士研究生导师。研究方向: 离子通道药理学。

E-mail: ztbai@yau.edu.cn

mechanical hypersensitivity and depression-like behaviors. Under chronic pain-induced depressive conditions, hippocampal neurogenesis was significantly impaired, as evidenced by a decrease in BrdU-labeled new cells ($P < 0.01$) and a reduction in DCX-positive immature neurons ($P < 0.01$). Additionally, the number ($P < 0.001$) and branching ($P < 0.01$) of astrocytes in the hippocampal dentate gyrus were significantly decreased, showing an activated state, while the number ($P < 0.01$) and branching ($P < 0.01$) of microglia were significantly increased, creating a neuroinflammatory environment that negatively affected neurogenesis. The p-CREB protein level also showed a significant decline at week 5 ($P < 0.0001$) and week 7 ($P < 0.05$) of modeling. **Conclusion** Chronic pain can induce persistent depression-like behaviors in mice, closely associated with impaired hippocampal neuronal plasticity. Hippocampal neurogenesis was significantly inhibited, accompanied by sustained activation of astrocytes and microglia and neuroinflammatory responses, with downregulation of the CREB signaling transduction pathway potentially involved in these pathological physiology processes.

Key words: MSU; Chronic pain; Depression; Hippocampus; Neurons

慢性疼痛不仅表现为持续的感觉异常,其更深层的病理学影响在于频繁引发严重的负性情感共病障碍^[1]。临床观察表明,焦虑与抑郁是其中最为普遍的负性情绪伴随症状^[2-3]。而诱发负性情绪的根源在于疼痛与情绪共有的神经生物学基础^[4-5]。例如,在慢性炎症疼痛模型小鼠中,海马小胶质细胞被持续激活,释放的促炎因子损伤神经发生的同时导致情绪与记忆相关的突触功能异常^[6]。在啮齿动物三叉神经痛模型中发现,慢性疼痛会特异性地、非对称性地激活同侧海马CA1区的小胶质细胞,小胶质细胞通过表达P2X7受体,释放白细胞介素-1(IL-1)等促炎因子,导致海马突触可塑性受损,进而产生负性情绪、损伤学习记忆^[7]。

值得深入研究的是,30%~50%的慢性疼痛患者伴有抑郁症^[8]。近年来发现,这种共病现象与神经可塑性障碍及神经免疫调控失衡密切相关。海马作为边缘系统的核心结构,在情绪调节与认知功能中具有关键性作用,其结构及功能的重塑被认为是慢性疼痛转化为抑郁状态的重要神经生物学基础^[6,9]。当神经发生受损时,新生神经元具有较高的突触可塑性^[7],当神经发生水平降低时,海马可塑性整体受限,可能进一步损害情绪调节网络的稳定性,从而加重情绪失调。因此,在探索慢性疼痛诱发抑郁时,海马被视为一个关键的整合中枢。其功能维持高度依赖于神经干细胞的持续再生能力,以及胶质细胞所构建和支持的稳态微环境。它们共同维系海马在应对慢性病理性刺激时的适应能力,其功能紊乱可能成为疼痛向情绪障碍转化的关键因素。然而,慢性疼痛如何特异性调控海马微环境,并最终导致抑郁样行为的精确细胞发育变化重

塑的具体调控方式和路径,尚待深入研究。

本研究采用单次踝关节注射尿酸钠(monosodium, MSU)晶体的方法构建痛风性关节炎小鼠模型,旨在模拟慢性疼痛状态所诱发的抑郁样行为,并探讨海马神经可塑性在此过程中的作用及其机制。实验结果表明,慢性疼痛可显著激活海马区神经免疫反应,引发持续的神经炎症状态。在此过程中,海马区神经干细胞的分化与迁移受到显著抑制,同时小胶质细胞及星形胶质细胞异常活化,进一步形成神经炎性微环境。这些病理学变化最终导致海马神经发生严重障碍,突触结构重塑受阻,可塑性功能显著下降。上述海马特异性神经可塑性损伤,构成了慢性疼痛诱发抑郁样行为的关键因素。这些发现为后期探究慢性疼痛诱发抑郁的神经生物学基础提供了新的实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

20只雄性C57BL/6小鼠,8周龄,体重(20±5)g,订购于西安科奥公司,后续饲养于实验动物中心并按照规定饲养,温度湿度适宜,且保持正常的自然昼夜节律。动物实验经过延安大学附属医院伦理审查批准(批准号:YAU-G20240076),遵守相应的规范和要求。

1.2 材料与试剂

尿酸钠盐(西格玛奥德里奇,U2875-25G)、氢氧化钠(天津市登峰化学试剂厂)、磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS,索莱宝,P1020)、磷酸盐吐温缓冲液(phosphate buffered saline with tween 20, PBST,西安奥锐精,AP0831)、氯化钠(福

晨化学)。鼠抗 Brdu(密理博, MAB3424)、鼠抗 Dcx (Santa Cruz Biotechnology, sc-271390)、羊抗 Iba1 (NOVUSBIO, NB100-1028)、鸡抗 Gfap (Origene, AP31806P)、驴抗兔 IgG H&L (Alexa Fluor® 647)、驴抗鼠 IgG H&L (Alexa Fluor® 488)、驴抗鼠 IgG H&L (Alexa Fluor® 555)、Hoechst 33258 染色液、抗荧光衰减封片剂、Creb (Cell Signaling, 9197)、Phospho-Creb (Cell Signaling, 9198)、Erk1/2 (Cell Signaling, 4695)、Phospho-Erk1/2 (Cell Signaling, 4377)

1.3 痛风性关节炎模型的建立

1.3.1 MSU 溶液的配制 将 0.15 g 单钠尿酸盐 (monosodium urate, MUS) 溶于 1 mol/L 的 NaOH 溶液中, 100 °C 水浴锅中水浴 10 min 使得 MSU 粉末完全溶解, 得到透明澄清溶液。静置冷却后滴加浓盐酸, 调节溶液 pH 值至 7.2 并析出大量晶体。4 °C 过夜存放, 1 500 r/min 离心 10 min 后弃上清得到 MSU 晶体沉淀, 1 mL 无菌 PBS 即配制成所需的 MSU 晶体溶液, 终浓度为 150 mg/mL。

1.3.2 痛风性关节炎的造模 10 只雄性小鼠根据体重左腿踝关节处注射不同剂量的 MSU 混悬液诱发痛风性关节炎, 10 只对照组小鼠左腿踝关节注射无菌 PBS。以 MSU 注射后 2 h 出现明显肿胀和机械异常性疼痛为标准判断痛风性关节炎模型是否构建成功^[10]。

1.4 行为学实验

1.4.1 Von Frey 机械痛实验 Von Frey 纤维丝实验为一种定量评估啮齿类动物后爪的机械性痛觉超敏实验。实验前将小鼠静置适应 30 min, 按 Von Frey 纤维丝克力由小到大依次测定小鼠足底缩爪阈值, 重复 5 次并记录痛阈值。

1.4.2 悬尾实验 悬尾实验作为一种成熟的抑郁模型行为检测方法, 通过将小鼠尾部固定于高 30 cm 处, 诱导其产生不可逃避的应激。记录其不动时长, 不动时间越长, 表明小鼠的抑郁样行为越明显。

1.4.3 强迫游泳实验 采用强迫游泳实验评估小鼠抑郁样行为, 检测受试物的抗抑郁效应。将小鼠置于装有一定深度温水的密闭圆筒内, 观察并记录小鼠的行为状态, 统计小鼠静止不动时长, 以此评价小鼠绝望样行为及药物干预效果。

1.4.4 蔗糖偏好实验 通过蔗糖偏好实验检测小鼠抑郁样行为。给予小鼠自由选择饮水和 1% 蔗糖水, 记录 24 h 消耗量并计算蔗糖偏好率, 蔗糖偏好率=蔗糖水消耗量/(蔗糖水消耗量+纯水消耗量)×100%。偏

好率下降反映快感缺乏, 即抑郁样行为表现。

1.4.5 新奇抑制摄食 小鼠禁食 24 h 后, 放入散落食物颗粒的敞箱中央, 记录其首次进食的潜伏期。潜伏期延长反映快感缺失及焦虑相关行为。

1.4.6 免疫荧光染色 脑组织通过 4% 多聚甲醛溶液固定后, 蔗糖梯度沉降, 制成 30 μm 厚的冷冻切片置于防冻液中保存, 0.3% PBST 配制的 2% 胎牛血清配制封闭液, 一抗使用封闭液配制: BrdU (1:500), Dcx (1:500), Iba1 (1:1000), Gfap (1:1000) 并 4 °C 过夜。二抗以 1:500 使用 0.3% PBST 配制。封片固定后用激光共聚焦显微镜进行图片采集。

1.4.7 Western blot 实验 提取各组小鼠海马蛋白, 定量后将 25 μg 总蛋白进行凝胶电泳, 一抗 Creb (1:1000), Phospho-Creb (1:1000), ERK1/2 (1:1000), Phospho-Erk1/2 (1:1000), Gapdh (1:10000), 4 °C 孵育。对目的条带的灰度值进行统计分析。

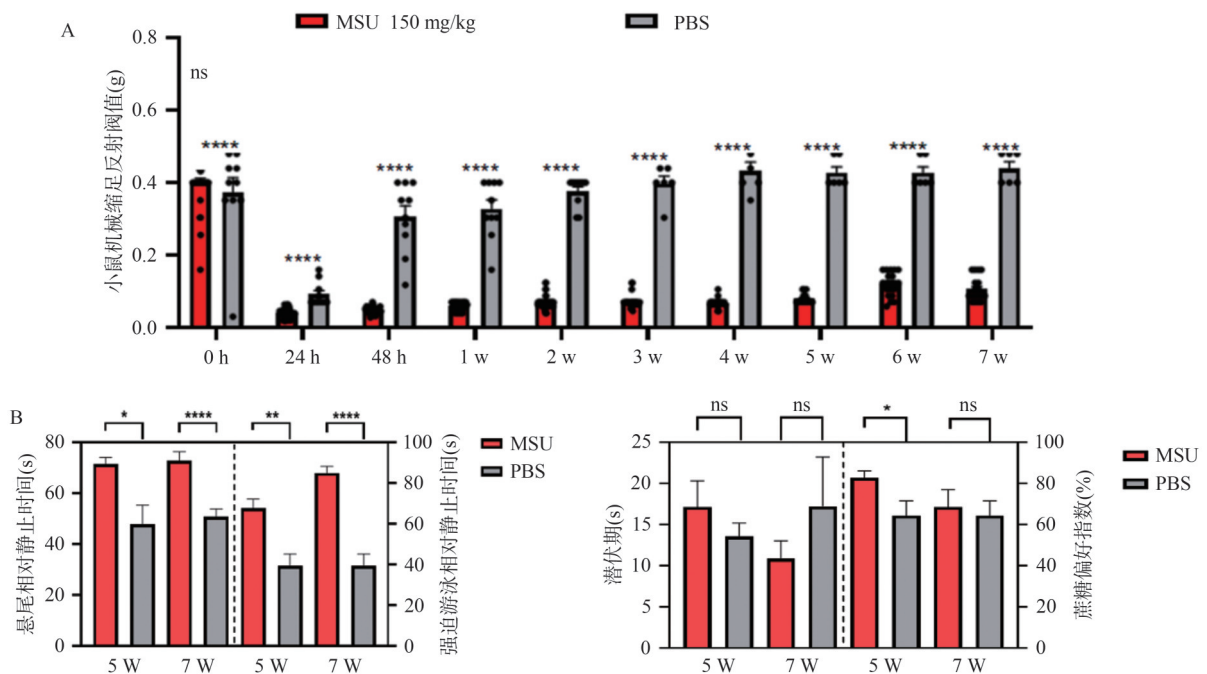
1.5 统计学方法

采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行分析处理。使用 *t* 检验、one-way ANOVA、two-way ANOVA 进行组间差异性分析, 统计结果采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义 (*表示 $P < 0.05$, **表示 $P < 0.01$, ***表示 $P < 0.001$, ****表示 $P < 0.0001$)。

2 实验结果

2.1 MSU 模型小鼠行为学表征

MSU 模型小鼠伴随疼痛与慢性炎症这两大主要病理学特征, 采用 Von Frey 纤维丝机械痛检测实验对造模后小鼠进行 0~7 周机械痛测量量化小鼠痛敏 (图 1A)。结果表明, 与对照组 (注射无菌 PBS) 相比, 模型组 (注射 150 mg/kg MSU) 小鼠痛觉敏化且痛阈值降低, 随时间推移疼痛有所缓解但 7 周时仍未恢复到基线水平, 即产生慢性疼痛。以上结果表明, MSU 造模可引起小鼠炎症与慢性疼痛。慢性痛引起负面情绪尤其表现为焦虑抑郁, 其中 HPA 轴功能失调和神经炎症均是疼痛诱发焦虑抑郁的主要因素。为评估 MSU 模型小鼠持续疼痛能否诱导抑郁, 本研究通过一系列行为学范式实验: 蔗糖偏好实验、悬尾实验和强迫游泳实验检测造模 5 周、7 周 MSU 模型小鼠抑郁样行为。结果如图 1B 所示, 在造模 7 周时模型小鼠在悬尾与强迫游泳实验静止不动时间仍显著长于对照组, 说明单次踝关节注射 150 mg/kg MSU 结晶引起的长时效疼痛可诱导小鼠产生抑郁样行为。



A: 150 mg/kg MSU 机械痛阈值影响; B: 模型小鼠行为学试验。

图1 MSU 诱导小鼠产生机械痛敏与抑郁样行为

2.2 MSU 模型小鼠海马神经干细胞增殖

为评估慢性痛诱发的抑郁对海马神经发生的影响,在造模 7 周后利用 BrdU 标记增殖细胞。免疫荧光染色结果显示如图 2,与 PBS 对照组相比,MSU 模型组小鼠海马区新生细胞数量显著减少($P<0.01$,见增强出版附件 1 图 1)。这一发现与模型小鼠表现出的抑郁样行为相结合,提示海马新生神经元的损伤可能与慢性痛诱发的抑郁状态相关。

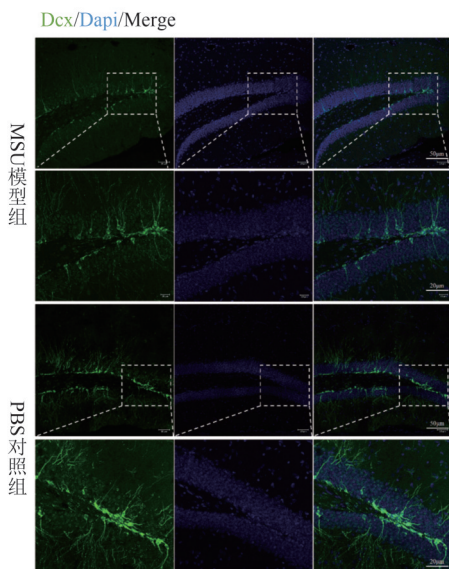


图2 MSU 模型小鼠海马神经元数目变化

2.3 MSU 模型小鼠海马未成熟神经元迁移

双皮质素(doublecortin, DCX)是一种微管结合蛋白,特异性表达于未成熟神经元,其表达水平常被用于评估海马齿状回神经发生的活性。与 MSU 模型组相比,对照组小鼠海马齿状回(DG 区)DCX 阳性未成熟神经元的树突分支更为丰富,提示其神经网络整合能力与突触可塑性更强;而模型组神经元突起明显减少($P<0.01$,见增强出版附件 1 图 2),提示神经发生过程受损,并伴随未成熟神经元结构异常,见图 3。

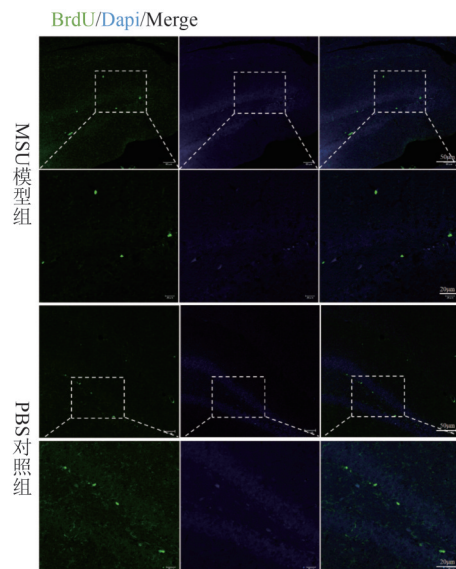


图3 MSU 模型小鼠海马未成熟神经元迁移变化

2.4 MSU 模型小鼠海马胶质细胞数量与形态变化

在神经炎症环境下的前额叶皮层和海马小胶质细胞释放 IL-1 β 、TNF- α 等促炎因子,这些促炎因子作用于星形胶质细胞导致其细胞数目大幅度减少,并且其突起收缩变短,转变为具有神经毒性的反应性星形胶质细胞(A1 型)。通过对 MSU 造模 7 周的小鼠进行脑组织切片染色(图 4、图 5),发现与对照组相比,MSU 造模组的小鼠海马区星形胶质细胞的数量显著增多($P<0.001$,见增强出版附件 1 图 3),但突起数目显著减少($P<0.01$,见增强出版附件 1 图 4)。同时,在 MSU 造模 7 周时,小鼠海马区齿状回区小胶质细胞与对照组相比,其数量与突起数目均显著增加($P<0.01$,见增强出版附件 1 图 5~6)。结合行为学检测结果,即 MSU 造模小鼠在 7 周时表现出明显的抑郁样行为,与悬尾和强迫游泳实验中表现出不动时间增加的情况相匹配。推测此时星形胶质细胞与小胶质细胞的活跃状态,一方面仍然参与小鼠体内炎症调节;另一方面则可能通过调节突触可塑性等方式介导小鼠抑郁样行为的调控。

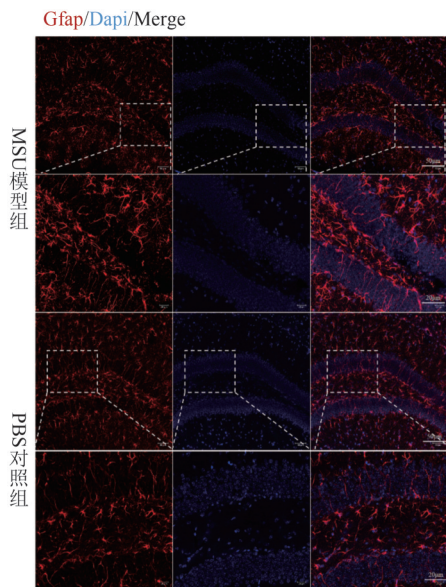


图4 MSU 模型小鼠造模 7 周海马星形胶质细胞数目及形态变化

2.5 MSU 模型小鼠海马蛋白表达水平

在神经炎症环境中,海马神经元功能分子受损,细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)和环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(CAMP-response element binding protein, CREB)通路共同调控着与突触可塑性相关的基因表达,这两个关键信号分子的失活,意味着海马神经元的突触可塑性受损从

而导致情感和认知功能的障碍^[11]。检测 MSU 造模 5 周和 7 周小鼠海马 Erk 和 Creb 的本底与磷酸化蛋白表达水平,结果如图 6 所示,MSU 造模 5 周小鼠海马 p-Creb 表达水平与对照组相比显著下调,在造模 7 周时仍有下调趋势;而 p-Erk 表达水平均与对照组无差异。提示神经炎症对海马的损害于 5 周达阈值且持续存在,其对 CREB 活性的抑制不依赖 ERK 通路。

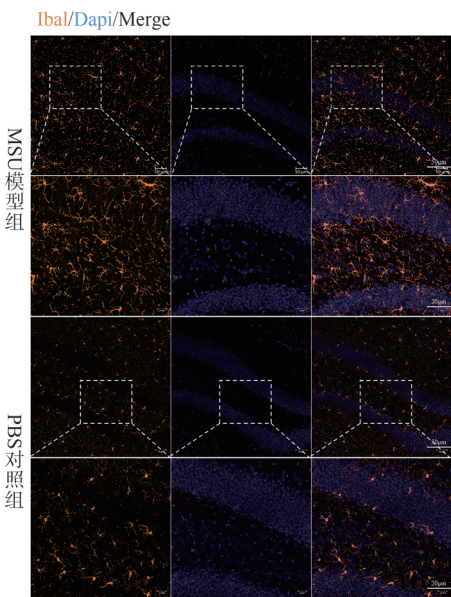


图5 MSU 模型小鼠造模 7 周海马小胶质细胞数目及形态变化

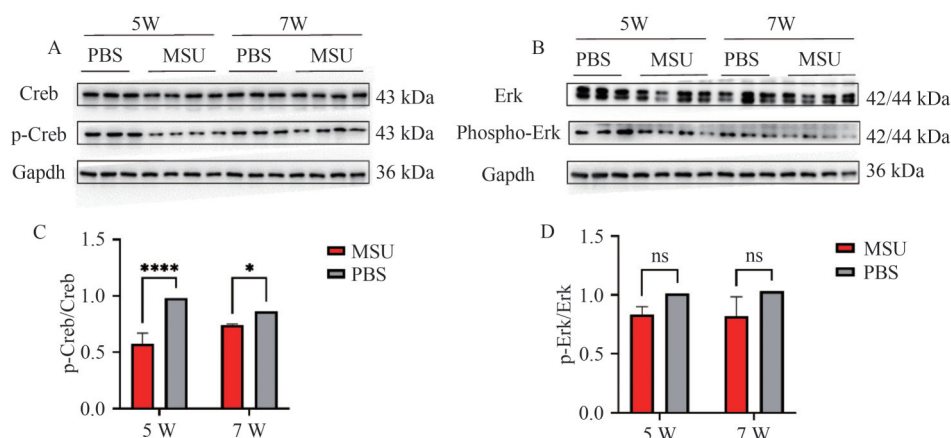
3 讨论

本研究通过构建 MSU 晶体诱导的慢性疼痛小鼠模型,探讨了海马神经可塑性在疼痛向抑郁转化过程中的关键作用^[12-13]。结果显示,长期疼痛应激可显著诱导小鼠出现抑郁样行为,该行为与海马神经可塑性多维度损伤密切相关^[14]。持续 7 周的疼痛刺激可明显抑制海马齿状回神经发生过程,具体表现为 BrdU 标记的新生神经元数量显著减少,同时 DCX 阳性未成熟神经元的数量显著减少。海马区同时呈现持续的神经炎症状态,小胶质细胞和星形胶质细胞均表现出广泛的激活现象^[15]。海马区内小胶质细胞与星形胶质细胞均被激活,表明神经炎症反应长期存在,海马神经干细胞的功能状态受到胶质细胞介导的免疫微环境的动态调节。活化的星形胶质细胞通过改变神经营养因子的分泌模式,影响神经干细胞的维持与分化过程^[16];而小胶质细胞的持续激活则可能通过异常突触修剪及炎症介质释放,进一步损害新生神经元的整合与功能成

熟^[17]。细胞周期调控关键蛋白水平分析显示,p-Creb在造模第5周和第7周均显著降低。

这些结果提示,MSU晶体所诱导的慢性疼痛可能通过驱动海马区持续的神经炎症及胶质细胞活化,特异性下调Creb信号,进而损害海马神经发生和突触可塑性^[18-19],这为理解慢性痛共病抑郁的神经机制提供了新的线索。本研究采用的单次踝关节注射MSU的造模方式,具有周期短、对小鼠正常行为

干扰小的优点,适用于慢性痛-抑郁共病的长期机制研究。与以往如坐骨神经损伤(慢性坐骨神经压迫损伤、坐骨神经分支选择性损伤)模型相比,小鼠肢体无损伤,可进行自由活动,有利于进行强迫游泳、悬尾实验等行为学检测与评价的客观性。后续工作可围绕Creb活性下调的上游途径展开,例如探究cAMP/PKA、CaMKIV等通路是否参与其中^[20-21],从而更系统地阐明慢性痛与抑郁共病的分子网络。



A:造模5周、7周小鼠与对照组小鼠海马Creb、p-Creb表达检测;B:造模5周、7周小鼠与对照组小鼠海马Erk、p-Erk表达检测;C:造模5周、7周小鼠与对照组小鼠海马p-Creb比例;D:造模5周、7周小鼠与对照组小鼠海马p-Erk比例。

图6 MSU模型小鼠海马蛋白表达

参考文献:

- [1] Aaron R V, Ravyts S G, Carnahan N D, et al. Prevalence of depression and anxiety among adults with chronic pain: A systematic review and meta-analysis [J]. JAMA Network Open, 2025, 8(3): e250268.
- [2] Serafini R A, Pryce K D, Zachariou V. The mesolimbic dopamine system in chronic pain and associated affective comorbidities [J]. Biological Psychiatry, 2020, 87(1): 64-73.
- [3] Yang S, Chang M C. Chronic pain: Structural and functional changes in brain structures and associated negative affective states [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(13): 3130.
- [4] Li M H, She K P, Zhu P F, et al. Chronic pain and comorbid emotional disorders: Neural circuitry and neuroimmunity pathways [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(2): 436.
- [5] Llorca-torralba M, Camarena-delgado C, Suárez-pereira I, et al. Pain and depression comorbidity causes asymmetric plasticity in the locus coeruleus neurons [J]. Brain, 2022, 145(1): 154-167.
- [6] Chen L Q, Lv X J, Guo Q H, et al. Asymmetric activation of microglia in the hippocampus drives anxiodepressive

consequences of trigeminal neuralgia in rodents [J]. British Journal of Pharmacology, 2023, 180(8): 1090-1113.

- [7] Somelar K, Jürgenson M, Jaako K, et al. Development of depression-like behavior and altered hippocampal neurogenesis in a mouse model of chronic neuropathic pain [J]. Brain Research, 2021, 1758: 147329.
- [8] Grilli M. Chronic pain and adult hippocampal neurogenesis: Translational implications from preclinical studies [J]. Journal of Pain Research, 2017, 10: 2281-2286.
- [9] Zhou W J, Jin Y, Meng Q, et al. Publisher Correction: A neural circuit for comorbid depressive symptoms in chronic pain [J]. Nature Neuroscience, 2019, 22(11): 1945.
- [10] 雒雪婷, 姜鸣, 白占涛, 等. MSU晶体诱发慢性痛转换抑郁样行为的研究 [J]. 延安大学学报(自然科学版), 2025, 44(2): 51-56.
- [11] Du Q H, Gao C, Tsoi B, et al. Niu Huang Qingxin Wan ameliorates depressive-like behaviors and improves hippocampal neurogenesis through modulating TrkB/ERK/CREB signaling pathway in chronic restraint stress or corticosterone challenge mice [J]. Frontiers in Pharmacology, 2024, 14: 1274343.

(下转第56页)