

实验研究

小柴胡汤拆方对慢性束缚抑郁模型大鼠
脑组织神经递质的影响

李鹏英 吴婷婷 龙飞虎 孙 燕 王 旭

(北京中医药大学基础医学院, 北京, 100029)

摘要 目的:观察小柴胡汤及其各药对抑郁模型大鼠脑组织单胺类神经递质的影响,探讨小柴胡汤及其各药配伍抗抑郁作用机制。方法:采用慢性束缚应激方法建立大鼠抑郁症模型,观察小柴胡汤对慢性应激抑郁模型大鼠的行为学改变,高效液相色谱法测定大鼠脑内单胺类神经递质的含量,评定小柴胡汤及各药对抑郁动物模型的影响。结果:模型组大鼠脑内单胺类神经递质含量与正常组差异有统计学意义;全方组大鼠海马 5-HT、NE、5-HIAA(5-HT 的降解物)的含量明显升高;姜夏组、参草组大鼠海马 NE 含量显著升高;全方组、柴芩组、参草组大鼠海马 5-HT 含量显著提高;全方组、柴芩组、姜夏组大鼠海马 5-HIAA 含量极显著增高。结论:小柴胡汤治疗抑郁症有良好的疗效,各药对作用于模型大鼠脑组织神经递质的靶点有一定的偏向性。柴胡与黄芩配伍主要通过提高大鼠海马 5-HT 含量而发挥其抗抑郁作用;生姜与半夏配伍能显著提高大鼠海马 NE 含量,二者配伍虽然对抑郁大鼠海马 5-HT 的改变影响不显著,但能显著增加 5-HT 的降解物 5-HIAA 的含量;人参、甘草、大枣能显著提高抑郁大鼠脑内 5-HT 和 NE 含量。

关键词 小柴胡汤;拆方;抑郁症;单胺类神经递质;去甲肾上腺素;5-羟色胺

**Effect of Minor Bupleurum Decoction and its Disassembled Prescription on Brain
Neurotransmitter in Rats with Chronic Depression Model**

Li Pengying, Wu Tingting, Long Feihu, Sun Yan, Wang Xu

(College of Basic Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract Objective: To observe the effect of Minor Bupleurum Decoction on monoamine neurotransmitters in brain tissue of rat model of depression, and to investigate the mechanism of antidepressant of Minor Bupleurum Decoction. **Methods:** Rat model of depression built by chronic restraint stress was used to observe the behavioral changes of Minor Bupleurum Decoction. HPLC method was used to determine the content of monoamine neurotransmitters in brain of rats. And then the effects of Minor Bupleurum Decoction and other Chinese medicinals were evaluated on animal models of depression. **Results:** The contents of monoamine neurotransmitters, model group and the normal group were significantly different. The content of 5-HT, NE, 5-HIAA significantly increased in the Quan Fang group. The content of NE in the hippocampus of the Jiang Xia group and the Shen Cao group significantly increased. And the content of 5-HT also significantly increased in Quan Fang group, Chai Qin group, Shen Cao group. Moreover, the content of 5-HIAA in the hippocampus of the Quan Fang group, Chai Qin group and Jiang Xia group significantly increased. **Conclusion:** Minor Bupleurum Decoction has a good therapeutic effect on depression, each of the drugs on the role of brain tissue in rats with the target point of the neurotransmitter has a certain focus. Bupleurum and Scutellaria have antidepressant effects by increasing the content of 5-HT in rat hippocampus. Pinellia and ginger could significantly increase hippocampal NE content. Although the effects of the 5-HT were not significant, but it could significantly increase the content of 5-HT degradation of 5-HIAA; Ginseng, Licorice Root, and Chinese Date could significantly elevate the condition of depression 5-rat brain HT and NE content.

Key Words Minor Bupleurum Decoction; Disassembled prescription; Depression; Monoamine neurotransmitter; Norepinephrine; 5-hydroxytryptamine

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.08.048

抑郁症是与应激密切相关的一类精神疾病,以持续性的情绪低落为主要特征,是临床的常见病和

多发病,具有患病率高、复发的率高、自杀率高等特点^[1-2]。目前国内外采用部分抑郁动物模型对一系列天然药物及中药复方进行了研究,发现了许多具有抗抑郁活性的单味药和复方^[3-4]。中医药在中医学的整体观念和辨证论治指导之下,在抑郁症治疗中发挥着独特优势。小柴胡汤源于《伤寒论》,是张仲景治疗少阳证的主方,能够和解表里,疏肝解郁,调和阴阳。该方在现代临床上运用广泛,可涵盖内、外、妇、儿、五官科疾病,精神病及神经科疾病。实验研究证明该方有一定的抗抑郁作用,各有效成分单独作用于抑郁症模型大鼠也表现出一定的抗抑郁作用,本实验即从小柴胡汤药对配伍入手,探讨各药配伍抗抑郁作用机制。

1 资料与方法

1.1 实验动物 SPF 级 Wistar 大鼠,雄性,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号:SCXX(京)2012-0001。实验动物喂常规颗粒饲料,自由饮水,室温(22 ± 2)℃,相对湿度保持在 30% ~ 40%。

1.2 实验药品 中药材购自北京中医药大学国医堂中医门诊部。小柴胡汤剂量参考普通高等教育“十一五”国家级规划教材《伤寒论讲义》,换算成大鼠剂量为柴胡 40 g、黄芩 15 g、半夏 15 g、生姜 15 g、党参 15 g、甘草 15 g、大枣 4 枚(15 g)。阳性药采用盐酸氟西汀胶囊,常州华生制药有限公司,批号:80711001。

1.3 动物分组及模型制备 Wistar 大鼠 56 只,适应性饲养 7 d 后随机分为正常组,模型组,小柴胡汤全方组,柴芩组,姜夏组,参草枣组及阳性药组,每组 8 只,每笼 4 只。应激和抑郁症之间有着密切的联系,慢性、低强度、长期的应激源是促进抑郁症发生及发展的重要原因,应激可以作为制造抑郁模型的手段。本研究即参照文献报道制备慢性束缚应激模型,大鼠适应性饲养 7 d 后开始造模,持续 21 d。所用束缚筒为硬塑料特制,该筒为管状,筒前端呈锥形,其尖端开口为通气口,后端为可开关闸门。大鼠头向通气口进入后,关闭闸门,可通过调节闸门的聚通气口的远近改变大鼠活动空间。造模期间,每次束缚时,使大鼠钻进束缚筒,时间为 3 h/d。整个束缚过程中动物在同一环境中,不予进食水,应激结束后,将大鼠放回笼中自由进食和饮水^[5-7]。

1.4 药物干预 正常组正常饮水摄食,不给予任何刺激,其余各组动物接受 21 d 刺激。治疗各组在刺激第 2 天灌胃给药,正常组、模型组给予等量生理盐

水。各给药组每天固定时间灌胃,1 次/d,连续给药 21 d。各组每天每只大鼠灌胃给药量为人临床用量的等效剂量:全方组 13 g/kg;柴芩组 5.5 g/kg;姜夏组 3 g/kg;参草枣组 4.5 g/kg;阳性药 2 mg/kg。每 7 d 复测大鼠体重 1 次,根据体重变化更新灌胃剂量。

1.5 观测指标 观察各组大鼠的精神、进食、活动等一般状态。在实验第 1 天及第 7、14、21 天分别称取各组大鼠体重,实验第 21 天体重减去实验第 1 天体重为各组大鼠的体重增长值。

1.6 样品制备 末次刺激及行为学检测后将大鼠断头处死,在冰上迅速剥离大脑,取左、右海马,精确称重后置离心管中,保存于 -20℃ 的冰箱中。样品中分别加入 0.06 mol/L 的二羟茚胺(DHBA)20 L,0.1 mol/L 的高氯酸(HClO_4)380 L。固体样本冰浴条件下超声匀浆 30 s。常温下 11 000 r/min 离心 10 min,取上清液 10 μL 进行测定,采用高效液相色谱系统(HPLC)加电化学检测器(ECD)检测脑组织 5-HT,NE,5-HIAA 的含量。

1.7 统计学方法 数据以($\bar{x} \pm s$)表示,运用 SPSS 16.0 软件统计处理,显著性检验采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠体重增长变化 实验第 1 天至第 14 天,各组大鼠体重无明显差异。至实验第 21 天模型组大鼠体重明显低于正常组,差异有统计学意义($P < 0.01$),各治疗组大鼠体重均明显低于正常组,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,参草组大鼠体重增长值明显增高,差异有统计学意义($P < 0.05$),其余各组大鼠体重增长值与模型组大鼠比较,有升高的趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠体重(g)的变化($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	第 1 天	第 21 天	体重增长值(Δg)
正常组	227.00 $\pm$ 16.91	357.86 $\pm$ 36.24	130.86 $\pm$ 22.34
模型组	225.86 $\pm$ 13.48	287.57 $\pm$ 14.72 ^{▲▲}	60.86 $\pm$ 10.05 ^{▲▲}
阳性药组	224.62 $\pm$ 15.48	291.12 $\pm$ 14.89 ^{▲▲}	66.50 $\pm$ 14.81 ^{▲▲}
全方组	220.71 $\pm$ 11.98	285.71 $\pm$ 13.47 ^{▲▲}	65.00 $\pm$ 14.96 ^{▲▲}
柴芩组	228.29 $\pm$ 8.42	293.14 $\pm$ 11.85 ^{▲▲}	64.86 $\pm$ 5.81 ^{▲▲}
姜夏组	220.88 $\pm$ 8.74	280.88 $\pm$ 8.32 ^{▲▲}	60.00 $\pm$ 10.12 ^{▲▲}
参草组	223.36 $\pm$ 9.75	300.71 $\pm$ 11.94 ^{▲▲}	78.79 $\pm$ 12.35 ^{▲▲*}

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

2.2 大鼠海马去甲肾上腺素(Norepinephrine, NE)含量变化 与正常组比较,模型组大鼠海马 NE 含量明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,全方组、阳

性药组大鼠海马 NE 含量极显著提高 ($P < 0.01$), 姜夏组、参草组大鼠海马 NE 含量显著提高 ($P < 0.05$); 柴苓组大鼠海马 NE 含量无显著变化 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠海马去甲肾上腺素 (NE, ng/g 湿组织) 含量变化 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	NE
正常组	449.68 ± 114.91
模型组	293.08 ± 79.02▲
阳性药组	497.36 ± 164.55**
全方组	549.49 ± 143.21**
柴苓组	376.93 ± 82.13
姜夏组	458.92 ± 74.31*
参草组	442.77 ± 142.07*

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

2.3 大鼠海马 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 含量变化 与正常组比较,模型组大鼠海马 5-HT 含量明显降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,阳性药组、全方组、参草组大鼠海马 5-HT 含量显著提高 ($P < 0.05$),柴苓组大鼠海马 5-HT 含量极显著提高 ($P < 0.01$),姜夏组大鼠海马 5-HT 与模型组相比无显著变化;柴苓组大鼠海马 5-HT 含量高于姜夏组大鼠,且差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠海马 5-羟色胺 (5-HT, ng/g 湿组织) 含量变化 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	5-HT
正常组	442.18 ± 59.50
模型组	273.35 ± 59.64▲▲
阳性药组	375.97 ± 76.24.75*
全方组	383.57 ± 82.32.47*
柴苓组	435.62 ± 137.68**
姜夏组	319.93 ± 117.96▲
参草组	394.67 ± 102.37*

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

表 4 各组大鼠海马 5-羟吲哚乙酸 (5-HIAA, ng/g 湿组织) 含量变化 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	5-HIAA
正常组	291.94 ± 69.06
模型组	171.36 ± 12.62▲▲
阳性药组	243.73 ± 60.85*
全方组	289.59 ± 92.08**
柴苓组	259.11 ± 49.11**
姜夏组	260.08 ± 53.46**
参草组	230.40 ± 31.39

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

2.4 大鼠海马 5-羟吲哚乙酸 (5-Hydroxyindoleacetic

Acid 5-HIAA) 含量变化 与正常组比较,模型组大鼠海马 5-HIAA 含量明显降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,阳性药组大鼠海马 5-HIAA 含量显著提高 ($P < 0.05$),全方组、柴苓组、姜夏组大鼠海马 5-HIAA 含量极显著增高 ($P < 0.01$),参草组大鼠海马 5-HIAA 含量有增高趋势,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

3 讨论

本实验采用慢性束缚建立抑郁大鼠模型,通过对实验第 21 天与实验第 1 天时各组大鼠的行为学比较观察到,与正常组大鼠相比,模型组大鼠旷场活动明显减少,在中央区停留时间及移动总距离皆明显降低,穿格次数及站立次数也都明显少,并且大鼠体重增长值显著降低,模型大鼠行为与抑郁症之情绪低落、兴趣丧失以及乐趣(快感)丧失等症状有一定程度的相似性,此种情况也验证了慢性、低强度、长期的应激促进了抑郁症发生及发展。研究中还观察到在实验 1 ~ 14 d 期间,各组大鼠体重增长无明显差异,而 14 d 之后,各组大鼠与正常组比较,体重增长皆比较缓慢。

抑郁症发病不是由某种单一因素引起的,可能是单胺类神经递质及其受体、HPA 轴功能失调、NT 和细胞反应等多因素综合作用的结果^[8]。其中单胺学说是抑郁症发病机制研究中的经典理论之一,单胺递质 5-HT 和肾上腺功能不足可引起抑郁症的发生^[9]。这一假说得到了许多实验的证实,如在抑郁症患者的尿与脑脊液中,NE 的代谢产物明显减少。药理学的研究表明 NE 再摄取抑制剂可以改善许多患者的抑郁症状,说明 NE 可能参与了抑郁症的形成过程^[10]。海马是认知和情绪反应的重要中枢,也是应激易损伤的靶器官,长期严重抑郁症患者出现海马体积缩小,临床观察发现,抑郁症患者大脑可表现为多种神经递质失常,多神经递质的同步变化又有一定的规律性^[11]。本实验中模型组大鼠海马 5-HT、NE 和 5-HIAA 的含量均较正常组下降,其中 5-HT、5-HIAA 变化最为明显,与文献报道一致。经治疗后,与模型组比较,小柴胡汤与盐酸氟西汀均可明显提高大鼠海马内 NE、5-HT、5-HIAA 的含量,实验结果提示小柴胡汤可通过增加模型大鼠海马 5-HT、NE 含量发挥其抗抑郁作用。

小柴胡汤拆方各组比较,柴胡与黄芩配伍可以显著升高抑郁大鼠海马 5-HT、5-HIAA 的含量,而对 NE 含量影响不明显,研究结果提示柴胡与黄芩主要通过提高大鼠海马 5-HT 含量发挥其抗抑郁作用。

生姜与半夏配伍可以显著升高抑郁大鼠海马 NE、5-HIAA 的含量,而对 5-HT 含量影响不明显,5-HIAA 为 5-HT 的降解物,二者配伍具体通过何种途径提高抑郁大鼠脑内 5-HIAA 含量,还有待进一步研究。党参、甘草、大枣配伍可以显著升高抑郁大鼠海马 5-HT、NE 的含量,而对 5-HIAA 含量影响不明显,研究结果提示党参、甘草、大枣可以通过提高抑郁大鼠脑内 5-HT 和 NE 含量发挥其抗抑郁作用。研究中发现参草组大鼠体重增长值与模型组比较明显增高,党参具有补中益气、健脾益肺之功效,甘草能够补脾益气,大枣可以补中益气、养血安神,三者共用可以补益脾气,健运脾胃,脾胃为气血生化之源,结果表明此组大鼠体重增长值增高与此三药的作用密不可分。

参考文献

- [1] Kendler KS, Kessler RC, Neale MC, et al. The prediction of major depression in women: Toward an integrated etiologic model [J]. Am J Psychiatry, 1993, 150(8): 1139-1148.
- [2] Kendler KS, Thornton LM, Gardner CO. Genetic risk, number of previous depressive episodes, and stressful life events in predicting onset of major depression [J]. Am J Psychiatry, 2001, 158(4): 582-586.

- [3] 张文韬, 张晓雪. 抑郁症的中医研究概况 [J]. 中医研究, 2015, 28(3): 72-74.
- [4] 沈莉, 颜红. 中医药治疗抑郁症实验研究近况 [A]. 第十二届全国中西医结合精神疾病学术会议论文集 [C]. 2013: 239-242.
- [5] 李伟, 陈家旭. 慢性束缚应激模型大鼠海马脑啡肽 mRNA 和前强啡肽 mRNA 的表达及中药复方的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2006, 4(21): 209-212.
- [6] 孟珊珊, 刘洪文. 慢性束缚应激对大鼠体重质量-血清皮质酮和前额叶皮质 cAMP-PKA-CREB-BDNF 通路的影响 [J]. 卒中与神经疾病, 2011, 18(5): 263-265.
- [7] 于慧. 不同应激方式导致大鼠海马神经元损伤的机制探讨 [D]. 汕头: 汕头大学, 2011.
- [8] 徐永君, 盛慧, 倪鑫, 等. 抑郁症发病机制研究进展 [J]. 安徽医科大学学报, 2012, 47(3): 323-326.
- [9] Schildkraut J J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence [J]. Am J Psychiatry, 1965, 122(5): 509-512.
- [10] 董占华, 冯春霞, 马玉凤, 等. 文拉法辛对抑郁症患者脑脊液 5-HT 和 NE 的影响及其与疗效的关系 [J]. 中国神经精神疾病杂志, 2006, 32(2): 150-151.
- [11] 池名. 抑郁症患者大脑多神经递质分析 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.

(2015-07-28 收稿 责任编辑: 张文婷)

世界中联中药分析专业委员会暨中医药规范研究学会 (GP-TCM) 联合学术年会在香港召开

为探索创新药物及中药标准化的新策略和未来方向,促进中医药规范研究成果分享,世界中医药学会联合会中药分析专业委员会、中医药规范研究学会、香港浸会大学中医药学院联合举办世界中联中药分析专业委员会暨中医药规范研究学会 (GP-TCM) 联合学术年会 (2016·香港), 本次大会的主题是“《本草纲目》与中药创新药物研发”。

大会邀请国家科学技术部中国生物技术发展中心副主任肖诗鹰教授、香港特区政府食物及卫生局副局长陈肇始教授、卫生署署长陈汉仪医生、创新科技署署长蔡淑娴女士等参加开幕式,大会由世界中联中药分析专业委员会会长、中医药规范研究学会会长果德安教授和香港浸会大学中医药学院院长吕爱平教授联合主持。

大会于开幕典礼上举行了《香港中药材图鉴》新书发布仪式,该书是中医药学院的项目,由副院长赵中振教授担任项目负责人兼该书的主编,获得创新科技处资助和余仁生 (香港) 有限公司赞助。

本次大会邀请来自美国、英国、德国、荷兰、比利时、捷克、澳大利亚、俄罗斯、日本、南韩、印度、中国大陆、中国台湾、中国澳门及中国香港等 15 个国家和地区的 58 名专家学者发表学术演讲,演讲内容包括中医药的质量控制、药理及

毒理学、监管事项和标准化、临床研究、针灸、《本草纲目》及创新药物研发等。屠鹏飞教授、果德安教授、刘建平教授、美国的 Ray Upton 教授、德国的 Gerhard Franz 教授、荷兰的王梅教授、邓家刚教授、庾石山教授、徐宏喜教授、王喜军教授、韩晶岩教授、樊台平教授等进行了精彩的演讲。会议吸引了 150 余位从事中医药研究的学者和科学家参会。

会议期间,《世界中医药杂志》英文刊 WJTCM 作为该学会刊配合会议进行了宣传和交流,并成功举行了第一届编委会第三次会议。该英文期刊由世界中联主办,是中医药规范研究学会 (GP-TCM) 的官方杂志,目前编委会成员共 71 位,来自于 15 个国家和地区,国际化编委近 70%。此次编委会会议围绕杂志进展、编委机制以及发展计划进行了商讨,进一步明确了杂志的发展方向。

此外,大会举办了学术论文摘要墙报展览,并在闭幕典礼上颁发了五个最佳墙报奖和六个研究生游历奖。此次会议暨高峰论坛也是香港浸会大学 60 周年校庆学术活动之一,获得香港浸会大学创意研究院支持,培力控股有限公司、安捷伦科技、青峰医药集团有限公司、孔宪绍慈善基金和香港浸会大学尚志会赞助。