

不同强度跑台运动通过调控 BDNF/miR-124/p-CREB 信号通路改善 CUMS 小鼠抑郁样行为

王芳

(河南师范大学 体育学院,河南 新乡 453007)

摘要: [目的] 基于慢性应激诱导的抑郁动物模型,探讨不同强度连续跑台运动对缓解小鼠抑郁行为的干预作用及可能机制。[方法] 8 周龄雄性健康 KM 小鼠,随机分为空白对照组(SED)、慢性不可预知应激刺激(CUMS)抑郁模型组(SMD)、抑郁+低强度运动组(LICT)、抑郁+高强度运动组(HICT),每组 15 只。空白对照组和模型组常规喂养,不进行运动;模型运动组进行 8 周不同强度跑台运动干预。运动干预结束后测定各组小鼠的神经行为评分,实时荧光定量 RT-PCR 检测 miR-124 及相关 mRNA 的表达水平,Western blot 检测海马 BDNF、p-CREB 以及 RGS4 的蛋白表达水平。[结果] LICT 和 HICT 组均有效改善了 CUMS 实验小鼠的抑郁和焦虑样行为。与对照组相比,运动组 miR-124 和 RGS4 呈现差异负相关表达,且差异表达量与不同强度运动相关。不同强度的运动可有效改善抑郁小鼠海马功能,上调 BDNF、p-CREB 及 RGS4 的表达水平,下调 miR-124 的表达水平。[结论] 低强度和高强度运动通过影响 BDNF/CREB 信号通路改善 CUMS 小鼠抑郁样行为,低强度连续运动可能是缓解焦虑和抑郁的有效方式。

关键词: 不同强度运动;CUMS 抑郁症;基因调控;miR-124

中图分类号: G804.2

文献标志码: A

文章编号: 1000-2367(2025)03-0027-08

抑郁症(depression)作为一种高发、普遍性的精神疾病,以长期情绪低落、社会被孤立感和生活乐趣缺乏为特征,严重者会导致自杀倾向和行为,成为困扰全世界最重要的精神疾病难题之一^[1]。尤其是前几年新冠疫情给人们带来的巨大心理压力使得抑郁焦虑情绪愈发严重^[2]。目前,关于抑郁的可能机制有很多。多项研究表明,抑郁症与脑内海马调控情绪及心境障碍密切相关,而脑源性神经因子(BDNF)是一种重要的多肽生长因子,广泛分布在大脑皮质、小脑、脑干、下丘脑和海马等部分,可调控神经元细胞的增殖、分化、生存和死亡^[3-4]。BDNF 信号通路参与抑郁症的发病,能调节海马突触可塑性^[3-4],其表达水平降低可影响神经可塑性,促进神经元萎缩及功能下降,导致情绪低落、大脑功能受损,诱发抑郁症状。研究发现,BDNF 转录和 BDNF 信号传导受到多种调节因子的调控。作为细胞内重要的转录调控因子,环磷腺苷效应元件结合蛋白(CREB)磷酸化后(p-CREB)能启动 BDNF mRNA 转录,且与 BDNF mRNA 间存在正反馈调控^[5-6]。

除 BDNF 外,G-蛋白信号转导调节子 4(RGS4)也可能参与抑郁症的发病机制与抗抑郁治疗。RGS4 能控制多巴胺、肾上腺素、5-羟色胺等 G 蛋白偶联受体,通过促进 GTP 的水解使 G 蛋白复合体失活,从而负调控 G 蛋白 α 亚基的活性,控制并终止下游通路信号的传导。RGS4 主要调控大部分 G 蛋白偶联受体,如肾上腺素、5-羟色胺等的信号级联,RGS4 高表达于蓝斑、海马等与抑郁情绪及应激反应相关的前额皮层区域^[7]。

收稿日期: 2024-06-28; **修回日期:** 2024-10-02。

基金项目: 国家自然科学基金(31972773);河南省体育局体育课题研究(202440)。

作者简介(通信作者): 王芳(1983—),女,河南新乡人,河南师范大学讲师,博士,研究方向为动物遗传、运动心理,E-mail: 297291585@qq.com。

引用本文: 王芳.不同强度跑台运动通过调控 BDNF/miR-124/p-CREB 信号通路改善 CUMS 小鼠抑郁样行为[J].河南师范大学学报(自然科学版),2025,53(3):27-34.(Wang Fang.Different intensity treadmill exercise improve depressive-like behavior in CUMS mice by regulating BDNF/miR-124/p-CREB signaling pathway[J].Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition),2025,53(3):27-34.DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2024.06.28.0001.)

HUSAIN 等^[8]发现抗抑郁治疗后 RGS4 基因的表达水平较治疗前的表达有所升高.研究发现使用抗抑郁药物后 RGS4 基因在脑组织中的表达量显著升高.针对抑郁动物模型的实验发现,增强 RGS4 基因的活性水平可能提高抗抑郁药的疗效^[9].研究还发现,RGS4 基因的单核苷酸多态性(SNPs)(rs10759、rs951436)与汉族人群抑郁症及抗抑郁疗效有关^[10].

miRNAs 作为神经发生的重要调控因子,在大脑发育和功能中扮演着重要的角色^[11].miR-124 是成人大脑中表达最丰富的 miRNAs 之一^[12].有文献报道^[13],miR-124 在尸脑研究动物,抑郁模型及临床研究的重度抑郁障碍(major depressive disorder,MDD)患者中的表达异常.过表达 miR-124 能诱导抑郁的发生,抑制 miR-124 的表达能缓解抑郁的症状,起到抗抑郁的作用^[14].HIGUCHI 等^[15]通过对小鼠进行慢性应激刺激发现,小鼠海马 miR-124 及其靶基因表达异常,但异常表达可通过药物进行慢性治疗后得到改变.RGS4 已被验证是 miR-124 靶基因的蛋白质^[16].综合研究结果表明,miR-124 不仅是评估抑郁症的一个关键标志物也是治疗抑郁症的一个重要靶点^[16].

一直以来,体育锻炼对人的情绪状态、大脑活动产生的积极影响是被人们普遍认可的,通过运动能够改善人们的消极情绪,缓解抑郁和焦虑^[17].这些年,运动作为神经退行性和精神疾病的一种非药物治疗方法备受学术界的关注和研究^[18].最新研究发现,有氧运动能通过提高慢性应激实验鼠海马神经可塑性从而发挥抗抑郁作用^[19].运动可通过影响调控认知功能的相关基因和蛋白的表达,如 p-CREB,来调节神经突触可塑性^[20].JI 等^[21]研究发现强制跑轮运动能通过促进大鼠海马 BDNF 等相关蛋白的表达,从而激活 BDNF/p-CREB 信号通路来改善大鼠大脑神经发生和认知的损伤.综合目前研究发现,关于不同强度运动尤其是高强度运动对 BDNF 表达产生的影响结果不尽相同,有学者表明连续高强度运动对大鼠海马 BDNF 的表达有抑制效果^[22],也有研究说明高强度运动对大鼠海马 BDNF 的表达无显著影响^[23].

目前,对于抑郁症的病因机制尚不清楚.综合已有研究发现,尚未有研究比较不同强度运动对 miR-124、RGS4、BDNF 及 p-CREB 表达的影响.因此,本实验拟针对慢性不可预知应激刺激(chronic unpredictable stress,CUMS)抑郁小鼠模型,研究不同强度连续运动干预对 CUMS 小鼠 miR-124、RGS4 及 BDNF/p-CREB 信号通路的影响,探讨不同强度运动改善抑郁和焦虑症状的可能调控机制,为运动干预抑郁症的后续相关研究提供数据支持.

1 材料与方法

1.1 动物和分组

60 只 8 周龄雄性健康 KM 小鼠,适应性喂养 1 周后随机分为 4 组($n=15$).对照组(SED)、CUMS 抑郁模型组(SMD)、抑郁+低强度运动组(LICT)、抑郁+高强度运动组(HICT).所有动物在室温为 $(23\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 、湿度 40%~60%的标准动物房内饲养,普通动物饲料喂养,SMD、LICT 和 HICT 组进行 CUMS 抑郁造模,LICT 和 HICT 组造模成功后进行为期 8 周的不同强度跑台训练.SED 组和 SMD 组每天被放置在静止跑台 30 min.本研究通过河南师范大学学术委员会伦理审查审批,伦理编号为 HNSD-2024BS-1229.

1.2 CUMS 抑郁模型构建与运动方案

CUMS 抑郁小鼠模型构建:CUMS 抑郁模型组(SMD)、抑郁+低强度运动组(LICT)、抑郁+高强度运动组(HICT)进行不可预知应激因子刺激.45 $^{\circ}\text{C}$ 高温游泳、4 $^{\circ}\text{C}$ 冰水游泳、轻夹鼠尾、束缚、潮湿垫料、水平摇摆、昼夜调换、白噪音、倾斜鼠笼、禁食、禁水、间断闪光刺激,持续 28 d,每天安排 1~2 种刺激.应激刺激因子按照随机数字法得出刺激方案,为防止实验小鼠出现适应,相近两天实施不重复刺激.

研究所用运动方案参照文献^[24]的研究.LICT 组、HICT 组小鼠造模成功后先进行适应性跑台运动 1 周(7 d,15 min/d),跑台速率为 5 m/min,坡度 0 $^{\circ}$,15 min/d.实验正式开始,SED 组、SMD 组每天置于静止跑台上 30 min;LICT 组前 5 min 的运动速率为 2 m/min,之后 5 min 运动速率为 8 m/min,最后 20 min 的运动速率为 10 m/min;HICT 组在开始 5 min 运动速率为 8 m/min,之后 5 min 运动速率为 11 m/min,最后 20 min 的运动速率为 22 m/min,每周进行 6 d,每天运动 30 min,连续训练 8 周.运动训练时间均在上午 10:00 到 11:30 开展.训练过程中无小鼠死亡.

1.3 行为学评估

1)糖水消耗实验(sucrose test ST):将实验小鼠禁食禁水 14 h 后,每个笼子放置 2 瓶均为 200 mL 的水瓶(1 瓶纯净水、1 瓶质量分数 1 %蔗糖水),为防止实验小鼠对 2 瓶液体产生位置偏好,12 h 后交换 2 个瓶子的位置,24 h 后取出水瓶,计算糖水消耗值。

2)悬尾实验(tail suspension test, TST):将实验小鼠尾巴固定于悬尾箱支架上,头部向下悬空,录像记录实验小鼠 6 min 内不动状态及后 3 min 的不动时间。

以上行为学评估过程按先糖水消耗实验再悬尾实验进行,每只实验小鼠同时 3 人观察和记录以减少人为误差,结果取平均值。

1.4 样本采集

8 周不同强度运动训练结束后,立即进行行为学检测,所有实验小鼠禁食 12 h 后麻醉取材,通过眼球取血法采集实验小鼠血液,血液放置 4 ℃ 冰箱 2 h 后离心,抽取上层血清,−20 ℃ 保存,待后续检测。取血后立刻剪开小鼠头皮,打开颅骨分离海马组织,将海马组织用预冷的生理盐水冲洗后分装到冷冻管,置于液氮保存,备后续检测使用。

1.5 实时荧光定量 PCR 与蛋白表达检测(western blot)

依照说明书,使用 Trizol 试剂提取实验小鼠总 RNA,使用超微量分光光度计测定总 RNA 纯度和质量。使用逆转录试剂盒合成 cDNA,通过 Real-time PCR 试剂盒以 cDNA 为模板开展 PCR 反应,实时荧光定量 PCR 反应体系为 20 mL,设置 40 个循环,每个样本设置 3 个重复,根据检测结果的 Ct 值,以 U6 和 GAPDH 为内参,用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算出 miR-124、RGS4、BDNF 的相对表达量,所用引物见附录表 S1。

用电动研磨器将实验小鼠海马组织研磨碎,PIPA 裂解液提取总蛋白质,BCA 方法检测总蛋白的浓度,再经过蛋白质变性,加样和电泳,转膜,封闭,一抗孵育、二抗孵育,最后通过 ECL 化学显影并拍照,蛋白表达检测使用 β -actin 作为内参。

1.6 数据统计分析

应用 SPSS 20.0 软件对实验数据进行统计分析,数据结果以平均数 $\pm$ 标准差($M\pm SD$)表示,采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。组间显著差异比较,以 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 为标准。

2 结 果

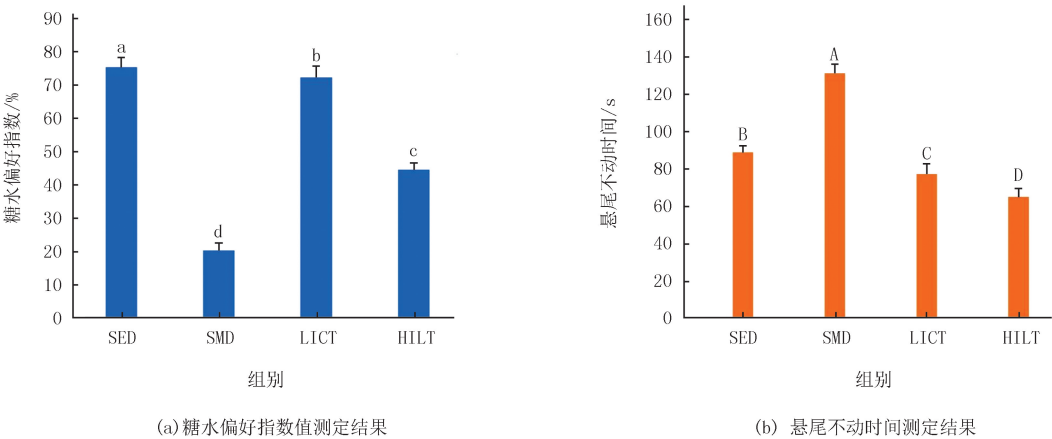
2.1 CUMS 抑郁造模的效果评价

为期 8 周的不同强度连续跑台运动后,通过糖水偏好和悬尾实验对各组实验小鼠进行神经行为学评定。结果显示,与 SED 组相比,SMD 组糖水偏好指数显著下降($P<0.01$),表示造模成功。经过 8 周的运动干预后,HICT 组、LICT 组糖水偏好指数与 SMD 组相比显著上升($P<0.01$) (见附录表 S2 和图 1(a))。悬尾实验中,与 SED 组相比,SMD 小鼠悬尾实验的不动时间显著延长($P<0.01$),不同强度运动干预后,小鼠不动时间与 SMD 组相比显著减少($P<0.01$) (见图 1(b))。以上实验数据结果说明 CUMS 抑郁造模成功。通过检测结果发现,不同强度的运动干预能够提升 CUMS 小鼠的糖水偏好指数,降低 CUMS 小鼠的悬尾实验不动时间,改善实验小鼠的抑郁样表现。

2.2 不同强度运动对 CUMS 小鼠 miR-124、RGS4、BDNF、p-CREB 表达的影响

结果显示,见图 2,与 SED 组相比,SMD 组小鼠大脑中 miR-124 表达显著上升($P<0.01$),RGS4 表达显著下降($P<0.01$),BDNF 的表达显著下调($P<0.01$)。通过 8 周不同强度的运动干预后,与 SMD 相比,LICT 和 HICT 组实验小鼠大脑中 miR-124 表达显著下降($P<0.01$),且 HICT 组 miR-124 的表达与 LICT 组相比显著下调($P<0.01$)。与 SMD 相比,高强度和低强度运动干预后 RGS4 的表达均显著上升($P<0.01$),但结果显示,HICT 组对抑郁小鼠 RGS4 表达的影响较 LICT 组小。研究中我们发现,不同运动强度干预对 CUMS 小鼠海马 BDNF 的表达影响有所不同,虽然两个运动强度实验组小鼠的 BDNF 表达均显著高于 SMD 组($P<0.01$),但 HICT 组 BDNF 的表达较 LICT 组显著降低($P<0.01$),且略低于 SED 组但无显著差异。p-CREB 的表达趋势变化和 BDNF 一致,SMD 组 p-CREB 表达显著下降($P<0.01$),经运动干预后表达

显著上调($P<0.01$).提示低强度运动更能有效促进 CUMS 抑郁小鼠海马 BDNF 和 p-CREB 的表达,从而缓解 CUMS 小鼠的抑郁样行为.



大、小写字母不同表示数据差异显著 ($P<0.01$), 全文同.

图1 CUMS小鼠行为学测定结果柱状图
Fig.1 The results of assessment of CUMS depression mice

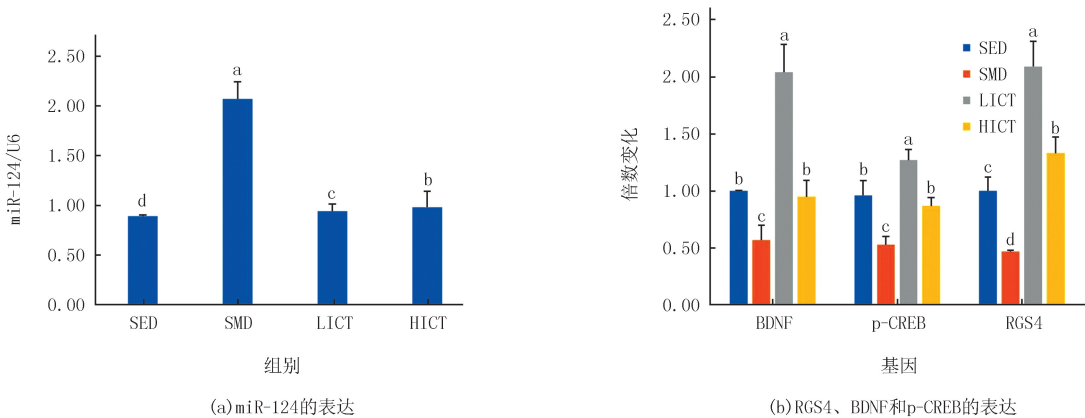


图2 CUMS小鼠miR-124、RGS4、BDNF和p-CREB mRNA表达
Fig.2 Relative mRNA expressions of miR-124, RGS4, BDNF and p-CREB of CUMS mice

2.3 运动干预对 CUMS 小鼠 RGS4、BDNF 及 p-CREB 蛋白表达的影响

通过 Western blot 对不同组别实验小鼠的 RGS4(miR-124 靶基因)、BDNF 及 p-CREB 蛋白表达进行检测,结果如图 3 所示.与 SED 组相比,SMD 组 RGS4、BDNF 及 p-CREB 蛋白表达显著下降($P<0.01$).通过 8 周低强度和高强度跑台运动干预后, LICT 组和 HICT 组实验小鼠 RGS4 蛋白表达显著上调($P<0.01$,与 SMD 组相比),且 HICT 组 RGS4 表达较 LICT 组无显著差别.结果显示, LICT 组实验小鼠海马 BDNF 的表达显著高于 SMD 组($P<0.01$),而 HICT 组实验小鼠海马 BDNF 的表达虽显著高于 SMD 组($P<0.01$),但与 LICT 组相比明显降低($P<0.01$). LICT 组实验小鼠海马 p-CREB 的表达显著高于 SMD 组与 SED 组($P<0.01$),而 HICT 组实验小鼠海马 p-CREB 的表达虽显著高于 SMD 组($P<0.01$),但显著低于 LICT 组的表达水平($P<0.01$).综合以上实验结果可知,低强度和高强度运动均能上调抑郁小鼠 RGS4、BDNF 与 p-CREB 的表达,但低强度运动的干预效果更好(见图 3).

2.4 运动干预后 CUMS 小鼠 miR-124 与 RGS4 及其与抑郁间的关系

miR-124 在中枢神经系统中表达最为活跃,有研究发现其在小鼠中枢神经系统中的表达量比其他组织器官中高出 100 倍^[25],被认为与抑郁治疗密切相关.通过不同强度的运动干预后发现, CUMS 小鼠 miR-124 表达下调,而 RGS4 基因表达上调.通过 SPSS 的 Pearson 线性相关分析显示, LICT 组 miR-124 基因的表达水平与 RGS4 表达水平呈现显著负相关($R=-0.52, P<0.05$)(见图 4(a)), HICT 组 miR-124 的表达水平

与 RGS4 表达水平相关性较弱($R = -0.25, P > 0.05$)(见图 4(b)).RGS4 已被验证是 miR-124 的靶基因,miR-124 能调控 RGS4 基因的表达,这与本研究的结果一致.研究发现,SMD 组抑郁小鼠 miR-124 表达上调,RGS4 表达下调,经过不同强度的运动干预后,miR-124 表达下调,RGS4 表达上调,提示运动可通过调控 miR-124 的表达靶向调控 RGS4 的表达.

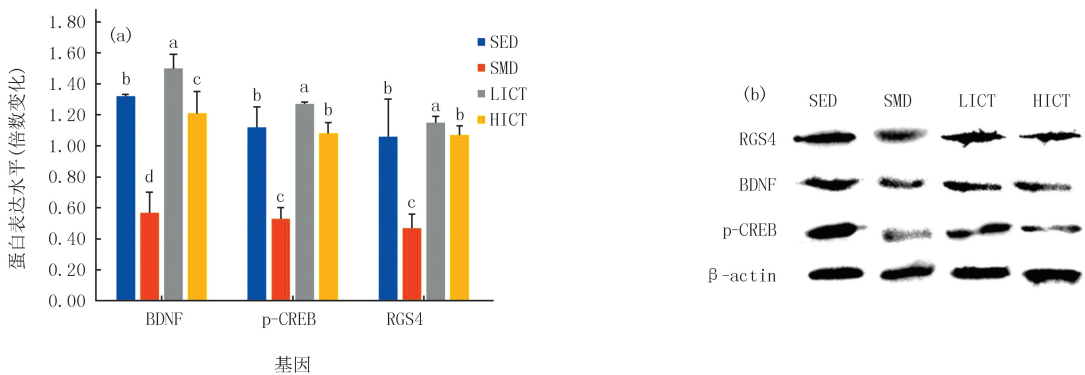


图3 不同强度运动对小鼠海马BDNF、RGS4、p-CREB蛋白水平的影响
Fig.3 Effects of different intensities exercises on BDNF,RGS4 and p-CREB protein levels in CUMS mice hippocampus

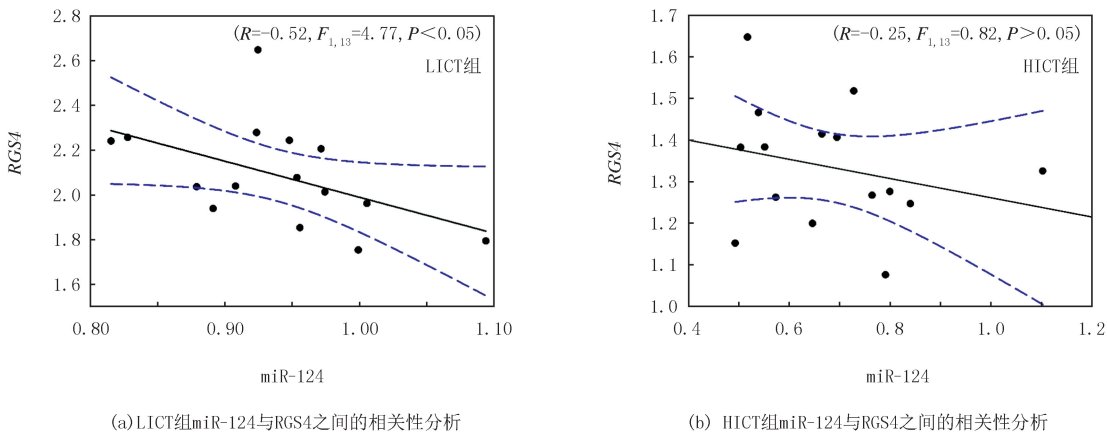


图4 LICT和HICT组miR-124与RGS4之间的相关性分析
Fig.4 The relation between miR-124 and RGS4 of LICT and HICT Group

3 分析与讨论

研究表明通过慢性不可预见性应激刺激的方式进行抑郁造模是研究抑郁缓解、改变的最佳模型,受到广大研究人员的认可和应用^[26],本研究采用此方法进行抑郁造模.研究结果发现实验小鼠抑郁时,p-CREB、BDNF 的表达均显著下降,小鼠的海马神经功能下降.转录因子(CREB)环磷酸腺苷反应原件结合蛋白磷酸化后转变为活性转录因子(p-CREB),参与多种细胞因子转录水平的调节,其中包括 BDNF.同时,研究结果还表明 miR-124 的表达显著上升,综合结果推测这一过程可能与抑郁小鼠 p-CREB 表达下降,调控 BDNF 的表达水平下降,从而诱导 miR-124 的表达上升,进而影响海马神经功能有关.

运动可以改善情绪,提高大脑认知能力,有效缓解焦虑和抑郁^[17],且许多学者研究表明,运动可能通过调控神经分子机制来缓解焦虑和抑郁,如 BDNF 的表达、miRNA 的表达,而运动强度是被认为是影响运动干预效果最重要的因素^[27].但针对不同运动强度干预对抑郁缓解的机制研究报道较少,仅限于对空间学习和大脑记忆及神经可塑性^[28],或是限于单一强度运动.本研究结果表明,LICT 组和 HICT 组 CUMS 抑郁小鼠 RGS4、BDNF、p-CREB mRNA 和蛋白含量的表达较 SMD 组均有显著增加,而 miR-124 mRNA 和蛋白表达均被下调,提示低强度和高强度跑台运动能提高海马功能,显著提高糖水消耗,降低强迫悬尾不动持续

时间,增加抑郁小鼠的求生欲望,改善了实验小鼠的抑郁和焦虑症状.实验结果表明,不同强度的跑台运动可下调 miR-124 的表达,激活 BDNF/CREB 信号通路,从而促进 p-CREB、BDNF 的表达,改善抑郁小鼠的海马功能,具有显著性意义.

已有多项研究表明 miR-124 在抑郁症中异常表达,已被学者认为是一个重要的抑郁症生物标志物 and 治疗的靶点^[16,29].在本研究中,抑郁小鼠的 miR-124 表达显著上调,结果与以往研究一致.通过 8 周的不同强度运动干预后 miR-124 的表达显著下调,表明 miR-124 在抑郁及抑郁行为改善过程中表达异常显著,被认为是一个关键的抑郁症生物标志物 and 治疗的靶点.RGS4 已被证实是 miR-124 的靶基因^[10],在与应激及抑郁紧密相关的区域表达丰富^[7].本研究显示,抑郁小鼠 RGS4 的表达显著下调,经过 8 周不同强度运动干预后,RGS4 表达被显著上调,同时相关性分析结果也表明低强度运动组 miR-124 和 RGS4 呈高度负相关.说明不同强度的运动干预通过 miR-124 的下调靶向调控 RGS4 的表达,有效缓解抑郁小鼠的焦虑和抑郁.

目前,普遍认为低等强度和中等强度连续运动均能改善大脑的认知功能^[30],但关于高强度连续运动对大脑认知功能的影响还存在不同的意见.有学者实验发现,连续的高强度运动能够诱发认知方面的功能障碍^[31],甚至还会限制有氧运动对认知的改善作用^[32],但有的学者研究发现高强度连续运动能提高青少年、儿童的短时记忆^[33],还能够改善老年人的认知功能,降低痴呆发病的概率^[34].本研究发现运动干预对抑郁小鼠情绪的改善具有运动强度依赖性的影响,连续 8 周的低强度运动和高强度运动都能显著改善抑郁小鼠的情绪,缓解焦虑和抑郁,但低强度运动较高强度运动对 BDNF、p-CREB 的影响更为显著,说明低强度运动对 CUMS 抑郁小鼠的干预效果更明显,推测这可能是因为低强度运动通过增强 CREB 的磷酸化促进 BDNF mRNA 的表达,而增加的 BDNF 又反过来促进 CREB 的表达,两者之间形成了一个正反馈调控环,连续高强度运动则打断了此正反馈调控环路.推测连续高强度运动对大脑认知功能和抑郁焦虑情绪的干预效果不一致可能与运动强度、运动环境及运动时间等实验参数设置的不同也有关系.以上假设有待进一步研究.

对于抑郁症的发病机制不同的学者从遗传学和分子层面进行了一定的研究,但具体的发病机制还需要进一步探讨,通过这些研究发现,BDNF 信号通路参与抑郁症的发病,诱发抑郁行为,miRNAs 也参与并在抑郁症发病机制中起到重要作用^[35-36].目前,运动具有绿色、副作用少、经济及操作性强等优势,成为了抑郁症干预治疗的一种手段而受到大家的认可.而运动通过调节 miRNAs 来干预抑郁症是一个研究热点,本研究认为低强度和高强度运动通过影响 BDNF/CREB 信号通路改善了 CUMS 小鼠的抑郁样行为.低强度和高强度运动运动干预可能通过影响 CUMS 抑郁小鼠 miR-124 的表达,激活 BDNF/CREB 信号通路,靶向 RGS4 来调控小鼠海马认知功能,从而缓解焦虑和抑郁症状.同时,通过本研究还发现低强度连续运动可能是缓解焦虑和抑郁的有效方式,可为运动干预改善抑郁样行为提供理论依据.

附录见电子版(DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2024.06.28.0001).

参 考 文 献

- [1] SOLHAUG H I,ROMULD E B,ROMILD U,et al.Increased prevalence of depression in cohorts of the elderly:an 11-year follow-up in the general population-the HUNT study[J].International Psychogeriatrics,2012,24(1):151-158.
- [2] 戴立磊,黄莹,杜晖,等.新冠肺炎疫情影响下长期居家人员的情绪及睡眠质量的调查及危险因素分析[J].临床精神医学杂志,2021,31(2):120-123.
DAI L L,HUANG Y,DU H,et al.The mood and sleep quality of long-term home residents under the influence of COVID-19 epidemic and its risk factors[J].Journal of Clinical Psychiatry,2021,31(2):120-123.
- [3] 陈雨松.CREB-BMSCs 移植改善 PD 模型大鼠学习记忆障碍的实验研究[D].扬州:扬州大学,2018.
- [4] BAIRD J F,GAUGHAN M E,SAFFER H M,et al.The effect of energy-matched exercise intensity on brain-derived neurotrophic factor and motor learning[J].Neurobiology of Learning and Memory,2018,156:33-44.
- [5] MOJTAHEDI S,KORDI M R,HOSSEINI S E,et al.Effect of treadmill running on the expression of genes that are involved in neuronal differentiation in the hippocampus of adult male rats[J].Cell Biology International,2013,37(4):276-283.
- [6] KIM S E,KO I G,KIM B K,et al.Treadmill exercise prevents aging-induced failure of memory through an increase in neurogenesis and suppression of apoptosis in rat hippocampus[J].Experimental Gerontology,2010,45(5):357-365.
- [7] NI Y G,GOLD S J,IREDALE P A,et al.Region-specific regulation of RGS4(regulator of G-protein-signaling protein type 4)in brain by

- stress and glucocorticoids;in vivo and in vitro studies[J].The Journal of Neuroscience,1999,19(10):3674-3680.
- [8] HUSAIN B F,NANAVATY I N,MARATHE S V, et al.Hippocampal transcriptional and neurogenic changes evoked by combination yohimbine and imipramine treatment[J].Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry,2015,61:1-9.
- [9] STRATINAKI M,VARIDAKI A,MITSU V,et al.Regulator of G protein signaling 4 is a crucial modulator of antidepressant drug action in depression and neuropathic pain models[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2013,110(20):8254-8259.
- [10] GONG Y G,WU C N,XU J W,et al.Polymorphisms in microRNA target sites influence susceptibility to schizophrenia by altering the binding of miRNAs to their targets[J].European Neuropsychopharmacology,2013,23(10):1182-1189.
- [11] SAUGSTAD J A.MicroRNAs as effectors of brain function with roles in ischemia and injury,neuroprotection,and neurodegeneration[J].Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism,2010,30(9):1564-1576.
- [12] LAGOS-QUINTANA M,RAUHUT R,YALCIN A,et al.Identification of tissue-specific microRNAs from mouse[J].Current Biology,2002,12(9):735-739.
- [13] ROY B,DUNBAR M,SHELTON R C,et al.Identification of microRNA-124-3p as a putative epigenetic signature of major depressive disorder[J].Neuropsychopharmacology,2017,42(4):864-875.
- [14] BAH I A,CHANDRASEKAR V,DREYER J L.Selective lentiviral-mediated suppression of microRNA124a in the hippocampus evokes antidepressant-like effects in rats[J].Psychoneuroendocrinology,2014,46:78-87.
- [15] HIGUCHI F,UCHIDA S,YAMAGATA H,et al.Hippocampal microRNA-124 enhances chronic stress resilience in mice[J].The Journal of Neuroscience,2016,36(27):7253-7267.
- [16] DWIVEDI Y.MicroRNA-124:a putative therapeutic target and biomarker for major depression[J].Expert Opinion on Therapeutic Targets,2017,21(7):653-656.
- [17] MORGAN J A,SINGHAL G,CORRIGAN F,et al.The effects of aerobic exercise on depression-like,anxiety-like,and cognition-like behaviours over the healthy adult lifespan of C57BL/6 mice[J].Behavioural Brain Research,2018,337:193-203.
- [18] CASSILHAS R C,TUFIK S,DE MELLO M T.Physical exercise,neuroplasticity,spatial learning and memory[J].Cellular and Molecular Life Sciences,2016,73(5):975-983.
- [19] HUSAIN B F A,NANAVATY I N,MARATHE S V,et al.Hippocampal transcriptional and neurogenic changes evoked by combination yohimbine and imipramine treatment[J].Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry,2015,61:1-9.
- [20] SPERLICH B,DE CLERCK I,ZINNER C,et al.Prolonged sitting interrupted by 6-Min of high-intensity exercise:circulatory,metabolic,hormonal,thermal,cognitive,and perceptual responses[J].Frontiers in Physiology,2018,9:1279.
- [21] JI J F,JI S J,SUN R,et al.Forced running exercise attenuates hippocampal neurogenesis impairment and the neurocognitive deficits induced by whole-brain irradiation via the BDNF-mediated pathway[J].Biochemical and Biophysical Research Communications,2014,443(2):646-651.
- [22] VAN PRAAG H,KEMPERMANN G,GAGE F H.Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus [J].Nature Neuroscience,1999,2(3):266-270.
- [23] FABEL K,WOLF S A,EHNINGER D,et al.Additive effects of physical exercise and environmental enrichment on adult hippocampal neurogenesis in mice[J].Frontiers in Neuroscience,2009,3:50.
- [24] KIM K,SUNG Y H,SEO J H,et al.Effects of treadmill exercise-intensity on short-term memory in the rats born of the lipopolysaccharide-exposed maternal rats[J].Journal of Exercise Rehabilitation,2015,11(6):296-302.
- [25] MISHIMA T,MIZUGUCHI Y,KAWAHIGASHI Y,et al.RT-PCR-based analysis of microRNA(miR-1 and -124)expression in mouse CNS[J].Brain Research,2007,1131(1):37-43.
- [26] 钟晓明,毛庆秋,黄真,等.苏郁胶囊对慢性应激抑郁模型大鼠海马神经细胞凋亡的影响[J].中国现代应用药理学,2006,23(S2):733-737.
- [27] ZHONG X M,MAO Q Q,HUANG Z,et al.The effect of Suyu capsule on nerve cell apoptosis in hippocampus of the depression model rats[J].Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy,2006,23(S2):733-737.
- [27] 刘国立,李杰,马世坤,等.不同运动等级散打运动员鞭腿技术的运动学特征分析[J].河南师范大学学报(自然科学版),2022,50(3):150-156.
- [28] LIU G L,LI J,MA S K,et al.Analysis of kinematic characteristics of whipping technique in Sanda athletes with different sports levels[J].Journal of Henan Normal University (Natural Science Edition),2022,50(3):150-156.
- [28] 张艳.有氧运动改善慢性应激诱发抑郁大鼠空间学习的脑机制[D].天津:天津体育学院,2014.
- [29] 田涛,段芙蓉,戴立,等.抑郁症患者 BDNF、IL-6 及 miR-124 的表达与疾病严重程度关系研究[J].精神医学杂志,2022,35(6):454-457.
- [30] PARK H S,KIM C J,KWAK H B,et al.Physical exercise prevents cognitive impairment by enhancing hippocampal neuroplasticity and mitochondrial function in doxorubicin-induced chemobrain[J].Neuropharmacology,2018,133:451-461.
- [31] SUN L N,LI X L,WANG F,et al.High-intensity treadmill running impairs cognitive behavior and hippocampal synaptic plasticity of rats via activation of inflammatory response[J].Journal of Neuroscience Research,2017,95(8):1611-1620.

[32] LAN Y S,HUANG Z Y,JIANG Y J,et al.Strength exercise weakens aerobic exercise-induced cognitive improvements in rats[J].PLoS One,2018,13(10):e0205562.

[33] SAMUEL R D,ZAVDY O,LEVAV M,et al.The effects of maximal intensity exercise on cognitive performance in children[J].Journal of Human Kinetics,2017,57:85-96.

[34] BROWN B M,RAINEY-SMITH S R,CASTALANELLI N,et al.Study protocol of the intense physical activity and cognition study:the effect of high-intensity exercise training on cognitive function in older adults[J].Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions,2017,3(4):562-570.

[35] 程艳.CircPTK2 靶向结合 miR-182-5p 调控 BDNF 表达改善抑郁样行为的作用及机制研究[D].长春:吉林大学,2022.

[36] CAMKURT M A,ACARS,COSKUN S,et al.Comparison of plasma microRNA levels in drug naive,first episode depressed patients and healthy controls[J].Journal of Psychiatric Research,2015,69:67-71.

Different intensity treadmill exercise improve depressive-like behavior in CUMS mice by regulating BDNF/miR-124/p-CREB signaling pathway

Wang Fang

(College of Physical Education, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: [Objective]To explore the effects and possible mechanisms of different intensities of continuous treadmill running on chronic unpredictable mild stress(CUMS) depression mouse model. [Methods]Healthy 8-week-old male KM mice were randomly divided into the normal(SED), the model(SMD), the low-intensity exercise group(LICT), and high-intensity exercise group(HICT), 15 mice in each group. The normal group and the model group were fed regularly and did not exercise, the exercise group were placed on the treadmill for 8 weeks with different exercise intensity. After the exercise intervention, the neurobehavioral scores of each group of mice were measured; the expression levels of miR-124 and related mRNA were detected by RT-PCR; the protein expression levels of BDNF, p-CREB and RGS4 in hippocampus were detected by Western blot. [Results]Both the LICT and HICT groups effectively improved the depression and anxiety-like behaviors of CUMS mice. Compared with the control group, the exercise group showed a negative correlation between miR-124 and RGS4 expression, and the differential expression levels were associated with different intensities of exercise. Different intensities of exercise can effectively improve hippocampal function in CUMS mice, upregulating the expression levels of BDNF, p-CREB, and RGS4, and downregulating the expression level of miR-124. [Conclusion]Low-intensity and high-intensity exercise can improve depressive-like behavior in CUMS mice by affecting the BDNF/CREB signaling pathway, low-intensity continuous exercise may be an effective way to alleviate anxiety and depression.

Keywords: different intensity exercise; CUMS depression; gene regulation; miR-124

[责任编辑 刘洋 赵晓华]

表 S1 研究基因引物序列表
Tab. S1 The primer sequence of target genes

基因名称	5'-引物序列(正向)-3'	3'-引物序列(反向)-5'
RGS4	5'-GAAAACCTGATTAGTCATGA	AATCCGTGTGACTCCCCTGGT
BDNF	ACGAGACCAAGTGTAATCCC	TATCCTTATGAATCGCCAGC
p-CREB	CAACCAGCAGAGTGGAGATG	GGATACCTGGGCTAATGTGG
miR-124	TGGGGATTGYGGTTAGTTTTT	AAAACAATCCRAATACCCCTCAAC
U6	GCTTCGGCAGCACATATACTAAT	CGCTTCACGAATTTGCGTGTCA
GAPDH	CATGGCCTTCCGTGTTTCCTA	CCTGCTTCACCACCTTCTTGAT

表 S2 CUMS 小鼠行为学测定结果(M±SD,n=15)
Tab. S2 The results of assessment of CUMS depression mice

处理组	悬尾不动时间/s	糖水偏好指数/%
SED	88.91±3.45B	75.22±3.05a
SMD	131.30±4.73A	20.30±2.20d
LICT	77.38±5.37C	72.22±3.43b
HICT	65.12±4.66D	44.51±2.15c

注:大、小写字母不同表示数据差异显著($P<0.01$).SED、SMD、LICT、HICT 分别代表对照组、抑郁模型组、抑郁+低强度运动组、抑郁+高强度运动组(全文同).