

基于免疫激活研究左归降糖解郁方对糖尿病并发抑郁症大鼠海马谷氨酸重摄取的干预作用

杨蕙¹, 韩远山¹, 王宇红^{2*}, 刘检¹, 李薇¹, 孟盼², 杜青², 赵洪庆² (1.湖南中医药大学第一附属医院, 长沙 410007; 2.湖南中医药大学, 长沙 410007)

摘要: 目的 研究糖尿病并发抑郁症模型大鼠海马内免疫状态对星形胶质细胞谷氨酸重摄取功能的影响, 及左归降糖解郁方对其干预作用。方法 建立糖尿病并发抑郁症大鼠模型, 并随机分为模型组、阳性药组(0.18 g·kg⁻¹二甲双胍+1.8 mg·kg⁻¹氟西汀)、左归降糖解郁方高、中、低剂量组(20.53, 10.26, 5.13 g·kg⁻¹), 以正常大鼠为正常对照组, 灌胃给药 4 周。分别采用 ELISA 法检测各组大鼠血清和海马中白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、干扰素- γ (IFN- γ)及海马中谷氨酸含量, 采用电镜观察各组大鼠海马血脑屏障结构, 采用双重免疫组化技术检测各组大鼠海马星形胶质细胞胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)及谷氨酸转运蛋白 2(EAAT2)表达。结果 与正常对照组比较, 模型组大鼠血清及海马匀浆液中各细胞因子表达均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 电镜结果显示血脑屏障存在一定损伤; 海马中 GFAP 表达显著增加($P<0.05$), 而 EAAT2 表达显著减少($P<0.01$), 海马匀浆液中谷氨酸含量异常增多($P<0.01$)。高剂量左归降糖解郁方可显著减少模型大鼠血清中各细胞因子及海马匀浆液中 IL-1、IL-6、IFN- γ 和谷氨酸的含量($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 显著降低 GFAP 并增加 EAAT2 的表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 此外, 其对大鼠海马血脑屏障也具有一定的保护作用。结论 左归降糖解郁方可通过增加糖尿病并发抑郁症大鼠海马星形胶质细胞表面 EAAT2 表达, 减少谷氨酸造成的兴奋性毒性, 该作用可能与其抑制模型大鼠脑内免疫激活有关。

关键词: 左归降糖解郁方; 免疫激活; 星形胶质细胞; 谷氨酸; 海马

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2017)05-0644-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.05.002

引用本文: 杨蕙, 韩远山, 王宇红, 等. 基于免疫激活研究左归降糖解郁方对糖尿病并发抑郁症大鼠海马谷氨酸重摄取的干预作用[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(5): 644-648.

Effect of Zuogui Jiangtang Jieyu Formulation on the Reuptake of Glutamic Acid by Hippocampus Based on the Active Immunity in Diabetes-induced Depression Rats

YANG Hui¹, HAN Yuanshan¹, WANG Yuhong^{2*}, LIU Jian¹, LI Wei¹, MENG Pan², DU Qing², ZHAO Hongqing² (1. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China; 2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of reuptake of glutamic acid by astrocyte based on immune in diabetes-induced depression rats, and the function of Zuogui Jiangtang Jieyu formulation. **METHODS** Diabetes-induced depression rats were randomly divided into model group, positive drug group(0.18 g·kg⁻¹metformin+1.8 mg·kg⁻¹ fluoxetine), Zuogui Jiangtang Jieyu formulation high, medium and low dose group(20.53, 10.26, 5.13 g·kg⁻¹), while the normal rats belonged to the control group. The levels of IL-1, IL-6, TNF- α , IFN- γ in plasma and hippocampus and the glutamic acid in hippocampus were tested by ELISA after four weeks of intragastric administration. The morphological changes of blood-brain barrier were observed in the electron microscope. The expression of GFAP and EAAT2 were detected by double immunocytochemistry. **RESULTS** Compared with the control group, the levels of four cytokines in plasma and hippocampus and glutamic acid in hippocampus were significantly higher($P<0.05$ or $P<0.01$), and there was obvious damage in BBB. In hippocampus, the expression of GFAP was increased($P<0.05$), while the EAAT2 was decreased($P<0.01$). The Zuogui Jiangtang Jieyu formulation can diminish the level of cytokines in serum and the level of IL-1, IL-6, IFN- γ , glutamic acid in hippocampus, and decreased the expression of GFAP while increased EAAT2 in hippocampus($P<0.05$ or $P<0.01$). **CONCLUSION** The Zuogui Jiangtang Jieyu formulation can reduce the excitotoxicity of glutamic acid through increasing the expression of EAAT2 in astrocyte, and this function might be correlated with inhibition the immune-activation.

KEY WORDS: Zuogui Jiangtang Jieyu formulation; immune-activation; astrocyte; glutamic acid; hippocampus

基金项目: 国家自然科学基金课题(81403379, 81573965)

作者简介: 杨蕙, 女, 硕士, 实习研究员 Tel: 15111415343
Tel: 13787028248 E-mail: wyh107@126.com

E-mail: 348541369@qq.com

*通信作者: 王宇红, 女, 博士, 教授

抑郁症是糖尿病常见并发症之一, 临床统计发现, 糖尿病患者中 60%~75% 伴有抑郁情绪, 其中 10%~35% 为重度抑郁^[1]。糖尿病状态下, 体内细胞因子表达增多, 并可能通过受损的血脑屏障大量入脑^[2], 并使大脑处于免疫激活状态。研究表明, 神经炎症可导致星形胶质细胞损伤, 继而影响其表面谷氨酸转运蛋白的表达, 导致海马谷氨酸水平持续升高, 诱导产生兴奋性神经毒性作用^[3-4]。本课题组前期研究发现, 糖尿病并发抑郁症大鼠谷氨酸转运蛋白 3(excitatory amino acid transporter 3, EAAT3)表达减少, VGLUT2 表达增多^[5]。由于谷氨酸转运蛋白 2(excitatory amino acid transporter, EAAT2)在星形胶质细胞具有较高的表达^[6], 并协同参与谷氨酸的转运, 而其在糖尿病并发抑郁症大鼠海马中表达情况尚未有研究。

因此, 本实验拟通过给予糖尿病并发抑郁症大鼠左归降糖解郁方, 并检测其炎症水平和脑内 EAAT2 的表达, 明确本方对于模型大鼠海马内炎症的保护作用和对谷氨酸重摄取的调节作用。通过本次研究, 可进一步对糖尿病并发抑郁症海马内谷氨酸的代谢转运过程有更全面的了解。同时, 该结果有助于更加清晰地阐明左归降糖解郁方的作用机制。

1 仪器与材料

1.1 药物

左归降糖解郁方的组成药物为黄芪 18 g、贯叶连翘 3 g、姜黄 9 g、熟地黄 15 g、山茱萸 12 g、枸杞 12 g、菟丝子 9 g、杜仲 9 g、丹参 12 g、丹皮 6 g、牛膝 9 g, 原材料购自湖南中医药大学第一附属医院, 并由该院制剂科按比例水煎浓缩后制成口服液, 采用一测多评法进行质量控制, 其主要药效成分浓度分别为黄芪甲苷 $\geq 0.03 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、贯叶金丝桃 $\geq 0.18 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、姜黄素 $\geq 0.4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、丹酚酸 $\geq 1.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、丹皮酚 $\geq 0.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。盐酸二甲双胍片(湖南湘雅制药有限公司, 批号: 150514); 百忧解(盐酸氟西汀胶囊, 法国 Patheon, 批号: SS41A)。

1.2 动物

SPF 级 SD 大鼠 72 只, ♂, 180~220 g, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 许可证号: SCXK(湘)2013-0004; 合格证号: 43004700013559。

实验前适应性饲养 3 d, 动物自由摄食与饮水。

1.3 试剂

高脂乳剂配比为胆固醇 10%, 丙硫氧嘧啶 0.2%, 猪油 20%, 胆酸钠 2%, 吐温-80 20%, 丙二醇 20%。链脲佐菌素(STZ, 批号: 9064043, 美国 Sigma), 白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、干扰素- γ (IFN- γ)的 ELISA 试剂盒(上海晶天生物科技有限公司, 批号均为 20160729); 兔抗大鼠 EAAT2、小鼠抗大鼠胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)多克隆抗体(批号分别为 22515-1-AP, 60190-1-Ig, Proteintech 公司); Polymer 双染检测试剂盒(批号: K147704D, 北京中杉金桥公司)。

1.4 仪器

Olympus 生物显微镜(日本 Olympus); DVP-W7 显微镜图像处理系统(南京长城信息系统公司); H600 型透射电镜(日本日立公司); MK3 型酶标仪(美国 Thermo)。

2 方法

2.1 分组及给药

SD 大鼠以高脂乳剂 $10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 连续灌胃 14 d, 每天 1 次。末次灌胃高脂乳剂后, 大鼠禁食不禁水 24 h, 一次性尾静脉注射链脲佐菌素(STZ) $38 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。造模 72 h 后, 大鼠禁食不禁水 7 h, 测定空腹血糖, 从中选取空腹血糖 $\geq 16.00 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的大鼠为糖尿病模型, 并继续给予糖尿病模型动物 28 d 慢性应激, 建立糖尿病并发抑郁症动物模型^[7]。将模型大鼠随机分为模型组、阳性药组(二甲双胍 $0.18 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ +氟西汀 $1.8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)和左归降糖解郁方高、中、低剂量组(20.53, 10.26, 5.13 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)5 组, 每组 12 只。另取 12 只 SD 大鼠作为正常对照组。各组大鼠灌胃给药 28 d, 正常对照组和模型组给予等体积蒸馏水, 实验结束后进行指标检测。

2.2 样本采集与处理

各组大鼠麻醉后, 腹主动脉取血, $2500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 收集血清用于细胞因子检测。随后, 取 6 只用于 ELISA 检测和 Western blot 试验, 6 只用于免疫组化实验和电镜检测。ELISA 检测和 Western blot 试验的样本处理方法为处死大鼠后立刻取脑, 冰上剥离海马, 左侧低温匀浆并离心,

取上清液用于 ELISA 检测; 右侧液氮冻存用于 Western blot 试验。免疫组化和电镜样本处理方法为处死大鼠, 打开胸腔, 从心尖入针, 剪开心耳, 采用 4%多聚甲醛进行灌注, 用以固定蛋白及冲去脑中血液, 大鼠全脑左侧浸泡于 4%多聚甲醛中, 用于免疫组化检测; 右侧取海马置于 2.5%戊二醛中, 用于电镜检测。

2.3 指标检测

2.3.1 ELISA 检测 严格按照 ELISA 试剂盒说明书测定血清和海马匀浆液中的 IL-1、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 以及海马中谷氨酸含量。

2.3.2 电镜检测 将固定好的海马置于 1%锇酸中固定, PBS 冲洗后, 经酒精梯度脱水, 环氧树脂包埋烘烤, 切片后用醋酸铀-枸橼酸铅双重染色, 透射电镜观察并摄片。

2.3.3 双重免疫组化检测 固定好的大鼠全脑冲洗后, 采用梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 浸蜡并包埋形成蜡块。切片后, 脱蜡, 水化, 并做抗原修复, 随后染色。滴加正常山羊血清封闭液, 室温孵育 20 min, 甩去多余液体, 分别滴加兔抗大鼠 GFAP(1:100, 美国 Proteintech)和小鼠抗大鼠 EAAT2 抗体(1:100, 美国 Proteintech)于 4 °C 孵育过夜。37 °C 复温 45 min, PBS 洗 3 次, 加入辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG 和碱性磷酸酶标记的山羊抗兔 IgG, 室温孵育后 PBS 漂洗。滴加 SABC, 室温孵育 30 min, PBS 洗 3 次。DAB 显色, 苏木精复染, 脱水, 透明, 封片。采用图像分析系统采集图像, 分析海马中 EAAT2 和 GFAP 的染色平均光密度值。

2.4 统计学处理

数据分析采用 SPSS 16.0 统计软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各指标采用单因素方差分析, t 检验, 双侧检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 ELISA 结果

与正常对照组比较, 模型组大鼠血清及海马匀浆液中的 IL-1、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 含量以及海马匀浆液中的谷氨酸含量均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 左归降糖解郁方高剂量组大鼠血清中的 IL-1、IL-6、TNF- α 、IFN- γ , 海马匀浆液中的 IL-1、IL-6、IFN- γ 和谷氨酸的含量均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 左归降糖解郁方中剂量组大鼠海马匀浆液中 IL-1 和谷氨酸的含量显著降低($P < 0.01$)。结果见表 1。

3.2 电镜检测结果

与正常对照组比较, 模型组大鼠血脑屏障内皮细胞发生肿胀, 管腔狭窄, 血脑屏障三层结构厚薄不均, 基膜明显增厚。与模型组比较, 阳性药组和左归降糖解郁方高剂量组大鼠脑组织内上述病理改变明显好转。结果见图 1。

3.3 双重免疫组化结果

与正常对照组比较, 模型组大鼠海马中 GFAP 表达显著增加, 而 EAAT2 表达显著减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 阳性药组和左归降糖解郁方组高剂量组大鼠海马 GFAP 表达显著减少, 而 EAAT2 表达显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。左归降糖解郁方中剂量组 GFAP 表达显著升高($P < 0.05$)。结果见表 2 和图 2。

表 1 各组大鼠血清和海马中细胞因子及谷氨酸含量($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 The levels of cytokines and glutamic acid in different groups($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	血清				海马匀浆液				
	IL-1/ pg·mL ⁻¹	IL-6/ ng·mL ⁻¹	TNF- α / ng·L ⁻¹	IFN- γ / ng·L ⁻¹	IL-1/ pg·mL ⁻¹	IL-6/ ng·mL ⁻¹	TNF- α / ng·L ⁻¹	IFN- γ / ng·L ⁻¹	谷氨酸/ μ mol·L ⁻¹
正常对照组	30.84 $\pm$ 2.33	29.36 $\pm$ 2.82	115.71 $\pm$ 15.40	37.54 $\pm$ 5.26	22.13 $\pm$ 1.34	26.93 $\pm$ 2.72	77.33 $\pm$ 14.16	21.89 $\pm$ 7.86	1.11 $\pm$ 0.06
模型组	41.04 $\pm$ 1.85 ²⁾	40.00 $\pm$ 2.06 ²⁾	152.04 $\pm$ 13.45 ¹⁾	71.26 $\pm$ 16.73 ¹⁾	43.81 $\pm$ 2.70 ²⁾	44.85 $\pm$ 2.10 ²⁾	118.56 $\pm$ 12.88 ¹⁾	43.42 $\pm$ 11.11 ¹⁾	1.82 $\pm$ 0.12 ²⁾
阳性药组	32.08 $\pm$ 1.48 ⁴⁾	34.29 $\pm$ 1.89 ⁴⁾	115.24 $\pm$ 5.45 ³⁾	42.88 $\pm$ 7.72 ³⁾	29.56 $\pm$ 3.21 ⁴⁾	32.67 $\pm$ 2.70 ⁴⁾	91.65 $\pm$ 9.44 ³⁾	26.66 $\pm$ 5.37 ⁴⁾	1.24 $\pm$ 0.14 ⁴⁾
左归降糖解郁方									
高剂量组	33.99 $\pm$ 2.52 ⁴⁾	35.97 $\pm$ 2.95 ³⁾	121.03 $\pm$ 6.14 ³⁾	46.46 $\pm$ 6.90 ³⁾	35.64 $\pm$ 3.48 ⁴⁾	34.72 $\pm$ 2.09 ³⁾	92.19 $\pm$ 15.29	24.80 $\pm$ 7.05 ³⁾	1.34 $\pm$ 0.06 ⁴⁾
中剂量组	39.86 $\pm$ 2.52	37.60 $\pm$ 1.91	142.10 $\pm$ 14.13	54.63 $\pm$ 2.80	37.45 $\pm$ 2.40 ⁴⁾	39.83 $\pm$ 4.01	112.38 $\pm$ 4.05	34.94 $\pm$ 5.04	1.47 $\pm$ 0.11 ⁴⁾
低剂量组	39.40 $\pm$ 4.09	38.16 $\pm$ 2.71	148.83 $\pm$ 21.97	68.35 $\pm$ 6.36	43.13 $\pm$ 5.33	41.00 $\pm$ 5.21	114.93 $\pm$ 12.80	37.30 $\pm$ 2.95	1.68 $\pm$ 0.15

注: 与正常对照组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较, ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

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

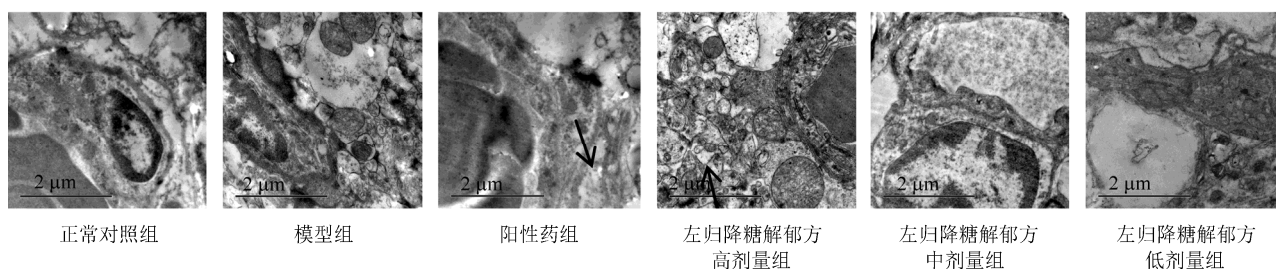


图1 各组大鼠海马血脑屏障电镜检测结果(400×)

Fig. 1 Electron microscope results of BBB of rats in different groups(400×)

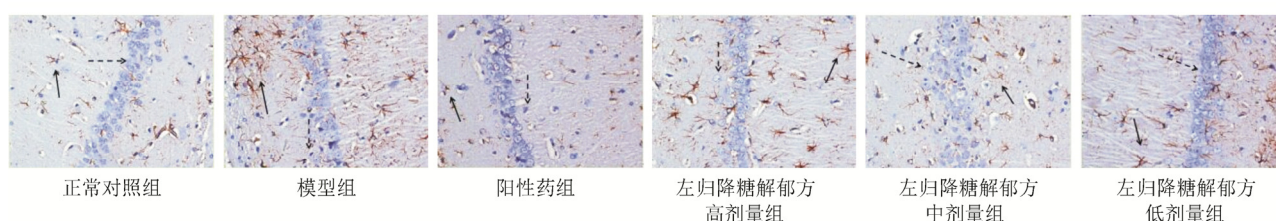


图2 各组大鼠海马双重免疫组化电镜检测结果(400×)

实线-GFAP; 虚线-EAAT2。

Fig. 2 Electron microscope results of double immunocytochemistry of rats in different groups(400×)

Solid line-GFAP; dotted line EAAT2.

表2 各组大鼠海马 EAAT2、GFAP 的表达情况($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 The levels of EAAT2 and GFAP in different groups ($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	EAAT2	GFAP
正常对照组	1.74±0.15	1.13±0.08
模型组	0.86±0.13 ²⁾	2.07±0.08 ¹⁾
阳性药组	1.22±0.17 ⁴⁾	1.66±0.11 ⁴⁾
左归降糖解郁方高剂量组	1.20±0.13 ⁴⁾	1.77±0.24 ³⁾
左归降糖解郁方中剂量组	1.08±0.21	1.91±0.16 ³⁾
左归降糖解郁方低剂量组	0.96±0.14	1.93±0.50

注: 与正常对照组比较 ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$ 。

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

4 讨论

2型糖尿病被认为是慢性低度炎症性疾病^[8]。研究发现, 糖尿病会引起免疫激活, 主要表现在 IL-1、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 等细胞因子的大量释放^[9-10]。然而, 细胞因子是亲水性大分子物质, 一般不容易透过血脑屏障。糖尿病并发抑郁症是一种由糖尿病引起的继发性抑郁类疾病, 课题组采用高脂、STZ 联合慢性应激的方法建立了该种动物模型, 并对其血糖、血脂和胰岛素抵抗等糖尿病样指标以及自主活动、学习能力和记忆功能等抑郁样指标进行了检测, 结果发现, 该种动物模

型血糖异常升高, 胰岛素抵抗明显, 胆固醇和甘油三酯含量明显升高; Open-field 实验中活动总数明显减少; Morris 水迷宫实验中逃避潜伏期明显延长, 空间探索时间明显缩短^[7]。此外, 实验中亦发现, 该模型大鼠血脑屏障中的紧密连接蛋白-1 和 α -平滑肌肌动蛋白表达明显下降, IV型胶原蛋白表达升高, 提示血脑屏障中紧密连接开放, 基底膜增厚, 周细胞从正常的收缩型向合成型转化, 发生丢失^[11]。本实验通过电镜对海马血脑屏障观察发现, 糖尿病并发抑郁症大鼠存在明显的海马血脑屏障结构损伤, 与课题组前期研究结果保持一致^[12]。因此认为, 糖尿病并发抑郁症大鼠血液中的细胞因子可以通过血脑屏障大量进入脑内, 并进一步引起脑内免疫激活。

糖尿病可诱发抑郁样行为已无争议, 但其机制至今尚未完全阐明。越来越多的研究证明, 机体中尤其是脑内产生的免疫激活与糖尿病并发抑郁症的发生密切相关^[13], 而促炎细胞因子构成了内分泌疾病向神经内分泌疾病转变的重要基础。本实验通过检测海马匀浆液中的细胞因子后发现, 糖尿病并发抑郁症模型大鼠海马中 IL-1、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 的含量显著升高。

海马是糖尿病并发抑郁症发生发展的重要靶区。血脑屏障损伤导致外周循环中的细胞因子大

量进入海马。星形胶质细胞是脑内谷氨酸的释放与回收细胞,其表面可表达 EAAT2,负责谷氨酸的转运,保持脑内谷氨酸含量恒定,以免产生兴奋性神经毒性^[14]。本实验研究发现,糖尿病并发抑郁症大鼠海马中谷氨酸含量显著增加,星形胶质细胞 GFAP 表达增多,星形胶质细胞肿胀明显,其表面谷氨酸转运体 EAAT2 表达明显减少,因此推测,糖尿病并发抑郁症大鼠脑内谷氨酸含量增加可能是因为糖尿病时,海马免疫激活状态下的星形胶质细胞持续激活,导致其表面 EAAT2 表达减少,直接引起细胞间隙谷氨酸含量增加。给予左归降糖解郁方后,模型大鼠海马中 IL-1、IL-6、IFN- γ 和谷氨酸的含量显著降低,星形胶质细胞中的 EAAT2 表达显著增加。

左归降糖解郁方由经典名方左归丸加减而得。课题组前期对其降糖、抗抑郁、神经元保护等方面进行了多项研究^[15-17],特别是对其神经元方面的研究尤为深入。本实验进一步深入研究了左归降糖解郁方的海马保护作用,研究认为,其可通过保护糖尿病并发抑郁症大鼠海马血脑屏障,抑制模型大鼠脑内免疫激活状态,增加海马星形胶质细胞表面 EAAT2 表达,减少脑内谷氨酸含量,进而保护海马神经元。由于细胞因子还可通过作用于 5-羟色胺和儿茶酚胺、影响神经可塑性等方面,导致海马损伤。因此,下一步可围绕以上方面做进一步研究。

REFERENCES

- [1] DERAKHSJANPOUR F, VAKILI M A, FARSINIA M, et al. Depression and quality of life in patients with type 2 diabetes [J]. Iran Red Crescent Med J, 2015, 17(5): e27676.
- [2] YORULMAZ H, KAPTAN E, SEKER F B, et al. Type 1 diabetes exacerbates blood-brain barrier alterations during experimental epileptic seizures in an animal model [J]. Cell Biochem Funct, 2015, 33(5): 285-292.
- [3] QIU A W, LIU Z, GUO J, et al. Relationship between neuroinflammation and neurodegenerative diseases [J]. Progr Physiol Sci(生理科学进展), 2011, 42(5): 353-358.
- [4] CHEN J X, YAO L H, WANG H L, et al. Roles of glutamate transporter EAAT2 in occurrence and treatment of depression

- [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2016, 32(7): 874-897.
- [5] XU Y L, ZHAO H Q, DU Q, et al. Effect of Zuogui Jiangtang Jieyu Formula on amino acid transporter expression in hippocampal astrocytes of diabetes mellitus rats with depression [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2016, 39(6): 470-475.
- [6] CAO Z Y, DONG R G. Study of hypoxia/reoxygenation on expression of excitatory amino acid transporter-2 and glutamine synthetase in cultured astrocytes [J]. Mod Med J China(中国现代医药杂志), 2014, 16(2): 49-53.
- [7] 杨惠. 糖尿病并发抑郁症动物模型的建立及中药干预作用[D]. 湖南: 湖南中医药大学, 2013.
- [8] 何敏, 胡仁明. 慢性炎症与糖尿病慢性并发症[J]. 中华糖尿病杂志, 2013, 5(9): 569-573.
- [9] DEATH M Y, SHOELSON S E. Type 2 diabetes as an inflammatory disease [J]. Nat Rev Immunol, 2011, 11(2): 98-107.
- [10] YU M X, LIU X, DU L T, et al. The mechanism of caninal IKK α and IKK β in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus as well as drug therapy [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2017, 26(5): 535-541.
- [11] YANG H, DU Q, ZHAO H Q, et al. Effects of Zuogui Jiangtang Jieyu Formula on protein expression of ColV, ZO-1, and α -SMA in hippocampal blood-brain barrier of diabetes mellitus rats with depression [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2015, 46(21): 3214-3218.
- [12] 谭小雯. 糖尿病并发抑郁症大鼠海马区血脑屏障的损伤机制及中药干预[D]. 湖南: 湖南中医药大学, 2015.
- [13] WANG J M, ZHUANG P W, ZHANG Y J. Research progress on role of neuroinflammation in pathogenesis of type 2 diabetic encephalopathy [J]. Drugs Clin(现代药物与临床), 2015, 30(4): 470-474.
- [14] 王晓龙, 张惠云. 谷氨酸及其受体在抑郁症病机和治疗中的作用研究进展[J]. 医学研究杂志, 2013, 42(9): 13-16.
- [15] WANG Y H, YANG H, LI W, et al. Zuogui Jiangtang Jieyu formulation prevents hyperglycaemia and depression-like behaviour in rats by reducing the glucocorticoid level in plasma and hippocampus [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015(2015): 158361. Doi: 10.1155/2015/158361
- [16] WANG Y H, YANG H, MENG P, et al. Effect of Zuogui Jiangtang Jieyu Fang on behaviors and cognitive function in diabetes mellitus rats with depression [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(12): 1427-1431.
- [17] WANG Y H, YANG H, YIN L T, et al. Effects of Zuogui Jiangtang Jieyu Fang on blood glucose and lipids in diabetes mellitus rats with depression [J]. Chin Tradit Herb Drug(中草药), 2014, 45(11): 1602-1606.

收稿日期: 2016-09-07

(本文责编: 曹粤锋)