

雌二醇改善慢性温和性应激诱导的去卵巢雌鼠空间学习记忆障碍

刘 华¹, 胡 瑶^{2*}, 朱东亚^{1,2*}

(¹南京医科大学药学院药理学与药物化学系,²干细胞与神经再生研究所,江苏 南京 211100)

[摘要] 目的:探讨雌二醇(E2)对慢性温和性应激(chronic mild stress, CMS)引起的卵巢摘除(ovariectomized, OVX)抑郁模型雌鼠认知功能障碍的改善作用及其机制。方法:采用 CMS 制备抑郁动物模型,检测正常及抑郁模型小鼠的血浆皮质酮水平。造模 2 周后开始给予 OVX 小鼠 E2,同时继续造模 1 周。末次给药后采用 Morris 水迷宫测试其空间学习记忆能力。检测血浆 E2 以及海马神经元一氧化氮合酶(nNOS) mRNA 和蛋白表达水平,并标记海马齿状回 nNOS 阳性细胞数。体外采用雌性胎鼠海马神经元原代培养,给予皮质酮(CORT)及 CORT 合并 E2 后 24 h,检测 nNOS mRNA 及蛋白表达水平。此外,体外给予 E2 后 24 h,检测胞外调节激酶(ERK)磷酸化水平。结果:CMS 造模后小鼠血浆皮质酮水平均显著上升。外源性补充 E2 可逆转 CMS 诱导的 OVX 雌鼠血浆 E2 水平的降低、CMS 及体外 CORT 诱导的海马 nNOS mRNA 及蛋白表达水平的降低,并恢复 OVX 雌鼠空间学习记忆功能。此外,E2 可显著升高雌性胎鼠海马神经元的 ERK 磷酸化水平。结论:E2 逆转了由 CMS 诱导的 OVX 抑郁模型雌鼠海马 nNOS 的异常表达,并改善了其空间学习记忆缺陷,其作用可能是通过 ERK 磷酸化介导的。

[关键词] 雌二醇;神经源性一氧化氮合酶;胞外调节激酶;空间学习记忆

[中图分类号] R749.4

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2015)07-992-07

doi:10.7655/NYDXBNS20150718

Estradiol reverses spatial learning and memory deficit induced by chronic mild stress in female ovariectomized mice

Liu Hua¹, Hu Yao^{2*}, Zhu Dongya^{1,2*}

(¹Department of Pharmacology and Pharmaceutical Chemistry,²Institute of Stem Cell and Neural Regeneration, Pharmacy College of NJMU, Nanjing 211100, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects and mechanisms of E2 on cognitive disorder induced by chronic mild stress (CMS) of depressive female ovariectomized(OVX) mice. **Methods:** We used CMS as the animal model for stress-induced depression, and detected plasma corticosterone of normal and depressive mice. Then, we examined whether 7 days treatment using E2 could ameliorate the effects of CMS on plasma E2 in female OVX mice. Morris water maze was performed to test spatial learning and memory ability of mice after last treatment. At the same time, we analyzed the mRNA and protein expression of nitric oxide synthase (nNOS) in hippocampus as well as positive nNOS neurons of dentate gyrus. Primary cultured hippocampal neurons from female embryo were adopted, the mRNA and protein expressions of nNOS were detected in neurons exposed to corticosterone (CORT) or CORT combined with E2 for 24 h. In addition, we detected the level of extracellular signal-regulated kinase(ERK) phosphorylation in neurons exposed to E2 for 24 h. **Results:** Plasma CORT of female and male mice was significantly increased after CMS. Ectogenic supplement of E2 reversed the decrease of plasma E2 and spatial learning and memory deficit, as well as the decrease of hippocampal nNOS mRNA and protein expression induced by CMS in female OVX mice. *In vitro*, E2 reversed nNOS mRNA and protein expression induced by corticosterone in primary cultured cortical hippocampal neurons from female embryo. In addition, E2 significantly up-regulated ERK phosphorylation in the hippocampal neurons from female embryo. **Conclusion:** E2 could reverse the spatial learning and memory deficits and abnormal hippocampal nNOS expression induced by chronic stress in female OVX mice. The hippocampal neuronal ERK phosphorylation is involved in the effects of E2.

[Key words] E2; nNOS; ERK; spatial learning and memory

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(07):992-998]

[基金项目] 国家自然科学基金青年项目(81301162);国家自然科学基金重点研究计划(91232304)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: huyao@njmu.edu.cn; dyzhu@njmu.edu.cn

世界卫生组织的研究结果显示,抑郁症已成为世界第四大疾患,预测到 2020 年,其可能成为仅次于冠心病的第二大疾病^[1]。抑郁症的发病具有显著的性别差异,女性发病率大约是男性的 2 倍^[2-3]。抑郁症患者不仅会表现出精神状态的异常,而且会有一定程度的认知障碍。已有一些研究表明抑郁与认知障碍有紧密联系^[4-5]。

慢性温和性应激(chronic mild stress, CMS)是制备抑郁症模型的经典方法^[6]。本实验室在前期研究中证明了 CMS 可以诱导小鼠产生抑郁样行为,表现为在悬尾实验和强迫游泳实验中不动时间显著增加^[7-9]。另有研究表明 CMS 模型动物具有一些认知障碍的行为表型^[10]。此外,大量研究表明,长期应激导致下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴过度活化带来的高糖皮质激素水平是有害的。抑郁患者的血浆皮质醇(cortisol, CORT)水平相对于正常人群显著升高^[11]。本研究在体外实验中采用给予 CORT 的方式制备应激的细胞模型,模拟神经细胞在应激情况下所处的环境。

雌二醇(estradiol, E2)在学习记忆、神经保护、情感认知等方面具有极其重要的作用^[12-17],那么其能否逆转 CMS 诱导的抑郁雌鼠的认知障碍?为了排除内源性 E2 对实验结果的干扰,我们采取了卵巢摘除(ovariectomy, OVX)手术,观察外源性 E2 能否逆转 CMS OVX 小鼠的行为损害及蛋白表达异常。本实验室前期的研究表明一氧化氮(nitric oxide, NO)是参与抑郁焦虑症发病的关键分子^[7-8],并且介导了雌雄小鼠在情感行为上的性别差异^[9]。有文献报道,ERK 通路对学习记忆有着重要作用^[18]。因此,我们关注给予 OVX 雌鼠补充外源性 E2 能否改善 CMS 诱导的空间学习记忆障碍,以及其效应是否通过 nNOS-ERK 信号通路而实现。

1 材料与方 法

1.1 材 料

孕 17 d ICR 小鼠,清洁级,由南京医科大学实验动物中心提供。ICR 性成熟小鼠,雄性 16 只,雌性 91 只,年龄(90 ± 5)d,体重(25 ± 2)g,购自南京大学模式动物研究所。17β-雌二醇(E2)、CORT 为美国 Sigma 公司产品。神经元培养基购自美国 Gibco 公司,HBSS 缓冲盐购自上海碧云天公司。nNOS、β-actin、ERK、p-ERK 抗体购自美国 CST 公司。ECL 发光液购自美国 Pierce 公司。TRIzol 裂解液、Oligo(dT)、5×M-MLV 逆转录酶缓冲液、dNTP、RNAsin、M-

MLV 逆转录酶、10×Ex Taq 反应液、TaqDNA 多聚酶、溴化乙锭、上样缓冲液均购自美国 Invitrogen 公司。CORT、E2 检测试剂盒购自美国 Beckman Coulter 公司,其他试剂均为国产分析纯。

1.2 方 法

1.2.1 动物分组及处理

将 16 只雌性 ICR 小鼠和 16 只雄性 ICR 小鼠分别分为对照组(Con)和造模组(CMS),每组 8 只,Con 组正常饲养,CMS 组进行为期 21 d 的造模,之后进行血浆 CORT 测定。

另将 75 只雌鼠进行 OVX 手术,手术后恢复 7 d,分为 3 组,分别为手术对照组(OVX),造模组(CMS),治疗组(CMS + E2),每组 25 只。OVX 组正常饲养,第 23 天开始持续皮下给予注射用油(2 μL/d)7 d;CMS 造模组和 CMS+E2 组进行为期 3 周的 CMS 造模,分别在第 23 天后开始为期 7 d 的皮下注射用油(2 μL/d)和 E2(2 μg/μL, 2 μL/d),给药期间同时造模。给药结束后每组取 5 只检测血浆 E2 水平变化,其余每组 20 只进行水迷宫测试。行为学测试完成后,每组取 4 只提取小鼠海马组织或灌注、切脑片,进行蛋白免疫印迹分析、核酸检测及免疫荧光分析。

1.2.2 卵巢摘除术(OVX)

腹腔注射 2%水合氯醛(0.2 mL/10 g),翻正反射消失后,使小鼠呈俯卧位,在分别距离脊柱到左右边缘二分之一长度的左右两侧切开皮肤,逐层拉出肌肉,将卵巢摘除。

1.2.3 慢性温和性应激

CMS 作为制备啮齿类动物抑郁症模型的方法,模拟了一些导致人类抑郁症的不良环境因素。造模过程主要包括:限制活动、强迫游泳、禁水和(或)禁食、湿笼、昼夜颠倒、斜笼 45°等方式,持续 3 周。

1.2.4 Morris 水迷宫测试

进行隐蔽平台测试时小鼠分别从 4 个象限入水,记录鼠从入水至找到平台的时间,计为登台潜伏期。隐蔽平台试验结束 24 h 后,撤除平台。任选一相同入水点,记录鼠在 90 s 内的游泳路径,对小鼠在原平台象限的停留时间及穿越原平台位置的次数进行统计分析。

1.2.5 小鼠血浆 CORT、E2 的测定

将小鼠眼球摘除,自眶后静脉丛取血约 1.5 mL 于肝素抗凝的 EP 管中,离心(3 000 r/min, 15 min),吸取上层血清。血浆 CORT 的测定按化学发光法试剂盒的操作步骤,使用全自动微粒子化学发光免疫

分析系统(Beckman-Coulter)测定完成;E2水平检测同CORT的检测操作。

1.2.6 原代海马神经元培养

从孕17 d的ICR胎鼠中分离出单个胚胎的海马,去膜,剪碎,在含有0.125%的胰酶中37℃消化10 min,转移至离心管中,4℃ 5 000 r/min离心5 min,弃去上清,接着加入10%FBS、DMEM/F12(1:1)终止消化。4℃ 5 000 r/min离心5 min,弃去上清,将沉淀重悬于神经元培养基中,计数神经元并按需接种于包被有多聚鸟氨酸的细胞培养板或皿中,24 h后换培养液,取少量样品以PCR法鉴定Y性别决定域(sex determining region of Y, SRY)基因表达以确定性别;SRY引物:正向:5'-TACAGCCTGAGGACATATTA-3';反向:5'-GCACTTTAACCCCTTCGATGA-3';选用雌性小鼠神经元进行后续实验,第4天半量换液,第7天给药处理:分为溶剂组(Vehicle)、CORT组、CORT组合并E2给药组、E2组、CORT和E2的终浓度均为10 μmol/L,24 h后进行相关蛋白或核酸检测。

1.2.7 蛋白免疫印迹试验

将组织或细胞样品在预冷的中效裂解液中裂解,离心,吸取上清,加入上样缓冲液,煮沸。样品于10%的聚丙烯酰胺凝胶上电泳,分离后的蛋白转移至硝酸纤维素膜。脱脂奶粉中室温封闭1 h, TBST洗膜3次,每次15 min。孵育一抗:ERK(1:1 000)、p-ERK(1:500)、β-actin(1:2 000)、nNOS(1:1 000)4℃过夜。次日,弃去一抗, TBST洗膜4次,每次15 min,辣根过氧化物酶标记的二抗(1:1 000)30℃孵育2 h, TBST洗膜4次,每次15 min,末次洗膜后,以ECL曝光,凝胶成像系统(Bio-Rad,美国)成像后分析。

1.2.8 RT-PCR检测nNOS mRNA表达情况

将组织或细胞样品加TRIzol匀浆,以氯仿-异丙醇法获得RNA沉淀,乙醇清洗后,晾干,用无RNA酶水溶解,取10 μL RNA进行逆转录-聚合酶链反应。nNOS引物:正向:5'-TGTCCTATACAGCTTCCAGA-3',反向:5'-CACGATGTC ATATTCCTCA-3';β-actin引物:正向5'-CACGAT GGAGGGCCGGACTCATC-3',反向:5'-TAAAGA CCTCTATGCCAACACAGT-3'。扩增条件:94℃变性45 s,55℃退火45 s,30个循环,72℃延伸45 s。PCR反应完成后,取其产物加6×上样缓冲液混匀,用含1.5%EB的琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像系统拍照并进行灰度分析。

1.2.9 免疫组织化学染色

对小鼠进行心脏灌流并使用4%多聚甲醛固定全脑,使用冰冻切片机切取40 μm厚脑片。切片使用小鼠来源的nNOS抗体(1:200)4℃孵育过夜,之后使用对应的Cy3-荧光二抗(1:200)室温孵育2 h, PBS清洗后封片。免疫荧光照片使用Zeiss Axio Cam MRC 5(D)照相机配合Carl Zeiss Axio Observer A1显微镜进行获取,选取海马齿状回(dentate gyrus, DG)区进行nNOS阳性神经元计数。

1.3 统计学方法

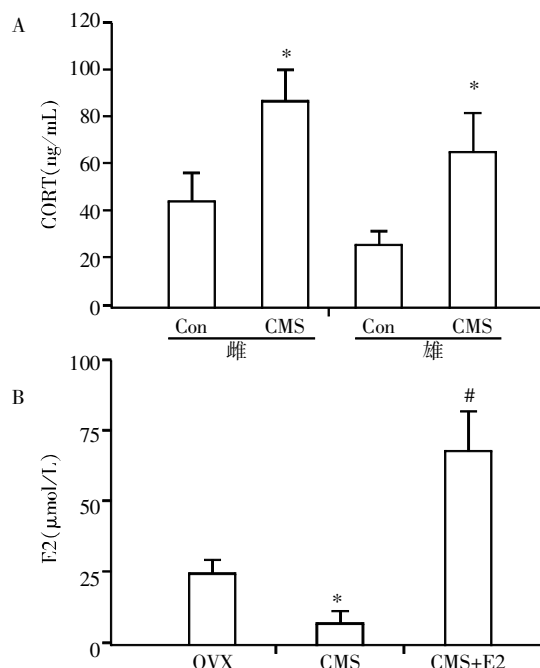
所有数据均运用STATA统计软件进行检测。组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用Scheffe法, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CMS对小鼠CORT及E2水平的影响

结果显示,CMS造模后,雌、雄小鼠血浆CORT水平显著高于各自的对照组($P < 0.05$,图1A)。卵巢摘除术后,CMS组的血浆E2水平显著低于OVX组($P < 0.05$),而补充外源性E2可有效恢复CMS小鼠血浆E2的水平($P < 0.05$,图1B)。以上结果提示慢性应激会使小鼠的血浆皮质激素水平上升,而使OVX雌鼠血浆雌激素水平下降,皮下注射E2可逆转CMS诱导的雌激素水平降低。

2.2 E2对CMS导致的OVX雌性抑郁小鼠空间学



A: CMS小鼠血浆CORT水平,与Con组比较,* $P < 0.05$ ($n=8$); B: 小鼠血浆E2水平,与OVX组比较,* $P < 0.05$;与CMS组比较,# $P < 0.05$ ($n=5$)。

图1 CMS对小鼠CORT及E2水平的影响

Figure 1 The effects of CMS on CORT and E2 in mice

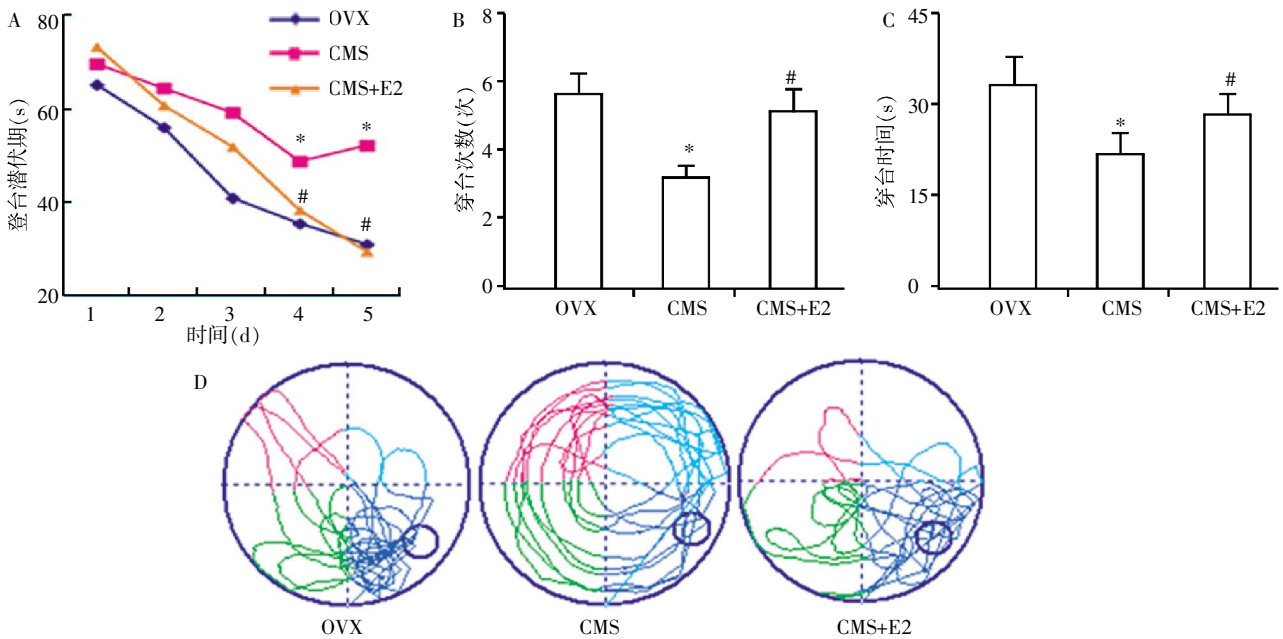
习记忆障碍行为的影响

与对照组相比,CMS 组小鼠登台潜伏期显著延长,穿台次数和目标象限停留时间显著减少;而皮下注射 E2,上述指标均得到改善($P < 0.05$,图 2)。表明外源性补充 E2 可逆转 CMS 诱导的 OVX 雌鼠空间学习记忆障碍。

2.3 E2 对 CMS 造模的 OVX 抑郁雌鼠海马区 nNOS 表达的影响

蛋白免疫印迹结果表明,与 OVX 组相比,CMS

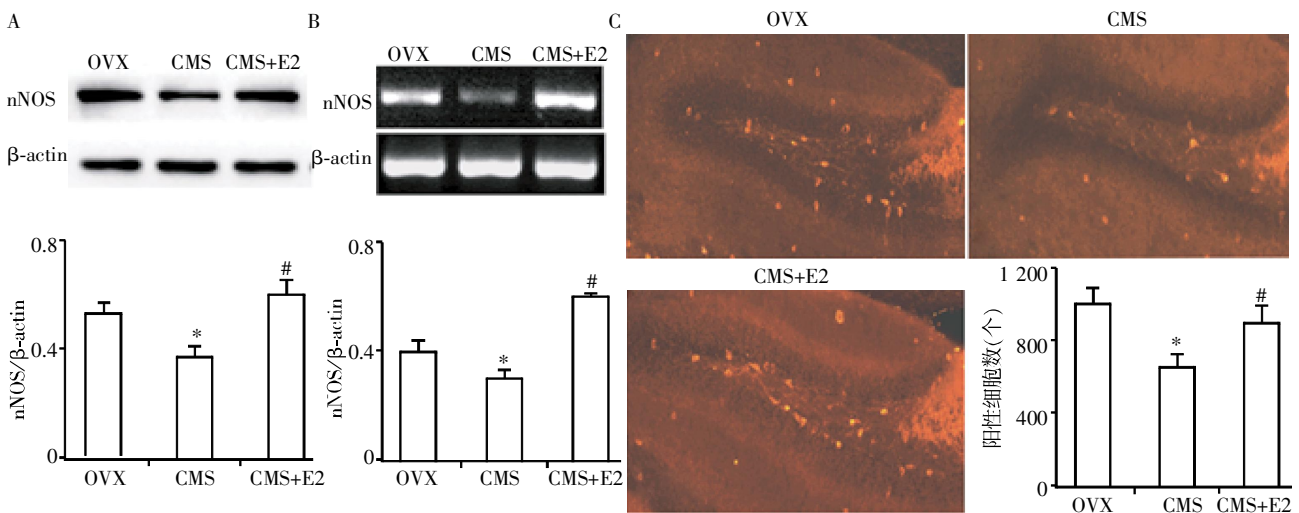
组雌鼠海马 nNOS 表达显著下降,且皮下注射 E2 可显著逆转 nNOS 表达的下降(图 3A)。RT-PCR 结果表明,与 OVX 组相比,CMS 组雌鼠海马 nNOS mRNA 显著下降,且皮下注射 E2 可显著逆转 nNOS mRNA 的下降(图 3B)。免疫组化结果显示,与 OVX 组相比,CMS 组小鼠海马 DG 区 nNOS 阳性细胞数显著减少;而 CMS+E2 组小鼠海马 DG 区 nNOS 阳性细胞数较 CMS 组有显著增加(图 3C),该结果进一步证明 E2 逆转了 CMS 导致的海马区 nNOS 的下



A: 小鼠的登台潜伏期;B: 小鼠的穿台次数;C: 小鼠的穿台时间;D: 各组小鼠的活动轨迹代表图。与 OVX 组比较, * $P < 0.05$,与 CMS 组比较, # $P < 0.05$ ($n=20$)。

图 2 E2 对 CMS 导致的 OVX 抑郁雌鼠学习记忆障碍行为的影响

Figure 2 The effect of E2 on spatial learning and memory damage induced by CMS in depressive female OVX mice



A: 小鼠海马区的 nNOS 蛋白表达;B: 小鼠海马区的 nNOS mRNA 水平;C: 小鼠海马 DG 区的 nNOS 阳性细胞数。与 OVX 组比较, * $P < 0.05$;与 CMS 组比较, # $P < 0.05$ ($n=4$)。

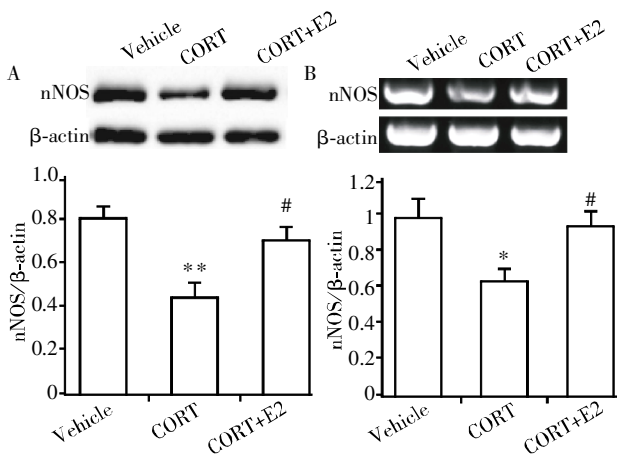
图 3 E2 对 CMS 造模的 OVX 雌性小鼠海马区 nNOS 表达的影响

Figure 3 The effect of E2 on nNOS expression of hippocampus in depressive female OVX mice induced by CMS

降。因此,以上结果表明 E2 可以逆转 CMS 诱导的 OVX 雌鼠海马区 nNOS mRNA 及蛋白表达水平的下调。

2.4 E2 对 CORT 处理的海马神经元 nNOS 表达的调控

通过 PCR 法检测原代培养的小鼠海马神经元 SRY 基因的表达,挑选出雌性胎鼠海马神经元的样本进行 CORT 处理,模拟雌性小鼠应激的体外模型(图 4)。结果表明,与 Vehicle 组相比,CORT 组海马神经元 nNOS 蛋白表达水平显著下降($P < 0.01$);与 CORT 组相比,CORT+E2 组海马神经元 nNOS 蛋白表达水平显著上升($P < 0.05$)。RT-PCR 结果表明,与 DMSO 组相比,CORT 组海马神经元 nNOS mRNA 水平显著下降($P < 0.05$);与 CORT 组相比,CORT+E2 组海马神经元 nNOS mRNA 水平显著上升 ($P < 0.05$)。因此,在体外 E2 可以逆转 CORT 诱导的雌性胎鼠海马神经元 nNOS mRNA 及蛋白水平的下调。



A: 海马神经元 nNOS 蛋白的表达;B: 海马神经元 nNOS mRNA 水平。与 Vehicle 比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 CORT 组比较, # $P < 0.05$ ($n=4$)。

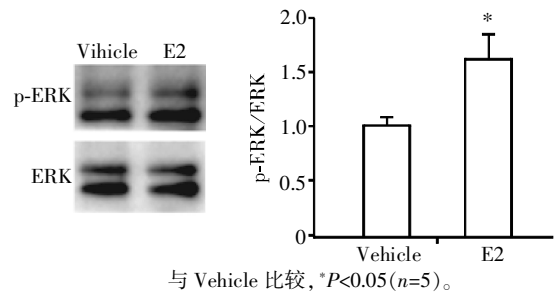
图 4 E2 对 CORT 处理过的海马神经元 nNOS 的表达调控
Figure 4 The effect of E2 on nNOS expression in primary cultured hippocampal neurons treated with CORT

2.5 E2 对海马神经元胞外调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)的调控

在给予原代培养的海马神经元 E2 24 h 后,采用蛋白免疫印迹检测其对 ERK 磷酸化的影响。结果显示,与 Vehicle 相比,E2 显著上调神经元 ERK 磷酸化水平($P < 0.05$,图 5)。

3 讨论

本研究利用经典的 Morris 水迷宫实验以及蛋白和基因的检测,发现 E2 可以逆转由 CMS 诱导的 OVX 雌鼠海马区 nNOS 表达的下调,以及空间学习记



与 Vehicle 比较, * $P < 0.05$ ($n=5$)。

图 5 E2 对海马神经元 ERK 的调控

Figure 5 The effect of E2 on ERK in primary cultured hippocampal neurons

忆缺陷,其作用可能是通过 ERK 信号通路实现的。

研究表明应激会激活 HPA 轴导致糖皮质激素的释放增加,基础皮质酮水平不仅反映了动物模型中易感创伤后应激障碍的倾向^[19],同时还与海马依赖的空间学习记忆有着密切关系^[20],在体内外实验中,长期给予糖皮质激素诱导了海马神经元凋亡以及海马依赖的空间学习记忆损伤^[21]。我们前期的研究已用 CORT 孵育神经元,在体外模拟了应激损伤^[7]。生理剂量的低浓度 E2 能有效抑制 HPA 轴活性升高^[22],并且可以改善阿尔茨海默模型大鼠的认知功能下降^[23],对大脑中各类神经递质亦有影响^[24-26]。此外,因为海马含有丰富的甾体激素受体,自身通过芳香酶催化合成的 E2 对空间学习记忆、工作记忆相关的海马突触可塑性有至关重要的作用^[27-32]。Fortress 等^[33]报道 E2 可以改善中老年雌鼠的学习记忆。我们之前的研究表明 E2—NO 通路介导了雌性小鼠的情感障碍^[9],在本研究中,我们也发现 E2—NO 也是 CMS 诱导的小鼠认知障碍的重要因素。研究发现,E2 能逆转 CMS 诱导的 OVX 雌鼠海马区 nNOS 表达异常,且能逆转空间学习记忆障碍,再次验证了 E2 的神经保护作用。

给予青春期前的雌性小鼠 E2 会增强其青春期的空间学习记忆功能,同时这与海马区的 ERK 磷酸化水平密切相关^[34]。因此我们推测 ERK 也可能参与了 E2 对 CMS 小鼠认知障碍及海马蛋白表达异常的调控,本研究结果也表明 E2 可以上调海马神经元的 ERK 磷酸化水平。我们之前的研究结果表明 E2 可以显著升高海马神经元 nNOS 的表达^[9]。因此,E2 对 nNOS 以及学习记忆的调控,有可能是通过 ERK 信号实现的,这一点我们将在接下来的研究中使用 ERK 抑制剂进行进一步证明。

本研究发现了 E2 可能通过上调海马 nNOS-ERK 实现对 CMS 后 OVX 抑郁小鼠空间学习记忆障碍的恢复,为开发情感认知障碍药物提供了靶点

依据,在接下来的研究中我们将使用多种抑制剂和基因调控的手段来证明 nNOS-ERK 通路在雌性小鼠应激后学习记忆中的关键作用。

[参考文献]

- [1] Blazer DG, Kessler RC, McGonagle KA, et al. The prevalence and distribution of major depression in a national community sample; the National Comorbidity Survey [J]. *Am J Psychiatry*, 1994, 151 (7): 979-986
- [2] Aragam N, Wang KS, Pan Y. Genome-wide association analysis of gender differences in major depressive disorder in the Netherlands NESDA and NTR population-based samples [J]. *J Affect Disord*, 2011, 133 (3): 516-521
- [3] Essau CA, Lewinsohn PM, Seeley JR, et al. Gender differences in the developmental course of depression [J]. *J Affect Disord*, 2010, 127 (1-3): 185-190
- [4] Dolan RJ. Emotion, cognition, and behavior [J]. *Science*, 2002, 298 (5596): 1191-1194
- [5] Ravnkilde B, Videbech P, Clemmensen K, et al. Cognitive deficits in major depression [J]. *Scand J Psychol*, 2002, 43 (3): 239-251
- [6] Willner P, Muscat R, Papp M. Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 1992, 16 (4): 525-534
- [7] Zhou QG, Zhu LJ, Chen C, et al. Hippocampal neuronal nitric oxide synthase mediates the stress-related depressive behaviors of glucocorticoids by downregulating glucocorticoid receptor [J]. *J Neurosci*, 2011, 31 (21): 7579-7590
- [8] Zhang J, Huang XY, Ye ML, et al. Neuronal nitric oxide synthase alteration accounts for the role of 5-HT_{1A} receptor in modulating anxiety-related behaviors [J]. *J Neurosci*, 2010, 30 (7): 2433-2441
- [9] Hu Y, Wu DL, Luo CX, et al. Hippocampal nitric oxide contributes to sex difference in affective behaviors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109 (35): 14224-14229
- [10] Valvassori SS, Varela RB, Arent CO, et al. Sodium butyrate functions as an antidepressant and improves cognition with enhanced neurotrophic expression in models of maternal deprivation and chronic mild stress [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2014, 11 (4): 359-366
- [11] Matsuzaka H, Maeshima H, Kida S, et al. Gender differences in serum testosterone and cortisol in patients with major depressive disorder compared with controls [J]. *Int J Psychiatry Med*, 2013, 46 (2): 203-221
- [12] Bredemann TM, McMahon LL. 17beta Estradiol increases resilience and improves hippocampal synaptic function in helpless ovariectomized rats [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2014, 42: 77-88
- [13] Kiss A, Delattre AM, Pereira SI, et al. 17beta-estradiol replacement in young, adult and middle-aged female ovariectomized rats promotes improvement of spatial reference memory and an antidepressant effect and alters monoamines and BDNF levels in memory- and depression-related brain areas [J]. *Behav Brain Res*, 2012, 227 (1): 100-108
- [14] Gillies GE, McArthur S. Estrogen actions in the brain and the basis for differential action in men and women: a case for sex-specific medicines [J]. *Pharmacol Rev*, 2010, 62 (2): 155-198
- [15] Ter Horst GJ. Estrogen in the limbic system [J]. *Vitam Horm*, 2010, 82: 319-338
- [16] Maki PM, Freeman EW, Greendale GA, et al. Summary of the National Institute on Aging-sponsored conference on depressive symptoms and cognitive complaints in the menopausal transition [J]. *Menopause*, 2010, 17 (4): 815-822
- [17] Frye CA, Duffy CK, Walf AA. Estrogens and progestins enhance spatial learning of intact and ovariectomized rats in the object placement task [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2007, 88 (2): 208-216
- [18] Vara H, Onofri F, Benfenati F, et al. ERK activation in axonal varicosities modulates presynaptic plasticity in the CA3 region of the hippocampus through synapsin I [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106 (24): 9872-9877
- [19] Cohen H, Maayan R, Touati-Werner D, et al. Decreased circulatory levels of neuroactive steroids in behaviourally more extremely affected rats subsequent to exposure to a potentially traumatic experience [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2007, 10 (2): 203-209
- [20] Kim HYJ, Choi K, Hong S, et al. Regional differences in acute corticosterone-induced dendritic remodeling in the rat brain and their behavioral consequences [J]. *BMC Neurosci*, 2014, 15: 65
- [21] McEwen BS. Corticosteroids and hippocampal plasticity [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1994, 746: 134-142
- [22] Dayas CV, Xu Y, Buller KM, et al. Effects of chronic oestrogen replacement on stress-induced activation of hypothalamic - pituitary - adrenal axis control pathways [J]. *J Neuroendocrinol*, 2000, 12 (8): 784-794
- [23] Shang XL, Zhao JH, Cao YP, et al. Effects of synaptic plasticity regulated by 17beta-estradiol on learning and memory in rats with Alzheimer's disease [J]. *Neurosci Bull*, 2010, 26 (2): 133-139
- [24] Kranz GS, Rami-Mark C, Kaufmann U, et al. Effects of

- hormone replacement therapy on cerebral serotonin-1A receptor binding in postmenopausal women examined with [carbonyl-C]WAY-100635[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2014, 45: 1-10
- [25] Toufexis D, Rivarola MA, Lara H, et al. Stress and the reproductive axis [J]. *J Neuroendocrinol*, 2014, 26(9): 573-586
- [26] Fedotova IuO, Pivina SG, Akulova VK, et al. Effects of 8-OH-DPAT and m-CPP on depression-like behavior in prenatally stressed ovariectomized rats treated with low dose of 17beta-estradiol [J]. *Eksp Klin Farmakol*, 2014, 77(4): 10-13
- [27] Bian C, Zhu H, Zhao Y, et al. Intriguing roles of hippocampus-synthesized 17beta-estradiol in the modulation of hippocampal synaptic plasticity [J]. *J Mol Neurosci*, 2014, 54 (2): 271-281
- [28] Hojo Y, Higo S, Kawato S, et al. Hippocampal synthesis of sex steroids and corticosteroids; essential for modulation of synaptic plasticity [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2011, 2: 43
- [29] Mukai H, Kimoto T, Hojo Y, et al. Modulation of synaptic plasticity by brain estrogen in the hippocampus [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1800(10): 1030-1044
- [30] Ooishi Y, Kawato S, Hojo Y, et al. Modulation of synaptic plasticity in the hippocampus by hippocampus-derived estrogen and androgen [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2012, 131(1-2): 37-51
- [31] Foy MR. Ovarian hormones, aging and stress on hippocampal synaptic plasticity [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2011, 95(2): 134-144
- [32] Foy MR, Baudry M, Akopian GK, et al. Regulation of Hippocampal Synaptic Plasticity by Estrogen and Progesterone [J]. *Vitam Horm*, 2010, 82: 219-239
- [33] Fortress AM, Kim J, Poole RL, et al. 17beta-Estradiol regulates histone alterations associated with memory consolidation and increases Bdnf promoter acetylation in middle-aged female mice [J]. *Learn Mem*, 2014, 21(9): 457-467
- [34] Wartman BC, Keeley RJ, Holahan MR. Estradiol treatment in preadolescent females enhances adolescent spatial memory and differentially modulates hippocampal region-specific phosphorylated ERK labeling [J]. *Neurosci Lett*, 2012, 528(2): 114-119

[收稿日期] 2014-11-06

本刊来稿题名和作者署名的注意事项

1. 题名

- (1) 题名应以简明、确切的词语反映文章中最重要特点内容,要符合编制题录、索引和检索的有关原则,并有助于选定关键词。
- (2) 中文题名一般不超过 20 个字,必要时可加副题名。
- (3) 英文题名应与中文题名含义一致。
- (4) 题名应避免使用非公用的缩写词、字符、代号,尽量不出现数学式或化学式。

2. 作者署名和工作单位

- (1) 文章都应有作者署名,这是文责自负和拥有著作权的标志;
- (2) 作者姓名署于题名下方;
- (3) 英文摘要中附与中文同样的作者姓名与排列顺序,写法为:姓前名后,姓全部大写,名的首字母大写,其余字母小写,如 Zhou Ping, Shi Honglei;
- (4) 作者单位需注明全称(标注到二级或三级单位,如“南京医科大学第一附属医院心内科”,“南京医科大学公共卫生学院流行病与统计学系”)、所在城市及邮政编码;
- (5) 对于有基金课题资助的论文需在课题负责人的名字后加上标“*”,并在论文首页下补充基金的名称、编号,以及课题负责人的 E-mail。
- (6) 本刊对于没有课题资助的文章一律不标注通讯作者。

(本刊编辑:接雅俐)