

基于雌激素受体通路探讨青娥丸对 CUMS 大鼠的抗抑郁机制

宋珊珊, 孙红, 井汶, 戴国梁, 居文政*
(南京中医药大学附属医院, 南京 210029)

[摘要] **目的:** 研究青娥丸对慢性温和不可预测应激模型(CUMS)大鼠的抗抑郁效果,及其对雌激素受体及相关信号通路的调控作用,探讨青娥丸的抗抑郁机制。**方法:** 54 只 SD 大鼠建立 CUMS 抑郁大鼠模型,实验设为正常组、模型组、草酸依他普伦组($6.3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)及青娥丸低、中、高剂量组($1.71, 5.13, 15.39 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。CUMS 造模 4 周后给予各组相应药物治疗 2 周,采用行为学[糖水消耗实验(SPT),强迫游泳实验(FST),旷场实验(OFT)]评价大鼠抑郁状态;采用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测雌激素受体 α (ER α),雌激素受体 β (ER β),脑源性神经营养因子(BDNF)及酪氨酸激酶受体 B(TrkB)的蛋白表达水平。**结果:** 与正常组比较,模型组大鼠的糖水消耗率及旷场得分均下降($P < 0.05, P < 0.01$),游泳不动时间显著延长($P < 0.01$),同时 ER α , ER β , BDNF 和 TrkB 的蛋白表达水平下降($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠的行为学表现得到改善,糖水消耗率及旷场得分增加($P < 0.05, P < 0.01$),游泳不动时间减少($P < 0.05$),同时 ER α , ER β , BDNF 和 TrkB 蛋白的表达明显上调($P < 0.05, P < 0.01$),其中青娥丸中剂量组的调节作用更为显著。**结论:** 青娥丸可改善 CUMS 模型大鼠的抑郁样行为,其机制可能与上调 ER α , ER β 的表达,激活雌激素受体介导的 ER β /BDNF/TrkB 通路起到神经保护作用有关。

[关键词] 青娥丸; 慢性温和不可预测应激模型(CUMS); 抑郁; 雌激素受体; 雌激素受体 β (ER β)/脑源性神经营养因子(BDNF)/酪氨酸激酶受体 B(TrkB) 信号通路

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)04-0009-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20200103

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190911.1146.007.html>

[网络出版时间] 2019-09-11 16:26

Anti-depressant Mechanism of Qing'ewan in CUMS Rats Based on Estrogen Receptor Pathway

SONG Shan-shan, SUN Hong, JING Wen, DAI Guo-liang, JU Wen-zheng*
(Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To study the anti-depressive effect of Qing'ewan in treating chronic unpredictable mild stress (CUMS) in rats, and the regulatory effect on estrogen receptor and estrogen receptor-related signaling pathways, in order to explore its anti-depressive mechanism. **Method:** The CUMS model was established. The experiment was divided into normal control group, model group, escitalopram oxalate group (positive control) and Qing'ewan groups ($1.71, 5.13, 15.39 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$). After 4 weeks of modeling, rats were treated with corresponding drugs for 2 weeks. Behavioral evaluation [sucrose preference test (SPT), forced swimming test (FST), open field test (OFT)] was conducted to assess if the CUMS model was successful. Western blot was used to analyze the protein expression levels of estrogen receptor α (ER α), estrogen receptor β (ER β), brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and tyrosine kinase receptor B (TrkB). **Result:** Compared with the normal group, the sucrose consumption rate and the score of OFT in the model group decreased ($P < 0.05, P < 0.01$), the immobility time of FST prolonged significantly ($P < 0.01$), and the protein expression levels of ER α , ER β , BDNF and TrkB

[收稿日期] 20190613(013)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81573685)

[第一作者] 宋珊珊,在读硕士,从事临床中药学研究,E-mail: 402810414@qq.com

[通信作者] *居文政,博士,主任药师,从事中药临床药理学研究,E-mail: wzhju333@163.com

decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, the behavioral performance of the treated group was improved, the sucrose consumption rate and the score of OFT increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the immobility time decreased ($P < 0.05$). The protein expressions of ER α , ER β , BDNF and TrkB in the treated group were significantly up-regulated ($P < 0.05$, $P < 0.01$), especially the middle-dose Qing'ewan group ($5.13 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$). **Conclusion:** Qing'ewan can improve depression-like behavior in CUMS rats. Its mechanism may be related to the neuroprotective effect by up-regulating the expressions of ER α and ER β and activating estrogen receptor-mediated ER β /BDNF/TrkB pathways.

[**Key words**] Qing'ewan; chronic unpredictable mild stress (CUMS); depression; estrogen receptor; estrogen receptor β (ER β)/brain-derived neurotrophic factor (BDNF)/tyrosine kinase receptor B (TrkB) pathway

抑郁症具有高发病率、高复发率、高致残率和高自杀率的特点,症状通常包括兴趣缺失,焦虑,睡眠障碍,食欲不振,缺乏精力和自杀念头等,严重影响了人们的生活质量。世界卫生组织(WHO)调查数据显示,抑郁症导致的伤残调整生命年占精神及物质使用障碍所致的伤残调整生命年的 40.5%,居首位^[1]。当前临床使用的抗抑郁药物存在多种问题,如治愈率低,起效延迟,性功能障碍,心脏毒性等,总体治疗效果不尽如人意,然而大量的神经影像学及分子生物学研究对抑郁症发病机制的探索尚无突破性进展,新型快速起效的抗抑郁药物的研发也止步不前^[2],人们将目光转向天然植物药的开发^[3-5]。

临床研究表明较低的雌激素水平增加了神经元疾病的风险,这种现象符合抑郁症的特点^[6],如抑郁症患病率的性别差异、女性在生理期、孕期及绝经期发生的巨大情绪波动。雌激素与抑郁症存在某种未知关联,近年来越来越多的证据表明雌激素可改善抑郁及焦虑样行为,这可能是通过介导雌激素受体通路发挥对中枢神经系统的神经保护作用而实现^[7-8]。现代医学阐述抑郁症的发病机制多从单胺类递质假说、脑源性神经营养因子,HPA 轴失常,炎症反应及脑肠轴出发,对雌激素受体的探究较少。因此阐明雌激素与抑郁症之间的联系与机制具有重要意义,可为临床研究及新药开发提供新的思路及研究方向。

青娥丸由杜仲、补骨脂、核桃仁和大蒜组成,为我国传统中医药补肾益精助阳良方之一,首载于宋代的《太平惠民和剂局方》,已收录于《中国药典》^[9]。药典中杜仲、补骨脂盐炙入肾,加强收藏之力以固增精之效。据临床报道用本方加减治疗中医肾阳虚证患者均有一定疗效。原发性抑郁、内源性抑郁、恶劣心境中的抑郁情绪在本质上“属虚”,五脏阳气不足是其病理基础。根据中医郁证病机中

“阳虚致郁”的理论,青娥丸可改善肾阳虚所致的抑郁状态^[10-12]。青娥丸全方及其药味均被报道具有改善抑郁样行为及焦虑的作用^[13-18],可能通过介导雌激素受体发挥雌激素样作用起效。杨荣平等^[19]、孙冠芸等^[20]对青娥丸不同萃取部位的雌激素样作用及治疗阳虚作用研究后发现,青娥丸全方水煎部位具有显著的雌激素样作用,治疗阳虚效果更为明显。故本实验通过建立大鼠慢性温和不可预知应激(CUMS)模型,观察青娥丸水提物对 CUMS 大鼠抑郁状态的调节作用并对其机制进行探究。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 54 只,体质量(180~220)g,由南通大学动物实验中心提供,合格证号 201829279,动物使用合格证号 SCXK(苏)2014-0001,南京中医药大学实验动物伦理委员会编号 201803A016。

1.2 药物与试剂 盐杜仲(批号 170723001),盐补骨脂(批号 180404006),均购于北京同仁堂(南京药店),由江苏省中医院药学部副主任中药师张倩鉴定为正品,大蒜及核桃仁购于侯家桥菜市场;草酸依他普伦对照品(美仑生物公司,批号 S0610A);雌激素受体 α (ER α)抗体,ER β 抗体,脑源性神经营养因子(BDNF)抗体(英国 Abcam 公司,批号分别为 ab32063, ab3576, ab108319);酪氨酸激酶受体 B(TrkB)抗体(美国 CST 公司,批号 4603);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体,山羊抗兔二抗(美国 Proteintech 公司,批号分别为 10494-1-AP, SA00001-2);ECL 型超敏发光液(上海天能科技有限公司,批号 180-501)。

1.3 仪器 dw-10k 型数显调温电热套(江苏省通州市申通电器厂);R210 型旋转蒸发器(瑞士 Buchi 公司);CPA225D 型电子天平(德国 Sartorius 公司);MM4000 型混合研磨仪(德国 Retsch 公司);

HB-202 型 Thermo Cell 恒温金属浴(杭州博日科技有限公司); LP Vortex Mixer 型涡旋混合仪, Legend Micro 17R 型冷冻离心机, NanoDrop 2000 型超微量分光光度计(美国 Thermo 公司); EPED-E2-10TF 型实验室超纯水仪(南京易普易达科技发展有限公司); Power Pac 系列电泳装置(美国 Bio-Rad 公司); 4600 型全自动化学发光图像分析系统(上海天能科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组及造模 实验前适应性饲养 1 周, 保持 12 h 昼夜节律, 室温(22 ± 2) °C, 自由摄食饮水。适应性喂养 1 周后将 54 只大鼠按体质量均衡和随机的原则分为 6 组, 9 只每组, 4~5 只每笼。分别为正常组、模型组、阳性药草酸依他普伦组(Esc)及青娥丸低、中、高剂量组。

除正常组外, 实验大鼠均接受慢性温和不可预知应激造模(CUMS)^[21-22], 在 6 周内接受以下 10 种刺激因子。①潮湿垫料(潮湿但不见水迹), ②禁食 24 h, ③禁水 24 h, ④闪光, ⑤束缚应激 6 h, ⑥夹尾 5 min, ⑦游泳 5 min, ⑧触摸陌生异常物品, ⑨昼夜颠倒 24 h, ⑩水平震荡 10 min。每天随机选择 2~3 种刺激, 期间正常组自由摄食。4 周后采用行为学(包括糖水偏好实验、旷场实验、强迫游泳实验)进行抑郁模型评价, 确认造模成功后开始给药, 给药的同时持续造模。

2.2 药物制备及给药 根据《中国药典》中青娥丸处方, 盐杜仲、盐补骨脂、核桃仁(炒)、大蒜的比例为 16:8:5:4, 加水回流提取 2 次, 每次 10 倍量提取 2 h, 将 2 次合并的提取液滤过后进行浓缩。将浓缩药液倒入棕色广口玻璃瓶中于 -20 °C 冰箱中密封保存。1 980 g 水提物浓缩至 568 mL, 即每 1 mL 药液含 3.5 g 原药材。

青娥丸成人用量为 $27 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$, 其中 8 g 为炼蜜量, 故实际服用中药材量为 $19 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$ 。根据《药理学实验方法》, 按照体表面积折算, 大鼠的等效剂量为人等效剂量的 6.3 倍。故青娥丸低、中、高剂量组给药剂量分别为 $1.71, 5.13, 15.39 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 按照每 $100 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的给药原则进行灌胃; 本实验组得出 Esc 的小鼠较佳用量为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 换算为大鼠的等效剂量则为 $6.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 按照每 $200 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的给药原则进行腹腔注射; 正常组以及模型组灌胃等体积的生理盐水。于造模成功后给予各组相应药物, 连续给药 2 周。

2.3 糖水消耗实验 糖水消耗是反应动物快感缺

失的重要有效指标, 而快感缺失正是抑郁症的核心症状^[23]。实验动物在适应性期间给予 2 瓶 2% 蔗糖溶液适应 3 d 后方可进行实验。测糖水消耗率前禁水 24 h, 所有大鼠均单笼测试, 每笼给予体积相同的 1 瓶 2% 的蔗糖溶液和 1 瓶纯水, 测试 4 h, 其中 2 h 后 2 瓶水交换位置(防止大鼠有位置偏好)。测试结束后计算各组糖水消耗率。糖水消耗率 = [(蔗糖消耗量)/(纯水消耗量 + 蔗糖消耗量)] × 100%。糖水偏好率是用于评定 CUMS 造模是否成功的经典指标。

2.4 强迫游泳实验 强迫游泳实验通过观察动物在不可逃避的应激条件下, 因绝望导致其不动时间的改变来反映药物的抗抑郁效果^[24], 大鼠的绝望行为是评价大鼠抑郁样行为的重要指标。

正式实验前 24 h 进行预游泳, 将测试大鼠放入 25 °C 水中, 室温 25 °C, 大鼠悬浮, 四肢不能触及桶底, 15 min 后将大鼠取出、擦干后放回笼中。次日在同样的条件下进行强迫游泳 5 min, 记录 5 min 内大鼠静止不动时间(大鼠仅有头部露出水面, 呈漂浮状态, 四肢可有微动但不挣扎)。测试过程采用摄影机记录。

2.5 旷场实验 旷场实验通过观察动物的自发性活动来评定其行为状态, 暴露于 CUMS 的大鼠会显著减少旷场的水平探索、垂直探索和梳理, 表现为无精打采, 冷漠和自身忽视^[25]。

实验前需提前将大鼠搬入测试室, 使大鼠适应环境至少 1 h。将大鼠放入高 40 cm, 长宽均为 50 cm, 内壁涂黑, 底面平均分为 25 个 $10 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$ 小方格的箱底中心, 同时进行摄像和计时, 以 5 min 内大鼠穿越箱底面的方格数为水平得分(三爪以上跨入), 穿越一格得 1 分; 以大鼠双前肢抬起次数为垂直得分(两前肢离地 1 cm 以上), 双前肢离地一次得 1 分; 以大鼠理毛或洗脸次数为自我修饰得分, 理毛或洗脸一次得 1 分, 单次实验结束后用乙醇擦拭箱底, 待气味散尽后进行下一次实验。其中水平得分反映了动物的活动度, 竖直得分反映动物对新异环境探究度, 自我修饰得分反映动物对自身的关注度。

2.6 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠海马组织 ER α , ER β , BDNF, TrkB 蛋白表达 从 -80 °C 冰箱中拿出大鼠的大脑海马组织, 对海马组织进行称质量。根据质量向每份组织中加入相应体积的总蛋白裂解液(以 RIPA 裂解液-PMSF-蛋白酶抑制剂为 100:1:4 的比例进行配制), 并加入小钢珠用混合研

磨仪以 30 Hz 研磨 1 min。离心后,取上清液得到样本总蛋白。利用超微量分光光度计得出各样本蛋白的浓度后,加入磷酸盐缓冲液(PBS)调整为统一浓度后加入相应体积的蛋白上样缓冲液(5 倍),金属浴 5 min,使蛋白充分变性。以上所有过程均冰上操作。

制备 12% SDS 聚丙烯酰胺凝胶,上样,电泳,转膜,封闭,一抗按以下比例 4 ℃ 孵育过夜,ER α (1:1 000),ER β (1:1 000),BDNF (1:1 000),TrkB (1:1 000),GAPDH (1:5 000)。次日 TBST 洗膜 3 次,室温孵育二抗(1:5 000)1 h,TBST 洗膜 3 次,加入 ECL 显影液显色。化学发光成像显影仪中扫描成像,用 Image J 软件分析目的条带的灰度值,目的蛋白表达水平以其与内参 GAPDH 灰度比值来表示。

2.7 统计学分析 采用 Graph Pad Prism 6 软件对实验结果进行统计分析,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组间差异的显著性采用单因素方差分析进行检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对 CUMS 大鼠糖水消耗实验的影响 与正常组大鼠比较,模型组大鼠的糖水消耗比例显著下降

($P < 0.01$),说明 CUMS 造模成功,该模型很好的模拟了人类患抑郁症时快感缺失的症状。经过药物干预后,与模型组大鼠比较,Esc 组($P < 0.01$),青娥丸低、中、高剂量组的糖水消耗比例均有不同程度的回升,其中仅 Esc 组与青娥丸中剂量组具有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 1。

3.2 对 CUMS 大鼠强迫游泳实验的影响 与正常组大鼠比较,模型组大鼠游泳不动时间显著增加($P < 0.01$),很好地模拟了抑郁大鼠的绝望状态;经过药物干预后,与模型组大鼠比较,Esc 组,青娥丸低、中剂量组大鼠的不动时间明显下降($P < 0.05$),青娥丸高剂量组无显著差异。见表 1。

3.3 对 CUMS 大鼠旷场实验的影响 与正常组大鼠比较,模型组大鼠的水平得分、垂直得分和修饰得分明显减少($P < 0.05, P < 0.01$),反映了抑郁大鼠对周围环境及自身的忽视与冷漠;经过药物干预后,与模型组大鼠比较,Esc 组和青娥丸中剂量组大鼠的水平得分和垂直得分均有明显上升($P < 0.05$),而修饰得分仅显现出回升趋势而无显著性差异。见表 1。

表 1 青娥丸对 CUMS 大鼠行为学的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of Qing'ewan on behavioral evaluation in CUMS rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	糖水消耗率 /%	游泳不动时间 /s	旷场实验/分		
				水平得分	垂直得分	修饰得分
正常	-	81.5 ± 11.5	65.1 ± 18.7	132.6 ± 18.1	35.3 ± 6.8	4.6 ± 2.2
模型	-	42.1 ± 19.2 ²⁾	108.8 ± 40.3 ²⁾	86.9 ± 20.1 ²⁾	19.6 ± 5.4 ²⁾	1.6 ± 0.8 ¹⁾
Esc	0.006.3	70.6 ± 13.8 ⁴⁾	65.5 ± 27.6 ³⁾	129.4 ± 25.8 ⁴⁾	33.0 ± 6.2 ⁴⁾	3.7 ± 2.6
青娥丸	1.71	57.7 ± 15.1	71.9 ± 31.0 ³⁾	111.7 ± 24.9	24.0 ± 4.4	2.7 ± 1.1
	5.13	67.0 ± 15.8 ⁴⁾	66.8 ± 16.5 ³⁾	117.7 ± 17.3 ³⁾	31.0 ± 7.1 ³⁾	3.3 ± 1.4
	15.39	58.0 ± 9.5	82.1 ± 14.5	107.1 ± 12.0	27.4 ± 8.2	2.7 ± 1.4

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.4 对 CUMS 抑郁大鼠海马中 ER α , ER β , BDNF, TrkB 蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组大鼠海马雌激素受体 ER α 的蛋白表达明显减少($P < 0.05, P < 0.01$),ER β , BDNF, TrkB 蛋白表达水平也明显下降($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,给予 2 周药物治疗后,Esc 能够明显上调 CUMS 抑郁大鼠海马中雌激素受体 ER α 与 BDNF 蛋白的表达,而青娥丸中剂量组能够同时上调了 ER α , ER β , BDNF, TrkB 蛋白表达($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2,图 1。

4 讨论

临床和实验研究表明,雌激素参与了涉及认知、

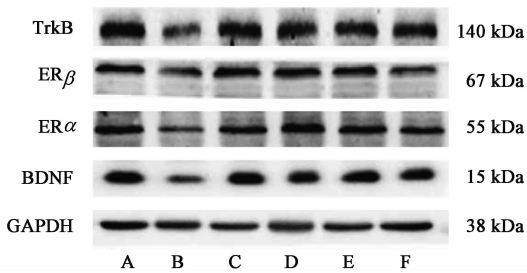
行为和记忆的神经可塑性,可作用于神经系统迅速改变不同的信号通路,并通过影响神经元生长,突触可塑性提供来自压力和创伤的神经保护,这些作用取决于激素水平及神经回路中不同雌激素受体的相互作用^[26-27]。传统上认为雌激素通过 2 种主要雌激素核受体的相互作用发挥其大部分生物学作用:ER α 和 ER β 。从社会精神病学的统计数据看来,ER α 和 ER β mRNA 多态性与重度抑郁症(MDD)有相关性,涉及抑郁症的易感性^[28-30]。雌激素的抗抑郁机制可能以雌激素受体为媒介。

近来越来越多的研究发现雌激素受体在调节焦

表 2 青娥丸对 CUMS 大鼠海马中 ER α , ER β , BDNF 和 TrkB 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of Qingéwan on proteins expression of ER α , ER β , BDNF and TrkB in hippocampus of CUMS rats ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ER α /GAPDH	ER β /GAPDH	BDNF/GAPDH	TrkB/GAPDH
正常	-	1.00 ± 0.06	1.00 ± 0.11	1.00 ± 0.12	1.00 ± 0.04
模型	-	0.63 ± 0.11 ²⁾	0.65 ± 0.17 ¹⁾	0.51 ± 0.04 ²⁾	0.64 ± 0.20 ¹⁾
Esc	0.006.3	0.96 ± 0.14 ⁴⁾	0.92 ± 0.14	0.99 ± 0.13 ⁴⁾	0.93 ± 0.06
青娥丸	1.71	0.84 ± 0.09	0.88 ± 0.01	0.66 ± 0.21	0.90 ± 0.09
	5.13	0.93 ± 0.04 ³⁾	0.99 ± 0.14 ³⁾	1.01 ± 0.12 ⁴⁾	0.97 ± 0.10 ³⁾
	15.39	0.76 ± 0.11	0.82 ± 0.15	0.89 ± 0.08 ³⁾	0.80 ± 0.20



A. 正常组; B. 模型组; C. Esc 组; D. 青娥丸低剂量组; E. 青娥丸中剂量组; F. 青娥丸高剂量组

图 1 CUMS 大鼠海马中 ER α , ER β , BDNF 和 TrkB 蛋白的表达电泳

Fig. 1 Electrophoresis of proteins expression of ER α , ER β , BDNF and TrkB in hippocampus of CUMS rats

虑和抑郁样行为中起重要作用。但关于 ER α 和 ER β 对抑郁症影响的研究结果有较大出入, 其中对 ER α 的争议较大, 有人认为 ER α 与致焦虑有关, 也有人认为 ER α 有助于抵抗应激, 减小抑郁易感性。这些不同的研究结果可能与研究设计内容差异有关, 如研究模型、造模时间、造模的缓急轻重及研究对象等。关于 ER α 和 ER β 在应激敏感的大脑区域中的表达知之甚少, 因此在抑郁背景下对海马中 ER α 和 ER β 的变化规律进行研究有益于进一步了解雌激素受体调节抑郁的机制。本研究中与正常组比较, 模型组大鼠海马中的 ER α 与 ER β 的蛋白表达发生显著性下降, 经过药物治疗后二者均向正常水平回调, 证实了抑郁与雌激素受体有关, 且呈负相关关系。其中青娥丸中剂量组显著上调了 ER α 与 ER β , 可能起效于其植物雌激素样作用。阳性药依他普伦显著上调了 ER α , 对 ER β 仅有回调趋势。具体 ER α 与 ER β 在抑郁症中分别扮演了什么角色仍有待探究。

BDNF 在神经系统中广泛表达, 主要起着对神经元的存活、生长和诱导分化以及诱导神经元迁移

的作用, 对神经系统发育和功能的维持具有重要作用。有研究报道抑郁症患者脑内的 BDNF 蛋白表达低于正常人, 经治疗后 BDNF 蛋白回调, 是抑郁症的经典指标^[31]。TrkB 是 BDNF 的受体, 共同参与突触可塑性的调节。BDNF/TrkB 信号通路与抑郁症密切相关。而雌激素可通过介导雌激素受体 ER α 和 ER β 调节 BDNF 的活性, 对 BDNF 的表达和信号传导均具有正调节作用^[32]。因此雌激素可通过激活 BDNF 间接调控其下游多种信号传导, 如 TrkB, 5-羟色胺能系统等。Chhibber 等^[33] 通过海马神经元细胞、基因突变动物模型及其他设计研究了 ER β 对 BDNF 及血清素 [5-羟色胺 (5-HT)] 的影响, 证明了他们的初步假设: 减弱的 ER β 信号传导减少了 BDNF 基因的转录, 从而降低脑海马区域中的 BDNF 蛋白水平。而 BDNF 水平和 BDNF/TrkB 信号的降低会削弱神经突触强度, 从而损害大脑适应和增加抑郁风险的能力。同时减弱的 BDNF/TrkB 信号传导也增加了 5-HT 2A 的活性, 这可能有助于增加抑郁症的易感性。但该实验仅证明了 ER β 为 BDNF/TrkB 信号通路的上游调节因子, 尚未探究是否抑郁会造成 ER β /BDNF/TrkB 信号通路出现一致下降的趋势。本实验中, 与正常组比较, 模型组大鼠海马组织中 ER β , BDNF, TrkB 的蛋白表达均有显著性减少, 经药物治疗后显著回调, 说明了 ER β /BDNF/TrkB 信号通路与抑郁的相关性, ER β 可能在抑郁症中作为上游因子调节 BDNF/TrkB 通路起到抗抑郁作用。其中青娥丸水提取物中剂量组的效果最为明显。

综上所述, 本研究证实了青娥丸具有抗抑郁作用, 其机制通过植物雌激素样作用于雌激素受体及上调大鼠海马中 ER β /BDNF/TrkB 信号通路从而发挥神经保护作用有关。但青娥丸水提取物由雌激素受体介导的抗抑郁机制仍有待深入研究。

[参考文献]

- [1] Whiteford H A, Degenhardt L, Rehm J, et al. Global burden of disease attributable to mental and substance use disorders: findings from the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. *Lancet*, 2013, 382 (9904): 1575-1586.
- [2] Martins J S B. Phytochemistry and pharmacology of antidepressant medicinal plants: a review [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104:343-365.
- [3] 李永彪, 陈畅, 毛森, 等. 蜘蛛香抗抑郁作用及机制的研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20192306.
- [4] 王学, 叶晓琳, 刘小波, 等. 逍遥散抗抑郁作用的研究现状 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24 (16): 212-220.
- [5] 王欢欢, 吴宏伟, 李欣, 等. 基于网络药理学分析厚朴抗抑郁的物质基础及其作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25 (10): 162-169.
- [6] LAI Y J, YU D, ZHANG J H, et al. Cooperation of genomic and rapid nongenomic actions of estrogens in synaptic plasticity [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54 (6): 4113-4126.
- [7] Walf A A, Frye C A. Administration of estrogen receptor beta-specific selective estrogen receptor modulators to the hippocampus decrease anxiety and depressive behavior of ovariectomized rats [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2007, 86 (2): 407-414.
- [8] YANG F, Cheung A, TAO J, et al. Physiological dosages of estradiol and diarylpropionitrile decrease depressive behavior and increase tryptophan hydroxylase expression in the dorsal raphe nucleus of rats subjected to the forced swim test [J]. *Neuroreport*, 2019, 30 (2): 66-70.
- [9] 刘玲, 翁泽斌, 王恒, 等. 青娥丸方有效成分药动学-药效学相关性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2016, 41 (23): 4436-4441.
- [10] 杨娟, 李志刚. 基于中医身心医学思想谈抑郁症从肾论治 [J]. *世界中医药*, 2014, 9 (6): 736-739.
- [11] 江泳, 江瑞云, 陈建杉. 论肾阳虚与抑郁症发病的关联性 [J]. *四川中医*, 2009, 27 (8): 30-31.
- [12] 刘银姣, 郑伯媛, 赵素玲, 等. 温阳解郁法治疗肾虚肝郁型更年期抑郁症疗效及对患者神经内分泌和睡眠的影响 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2019, 25 (3): 344-346.
- [13] SUN G G, Shih J H, Chiou S H, et al. Chinese herbal medicines promote hippocampal neuroproliferation, reduce stress hormone levels, inhibit apoptosis, and improve behavior in chronically stressed mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 193:159-168.
- [14] XU Q, PAN Y, YI L T, et al. Antidepressant-like effects of psoralen isolated from the seeds of *Psoralea corylifolia* in the mouse forced swimming test [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31 (6): 1109-1114.
- [15] 段卫华, 于佳慧, 高秀梅. 不同配比杜仲丸对 SAMP6 小鼠抗抑郁作用的研究 [J]. *天津中医药大学学报*, 2015, 34 (1): 34-36.
- [16] 杨伊姝, 刘占东, 张树成, 等. 补骨脂素抗抑郁作用及机制研究 [J]. *神经疾病与精神卫生*, 2018, 18 (5): 308-311.
- [17] Rahmani G, Farajdokht F, Mohaddes G, et al. Garlic (*Allium sativum*) improves anxiety-and depressive-related behaviors and brain oxidative stress in diabetic rats [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2018, 20:1-6.
- [18] Arab L, GUO R, Elashoff D. Lower depression scores among walnut consumers in NHANES [J]. *Nutrients*, 2019, 11 (2): 12-21.
- [19] 杨荣平, 薛冰洁, 孙冠芸, 等. 复方青娥丸不同萃取部位对氢化可的松所致阳虚证的影响 [J]. *重庆中草药研究*, 2011, 2:31-33.
- [20] 孙冠芸, 王星琴, 薛冰洁, 等. 复方青娥丸不同萃取部位雌激素样作用研究 [J]. *重庆中草药研究*, 2011, 2: 37-40.
- [21] ZHU S, SHI R, WANG J, et al. Unpredictable chronic mild stress not chronic restraint stress induces depressive behaviours in mice [J]. *Neuroreport*, 2014, 25 (14): 1151-1155.
- [22] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 1987, 93 (3): 358-364.
- [23] Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 1997, 134 (4): 319-329.
- [24] 牟雄军, 刘昊, 李宁, 等. 疏肝和胃汤及其有效物质部位对抑郁模型大鼠下丘脑中多种神经递质含量的影响 [J]. *中国中药杂志*, 44 (15): 3343-3348.
- [25] LIN Y H, LIU A H, XU Y, et al. Effect of chronic unpredictable mild stress on brain-pancreas relative protein in rat brain and pancreas [J]. *Behav Brain Res*, 2005, 165 (1): 63-71.
- [26] Foster T C. Role of estrogen receptor alpha and beta expression and signaling on cognitive function during aging [J]. *Hippocampus*, 2012, 22 (4): 656-669.
- [27] Bean L A, Iarov L, Foster T C. Estrogen receptors, the hippocampus, and memory [J]. *Neuroscientist*, 2014, 20 (5): 534-545.
- [28] Keyes K, Agnew-Blais J, Roberts A L, et al. The role of allelic variation in estrogen receptor genes and major depression in the Nurses Health Study [J]. *Soc*

- Psychiatry Psychiatr Epidemiol, 2015, 50 (12): 1893-1904.
- [29] ZHANG J, CHEN L, MA J, et al. Interaction of estrogen receptor beta and negative life events in susceptibility to major depressive disorder in a Chinese Han female population[J]. J Affect Disord, 2017, 208: 628-633.
- [30] Ryan J, Ancelin M L. Polymorphisms of estrogen receptors and risk of depression: therapeutic implications[J]. Drugs, 2012, 72(13): 1725-1738.
- [31] HUANG T L, Lee C T, LIU Y L. Serum brain-derived neurotrophic factor levels in patients with major depression: effects of antidepressants [J]. J Psychiatr Res, 2008, 42(7): 521-525.
- [32] CHAN C B, YE K. Sex differences in brain-derived neurotrophic factor signaling and functions [J]. J Neurosci Res, 2017, 95(1/2): 328-335.
- [33] Chhibber A, Woody S K, Karim R M, et al. Estrogen receptor beta deficiency impairs BDNF-5-HT2A signaling in the hippocampus of female brain: a possible mechanism for menopausal depression [J]. Psychoneuroendocrinology, 2017, 82: 107-116.
- [责任编辑 周冰冰]

《中国实验方剂学杂志》微信公众号

作为国内目前唯一以“实验方剂”命名的“国字号”医药期刊,本刊以报道、介绍中医药方剂研究动态及进展为主旨,为了医药学者及工作者的成果交流和传播搭建平台。通过微信平台通讯下方菜单可实现在线查询稿件状态、联系我们、投稿问题处理、体例格式要求、版权协议模板等功能的查阅,同时微信平台同步发布杂志最新动向、每期目录、中医药科研、产业化资讯及优秀论文推荐等。欢迎关注《中国实验方剂学杂志》的微信公共账号,敬请关注!

微信公共账号: syfjxzz

微信二维码(可扫封面):

