

减压特号对慢性应激大鼠的抗抑郁作用及机制研究

李高文^{1,3}, 徐胜², 尤文挺¹, 都霞¹, 朱洁瑾¹, 潘建春¹ (1.浙江省温州医学院实验神经生物学研究所, 浙江 温州 325035; 2.浙江省温州市循证医学研究所, 浙江 温州 325035; 3.浙江省宁波天一职业技术学院药理教研室, 浙江 宁波 315100)

摘要: 目的 探讨中药复方减压特号(Jianyatehao, JYTH)对慢性应激大鼠抑郁样行为的改善作用及其对肾上腺结构功能、免疫系统和单胺递质系统的影响。方法 大鼠随机分为正常对照组、应激模型组、JYTH(低、中、高)剂量组及丙咪嗪组。建立大鼠慢性应激模型,测定应激大鼠的开野行为和糖水消耗量。ELISA 法测定大鼠血清皮质酮、IL-1 β 和 IL-6 的水平, HPLC 测定应激大鼠不同脑区的单胺递质水平。结果 与慢性应激组相比, JYTH 低、中、高剂量组明显增加大鼠在开野箱中的活动性,并增加其对糖水的偏爱性,明显降低血清皮质酮、IL-1 β 和 IL-6 的水平,明显增加不同脑区单胺递质含量。结论 JYTH 可以改善慢性应激引起的抑郁样行为,其作用机制可能与降低血清皮质酮水平、保护肾上腺结构完整、增强免疫功能和提高脑内单胺递质含量有关。

关键词: 减压特号; 慢性应激; 皮质酮; 白介素-1 β ; 白介素-6; 单胺递质

中图分类号: R964

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2011)08-0701-07

Antidepressant Effects of Jianyatehao(JYTH) and Its Possible Mechanisms in Chronically Stressed Rats

LI Gaowen^{1,3}, XU Sheng², YOU Wenting¹, DU Xia¹, ZHU Jiejin¹, PAN Jianchun¹ (1.Institute of Experimental Neurobiology, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China; 2.Institute of Evidence-based Medicine, Wenzhou 325035,

作者简介: 李高文,男,硕士生,助教 Tel: 15205746180 E-mail: small_swallows@163.com

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the antidepressant effects of Jianyatehao(JYTH), a traditional Chinese medicine formula, and its possible mechanisms. **METHODS** SD rats were randomly divided into 6 groups: normal group, model group, and four treated groups treatment with high dose JYTH($70 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), moderate dose JYTH($35 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and low dose JYTH($17.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and imipramine group($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), respectively. The chronically stressed model was established, and the activities in the open-field box and sucrose consumption stress rats were observed respectively. Determine the levels of corticosterone, IL-1 β and IL-6 in stressed rats using ELISA and measure the monoamines in various brain regions by Sucrose. Furthermore, the contents of 5-HT, noradrenaline, dopamine and 5-HIAA in various brain areas were measured using HPLC with electrochemical detection with minor modifications. **RESULTS** Compared with the chronically stressed rats, JYTH($17.5, 35, 70 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) significantly reversed the depressive-like behaviors of chronically stressed rats, which can increase the reactivity in open-field box and the preference of treatments improved the chronically stressed-induced increase of serum corticosterone, IL-1 β and IL-6 levels. JYTH ($17.5, 35, 70 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) treatments also increased the monoamines in various brain regions. **CONCLUSION** JYTH has significant antidepressant effects, which is probably related to the reduce of the levels of serum corticosterone and the protection of the structural integrity of the adrenal and the improvement of the immunity functions and the increase of the monoamines in brain.

KEY WORDS: Jianyatehao; chronically stressed; corticosterone; IL-1 β ; IL-6; monoamines

抑郁症是一种严重影响身心健康的情感障碍性精神疾病, 抑郁症终生患病率5.2%~16.2%, 女性高达25%^[1]。抑郁症的机制非常复杂, 涉及到交感神经系统、内分泌和免疫系统机体多个方面^[2]。动物的慢性应激模型较好地模拟了人类抑郁样症状, 其主要特征为机体受到内外环境刺激后发生下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA)功能失调及免疫系统功能紊乱, 由此引发各种行为和功能的改变^[3-4]。

本试验研究的中药复方减压特号(Jianyatehao, JYTH)为温州循征医学研究所提供, 主要由合欢皮、郁金等中药制成, 具有舒肝解郁、醒脾益肾之功效, 经过近十年的中医临床应用, 疗效确切。吕平等^[5]发现, JYTH在小鼠体内具有急性抗抑郁作用, 其机制可能与降低小鼠全脑单胺氧化酶活性有关。

本试验采用慢性不可预知温和应激模型来观察JYTH对大鼠行为学的影响, 从肾上腺结构和功能、神经递质系统及免疫系统3个方面系统地探讨其作用的机制。

1 材料

1.1 动物

SD大鼠, δ , SPF级, 体质量200~220 g, 由温州医学院动物中心提供, 实验动物许可证号: SYXK(浙)2005-0061。饲养条件: 每笼6只, 温室(24 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 湿度(50 ± 10)%, 自然光照, 昼夜节律, 自由摄食饮水。所有动物适应环境5 d后开始实验, 实验前禁食10 h, 饮水自由。随机分为6组: 正常对照组、应激模型组、JYTH(低、中、高)各剂量组($17.5, 35, 70 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 灌胃给药)、丙咪嗪组(10

$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 腹腔注射给药)。每组12只大鼠。

1.2 药品与试剂

自拟中药复方JYTH由郁金、茯苓、黄芪、合欢皮、党参、珍珠母、白芍、甘草、牡蛎等9味药材组成, 制剂由温州循证医学研究所提供(汤剂); 丙咪嗪、5-羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NA)、5-羟基异丁酸(5-HIAA), 均购自Sigma公司; 皮质酮试剂盒(批号: HR084, 美国RB公司); IL-1 β 试剂盒(批号: 20090227), IL-6试剂盒(批号: 0090206), 均购自美国RD公司; 其他试剂均为分析纯。

1.3 仪器

DigBehv动物行为分析系统(上海吉量软件科技有限公司); BS110S分析天平(北京赛多利斯仪器公司); 医用离心机(金坛市医疗器械厂); 3-18型低温高速离心机(美国BECKMAN公司); Leica LMS2光学显微镜(德国莱卡); 库仑阵列高效液相色谱系统和电化学检测器(美国ESA公司); 超声匀浆器(军事医学科学院实验仪器厂); PH S-25型酸度计(上海医用核子仪器厂); 550型全自动酶标仪(BIO-RAD)。

2 方法

2.1 给药方式及剂量

丙咪嗪用双蒸水溶解, JYTH(低、中、高)各剂量组($17.5, 35, 70 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)于测试前60 min灌胃给药, 丙咪嗪组($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)测试前30 min腹腔注射给药, 正常对照组灌胃给予等体积的双蒸水。应激模型组按大鼠体质量 $[1 \text{ mL}\cdot(100 \text{ g})^{-1}]$ 给予双蒸水灌胃给药。

2.2 大鼠慢性应激模型的建立

按文献[6]制作大鼠模型, 应激时程共计21 d, 每日1次, 每天选取7种刺激中的1种进行刺激: 强迫游泳(水温10 ℃): 5 min; 制动2 h; 夹尾(距尾根1 cm): 1 min; 禁水(水瓶取掉12 h后, 放空瓶1 h, 之后恢复正常饮水); 禁食(鼠粮取空12 h后, 每笼放3 g鼠粮2 h, 之后恢复正常饮食); 足底电击(1 mA, 时程1 s, 1 次·min⁻¹): 30 min; 换笼孤养24 h; 刺激时间和形式每天随机。每日测定体质量, 按体质量连续给药21 d, 第21天进行行为测试, 断头杀鼠。各组于测试前60 min按体质量给予不同剂量的JYTH和双蒸水, 或测试前30 min按体质量给予丙咪嗪(10 mg·kg⁻¹)。

2.3 开野实验^[7]

各组大鼠均在给予慢性应激21 d后开始实验。正方形开野实验箱为80 cm×80 cm×75 cm, 底板用笔画成10 cm×10 cm的方格, 其正上方距离底板90 cm高处放1个60 W白炽灯泡。将大鼠放于开野箱中央测试10 min, 观察后5 min内大鼠的活动情况, 包括: 自主活动次数(方格间穿行次数), 竖起及探究次数(两前肢离地1 cm以上的次数)。

2.4 糖水消耗实验^[8]

大鼠首先训练试饮1%的蔗糖水48 h, 试饮期间正常进食。训练结束后开始正式实验, 大鼠单笼饲养, 禁食禁水14 h后, 同时给予1%的蔗糖水和自来水各1瓶, 记录1 h的1%的蔗糖水消耗量。为避免体质量差异对结果的影响, 1%蔗糖水饮用量按每100 g体质量饮糖水(mL)表示。

2.5 酶联免疫吸附双抗体夹心法测定血清皮质酮、IL-1β和IL-6水平

按照各试剂盒说明书操作。

2.6 HPLC测定不同脑区单胺递质及其代谢产物的含量

各实验组大鼠连续给药21 d, 在末次给药后60 min(JYTH组)或30 min(丙咪嗪组), 将大鼠快速断头处死, 在冰上迅速分离出额叶皮层和海马, 称重后置于-80 ℃冰箱中保存。每100 mg脑组织中加入200 μL冰A液(0.4 mol·L⁻¹ HClO₄), 冰浴中超声匀浆, 4 ℃避光静置60 min, 离心20 min(12 000 r·min⁻¹, 4 ℃), 取上清液, 加入半量体积的B液(0.2 mol·L⁻¹ 柠檬酸钾, 0.3 mol·L⁻¹ K₂HPO₄和0.2 mol·L⁻¹ EDTA), 涡旋混匀10 min, 4 ℃避光静置60 min, 再次离心20 min(12 000 r·min⁻¹, 4 ℃), 取上清液进行单胺测定。脑组织中5-HT, 5-HIAA和NA

的含量采用高效液相电化学法测定。样品上清液过滤(孔径0.22 μm)处理后, 取20 μL自动进样。色谱柱为Diamonsil C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相组成: 125 mmol·L⁻¹ 枸橼酸-柠檬酸钠缓冲液(pH 4.3), 0.1 mmol·L⁻¹ EDTA, 1.2 mmol·L⁻¹ 辛烷基磺酸钠, 16%甲醇。流速: 1.0 mL·min⁻¹。检测器工作电压分别为: 50, 100, 200, 300, 400, 500 mV。脑组织中单胺及其代谢产物的含量以湿组织重表示。

2.7 数据统计处理

采用SPSS13.0统计软件包进行统计学处理, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 药物作用以One-way ANOVA方法分析, 组间差异($P < 0.05$)采用Dunnett's *t*-test。

3 结果

3.1 JYTH对慢性应激大鼠在开野箱中活动性的影响

与正常对照组大鼠相比, 应激模型组大鼠爬行格数、竖立及探究次数均减少($P < 0.001$)。而在给予JYTH(17.5, 35, 70 g·kg⁻¹)后, 应激大鼠行为明显改善, 穿越格数、竖立及探究次数均出现不同程度的增加, 与应激模型组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。结果见表1。

表1 JYTH对慢性应激大鼠活动性的影响($\bar{x} \pm s$, $n=12$)
Tab 1 The effects of JYTH on locomotion of rats($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	爬行格数	竖立及探究次数
正常对照组	37.6±7.3	13.8±2.5
应激模型组	19.3±3.7 ¹⁾	6.8±0.9 ¹⁾
JYTH 低剂量组	32.8±4.5 ³⁾	11.2±2.6 ²⁾
JYTH 中剂量组	40.1±6.4 ³⁾	14.4±2.2 ³⁾
JYTH 高剂量组	29.0±4.9 ²⁾	10.5±3.3 ²⁾
丙咪嗪组	3.3±0.9 ³⁾	1.4±0.5 ³⁾

注: 与正常对照组比较, ¹⁾ $P < 0.001$; 与应激模型组比较, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$

Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P < 0.001$; compared with stress group, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$

3.2 JYTH对慢性应激大鼠糖水消耗量的影响

与正常对照组大鼠相比, 应激模型组大鼠对糖水的偏爱性降低, 差异有统计学意义($P < 0.001$); JYTH(17.5, 35, 70 g·kg⁻¹)能明显增加应激大鼠对糖水的偏爱性($P < 0.05$); 其中JYTH 35 g·kg⁻¹效果与阳性对照药丙咪嗪(10 mg·kg⁻¹)类似。结果见表2。

表 2 JYTH 对慢性应激大鼠糖水消耗量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Tab 2 The effect of JYTH on sucrose consumption of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组 别	糖水消耗量/mL·(100 g) ⁻¹
正常对照组	4.8±0.6
应激模型组	2.0±0.4 ¹⁾
JYTH 低剂量组	2.9±0.4 ²⁾
JYTH 中剂量组	4.0±0.8 ³⁾
JYTH 高剂量组	3.0±0.8 ²⁾
丙咪嗪组	4.2±0.8 ³⁾

注: 与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.001$; 与应激模型组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.001$

Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.001$; compared with stress group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.001$

3.3 JYTH对慢性应激大鼠肾上腺皮质厚度及血清皮质酮水平的影响

正常大鼠HE染色肾上腺病理切片显示结构清晰, 由外向内分为肾上腺皮质和髓质部分, 其中皮质又分为球状带、束状带和网状带; 慢性应激大鼠肾上腺皮质肥厚, 髓质萎缩, 结构层次模糊; 给予JYTH(17.5, 35, 70 g·kg⁻¹)和丙咪嗪(10 mg·kg⁻¹)后应激大鼠肾上腺结构清晰, 层次分明, 见图1。同时, 与正常大鼠相比, 应激大鼠肾上腺皮质厚度明显增加($P<0.001$), 而给药组大鼠的肾上腺皮质厚度较应激模型组均有减少($P<0.01$)。结果见表3。

应激模型组大鼠血清皮质酮含量明显高于正常对照组大鼠($P<0.001$), 各给药组使皮质酮含量明显下降, 与应激模型组相比差异有统计学意义($P<0.001$)。结果见图2。

表 3 JYTH 对慢性应激大鼠肾上腺皮质厚度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Tab 3 The effect of JYTH on thickness of adrenal gland ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组 别	肾上腺厚度/ μm
正常对照组	623.9±4.3
应激模型组	896.8±7.1 ¹⁾
JYTH 低剂量组	652.5±10.7 ²⁾
JYTH 中剂量组	628.3±5.1 ³⁾
JYTH 高剂量组	675.7±12.5 ²⁾
丙咪嗪组	626.2±3.3 ³⁾

注: 与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.001$; 与应激模型组比较, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$

Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.001$; compared with stress group, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$

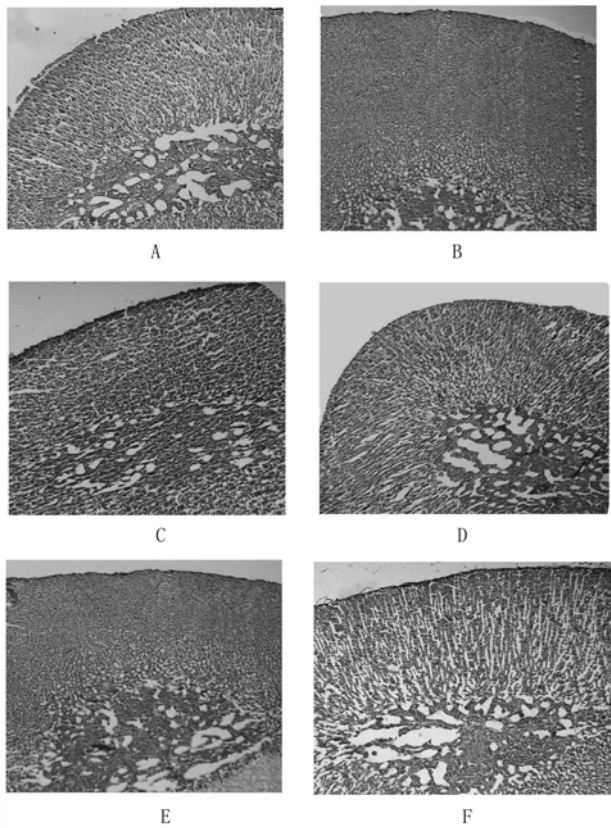


图 1 JYTH 对慢性应激大鼠肾上腺结构的影响(40 $\times$)

A-正常对照组; B-应激模型组; C-JYTH低剂量组; D-JYTH中剂量组; E-JYTH高剂量组; F-丙咪嗪组

Fig 1 The effect of JYTH on the structure of adrenal gland (40 $\times$)

A-normal group; B-stress group; C-JYTH low dose group; D-JYTH moderate dose group; E-JYTH high dose group; F-imipramine group

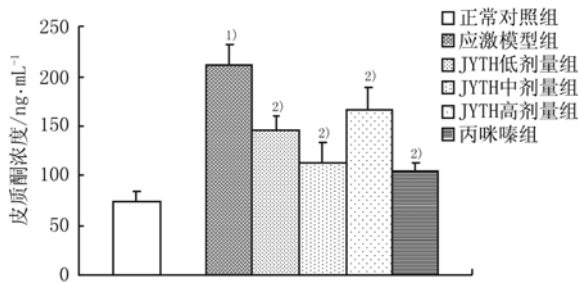


图 2 JYTH 对慢性应激大鼠血清皮质酮浓度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.001$; 与应激模型组比较, ²⁾ $P<0.001$

Fig 2 The effect of JYTH on the concentration of corticosterone in serum of rats($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.001$; compared with stress group, ²⁾ $P<0.001$

3.4 JYTH对慢性应激大鼠血清IL-1 β 和IL-6水平的影响

应激模型组大鼠血清IL-1 β 和IL-6含量明显高于正常对照组大鼠($P<0.01$), JYTH各剂量组和丙

咪嗪组对慢性应激所致IL-6和IL-1 β 含量的上升具有明显的抑制作用,与应激模型组相比差异有统计学意义($P<0.05$),结果见表4。

3.5 JYTH对慢性应激大鼠不同脑区各剂量组NA, 5-HT及其代谢产物的影响

JYTH 各剂量组和丙咪嗪组与应激模型组比较,大鼠海马和额叶皮层 5-HT 和 NA 含量显著增加;与应激模型组大鼠比较,丙咪嗪组大鼠额叶皮层 5-HIAA 的含量没有变化,但与 JYTH 各剂量组相同,海马和额叶皮层脑区的 5-HT 转换率(5-HIAA/5-HT)都有显著降低($P<0.001$)。结果见表 5 和表 6。

表 5 JYTH 对慢性应激大鼠海马单胺递质含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab 5 The effects of JYTH on the levels of monoamines in hippocampus of rats($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	5-HT	5-HIAA	5-HIAA/5-HT	NA
正常对照组	535.3 $\pm$ 36.4	299.0 $\pm$ 16.4	0.56 $\pm$ 0.05	329.3 $\pm$ 21.3
应激模型组	435.1 $\pm$ 36.4 ¹⁾	461.9 $\pm$ 28.9 ¹⁾	1.07 $\pm$ 0.10 ¹⁾	222.7 $\pm$ 17.9 ¹⁾
JYTH 低剂量组	496.5 $\pm$ 26.5 ³⁾	331.6 $\pm$ 26.6 ⁴⁾	0.67 $\pm$ 0.07 ⁴⁾	274.1 $\pm$ 26.5 ⁴⁾
JYTH 中剂量组	510.6 $\pm$ 32.6 ⁴⁾	285.0 $\pm$ 26.1 ⁴⁾	0.56 $\pm$ 0.07 ⁴⁾	315.8 $\pm$ 25.5 ⁴⁾
JYTH 高剂量组	491.7 $\pm$ 16.1 ²⁾	314.6 $\pm$ 18.0 ⁴⁾	0.64 $\pm$ 0.04 ⁴⁾	282.9 $\pm$ 20.7 ⁴⁾
丙咪嗪组	520.5 $\pm$ 17.4 ⁴⁾	425.4 $\pm$ 25.2 ²⁾	0.82 $\pm$ 0.07 ⁴⁾	346.9 $\pm$ 22.4 ⁴⁾

注:与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.001$;与应激模型组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$, ⁴⁾ $P<0.001$

Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.001$; compared with stress group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$, ⁴⁾ $P<0.001$

表 6 JYTH 对慢性应激大鼠额叶皮层单胺递质含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab 6 The effect of JYTH on the levels of monoamines in fore-cortex of rats($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	5-HT	5-HIAA	5-HIAA/5-HT	NA
正常对照组	452.7 $\pm$ 23.0	166.6 $\pm$ 13.7	0.37 $\pm$ 0.04	256.7 $\pm$ 19.5
应激模型组	357.2 $\pm$ 24.8 ¹⁾	235.6 $\pm$ 23.5 ¹⁾	0.66 $\pm$ 0.09 ¹⁾	185.0 $\pm$ 15.4 ¹⁾
JYTH 低剂量组	462.0 $\pm$ 17.9 ²⁾	187.5 $\pm$ 15.3 ²⁾	0.41 $\pm$ 0.04 ²⁾	225.9 $\pm$ 16.1 ²⁾
JYTH 中剂量组	482.3 $\pm$ 16.6 ²⁾	173.3 $\pm$ 9.4 ²⁾	0.36 $\pm$ 0.03 ²⁾	256.1 $\pm$ 14.4 ²⁾
JYTH 高剂量组	459.0 $\pm$ 17.4 ²⁾	182.2 $\pm$ 13.5 ²⁾	0.40 $\pm$ 0.03 ²⁾	232.9 $\pm$ 16.8 ²⁾
丙咪嗪组	495.5 $\pm$ 22.0 ²⁾	221.9 $\pm$ 12.3	0.44 $\pm$ 0.03 ²⁾	266.4 $\pm$ 15.7 ²⁾

注:与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.001$;与应激模型组比较, ²⁾ $P<0.001$

Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.001$; compared with stress group, ²⁾ $P<0.001$

4 讨论

抑郁症的病因尚未彻底阐明,目前认为,长期慢性、低水平的应激源是促进抑郁发生、发展的主要原因。慢性不可预知性大鼠应激模型就是根据此理论建立的,其特点是应激因子的多变性和不可预知性,这一模型已成为国内外学者探讨抑郁症发病机制和抗抑郁药作用机制而广泛应用的动物模型^[9]。

本试验中大鼠经21 d的慢性综合性应激后,可见应激模型组大鼠在开野实验中5 min内的爬行和探究次数明显减少,说明模型组大鼠活动能力下

表 4 JYTH 对慢性应激大鼠血清 IL-1 β 和 IL-6 水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab 4 The effects of JYTH on IL-1 β and IL-6 of rats($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	IL-1 β /pg·mL ⁻¹	IL-6/pg·mL ⁻¹
正常对照组	152.5 $\pm$ 19.5	63.8 $\pm$ 18.0
应激模型组	199.4 $\pm$ 12.3 ¹⁾	96.0 $\pm$ 16.2 ²⁾
JYTH 低剂量组	167.5 $\pm$ 8.5 ³⁾	70.0 $\pm$ 8.5 ⁴⁾
JYTH 中剂量组	160.8 $\pm$ 6.4 ⁴⁾	66.0 $\pm$ 8.2 ⁴⁾
JYTH 高剂量组	168.9 $\pm$ 8.7 ³⁾	71.7 $\pm$ 7.7 ³⁾
丙咪嗪组	148.2 $\pm$ 22.8 ⁵⁾	67.2 $\pm$ 8.6 ⁴⁾

注:与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$, ²⁾ $P<0.001$;与应激模型组比较, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$, ⁵⁾ $P<0.001$

Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.01$, ²⁾ $P<0.001$; compared with stress group, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$, ⁵⁾ $P<0.001$

降、紧张程度增加及兴趣丧失;在糖水消耗实验中,慢性应激模型大鼠对糖水的偏爱性降低,本试验用对蔗糖溶液的偏爱性来反映大鼠对奖赏的反应程度,偏爱性降低提示大鼠兴趣丧失、快感缺乏,这些行为的改变为慢性应激模型的可靠性提供了保证。而在给予慢性应激大鼠JYTH(17.5, 35, 70 g·kg⁻¹)灌胃治疗后,应激大鼠的活动性增强,并增加其对外周环境的探究兴趣。此外,慢性应激大鼠对1%蔗糖水的偏爱性增加,提示JYTH (17.5, 35, 70 g·kg⁻¹)可以显著改善应激大鼠的快感缺失症状,增强其对奖赏机制的反应程度。

HPA 轴是由下丘脑神经元轴突末梢释放促肾上腺皮质释放激素(CRF),经垂体门脉系统调节垂体前叶细胞分泌释放促肾上腺激素(ACTH),通过血液循环,ACTH 可促进肾上腺皮质的生长和肾上腺皮质激素——糖皮质激素(GC)释放形成。当人体面对应激刺激时 HPA 轴兴奋性提高,应激使分布于丘脑下部的室旁核内侧的小型神经细胞的 CRF 产生增多。制成的 CRF 通过轴索流运送到神经细胞的轴索终末,释放到垂体蒂的毛细血管内。这些血管重新集合形成垂体门脉系统,将血液运送到前叶。被送到前叶的 CRF 作用于成为促肾上腺皮质激素的细胞,使之产生 ACTH。其结果是 ACTH 随血液到达肾上腺皮质,激活束状带细胞的腺苷酸环化酶(AC),生成环腺苷酸(cAMP),促进其从胆固醇向孕烯醇转化,制成应激激素 GC,从而动员储能,提高心血管张力,同时血中葡萄糖水平提高,免疫功能受抑制。适当应激反应有利于机体度过短期恶劣环境,保存生命。但若机体长期处于应激状态,HPA 轴功能持续亢进,使机体长期处于高水平的 GC 中,即时是生理性的应激反应对机体也将十分不利。研究表明^[10],长期强烈身心应激严重影响着人类的身心健康,使机体出现抑郁症、学习和记忆障碍、应激性精神紊乱、免疫低下等多系统疾患,而这些疾患的严重程度无一不是与 HPA 轴亢进密切相关。本研究中,慢性应激状态下肾上腺皮质出现增生、肥厚以及髓质萎缩,说明 HPA 轴与交感-肾上腺髓质系统是相互关联的。越来越多的研究显示^[11],神经-内分泌-免疫系统之间存在着复杂的相互关系,免疫功能低下是抑郁症的特征之一。本实验显示,慢性应激模型大鼠血清中 IL-1 β 和 IL-6 水平显著升高,说明抑郁大鼠的免疫功能低下。JYTH(17.5, 35, 70 g·kg⁻¹)和经典抗抑郁药丙咪嗪不仅能逆转应激抑郁大鼠行为表现的异常,对抑郁大鼠肾上腺出现的病理改变,如皮质增生、肥厚等也有明显改善作用。结果显示 35 g·kg⁻¹ 的 JYTH 明显改善肾上腺皮质增生,效果优于 70 g·kg⁻¹ 剂量,可能与药效曲线呈倒“U”形分布有关,大量给予时药物作用降低。另外, JYTH(17.5, 35, 70 g·kg⁻¹)对应激大鼠免疫功能低下也有改善作用,暗示 JYTH 很可能还通过改善免疫功能而减轻抑郁症状。

研究表明,抑郁症患者血清肾上腺皮质激素水平升高,而经抗抑郁药治疗后随着抑郁症状的

缓解皮质激素含量也下降^[12]。本研究中发现,慢性应激模型大鼠血清中皮质酮浓度显著升高, JYTH(17.5, 35, 70 g·kg⁻¹)可以逆转这一现象,显著降低应激大鼠血清皮质酮水平,由于剂量范围可能呈非线性,因此 JYTH(35 g·kg⁻¹)效果优于高剂量组 70 g·kg⁻¹。提示 JYTH 可以通过降低应激大鼠肾上腺皮质分泌糖皮质激素,达到抗抑郁作用。

抑郁症的机制非常复杂,涉及到交感神经系统、内分泌和免疫系统机体多个方面^[2]。神经生物学和临床研究已证实单胺类神经递质(5-HT, NA 和 DA)在抑郁症的病因、病理中起着关键作用。5-HT 不仅是传统意义上的神经递质,还是在生理和病理过程中起着重要作用的“神经调质”,在体内发挥着多重功能,如调节情绪、睡眠、学习和性行为等,所有这些方面在严重抑郁症患者都有不同程度的紊乱^[13]。Blair 等^[14]认为,增强 5-HT 的神经传递可能是抗抑郁药治疗不同类型抑郁症的共同机制。大鼠额叶皮层和海马脑区单胺的改变主要影响动物的情感、动机、学习和记忆行为,而这些行为的变化与抑郁症关系密切^[15]。本研究显示 JYTH(17.5, 35, 70 g·kg⁻¹)和丙咪嗪(10 mg·kg⁻¹)对应激大鼠额叶皮层和海马中 5-HT 的含量均有不同程度的影响;5-HT 的转换率也呈下降趋势。JYTH(17.5, 35, 70 g·kg⁻¹)引起的 5-HT 增加和 5-HT 转换率的下降趋势可能与其对单胺代谢的影响有关。

目前认为,脑内 NA 浓度变化与觉醒、意识、攻击、焦虑和奖赏机制有关^[16]。传统的抗抑郁药,如三环类抗抑郁药和单胺氧化酶抑制剂等,通过抑制神经递质再摄取或减少其降解从而增加 NA 的含量。JYTH(17.5, 35, 70 g·kg⁻¹)可增加额叶皮层和海马中去甲肾上腺素的含量,对肾上腺素能受体功能和/或去甲肾上腺素代谢的影响可能是 JYTH 抗抑郁作用的机制之一。

总之, JYTH 可以改善慢性应激导致的单胺递质的失衡,亦可降低其血清皮质酮、IL-1 β 和 IL-6 水平,减轻 HPA 轴的激活状态,改善机体的免疫功能,表明 JYTH 可调整抑郁症患者神经、免疫、内分泌系统的功能,从而具有抗抑郁效果。

REFERENCES

- [1] LIU S F. The present research on epidemiology of depressant in China [J]. Anthol Med(医学文选), 2006, 25(4): 861-863.
- [2] SZELENYI J, SELMECZY Z. Immunomodulatory effect of

- antidepressants [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2002, 2(4): 428-432.
- [3] CHROUSOS G P, GOLD P W. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis [J]. *JAMA*, 1992, 267(9): 1244-1252.
- [4] IRWIN M. Stress-induced immune suppression, role of the autonomic nervous system [J]. *Ann NY Acad Sci*, 1993(692): 203-218.
- [5] LÜ P, LI S, WANG R Y. Antidepressant effect of acute administration with Jianyatehao(JYTH) and its possible mechanism [J]. *China J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2008, 33(3): 307-310.
- [6] ROSENBROCK H, KOROS E, BLOCHING A, et al. Effect of chronic intermittent restraint stress on hippocampal expression of marker proteins for synaptic plasticity and progenitor cell proliferation in rats [J]. *Brain Res*, 2005, 1040(1/2): 55-63.
- [7] SÁENZA J C B, VILLAGRAA O R, TRÍAS F J. Factor analysis of forced swimming test, sucrose preference test and open field test on enriched, social and isolated reared rats [J]. *Behav Brain Res*, 2006, 169(1): 57-65.
- [8] ROMANO-TORRES M, FERNÁNDEZ-GUASTI A. Estradiol valerate elicits antidepressant-like effects in middle-aged female rats under chronic mild stress [J]. *Behav Pharmacol*, 2010, 21(2): 104-111.
- [9] PARIANTE C M, MILLER A H. Glucocorticoid receptors in major depression relevance to pathophysiology and treatment [J]. *Biol Psychiatry*, 2001, 49(5): 391-404.
- [10] LUPIEN S J, MCEWEN B S, GUNNAR M R, et al. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10(6): 434-445.
- [11] CONNOR T J, LEONARD B E. Depression, stress and immunological activation: the role of cytokines in depressive disorders [J]. *Life Sci*, 1998, 62(7): 583-606.
- [12] MAGARINOS A M, MCEWEN B S, FLUGGE G, et al. Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews [J]. *Neurosci*, 1996, 16(10): 3534-3540.
- [13] NAUGHTON M, MULROONEY J B, LEONARD B E. A review of the role of serotonin receptors in psychiatric disorders [J]. *Hum Psychopharmacol*, 2000, 15(6): 397-415.
- [14] BLIER P, DE MONTIGNY C. Current advances and trends in the treatment of depression [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 1994, 15(7): 220-226.
- [15] BUTTERWECK V, BOCKERS T, KORTE B, et al. Long-term effects of St. John's wort and hypericin on monoamine levels in rat hypothalamus and hippocampus [J]. *Brain Res*, 2002, 930(1/2): 21-29.
- [16] MONTGOMERY S A. Is there a role for a pure noradrenergic drug in the treatment of depression [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 1997, 7(Suppl 1): 3-9, 71-73.

收稿日期: 2010-12-01