

## 实验研究

## 醒脾解郁方对抑郁模型大鼠抑郁行为和血清 5-羟色胺、皮质酮的影响

王椿野<sup>1</sup> 郭蓉娟<sup>2</sup>

(1 中国中医科学院,北京,100700; 2 北京中医药大学东方医院,北京,100078)

**摘要** 目的:初步探索醒脾解郁方对抑郁模型大鼠的抗抑郁行为和血清激素、神经递质变化的影响。方法:本实验将 SD 大鼠随机分为 4 组:正常组、模型对照组、舍曲林对照组、中药(石菖蒲、西洋参、郁金、熟地黄)组,采用 21 d 慢性不可预见性温和应激建立抑郁大鼠模型,以糖水偏爱和旷野试验移动距离评价各组大鼠抑郁行为,用 ELISA 法测定大鼠血清 5-羟色胺、皮质酮含量,并比较醒脾解郁方对其影响的作用。结果:21 d 慢性应激建立大鼠抑郁模型后,与正常组比较,模型组体重降低明显( $P < 0.01$ ),糖水偏爱率、旷场试验移动距离显著下降( $P < 0.01$ ),同时模型组血清皮质酮含量显著增加( $P < 0.01$ )、5-HT 明显降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,中药组和舍曲林组均能显著改善大鼠抑郁行为( $P < 0.05$ ),并且醒脾解郁方和舍曲林均对抑郁大鼠血清皮质酮、5-HT 均有显著逆转作用( $P < 0.05$ )。结论:醒脾解郁方具有抗抑郁作用,并与舍曲林效果相当,并能逆转抑郁模型大鼠血清皮质酮、5-HT 的作用,这可能是其改善抑郁的作用机制。

**关键词** 慢性不可预见性应激;抑郁症;醒脾解郁法;5-HT;皮质酮

### The Effect of Xingpijieyu Decoction on Depressive Behavior and Serum 5-HT as well as Corticosterone of Depression Rats from Chronic Stress

Wang Chunye<sup>1</sup>, Guo Rongjuan<sup>2</sup>

(1 China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2 Dong Fang Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China)

**Abstract Objective:** To preliminarily explore the effect of Xingpijieyu decoction on depressive behavior and serum 5-HT and corticosterone on depression model rats. **Methods:** SD rats were randomly divided into 4 groups: normal group, model control group, sertraline control group, and traditional Chinese medicine (stone calamus, American ginseng, radix curcumae, cultivated land) group. 21 days chronic unpredictable mild stress was adopted to establish the rat model of depression, using sucrose preference and open-field test to evaluate depression of rats, and compare the change of 5-HT and corticosterone from every groups of rats by ELISA. **Results:** After 21 days of chronic stress depression rats model made, compared with normal group, weight, preference for sugar water rate and open-field total distance of the model group were significantly decreased ( $P < 0.01$ ), and serum corticosterone increased significantly ( $P < 0.01$ ), serum 5-HT significantly decreased ( $P < 0.01$ ); Compared with model group, sertraline group and Chinese medicine group both could improve depressive behavior ( $P < 0.05$ ), and reverse serum 5-HT and corticosterone significantly ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Xingpijieyu Decoction can improve chronic unpredictable stress depression rats model depression function, which is the same as sertraline controls. Xingpijieyu decoction also could reverse serum 5-HT and corticosterone from depression rats, which might be related to its improvement of depression.

**Key Words** Chronic unpredictable stress; Depression; 5-HT; Corticosterone; Xingpijieyu decoction

中图分类号:R332;R277.7 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2014.12.019

抑郁症是由多种因素引起的,以心境低落为主要症状的一种精神障碍性疾病。抑郁症会对人的神经、内分泌、免疫系统的生理病理功能产生严重影响。其具有高发病率、低治愈率、高复发率等特点,给患者造成的身心危害,给家庭及社会带来的沉重的经济和精神

负担。世界卫生组织预测,抑郁症将在 2020 年成为全球排在第二位的疾病,严重危害众多人们的健康,且抑郁症患者存在自杀危险性是正常人的 11 倍<sup>[1]</sup>。抑郁症的机制普遍认为抑郁患者纯在 5-羟色胺(5-HT)等神经递质的异常,及下丘脑-垂体-肾上腺轴

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:81273624)

作者简介:王椿野(1981—),中国中医科学院广安门医院博士后,研究方向:中医心身医学,E-mail:chaojichunye@hotmail.com

通信作者:郭蓉娟(1964—),女,博士,主任医师,博士生导师,研究方向:中医药防治脑病基础及临床研究,E-mail:dfguorongjuan@163.com

(HPA 轴)功能异常。目前,抗抑郁药在临床上广泛应用,多数药物是基于脑组织内单胺类神经递质的代谢异常,及其受体、转运体功能障碍的机制假说而研发的,通过提升神经元突触间隙内 5-HT 和去甲肾上腺素(NE)浓度起到治疗作用,包括 5-HT、NE 转运体抑制剂和单胺氧化酶抑制剂。然而,抗抑郁药不总是有效,且存在不良反应较大、起效缓慢等问题。中医药对抑郁症的认识和治疗历史悠久,普遍认为归属于“郁病”范畴,病机涉及肝、脾,病机多见肝郁脾虚等<sup>[2-4]</sup>。醒脾解郁方药少而精,基于上述中医病机认识组成,本实验主要探讨醒脾解郁方对慢性不可预见性应激致抑郁大鼠模型的抗抑郁作用,及其对大鼠血清 5-HT、皮质酮的影响。

## 1 材料与方法

1.1 动物及分组 清洁级健康成年雄性 SD 大鼠,体重(210 ~ 230 g),由军事医学科学院实验动物中心提供并饲养(合格证号:SCXK-2012-0001)。温度 24 ~ 26 °C,明暗循环(各 12 h),标准颗粒饲料饲养,纯净饮水。适应性饲养 7 d 后,随机分成 4 组,即正常组、模型组、舍曲林组、中药组,每组 10 只。除正常组外,各给药组和模型组大鼠均单笼饲养。

1.2 药物干预 盐酸舍曲林片:辉瑞制药公司生产(国药准字 H10980141),50 mg/片。醒脾解郁方:石菖蒲、西洋参、郁金、熟地黄,购自北京康仁堂药业有限公司。舍曲林组灌胃给予 10 mg/kg,中药组灌胃给予 600 mg/kg,连续给药 21 d,正常组、模型组每日等剂量生理盐水灌胃。

1.3 慢性不可预见性应激致抑郁模型大鼠的建立 慢性应激方法具体如下<sup>[5-6]</sup>:将鼠笼倾斜 24 h,明暗颠倒 24 h,10 °C 冰水游泳 5 min,25 °C 热水游泳 30 min,夹尾 1 min,水平摇晃 5 min,湿垫料 24 h,共 7 种刺激随机安排到 21 d 内,1 种/d,每种刺激至少出现 2 次,同种刺激不能连续出现,使动物不能预料刺激的发生,连续给予 21 d 应激。

1.4 糖水偏爱测试 所有大鼠在模型建立前后进行糖水偏好实验。动物在禁食禁水 20 h 后放入 1 瓶 1% 的蔗糖水和 1 瓶普通饮用水,2 瓶位置随机,观察其在 1 h 内的液体消耗量,排除饮水瓶滴漏所致的液体消耗量。糖水偏爱 = 糖水消耗/总液体消耗 × 100%。

1.5 旷场试验 装置由不透明木材制造,周围为高 40 cm 的木墙,底面为 100 cm × 100 cm 的正方形,被分为 25 个等边方格,内壁涂满黑色漆料。模型建立前后 1 d 的 14:00 ~ 18:00 在安静的房间内进行。每只大鼠只进行 1 次测定,测定完毕后彻底清洁敞箱再进行下 1

只。糖水偏好试验结束后,将大鼠放入中心方格内,观察其在 3 min 内穿越格数(4 爪均进入方格才记数,为水平运动得分)、后肢直立次数(2 前爪腾空或攀附墙壁,为垂直运动得分),记录移动距离。

1.6 血清 5-HT 和皮质酮含量的影响 用 ELISA 法测定大鼠血清皮质酮、5-HT 的含量。试剂:皮质酮、5-HT 试剂盒由军事医学科学院实验动物中心提供,用 ELISA 法检测血清中皮质酮、5-HT 含量,测定按照试剂盒说明严格进行。主要仪器 Sunrise Romote 酶标仪(天津天美国际贸易有限公司),离心机(上海安亭科学仪器厂),分析天平等。

1.7 统计学方法 运用 SPSS 17.0 统计软件进行数据统计,数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较用单因素方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 实验结果

2.1 体重 造模前各组大鼠体重无统计学意义。21 d 慢性应激后,与正常组比较,模型组大鼠体重显著降低( $P < 0.01$ ),而中药组和舍曲林组大鼠体重无统计学意义( $P > 0.05$ )(见表 1)。

表 1 大鼠体重变化

组别	体重/g	
	应激前	应激后
正常	215.75 ± 25.48	304.83 ± 28.99
模型	211.92 ± 25.12	273.50 ± 18.59**
舍曲林组	224.25 ± 25.80	298.58 ± 36.89
中药组	224.08 ± 16.59	292.17 ± 25.42

注:与正常组比,\*\* $P < 0.01$ 。

2.2 抑郁行为学评价(糖水偏爱试验和旷场试验) 造模前各组大鼠的糖水偏爱率无统计学意义。21 d 慢性应激后,与正常组比较,模型组大鼠糖水偏爱率显著降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,中药组和舍曲林组显著增加抑郁大鼠糖水偏爱率( $P < 0.05$ )。21 d 慢性应激后,与正常组比较,模型组大鼠活动路程显著降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,中药组和舍曲林组大鼠运动路程显著降低( $P < 0.05$ )(见表 2)。

表 2 抑郁行为学变化

组别	糖水偏爱/%		活动距离
	应激前	应激后	
正常	85.5 ± 10.6	3411.4 ± 338.2	85.3 ± 11.5
模型	84.1 ± 10.3	2689.3 ± 501.7**	63.9 ± 12.6**
舍曲林组	84.9 ± 9.4	3292.1 ± 585.5*	75.2 ± 11.6*
中药组	86.6 ± 10.1	3195.2 ± 530.7*	72.7 ± 11.1*

注:与正常组比,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比,\* $P < 0.05$ 。

2.3 血清皮质酮和 5-HT 的影响 21 d 慢性应激后,与正常组比较,模型组大鼠皮质酮显著升高、5-HT 显著降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,中药组和舍曲林组

均能显著降低抑郁大鼠皮质酮 ( $P < 0.05$ ), 明显增加抑郁大鼠 5-HT 含量 ( $P < 0.05$ ) (见表 3)。

表 3 大鼠血清皮质酮、5-HT 变化

组别	皮质酮/(nmol/mL)	5-HT/(ng/mL)
模型组	11.54 ± 2.82**	17.84 ± 5.34**
舍曲林组	8.2 ± 1.8*	27.31 ± 5.38 <sup>△△</sup>
中药高剂量组	8.91 ± 1.01*	26.9 ± 5.43 <sup>△△</sup>

注:与正常组比,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比,\* $P < 0.05$ ,<sup>△△</sup> $P < 0.01$ 。

### 3 讨论

抑郁症患者在国内外的发病率逐渐增加,在我国据有关报道,抑郁症患者已经超过 2 600 万,抑郁症正逐渐成为严重危害人名健康的重大公共卫生问题,给患者和社会造成了沉重的负担,并且抑郁症患者自杀和自杀未遂者占我国自杀和未遂人数的 50% ~ 70%<sup>[7-8]</sup>,成为致病致残的重要病因之一。目前,在抑郁症机制研究中,认可度较高是下丘脑-垂体-肾上腺 (Hypothalamic-pituitary-adrenocortical, HPA) 轴异常假说和单胺递质假说。

当机体受到外界刺激时,会导致一系列的应激反应,其本质是一系列的神经内分泌变化,其中 HPA 轴是关键机制,其生理机制如下<sup>[9]</sup>:首先,促肾上腺皮质激素释放激素 (Corticotropin-releasing Hormone, CRH) 在室旁神经元分泌,经过垂体门脉系统到达刺激垂体,垂体释放促肾上腺皮质激素 (Adrenocorticotrophic Hormone, ACTH),ACTH 经过体循环到达肾上腺皮质,促进糖皮质激素 (Glucocorticoid, GC) 的释放,在灵长类动物主要为皮质醇,在啮齿类动物主要为皮质酮,最后,GC 分别通过作用于海马糖皮质激素受体 (Glucocorticoid Receptor, GR) 和垂体、肾上腺受体,减少 ACTH 的释放及阻断其兴奋效用,形成反馈机制。

在抑郁症患者中,HPA 轴呈功能亢进状态<sup>[10]</sup>。其原因包括两方面:一方面由于应激的持续存在,机体产生过多的 GC,与海马 GR 结合,导致海马损伤;另一方面,在持续应激下海马神经元功能和结构损伤,对 HPA 轴的抑制作用减弱,对 HPA 轴负反馈作用减弱,机体会生产更多的 GC,形成恶性循环。海马是情绪和学习记忆的重要脑区,海马神经元可塑性损伤后,导致抑郁症患者发生情绪和认知障碍。

单胺假说认为,单胺类神经递质浓度和活性下降是抑郁症发生的重要机制。单胺神经递质和其受体结合后,发挥调节细胞内蛋白质表达的作用。5-HT 系统异常是抑郁症重要神经生物学基础之一,有研究表明,抑郁症患者多伴有 5-HT 含量下降<sup>[11]</sup>。5-HT 可以调节第二信使 cAMP 介导的信号级联反应,如激活转录

因子 CREB、激活 BDNF 的相关基因表达等<sup>[12]</sup>。慢性应激过程中,海马神经元 5-HT 及其受体功能异常,影响了海马的生理功能<sup>[13]</sup>。

本研究所采用的 21 d 慢性不可预见性应激致抑郁大鼠模型的造模方法,被国内外神经科学者广泛应用,属于经典的抑郁模型之一,该方法很好的模拟了人类的抑郁症状和复杂的应激环境,造模后模型稳定<sup>[14]</sup>。模拟了抑郁症的兴趣丧失、快感缺乏、运动能力下降等核心症状<sup>[15]</sup>。本研究旨在探讨醒脾解郁方是否可以通过调节血清 5-HT、皮质酮的含量起到抗抑郁作用。结果显示:抑郁模型大鼠的血清 5-HT 明显下降、皮质酮显著增加,与正常组比较有统计学意义,这与其他研究结果一致<sup>[16]</sup>。醒脾解郁方组方药数量较少,临床应用时间较长,在本次研究中发现醒脾解郁方可以明显改善抑郁大鼠的糖水偏爱和旷场试验中表现的抑郁行为,并与舍曲林效果相当;在逆转血清 5-HT、皮质酮含量方面,也与舍曲林相当,其可以增高抑郁大鼠血清 5-HT 含量,降低血清皮质酮的含量。抑郁症机制尚不清楚,目前的抗抑郁药也不能 100% 有效,除了上文论述的抑郁症机制外,还涉氧化应激、炎症因子等方面。现在普遍认为中医药通过多靶点、多途径、多层面在抑郁症的治疗中发挥作用,笔者等正在对醒脾解郁方在抑郁症炎症因子方面的作用机制进行实验研究。相信通过中医药对抑郁症不同机制干预作用的探讨,将进一步加深对抑郁症相关机制的了解,并对提高抑郁症的疗效起到巨大作用。

### 参考文献

- [1] DAVIDSON R J, LEWIS D A, ALLOY L B, et al. Neural and behavior substrates of mood and mood regulation [J]. *Biological psychiatry*, 2002, 52(6):478-502.
- [2] 张海男, 胡随瑜, 陈泽奇, 等. 抑郁症常见中医证候类型第一轮专家问卷分析 [J]. *湖南医科大学学报*, 2002, 27(6):519-521.
- [3] 唐启盛, 曲淼, 包祖晓, 等. 抑郁症中医证候规律及诊疗标准制定的研究 [J]. *北京中医药大学学报*, 2011, 34(2):77-81.
- [4] 李涛, 梅妍, 张鑫, 等. 关于抑郁症辨证分型及常见症状的第 1 轮专家问卷分析 [J]. *中医药导报*, 2011, 17(11):1-2.
- [5] Guo JY, Ruan YP, et al. Chronic treatment with celecoxib reverses chronic unpredictable stress-induced depressive-like behavior via reducing cyclooxygenase-2 expression in rat brain [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 612(1/3):54.
- [6] Dang H, Chen Y, Liu X, et al. Antidepressant effects of ginseng total saponins in the forced swimming test and chronic mild stress models of depression [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2009, 33(8):1417.
- [7] 毛庆秋, 黄真. 中药治疗抑郁症的作用机制研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2007, 23(10):877.

(下接第 1639 页)

- Med, 1971, 285(21): 1182-1186.
- [2] 刘影, 梅晰凡, 王晶, 等. 高良姜素对人肝癌 SMMC-7721 细胞 PI3K/AKT 信号通路的影响[J]. 中药药理与临床, 2014, 30(1): 40-42.
- [3] 许云霞, 赵新淮. 高良姜素对人胃癌 SGC-7901 细胞增殖、周期循环和凋亡的体外影响[J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(15): 1274-1278.
- [4] 宋宇, 赵琦, 曹阳, 等. 高良姜素对人骨肉瘤 MG-63 细胞增殖的影响及其机制的研究[J]. 中国医学工程, 2012, 20(5): 56-58.
- [5] 薛刚, 邹玺, 王瑞平. 竹节香附素 A 抗肿瘤研究进展[J]. 浙江中医药大学学报, 2014, 38(2): 224-226.
- [6] 张风霞, 王新陆, 高聆, 等. 薯蓣皂苷元的研究[J]. 吉林中医药, 2013, 33(1): 75-77.
- [7] 王晓荣, 李湧健, 程彬彬. 薯蓣皂苷元抗肿瘤作用及其机制研究[J]. 西部中医药, 2014, 27(5): 140-142.
- [8] 维琳, 马成杰, 陈信义. 新加良附方影响小鼠肝癌组织 VEGF 与 MVD 表达的研究[J]. 北京中医药, 2008, 27(5): 378-380.
- [9] 倪磊, 田劭丹, 马成杰, 等. 新加良附方影响人胃癌裸小鼠移植瘤新生血管形成的研究[J]. 山西中医, 2010, 26(4): 50-52.
- [10] Ahn H, Lee HJ, Yoo MW, et al. Changes in clinicopathological features and survival after gastrectomy for gastric cancer over a 20-year period [J]. Br J surg, 2011, 98(2): 255-260.
- [11] Jeong O, Park YK. Clinicopathological features and surgical treatment of gastric cancer in South Korea: the results of 2009 nationwide survey on surgically treated gastric cancer patients [J]. J Gastric cancer, 2011, 11(2): 69-77.
- [12] 季加孚. 我国胃癌防治 30 年回顾[J]. 中国肿瘤临床, 2013, 40(22): 1346-1351.
- [13] 王婧, 田劭丹, 陈信义. 胃癌中医证素探讨[J]. 天津中医药, 2009, 26(5): 402-404.
- [14] 王婧, 田劭丹, 陈信义. 中医药治疗中晚期胃癌进展[J]. 世界中西医结合杂志, 2009, 4(8): 596-600.
- [15] 刘庆, 李忠, 田劭丹, 等. 167 例进展期胃癌中医证型研究分析[J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(4): 273-276.
- [16] 田劭丹, 董青, 侯丽, 等. 新加良附方对移植性人胃癌细胞 Bax/Bcl-2 表达影响[J]. 中国医药指南, 2010, 8(9): 21-23.
- [17] 董青, 田劭丹, 侯丽, 等. 新加良附方对移植性人胃癌细胞 F/FL 表达的影响[J]. 中国医学创新, 2010, 7(5): 28-30.
- [18] Wagner AD, Moehler M. Development of targeted therapies in advanced gastric cancer: promising exploratory steps in a new era [J]. Curr Opin Oncol 2009, 21(4): 381-385.
- [19] Bang Y, Chung H, Xu J, et al. Pathological features of advanced gastric cancer (GC): Relationship to human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) positivity in the global screening programme of the ToGA trial [abstract]. J Clin Oncol 2009, 27(15): 4556.
- [20] 王兵, 王杰军, 徐钧, 等. 人参皂昔 Rg<sub>3</sub> 对胃癌诱导血管内皮细胞增殖的抑制作用[J]. 肿瘤防治杂志, 2010, 8(3): 234-236.
- [21] 王沛, 陈国荣. 人参皂昔 Rg<sub>3</sub> 对表达多耐药基因的晚期胃癌患者生存期的影响[J]. 中国社区医师, 2014, 30(15): 11-13.
- [22] 李秋营, 韩峰, 陈腾, 等. 榄香烯对裸鼠胃癌原位移植瘤血管生成的抑制作用[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(3): 287-290.
- [23] 李明, 李强. Neupilin-1 及 VEGF 在胃癌组织中的表达与微血管生成的关系[J]. 中国肿瘤临床, 2014, 41(5): 332-336.
- [24] 王小军, 杨文平. bFGF、MMPs 和 TIMPs 在肿瘤临床研究中的进展[J]. 中国现代医药杂志, 2012, 14(2): 126-128.

(2014-02-11 收稿 责任编辑: 徐颖)

## (上接第 1635 页)

- [8] 姚李吉, 沈洪. 抗抑郁中医方药的实验研究进展[J]. 光明中医, 2008, 23(5): 696.
- [9] 沈渔邨. 精神病学[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 663.
- [10] 董瑞婕, 吴爱勤. 糖皮质激素受体在抑郁症病理机制中的地位[J]. 上海精神医学, 2008, 20(4): 243.
- [11] Oquendo MA, Placidi GP, Malone KM, et al. Positron emission tomography of regional brain metabolic responses to a serotonergic challenge and lethality of suicide attempts in major depression[J]. Arch Gen Psychiatry, 2003, 60(1): 14-22.
- [12] Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ. A molecular and cellular theory of depression[J]. Arch Gen Psychiatry, 1997, 54: 597-606.
- [13] Stockmeier CA, Mahajan GJ, Konick KLC, et al. Cellular changes in the postmortem hippocampus in major depression [J]. Biol Psychiatry, 2004, 56(9): 640-650.
- [14] Lin YH, Liu AH, Xua 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.
- [15] 许晶, 李晓秋. 慢性应激抑郁模型的建立及其评价[J]. 中国行为医学科学, 2003, 12(1): 14-17.
- [16] Ulrich-lai YM, Figueire do HF, Ostrander MM, et al. Chronic stress induces adrenal Hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006, 291(5): 1965.

(2014-04-09 收稿 责任编辑: 曹柏)