

• 药效学评价 •

藏药佐太的抗抑郁抗焦虑作用研究

赵 静^{1,2,3}, 魏立新^{1,2*}, 杜玉枝^{1,2}, 牛翠英^{1,2,3}, 耿卢婧^{1,2,3}, 张 明^{1,2,3}

1. 中国科学院 藏药研究重点实验室, 青海 西宁 810001

2. 中国科学院西北高原生物研究所 青海省藏药药理学和安全性评价研究重点实验室, 青海 西宁 810001

3. 中国科学院大学, 北京 100049

摘要: **目的** 观察藏药佐太的抗抑郁和抗焦虑作用, 并探讨其可能作用机制。**方法** 1) 初步评价实验: 在小鼠 ig 给予 6.07、60.70、303.49、606.97 mg/kg 佐太 14 d 后, 通过强迫游泳实验和开场实验初步评价佐太对抑郁和焦虑的影响, 同时通过检测小鼠血清中 5-羟色胺 (5-HT) 和去甲肾上腺素 (NE) 水平来探讨佐太产生影响的可能作用机制。2) 不可预测性慢性温和应激模型 (CUMS) 实验: 建立 CUMS 模型, ig 给予 6.07、60.70、606.97 mg/kg 佐太, 通过小鼠体重变化、糖水偏爱实验、小鼠悬尾实验、开场实验和埋珠实验评价佐太对 CUMS 模型小鼠的抗抑郁和抗焦虑作用, 同时检测小鼠血清中皮质酮 (CORT)、促肾上腺皮质激素 (ACTH) 和下丘脑中促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH) 水平, 测定佐太对 CUMS 模型小鼠下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA) 轴的影响。**结果** 1) 佐太能够显著减少小鼠强迫游泳实验中不动时间 (6.07、60.70、303.49、606.97 mg/kg); 增加小鼠在开场实验中中央区停留时间百分率 (606.97 mg/kg) 和中央区运动百分比 (303.49、606.97 mg/kg); 增加小鼠血清中 5-HT (6.07、606.97 mg/kg) 和 NE (6.07、303.49、606.97 mg/kg) 水平。2) CUMS 实验中, 与对照组比较, 经过 42 d CUMS 慢性应激小鼠表现出明显的抑郁和焦虑样行为, 包括糖水偏爱率的降低、悬尾不动时间显著增加、开场实验中运动时间、中央区域停留时间及运动距离的减少和周边区域运动距离的增加、埋珠实验中埋珠个数的增加。而 ig 给予佐太 (6.07、60.70、606.97 mg/kg) 能够显著改善 CUMS 模型引起的上述症状, 并且佐太 (6.07、60.70 mg/kg) 能够显著降低 CORT、ACTH 和 CRH 水平, 抑制 CUMS 模型引起的 HPA 轴亢进。**结论** 佐太具有一定的抗抑郁和抗焦虑作用, 并且其作用机制可能与升高 5-HT、NE 水平和抑制 HPA 轴亢进有关。

关键词: 佐太; 抑郁; 焦虑; 强迫游泳实验; 开场实验; 不可预测性慢性温和应激模型; 5-羟色胺; 去甲肾上腺素; 下丘脑-垂体-肾上腺轴

中图分类号: R965

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2016)04-0522-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.04.004

Study on antidepressant and anxiolytic effect of Tibetan medicine Zuotai

ZHAO Jing^{1,2,3}, WEI Li-xin^{1,2}, DU Yu-zhi^{1,2}, NIU Cui-ying^{1,2,3}, GENG Lu-jing^{1,2,3}, ZHANG Ming^{1,2,3}

1. Qinghai Province Key Laboratory of Tibetan Medicine Pharmacology and Safety Evaluation, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China

2. Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China

3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 10049, China

Abstract: Objective To evaluate the antidepressant-like and anxiolytic-like effects of Tibetan medicine Zuotai and discuss the possible mechanism. **Method** 1) Preliminary estimate test: the forced swimming test (FST), open field test (OFT), serum serotonin (5-HT) and norepinephrine (NE) were used to preliminary estimate the antidepressant and anxiolytic effects after ig administration with 6.07, 60.70, 303.49, and 606.97 mg/kg Zuotai. 2) chronic unpredictable mild stress (CUMS): in the CUMS model, mice weight, tail suspension test (TST), OFT, marble burying test were used to analyze the depression and anxiety symptoms. Serum corticosterone (CORT), adrenocorticotrophic hormone (ACTH), and adrenocorticotrophic hormone releasing hormone (CRH) expression in the hypothalamus were

收稿日期: 2016-03-17

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81374063); 青海省重点实验室发展专项(2014-Z-Y02); 中国科学院“西部之光”重点项目(Y529021211)

作者简介: 赵 静 (1990—), 女, 硕士生, 研究方向为藏药药理学。Tel: (0971)6143765 E-mail: zhaojing240026@163.com

*通信作者 魏立新 (1967—), 男, 研究员, 研究方向为藏药药理学。Tel: (0971)6143668 E-mail: lxwei@nwpb.cas.cn

also determined to elucidate the neurochemical mechanisms. **Result** 1) Zuotai at doses of 6.07, 60.70, 303.49, and 606.97 mg/kg significantly reduced the immobility time in the FST, increased the time and distance of center percentage in the OFT and significantly increased the level of serum 5-HT (6.07 and 606.97 mg/kg) and NE (6.07, 303.49, 606.97 mg/kg) in KM mice after 14 d treatment. 2) The experimental results showed that CUMS, being lasted for 42 d, caused depression-like and anxiety-like symptoms in mice, including reduced mice weight changes, significant reduced in sucrose consumption, increased immobility in the tail suspension test, decreased the movement time and the time and distance of center percentage in the OFT, and increased the number of buried marble in marble burying test. Daily KM mice given Zuotai at doses of 6.07, 60.70, and 606.97 mg/kg by ig administration during the 42 d can significantly alleviated the CUMS-induced depression-like and anxiety-like behaviors and decreased the levels of CORT, ACTH, and CRH (6.07 and 60.70 mg/kg). **Conclusion** The present research indicates that Zuotai possesses potentially antidepressant-like and anxiolytic-like effects, which may be mediated partly through 5-HT, NE, and HPA axis.

Keywords: Zuotai; depression; anxiety; FST; OFT; CUMS model; 5-HT; NE; HPA axis

抑郁症是一类情感障碍或心境障碍疾病,临床症状主要为情感低落、焦虑、思维和运动迟缓、精力缺乏、食欲减退、体质量下降、睡眠障碍等,重症抑郁患者甚至会多次出现自伤和自杀行为。全世界患有抑郁症的人数在不断增长,已经成为世界第四大疾病,是一个世界性的问题。预计到2020年,抑郁症将成为仅次于心脏病的人类第二大疾患,成为21世纪人类的主要杀手^[1]。抑郁症的发病机制很复杂,目前存在着单胺类神经递质、下丘脑-垂体-肾上腺轴(Hypothalamic pituitary adrenal, HPA)等多种假说。

单胺类神经递质假说是研究最多且最深入的假说,5-羟色胺(serotonin, 5-HT)和去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)能系统作为目前多数临床抗抑郁药的基础,现在仍然是评价抗抑郁成分的一种重要系统^[2]。临床治疗显示,随着抗抑郁药物的给予及症状的改善,5-HT或NE水平逐步增高^[3]。HPA轴失调与抑郁和焦虑症紧密相关,在抑郁症患者和长期慢性应激(CMS)模型鼠中,HPA轴的功能异常会引起血清中皮质酮(corticosterone, CORT)和促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)等浓度的增加^[4-5]。

佐太是藏语“仁青欧曲佐珠钦木”的简称,也叫“甘露精王”,是珍宝类藏成药中最为核心的成分^[6],迄今已有2600年的历史^[7]。历代名医2000多年的临床实践证明:佐太不仅对脑溢血、白脉病、麻风、痞瘤、关节痛风、黄水病、高血压、心脏病以及各种炎症、过敏、中毒、病毒等疑难杂症具有奇特的疗效,而且对健康人也具有滋补强身、增强免疫、滋润皮肤、防止皱纹、延年益寿和抗衰老等特殊功效^[8]。然而,其确切的作用机制尚不明确,在一定程度上限制了佐太的使用和推广。

佐太和朱砂主要成分都为硫化汞(HgS),其中朱砂具有清心、镇惊、安神、明目、解毒^[9]的功效,同时王琪等^[10-11]的动物实验表明,小鼠连续口服朱砂可以抑制全脑5-HT和NE水平的升高,连续口服HgS可以抑制全脑中5-HT水平的升高,且小鼠连续口服朱砂,能够显著增加小鼠进入高架十字迷宫开臂的次数和时间,表明朱砂具有一定的抗焦虑作用,那么主要成分也为HgS的佐太是否也具有相同的作用?为探索佐太的潜在药理作用,本研究通过强迫游泳实验、开场实验和不可预测性慢性温和应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)模型来验证佐太是否具有抗抑郁和抗焦虑作用,同时通过检测血清中5-HT和NE水平、HPA轴探讨其抗抑郁和抗焦虑可能作用机制。

1 材料

1.1 动物

SPF级KM小鼠,雄性,购买于甘肃中医药大学实验动物中心,许可证号SYXK(甘)2015-0005。所有实验动物均饲养于SPF级动物房内,恒温恒湿环境,机械通风,人工光照,昼夜循环12h,食物和饮水自由。

1.2 药品和主要试剂

佐太,于2010年7月5日购自西藏自治区藏药厂,用2%淀粉溶液(将2g食用淀粉和100mL蒸馏水加入500mL烧杯中,煮沸冷却即得)促悬,主要成分为HgS和单质硫^[12-13];盐酸丙咪嗪,质量分数为98%,购于美国3B Scientific公司,批号3B20141026。

大小鼠生长维持饲料,购买于北京科奥协力饲料有限公司,生产许可证号为SCXK(京)2008-2010;5-HT、NE、促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)酶联免疫检测试剂盒(美国Cloud-Clone公司);CORT、

ACTH 酶联免疫检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所); 氯化钠、磷酸二氢钠、磷酸二氢钾、氯化钾、无水乙醇, (分析纯, 天津市富宇精细化工有限公司)。

1.3 仪器

MiLi-QReference 超纯水仪 (美国 MiLipore 公司); ME204 1/10 万电子天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); Enspire 2300 多功能酶标仪 (美国 Perkin Elmer 公司); PB10 pH 计 (德国 Sartorius 公司); Sigma 3K-15 高速冷冻离心机 (德国 Sigma 公司); 85-2A 恒温磁力搅拌器 (金坛市科析仪器有限公司); Scientz-48 高通量组织研磨器 (宁波新芝生物科技股份有限公司); OFT-100 大小鼠开场活动实验系统 (成都泰盟软件有限公司); Ver 8.2 视频编辑专家 (北京锐动天地信息技术有限公司); 微量移液器 (美国 Thermo Electron 公司); PC3860 计数器 (深圳市惠波工贸有限公司)。

2 方法

2.1 初步评价实验

2.1.1 动物分组及给药 48 只 KM 雄性小鼠适应环境 1 周后, 随机分为 6 组: 对照组, 佐太 6.07 (临床等效剂量)、60.70、303.49、606.97 mg/kg 组, 丙咪嗪 15 mg/kg 组, 每组 8 只。每天 ig 给药 1 次, 给药体积 10 mL/kg, 连续给药 14 d。第 14 天进行开场实验, 第 15 天进行小鼠强迫游泳实验, 第 16 天摘眼球取血, 于第 1 和 16 天称小鼠体质量。

2.1.2 强迫游泳实验^[14] 实验前 60 min 将小鼠移至一间安静的测试房, 减少动物紧张感。实验时将小鼠置于水深 10 cm、直径 14 cm、水温 (23±2) °C 的上方开口的圆柱形玻璃容器之中, 持续 6 min, 全程通过高清数码摄像机记录, 双盲方式使用计时器统计后 4 min 内小鼠一动不动的总时间。不动时间定义为小鼠在水中停止挣扎、漂浮于水面以及为了保持头部浮在水面的轻微的游动。

2.1.3 开场实验 采用开场实验来评价小鼠自主活动和焦虑水平^[15-16]。实验前 60 min 将小鼠移到开场实验测试房, 提前适应环境。实验时将小鼠从笼中取出置于行为学实验站中的开场实验装置 (500 mm×500 mm×415 mm) 中央, 迅速拉上遮光罩帘。在操作软件中记录小鼠编号、日期、状态后打开记录系统, 选取九宫格模式, 中心区比例为 0.5, 通过开场设备上方的摄像机及与其相连的监视器记录 5 min 内小鼠的活动情况并计算运动时间、中央区停

留时间百分率 (中央区停留时间/300 s)、中央区水平运动百分率 (中央区水平运动距离/水平运动距离)、四边区域水平运动百分率 (四边区域水平运动距离/水平运动距离) 和四角区域水平运动百分率 (四角区域水平运动/水平运动距离)。实验结束后将小鼠放回笼内, 70 %乙醇彻底擦拭实验装置并用纸巾擦干。

2.1.4 血清中 5-HT 和 NE 水平检测 小鼠禁食 12 h, 于给药第 16 天摘眼球取血置于促凝管中, 室温放置 1 h, 4 °C、4 000 r/min 离心 10 min, 取血清置于 1.5 mL EP 管内, -80 °C 保存。ELISA 试剂盒法测定血清中 5-HT 和 NE 水平。

2.2 CUMS 实验

2.2.1 动物分组和给药方式 60 只 KM 雄性小鼠在实验开始前均适应环境 1 周, 随机分为 6 组, 分别为对照组, 模型组, 佐太 6.07、60.70、606.97 mg/kg 组, 丙咪嗪 15 mg/kg 组, 每组 10 只。每天 ig 给药 1 次, 给药体积为 10 mL/kg, 连续给药 42 d。第 0、42 天进行糖水偏爱实验, 第 43 天进行开场实验, 第 44 天进行埋珠实验, 第 45 天进行小鼠悬尾实验, 第 46 天摘眼球取血随后断颈取组织, 每周称小鼠体质量。

2.2.2 CUMS 模型制备方法 CUMS 模型采用 Katz、Willner 等^[14, 17]的方法并加以改进。所有小鼠进行单笼饲养, 对照组不予任何刺激, 其余各组在 42 d 内给予不同的慢性应激刺激。应激方式包括: ①剥夺食物 24 h、②剥夺饮水 24 h、③倾斜笼子 45 度角 24 h、④群养 2 h、⑤束缚应激 2 h、⑥夜间照明、⑦夹尾 15 min、⑧4~8 °C 冷水游泳 5 min、⑨暴露异物 24 h、⑩空水瓶。以上应激方式顺序随机但同一应激方式不连续应用。

2.2.3 糖水偏爱实验 采用糖水偏爱实验来评价快感缺乏症状。实验进行前 72 h 进行糖水适应训练, 于每笼中同时放置 2 个水瓶, 一瓶中装有 1%糖水溶液, 另一瓶中装有自来水, 每 12 h 更换一次两个水瓶所在位置。适应糖水后, 对小鼠同时剥夺食物和饮水 23 h。糖水偏爱实验实施于第 42 天 21:00~第 43 天 9:00, 每笼小鼠同时给予一瓶装有 1%糖水和一瓶装有自来水的水瓶, 让其自由饮水。12 h 后测定糖水和自来水消耗量, 计算糖水偏爱率。

糖水偏爱率=糖水消耗量/(糖水消耗量+自来水消耗量)

2.2.4 悬尾实验^[18] 实验前 60 min 将小鼠移至测试房。实验时将小鼠尾巴用胶带固定起来悬挂在实

验架上, 实验持续 6 min, 全程通过高清数码摄像机记录, 通过双盲方式使用计时器统计后 4 min 内小鼠不动的总时间。不动时间为小鼠被悬挂后完全不动的时间。

2.2.5 埋珠实验^[19] 实验于 19:00~22:00 的安静环境下进行。将小鼠置于 24 cm×14 cm×14 cm 塑料盒内, 盒内放置厚度为 3 cm 的垫料并将 24 颗直径为 1.2 cm 玻璃球均匀摆放在垫料表面。30 min 后将小鼠取出, 观察并记录被垫料包埋的玻璃球个数, 观察时以玻璃球被覆盖总体积的 1/2 及以上为准。

2.2.6 HPA 轴检测 CUMS 小鼠于 46 d 进行摘眼球取血, 随后颈椎脱臼处死, 取脑置于冰台上, 分离称取下丘脑组织。收集到的血样放入促凝管中室温放置 1 h, 4 °C、4 000 r/min 离心 10 min, 取血清置于 1.5 mL EP 管内, -80 °C 保存。随后采用 ELISA 法测定 CORT、ACTH 水平。称取下丘脑组织放入 1.5 mL EP 管中, 加入 9 倍 PBS (pH 值为 1.0~2.0), 在组织匀浆器 (频率 60 Hz) 中匀浆 2 min, 1 000×g 离心 20 min, 取上清-80 °C 保存, ELISA 法测定 CRH 水平。

2.3 统计分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS 21.0 统计软件, 数据分析采用单因素方差 (one-way ANOVA) 分析, post hoc 分析采用 LSD 法。

3 结果

3.1 初步评价实验结果

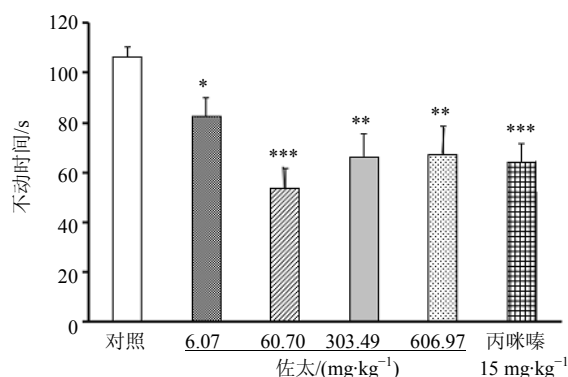
3.1.1 对小鼠体质量的影响 如表 1 所示, 与对照组比较, 给药前后佐太各剂量组小鼠体质量无显著变化。

3.1.2 对小鼠强迫游泳实验的影响 如图 1 所示, 与对照组比较, 佐太 6.07、60.70、303.49、606.97 mg/kg 组和丙咪嗪 15 mg/kg 组小鼠强迫游泳实验中不动时间显著减少 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。

表 1 佐太对小鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of Zuotai on weight of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	体质量/g	
		1 d	16 d
对照	—	24.25±0.45	35.50±0.56
佐太	6.07	24.25±0.45	35.70±0.94
	60.70	24.25±0.45	35.10±0.53
	303.49	24.50±0.33	35.80±0.74
	606.97	24.13±0.55	35.80±1.11
丙咪嗪	15	24.13±0.55	34.80±0.71



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 下同
** $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group, same as below

图 1 佐太对小鼠强迫游泳实验不动时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 1 Effects of Zuotai on immobility time in forced swimming test of mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

3.1.3 对小鼠开场实验的影响 如表 2 所示, 与对照组比较, 佐太 606.97 mg/kg 组小鼠在中央区停留时间、中央区停留时间百分率和中央区水平运动百分率显著增加 ($P < 0.05$), 而 303.49 mg/kg 组仅中央区水平运动距离百分率显著增加 ($P < 0.05$)。

表 2 佐太对开场实验的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effects of Zuotai on open field test in mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	中央区停留时间/s	中央区停留时间百分率/%	中央区水平运动百分率/%
对照	—	7.06±2.28	3.11±1.55	5.89±1.28
佐太	6.07	9.95±3.26	3.49±1.53	6.84±2.47
	60.70	8.96±3.06	3.10±1.44	6.56±2.64
	303.49	12.68±5.65	4.68±3.18	9.00±3.67*
	606.97	13.56±4.59*	5.44±1.72*	9.18±3.22*
丙咪嗪	15	9.18±5.57	3.23±2.59	6.49±3.99

3.1.4 对小鼠血清中5-HT和NE水平的影响 如表3所示,与对照组比较,佐太 6.07、606.97 mg/kg组和丙咪嗪 15 mg/kg组小鼠血清中5-HT水平显著增加 ($P < 0.05$);佐太 6.07、303.49、606.97 mg/kg组和丙咪嗪 15 mg/kg组小鼠血清中NE水平显著增加 ($P < 0.05$ 、0.01)。

表3 佐太对小鼠血清中5-HT和NE的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 3 Effects of Zuotai on levels of 5-HT and NE in serum of mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	5-HT/(ng·mL ⁻¹)	NE/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	176.03 ± 8.43	40.45 ± 7.35
佐太	6.07	206.62 ± 22.87**	59.98 ± 11.63**
	60.70	163.57 ± 12.72	47.04 ± 12.79
	303.49	173.42 ± 20.08	53.95 ± 11.85*
	606.97	193.71 ± 21.13*	55.19 ± 7.94*
丙咪嗪	15	200.88 ± 23.83*	53.74 ± 15.25*

3.2 CUMS 实验结果

3.2.1 对CUMS小鼠体质量的影响 如图2和3所示,与对照组比较,模型组小鼠体质量增长相对缓慢,体质量差值(第45天体质量-第1天体质量)显著降低 ($P < 0.001$);与模型组比较,佐太 6.0697、60.6970、606.9700组和丙咪嗪 15 mg/kg组小鼠体质量差值显著增加 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。

3.2.2 对CUMS小鼠开场实验活动的影响 如表4和图4所示,与对照组比较,模型组小鼠在开场实验中运动时间 ($P < 0.001$)、中央区域停留时间百分率和中央区域水平运动百分率显著减少 ($P < 0.01$),在四边区域水平运动百分率 ($P < 0.05$)和四角区域水平运动百分率 ($P < 0.001$)显著增加;与模型组比较,佐太 6.07、60.70、606.97 mg/kg组和丙咪嗪 15 mg/kg组小鼠运动时间、中央区停留时间百分率和中央区水平运动百分率显著增加,四边区域水平运动百分率和四角区域水平运动百分率显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。

表4 佐太对CUMS小鼠开场实验的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 4 Effects of Zuotai on open-field test in CUMS mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	运动时间/s	中央区域停留时 间百分率/%	中央区域运动距 离百分率/%	四边区域运动 距离百分率/%	四角区域运动距 离百分率/%
对照	—	250.27 ± 2.60	9.26 ± 3.94	14.17 ± 5.31	40.14 ± 3.44	41.77 ± 3.61
模型	—	236.88 ± 2.11***	5.33 ± 2.63**	8.37 ± 3.68**	43.89 ± 2.57*	47.93 ± 4.77***
佐太	6.07	250.78 ± 2.17###	11.01 ± 2.46###	17.09 ± 4.73###	38.99 ± 3.70##	41.84 ± 2.31###
	60.70	247.44 ± 2.25##	9.68 ± 3.19##	13.91 ± 3.54##	39.82 ± 2.45#	43.26 ± 4.57#
	606.97	249.05 ± 3.01##	10.49 ± 2.99###	15.10 ± 4.15##	37.83 ± 1.46##	43.56 ± 3.88#
丙咪嗪	15	245.37 ± 3.91#	9.20 ± 2.02##	14.43 ± 2.75##	39.90 ± 5.11#	41.62 ± 1.62###

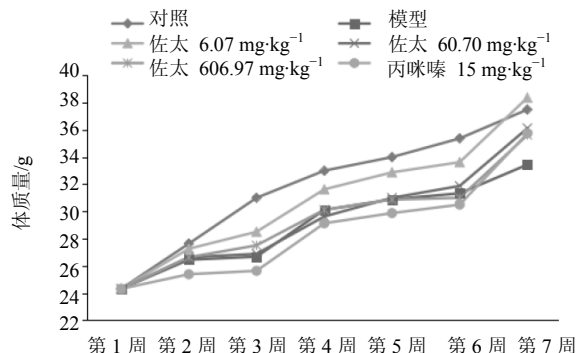
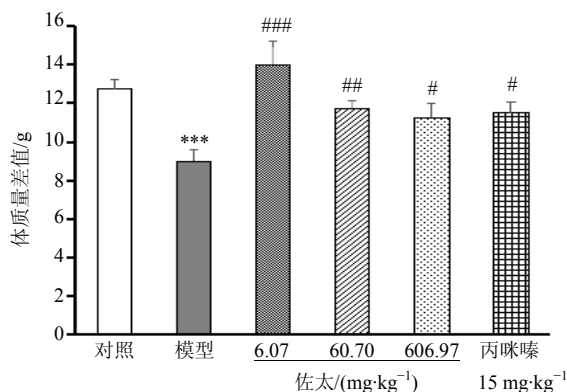


图2 佐太对CUMS小鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Fig. 2 Effects of Zuotai on weight in CUMS mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)



与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$, 下同
$P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group, same as below

图3 佐太对CUMS小鼠实验前后体质量变化的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Fig. 3 Effects of Zuotai on weight changes in CUMS mice before and after experiment ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

3.2.3 对CUMS小鼠糖水偏爱率的影响 如图5所示,与对照组比较,模型组小鼠糖水偏爱率显著降低 ($P < 0.05$);与模型组比较,佐太 6.07、60.70、606.97 mg/kg组和丙咪嗪 15 mg/kg组小鼠糖水偏爱率显著增加 ($P < 0.05$ 、0.01)。

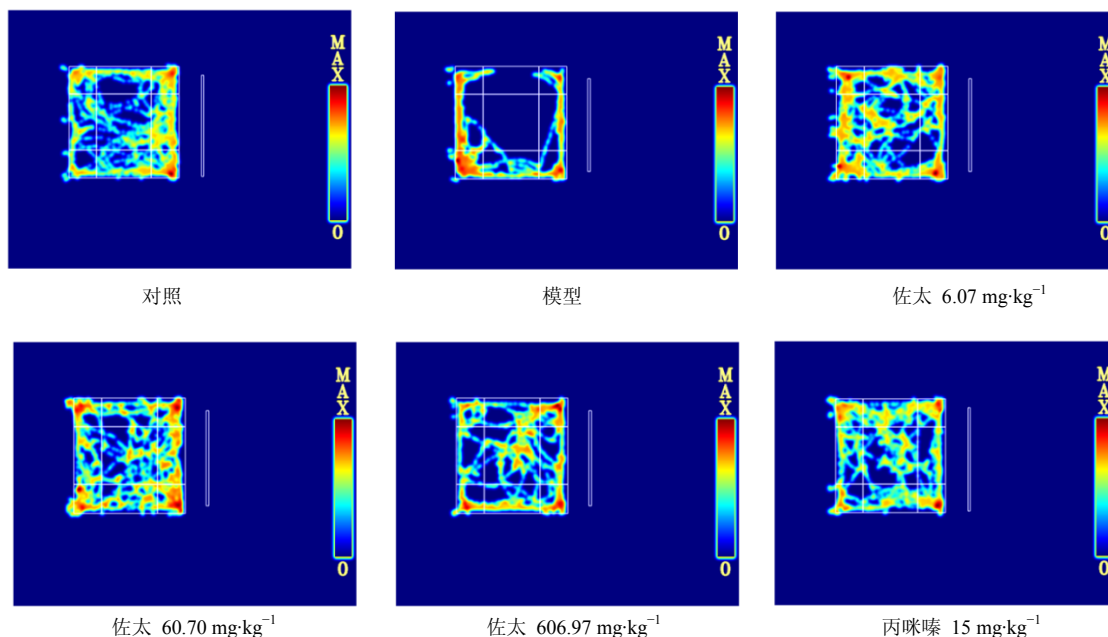


图4 佐太对 CUMS 小鼠开场实验中运动轨迹的影响

Fig. 4 Effects of Zuotai on movement locus in open-field test of CUMS mice

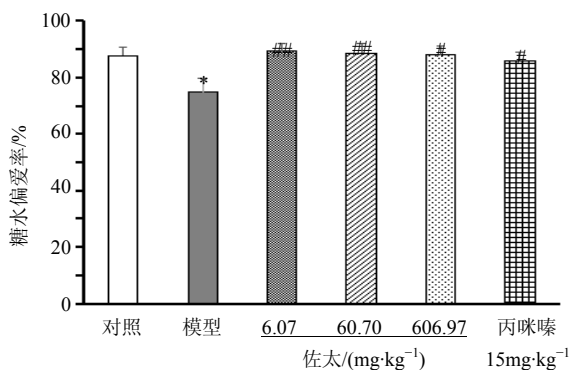


图5 佐太对 CUMS 小鼠糖水偏爱率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 5 Effects of Zuotai on sucrose preference index in CUMS mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

3.2.4 对 CUMS 小鼠悬尾实验的影响 如图 6 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠在悬尾实验中不动时间显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 佐太 6.07、60.70、606.97 组和丙咪嗪 15 mg/kg 组不动时间显著降低 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$)。

3.2.5 对 CUMS 小鼠埋珠实验的影响 如图 7 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠埋珠个数显著增加 ($P < 0.05$), 其余各组没有显著性差异; 与模型组小鼠比较, 佐太 6.07、60.70、606.97 mg/kg 组和丙咪嗪 15 mg/kg 组小鼠埋珠个数显著减少 ($P < 0.05, 0.01$)。

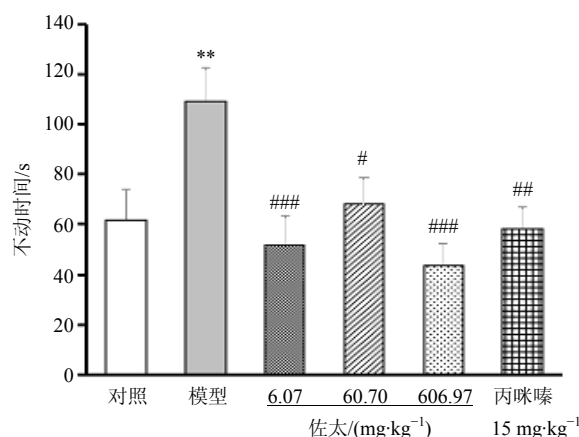


图6 佐太对 CUMS 小鼠悬尾实验不动时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 6 Effects of Zuotai on immobility time in tail suspension test of CUMS mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

3.2.6 对 CUMS 小鼠 HPA 轴的影响 如表 5 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清中 CORT、ACTH 和下丘脑中 CRH 水平显著升高 ($P < 0.05, 0.01$); 与模型组比较, 佐太 6.07、60.70 mg/kg 组和丙咪嗪 15 mg/kg 组小鼠血清中 CORT 和 ACTH、下丘脑中 CRH 水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01$)。

4 讨论

强迫游泳实验为行为绝望模型的一种, 是抗抑郁药物评价模型的经典方法也是抗抑郁药评筛常用

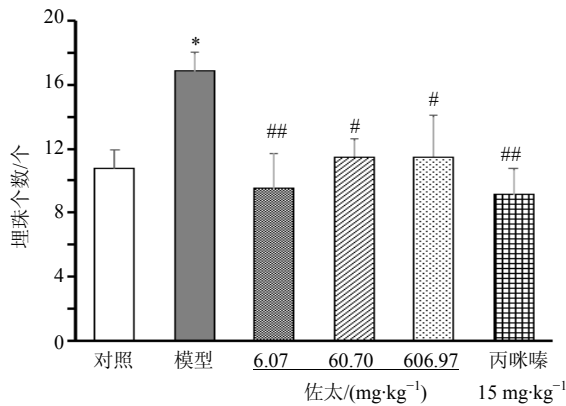


图7 佐太对 CUMS 小鼠埋珠实验的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
 Fig. 7 Effects of Zuotai on marble burying test in CUMS mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

表5 佐太对 CUMS 小鼠血清中 CORT、ACTH 和下丘脑中 CRF 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effects of Zuotai on levels of CORT and ACTH in serum and CRF in hypothalamus of CUMS mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	CORT/(ng·mL ⁻¹)	ACTH/(ng·mL ⁻¹)	CRH/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	15.42 ± 3.26	28.44 ± 8.31	74.26 ± 7.77
模型	—	30.82 ± 8.63*	47.22 ± 19.49*	102.18 ± 23.78**
佐太	6.07	21.03 ± 3.46#	32.49 ± 15.53#	73.22 ± 7.01##
	60.70	19.11 ± 5.04#	25.77 ± 15.30##	75.35 ± 10.31##
	606.97	21.93 ± 6.47	35.46 ± 14.58	88.65 ± 23.36
丙咪嗪	15	17.95 ± 4.18##	24.23 ± 9.15##	79.39 ± 12.70#

6.07、606.97 mg/kg 佐太都能够增加 5-HT、NE 水平，303.49 mg/kg 佐太能够增加 NE 水平，而佐太 60.70 mg/kg 组小鼠血清中 5-HT 和 NE 水平无显著性变化。

CUMS 模型被认为是动物水平研究抑郁症和模拟人类抑郁症状的最有价值 and 可信度的一类啮齿动物模型^[22]。通过给予动物持续数周的、各种不同的温和应激刺激，可以同时诱导动物产生抑郁和焦虑样行为^[23-24]，使动物产生与临床患者一致的行为学、生物化学和生理学方面的变化^[25]，能够比较真实的反应动物的内在变化和抗抑郁和焦虑药物的作用。CUMS 模型结果表明，经过 42 d CUMS 慢性应激能够引起小鼠抑郁和焦虑样行为，包括体质量增长减缓、糖水偏爱率降低、开场实验中运动时间的减少、开场实验中央区域停留时间和运动距离的减少、开场实验周边区域运动距离的增加、悬尾实验中不动时间的增加、埋珠实验中埋珠个数的增加，表明造模成功；而给予不同剂量的佐太和丙咪嗪能够缓解 CUMS 模型引起的上述症状，使抑郁和焦虑小鼠恢

复到正常水平，提示佐太具有一定的抗抑郁和抗焦虑作用。其中观察佐太对 CUMS 小鼠体质量影响结果发现，与模型组比较，6.07 mg/kg 佐太组小鼠体质量在第 5 周开始表现出显著性增长，而在前 6 周 60.70、606.97 mg/kg 佐太组和 15 mg/kg 丙咪嗪组小鼠体质量逐渐增加，但均没有表现出显著性差异，仅在第 7 周时出现显著性增长，出现这种现象可能是由于以下两点原因：①与对照组比较，给予 6 周慢性应激后，小鼠体质量显著减轻，表明小鼠经历应激刺激后表现出一定的食欲减退现象，所以在应激结束后模型组小鼠仍然表现出体质量增长减缓，而给药组小鼠由于恢复正常其体质量表现出快速增长；②体质量检测结果表明佐太剂量与体质量变化增长值表现出负相关关系，低剂量佐太更有利于逆转 CUMS 引起的小鼠体质量增长的异常，而丙咪嗪作为三环类抗抑郁药，可以选择性抑制 5-HT 和 NE 的重摄取，在某些情况下能够抑制食欲使得体质量减轻，所以在给药结束后高剂量佐太和丙咪嗪组小鼠在停止服药后体质量得到快速增长。

HPA 轴控制着机体对应激的反应并调控体内多种生理过程。近年来的研究显示抑郁和焦虑症与 HPA 轴功能失调之间存在一定的关系,主要表现为 HPA 轴功能的亢进,包括中枢 CRH 分泌增多,外周血 ACTH 和糖皮质激素(GC,啮齿类动物中为皮质酮 CORT)水平升高等^[26]。研究表明,有效的抗抑郁和抗焦虑治疗能使亢进的 HPA 轴恢复到正常水平,治疗后 HPA 轴活性的高低与病情的复发有很大的关系^[27-28]。当前实验结果与其他研究相一致,模型组小鼠血清中 CORT 和 ACTH、下丘脑中 CRH 水平都显著升高,而给予 42 d 佐太和丙咪嗪能够降低 CORT、ACTH、CRH 表达水平,其中 6.07、303.49 mg/kg 佐太和丙咪嗪具有显著性差异,表明一定剂量的佐太能够抑制由 CUMS 模型引起的 HPA 轴亢进,因此佐太对慢性应激模型所致的抑郁和焦虑行为可能是通过调节应激模型小鼠 HPA 轴亢进程度,从而起到一定的抗抑郁和抗焦虑作用。而 606.97 mg/kg 佐太产生的抗抑郁和抗焦虑作用可能是通过其他通路进行调节的,可见不同剂量的佐太都能产生一定的抗抑郁和抗焦虑作用,但不同剂量的佐太其具体作用机制很可能是不同的。

综上所述,佐太在强迫游泳模型中具有一定的抗抑郁作用,在开场实验中表现出一定的抗焦虑作用,其作用可能是通过调节 5-HT 和 NE 水平发挥作用;同时佐太能够缓解 CUMS 模型引起的抑郁和焦虑样行为,且可能是通过调节 HPA 轴功能状态来发挥作用。

参考文献

- [1] 徐汉明,胡晓华. 抑郁症-治疗与研究 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 7-18.
- [2] Elhwuegi A S. Central monoamines and their role in major depression [J]. *Prog Neuro-Psychoph*, 2004, 28(3): 435-451.
- [3] Krishnan V, Nestler E J. The molecular neurobiology of depression [J]. *Nature*, 2008, 455(7215): 894-902.
- [4] Pariante C M, Lightman S L. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments [J]. *Trends Neurosci*, 2008, 31(9): 464-468.
- [5] Arborelius L, Owens M J, Plotsky P M, et al. The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders [J]. *J Endocrinol*, 1999, 160(1): 1-12.
- [6] Zhao X Y, Sun M, Wang J X, et al. Characterization of tibetan medicine zuota by multiple techniques [J]. *Bioinorg Chem Appl*, 2013, doi: 10.1155/2013/198545. Epub 2013 Sep 5.
- [7] 西藏自治区藏医药管理局编著. 西藏藏医药 [M]. 拉萨: 西藏人民出版社, 2001: 212.
- [8] 看召本. 透视藏医珍宝类药品中的"佐太" [J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(10): 1621-1623.
- [9] 中国药典 [S]. 一部. 2015: 137.
- [10] Wang Q, Yang X, Zhang B, et al. Cinnabar is different from mercuric chloride in mercury absorption and influence on the brain serotonin level [J]. *Basic Clin Pharmacol*, 2013, 112(6): 412-417.
- [11] Wang Q, Yang X, Zhang B, et al. The anxiolytic effect of cinnabar involves changes of serotonin levels [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 565(1): 132-137.
- [12] 李 岑, 占 堆, 楞本才让, 等. 藏药佐太的化学成分、汞配位结构及微观形貌分析 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2015, 35(4): 1072-1078.
- [13] 夏振江, 魏立新, 王东平, 等. 藏药炮制品“佐太”的质量标准研究 [J]. *中药材*, 2010, 33(5): 688-690.
- [14] 吴俊芳, 刘 忞. 现代神经科学研究方法 [M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2006: 982-983.
- [15] Zhu K Y, Mao Q Q, Ip S P, et al. A standardized Chinese herbal decoction, kai-xin-san, restores decreased levels of neurotransmitters and neurotrophic factors in the brain of chronic stress-induced depressive rats [J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2012, doi: 10.1155/2012/149256.
- [16] Choleris E, Thomas A W, Kavaliers M, et al. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field [J]. *Neurosci Biobehav*, 2001, 25(3): 235-260.
- [17] Mao Q Q, Ip S P, Ko K M, et al. Peony glycosides produce antidepressant-like action in mice exposed to chronic unpredictable mild stress: effects on hypothalamic-pituitary-adrenal function and brain-derived neurotrophic factor [J]. *Prog Neuro-Psychoph*, 2009, 33(7): 1211-1216.
- [18] Crawley J N. *What's Wrong with My Mouse ? : Behavioral Phenotyping of Transgenic and Knockout Mice* [M]. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2007: 248-251.
- [19] Gould T D. Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice [M]. New York: Humana Press, 2009: 37-45.
- [20] Porsolt R D, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants [J]. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1977, 229(2): 327-336.
- [21] Porsolt R D, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments [J]. *Nature*, 1977, 266(5604): 730-732.
- [22] 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 Neuro-Psychoph*, 2009, 33(8): 1417-1424.
- [23] Campos A C, Fogaca M V, Aguiar D C, *et al.* Animal models of anxiety disorders and stress [J]. *Rev Bras Psiquiatr*, 2013, 35: S101-S111.
- [24] 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.
- [25] Katz R J. Animal model of depression: pharmacological sensitivity of a hedonic deficit [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1982, 16(6): 965-968.
- [26] Swaab D F, Bao A M, Lucassen P J. The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration [J]. *Ageing Res Rev*, 2005, 4(2): 141-194.
- [27] Heydendael W, Jacobson L. Glucocorticoid status affects antidepressant regulation of locus coeruleus tyrosine hydroxylase and dorsal raphé tryptophan hydroxylase gene expression [J]. *Brain Res*, 2009, 1288: 69-78.
- [28] Kara S, Yazici K M, Güleç C, *et al.* Mixed anxiety-depressive disorder and major depressive disorder: comparison of the severity of illness and biological variables [J]. *Psychiat Res*, 2000, 94(1): 59-66.