

红景天苷介导TLR4调控小胶质细胞激活对小鼠抑郁样行为的改善作用

莫菁莲¹, 陈思丹¹, 符乃光², 王 政^{3*}

1. 海南省人民医院 药学部, 海南医学院附属海南医院, 海南 海口 570311

2. 海南医学院 药学院, 海南 海口 571101

3. 海南医学院 生物技术与生物化学实验室, 海南 海口 571101

摘要: 目的 探讨红景天苷对脂多糖(LPS)诱导炎症抑郁模型小鼠的作用及机制。方法 48只Balb/c小鼠随机分为对照组、模型组、盐酸氟西汀(阳性药, 20 mg/kg)组、红景天苷(25 mg/kg)组, 每组12只。各组连续ig给药14 d后, 除对照组外, 其余各组ip 1 mg/kg LPS连续7 d制备抑郁模型。以糖水偏好实验、旷场实验、悬尾实验和强迫游泳实验检测小鼠抑郁样症状; 结束后取脑组织与血液检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)水平; Iba1免疫荧光染色检测脑组织小胶质细胞激活; Western blotting法检测脑组织TLR4信号通路蛋白TLR4、NLRP3、cleaved-Caspase-1/Caspase-1表达。结果 与模型组比较, 红景天苷与盐酸氟西汀预防给药能够显著上调小鼠糖水摄取率($P < 0.05$), 增加小鼠穿格评分($P < 0.05$), 下调悬尾与强迫游泳不动时间($P < 0.05$); 显著逆转LPS造成的TNF- α 、IL-1 β 水平上调($P < 0.05$); 明显抑制小胶质细胞激活, 显著降低Iba1荧光强度($P < 0.05$); 显著降低脑组织中TLR4、NLRP3与cleaved-Caspase-1/Caspase-1蛋白表达($P < 0.05$)。结论 ip LPS成功构建了炎症诱导的抑郁模型, 红景天苷通过TLR4信号通路调控小胶质细胞激活, 从而改善小鼠抑郁样行为。

关键词: 红景天苷; 抑郁症; 小胶质细胞; 脂多糖; 炎症反应; Toll样受体4; NLRP3; Caspase-1

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)09-1869-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.09.008

Salidroside improves depression-like behavior in mice through TLR4 mediated microglia activation

MO Jinglian¹, CHEN Sidan¹, FU Naiguang², WANG Zheng³

1. Pharmaceutical Department of Hainan Provincial People's Hospital, Hainan Hospital Affiliated to Hainan Medical College, Haikou 570311, China

2. School of Pharmacy, Hainan Medical College, Haikou 571101, China

3. Laboratory of Biotechnology and Biochemistry, Hainan Medical College, Haikou 571101, China

Abstract: Objective To investigate the effect of salidroside on LPS-induced depression in mice and the mechanism through inflammation. **Methods** 48 Balb/c mice were randomly divided into control group, model group, fluoxetine group (20 mg/kg), salidroside group (25 mg/kg), 12 mice in each group. After 14 days of continuous ig administration, mice in each group were ip injected with 1 mg/kg LPS or saline for 7 days. The sucrose preference test, open field test, tail suspension test and forced swimming test were used to detect depression-like symptoms in mice. At the end, the brain tissue and blood were taken for inflammatory cytokines detection, Immunofluorescence staining was applied for microglia activation test, and Western Blotting was used to detect the protein expression of TLR4 signaling pathway. **Results** Compared with model group, salidroside and fluoxetine hydrochloride pre administration could significantly increase the rate of sugar water intake ($P < 0.05$), increase the grid score ($P < 0.05$), and reduce the immobility time of tail suspension and forced swimming ($P < 0.05$); significantly reversed the up-regulation of TNF- α and IL-1 β induced by LPS ($P < 0.05$); Significantly inhibited the activation of microglia and significantly reduced the fluorescence intensity of Iba1 ($P < 0.05$); The expression of TLR4, NLRP3 and cleaved-caspase-1/caspase-1 protein in brain tissue was significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** The inflammation-induced depression model was successfully constructed by ip

收稿日期: 2021-01-27

基金项目: 海南省卫生计生行业科研项目(16A200062)

第一作者: 莫菁莲(1978—), 女, 本科, 研究方向为内分泌临床药理学。Tel: 13078987882 E-mail: drummondmay@163.com

*通信作者: 王 政(1977—), 男, 高级实验师, 本科, 研究方向为分子生物学。E-mail: drummondmay@163.com

injection of LPS. Salidroside regulates the activation of microglia through the TLR4 signaling pathway, and successfully improves depression-like behavior in mice.

Key words: salidroside; depression; microglia; lipopolysaccharide; inflammation; Toll like receptor 4; NLRP3; Caspase-1

抑郁症对人类健康构成了严重威胁,2015年世界卫生组织报告显示,抑郁症已经影响超过3.22亿人,并造成超过0.5亿人残疾^[1]。已有研究表明^[2],免疫炎症在抑郁症中起重要作用。Meta分析显示^[3],与健康人相比,抑郁症患者血液中肿瘤坏死因子- α (TNF)- α 、白细胞介素-6(IL)-6表达水平明显升高,且抑郁症患者尸检报告也显示其大脑组织中IL-1 β 、IL-6水平高于正常值^[4]。因此,降低抑郁患者脑组织与血液中炎性细胞因子水平是抑郁症治疗的有效方案之一。

红景天苷是景天科植物红景天中提取分离的主要活性成分,具有抗疲劳、抗衰老、调节免疫、清除氧自由基等多种药理作用,且已在许多实验和临床研究中证实具有神经保护活性^[5-6]。Zhang等^[7]在对阿尔茨海默病(AD)模型研究中提出红景天苷通过抑制环氧酶-2(COX-2)、核因子 κ B(NF- κ B)和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)来调节海马中神经炎症以改善AD大鼠认知功能。

Toll样受体4(TLR4)信号通路参与调节机体免疫反应,与抑郁症免疫炎症过程关系密切。临床研究中,Hung等^[8]报道了TLR4是与抑郁症严重程度相关的独立危险因素,而年龄、体质指数(BMI)、性别和TLR1~9(TLR4除外)与抑郁症的发病和严重程度无关。然而,尚未有研究探索TLR4信号通路在红景天苷调节炎症诱导小鼠抑郁样行为中扮演的角色。本研究拟使用脂多糖(LPS)构建炎症诱导小鼠抑郁样行为模型,并探讨红景天苷是否能够通过抑制TLR4介导的小胶质细胞激活途径改善小鼠抑郁样行为。

1 材料

1.1 实验动物

48只SPF级Balb/c小鼠,7周龄,体质量20~23g,由海南医学院实验动物中心提供,实验动物生产许可证号SCXK(琼)2018-0002,实验动物使用许可证号SYXK(琼)2018-0013。实验动物饲养于SPF级屏障环境动物室,饲养条件为12h/12h昼夜节律,温度(23±1)℃,相对湿度(60±5)%,所有小鼠自由饮食饮水。整个实验过程严格遵循3R原则,保证实验动物福利。已通过海南省人民医院医学伦理委员会的评估与批准,伦理号为医伦研

[2016]20号。

1.2 药物与主要试剂

LPS(美国Sigma-Aldrich公司,规格1mg,质量分数≥99%,批号STBB1011);红景天苷(阿拉丁生物科技公司,规格100mg,质量分数≥98%,批号B2310008);盐酸氟西汀(礼来苏州制药有限公司,规格20mg×7,质量分数≥98%,批号20181015);Anti-Iba1 rabbit monoclonal、anti-cleaved-caspase-1 rabbit monoclonal抗体(美国abcam公司);anti-TLR4 mouse monoclonal、anti-NLRP3 rabbit polyclonal、 β -actin mouse monoclonal抗体(美国Proteintech公司);TNF- α 、IL-1 β Elisa试剂盒(深圳达优生物科技股份有限公司);RIPA裂解液(上海碧云天生物科技股份有限公司)。

1.3 主要仪器

旷场实验仪器购自于江苏赛昂斯生物技术有限公司,型号SA215;Bw-of302旷场实验分析系统购自上海软隆科技公司。强迫游泳测试仪器购自于江苏赛昂斯生物技术有限公司,型号SA209;FST高通量强迫游泳实验分析系统购自北京凯辉盛达公司。悬尾测试仪器购自于江苏赛昂斯生物技术有限公司,型号SA210;TST高通量悬尾实验分析系统购自北京凯辉盛达公司。FC全波长多功能酶标仪,美国Thermo公司;CX33荧光显微镜,日本奥林巴斯;Mini-Protean/Mini Trans-Blot凝胶电泳/转印装置,美国Bio-Rad公司;Tanon 5200 Multi凝胶成像显影仪,上海天能科技有限公司。

2 方法

2.1 抑郁症模型构建与给药方式

抑郁症模型构建与给药方法参考文献报道方法^[9]。所有小鼠适应性喂养1周后,随机分为对照组、模型组、盐酸氟西汀(阳性药,20mg/kg)组、红景天苷(25mg/kg,剂量参考文献报道^[6,10-11]及预试验确定)组,所有小鼠连续ig给药2周,对照组与模型组ig等体积生理盐水。除对照组,所有小鼠自第15天起开始ip LPS(1mg/kg),每天1次,连续7d,LPS干预期间正常给药,对照组和模型组ip等体积生理盐水。末次LPS干预和给药结束后次日进行行为学测试。行为学测试结束后,每组取6只小鼠,处死后取血,再取脑组织用于ELISA试剂盒检测

TNF- α 、IL-1 β 水平;取3只小鼠心脏灌流,取脑组织用于免疫荧光染色;每组取3只小鼠,处死后取脑组织用于Western blotting实验。

2.2 抑郁样行为测试

2.2.1 糖水偏好测试^[12] 所有小鼠单笼饲养,安静、隔噪房间内进行糖水偏好测试训练。适应阶段:每笼放2瓶水,一瓶装有1%蔗糖水,另一瓶装有纯净水,所有小鼠正常饮水进食,适应性饮用12 h后,所有小鼠禁食禁水24 h,然后进行糖水偏好测试。测试阶段:各组小鼠单笼饲养,禁水12 h。每只小鼠给予已称质量的纯净水和蔗糖水各1瓶。小鼠自由摄取6 h后,分别称量纯净水与蔗糖水瓶质量。计算2次称量差值得到小鼠纯净水与蔗糖水消耗量。

糖水摄取率=蔗糖水摄取量/(蔗糖水摄取量+纯净水摄取量)

2.2.2 旷场穿格次数测试^[13] 将小鼠投入旷场实验箱中,旷场实验箱为一个边长25 cm的正方体。整个实验保持周围环境安静,使用数码摄像机记录小鼠6 min内在旷场箱中的活动情况。旷场分析软件将底部分为25个正方形,记录后4 min内小鼠穿越这25个正方形的次数,进行穿格评分。

2.2.3 强迫游泳测试^[14] 测试前24 h进行训练,将小鼠放于盛满水的容器中,进行20 min的强迫游泳训练。次日,将小鼠投入水中,使用数码相机记录6 min内小鼠的游泳情况,应用软件记录小鼠6 min内后4 min的不动时间。

2.2.4 悬尾测试^[14] 将小鼠尾尖固定于记录台上,使用数码相机记录6 min内小鼠抬起挣扎的情况,应用软件记录小鼠悬尾6 min内后4 min的不动时间。

2.3 ELISA法检测海马组织及血清中TNF- α 与IL-1 β 水平

脱颈椎处死小鼠,迅速使用注射器采集心脏血液,3 000 r/min离心10 min得血清。取小鼠海马组织,按体积质量比9:1加入预冷的PBS溶液,冰上研磨成细胞悬液,12 000 r/min离心20 min后取上清。根据试剂盒说明书,ELISA法检测海马组织及血清中TNF- α 与IL-1 β 水平。

2.4 Iba1免疫荧光

小鼠ip 1%戊巴比妥钠(50 mg/kg)深度麻醉,打开胸腔,暴露心脏,自心尖灌注PBS溶液,待冲出液体无血色,4%多聚甲醛灌注后取全脑组织,再次放入4%多聚甲醛中固定24 h。结束后再放入70%、

90%、95%、无水乙醇中梯度脱水。取出脑组织后冰冻液包埋组织,使用切片机将组织切为30 μ m组织片,PBS清洗,吸干残留液体,用0.5% Triton x-100通透清洗15 min、使用BSA血清封闭2 h,加入一抗稀释液,4℃孵育过夜。次日,脑片室温放置10 min,用PBS清洗,避光孵育二抗2 h,后用PBS清洗脑片。最后加入DAPI复染15 min,再加入抗荧光猝灭剂100 μ L,荧光显微镜下观察脑片并拍照,通过Image pro plus分析并量化图片荧光强度。

2.5 Western blotting法检测TLR4、NLRP3、cleaved-Caspase-1/Caspase-1蛋白表达

取小鼠海马组织,按体积/质量比4:1加入预冷的RIPA裂解液,冰上研磨成细胞悬液,冰箱中静置30 min待所有蛋白完全裂解,12 000 r/min离心20 min后取上清。BCA试剂盒测得蛋白浓度,加入Loading Buffer,沸水中煮10 min使蛋白变性。制备SDS-PAGE凝胶,按蛋白量10 μ g等量上样,设置电压30 V/30 min、90 V/90 min,以Loading Buffer跑至底端为终点。使用PVDF膜进行转膜,设置电流2 mA/60 min。待所有蛋白转移至PVDF膜上,使用4%脱脂牛奶封闭2 h,结束后以一抗稀释液孵育过夜,次日使用二抗稀释液孵育2 h,每次更换孵育液体前使用PBS清洗。最后条带上滴加ECL发光液,显影仪下显影获得条带图片,通过Image J软件分析各组蛋白条带灰度值。

2.6 统计学分析

所有图表及统计学分析均应用Graphpad prism软件处理,所有数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,分析方法为One way ANOVA中的Tukey检验。

3 结果

3.1 红景天苷对LPS诱导小鼠抑郁样行为的影响

如表1所示,与对照组比较,1 mg/kg LPS连续ip 7 d造成小鼠喜感偏好相关糖水摄取率显著降低($P < 0.05$),且探索行为相关的旷场实验中穿格评分下降($P < 0.05$),与此同时,与求生本能相关的强迫游泳与悬尾中不动时间显著增加($P < 0.05$)。与模型组比较,红景天苷与盐酸氟西汀的预防给药能够显著上调小鼠糖水摄取率($P < 0.05$),增加小鼠穿格评分($P < 0.05$),缩短悬尾与强迫游泳不动时间($P < 0.05$)。

3.2 红景天苷对LPS诱导小鼠炎症反应的影响

如表2所示,与对照组比较,模型组小鼠大脑海马组织及血清中TNF- α 、IL-1 β 水平显著上调($P < 0.05$);与模型组比较,红景天苷与盐酸氟西汀预防给药能够显著逆转LPS造成的TNF- α 、IL-1 β 水平上

表1 各组小鼠行为学结果($\bar{x}\pm s, n=12$)Table 1 Results of behavior test in each mice($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	糖水摄取率/%	旷场穿格评分	悬尾不动时间/s	强迫游泳不动时间/s
对照	—	89.99±6.59	89.75±23.79	15.25±6.96	25.50±10.54
模型	—	52.12±15.19*	31.67±17.14*	75.92±32.63*	94.08±23.70*
盐酸氟西汀	20	76.80±12.47 [#]	79.83±26.43 [#]	23.83±9.79 [#]	40.67±19.02 [#]
红景天苷	25	83.16±10.27 [#]	75.92±36.27 [#]	28.92±16.18 [#]	38.50±18.73 [#]

与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$ * $P<0.05$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group表2 各组小鼠脑组织与血清 TNF- α 、IL-1 β 水平($\bar{x}\pm s, n=6$)Table 2 Levels of TNF- α and IL-1 β in brain and serum of mice in each group($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	脑组织 TNF- α /(pg·mg ⁻¹)	血清 TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	脑组织 IL-1 β /(pg·mg ⁻¹)	血清 IL-1 β /(pg·mL ⁻¹)
对照	—	34.76±7.98	27.69±3.73	22.02±6.59	32.65±6.24
模型	—	554.73±37.67*	373.72±34.28*	193.85±7.54*	93.85±7.54*
盐酸氟西汀	20	27.41±7.44 [#]	32.98±6.90 [#]	38.31±5.97 [#]	27.06±6.06 [#]
红景天苷	25	25.79±37.57 [#]	36.51±7.25 [#]	32.81±6.17 [#]	30.31±5.40 [#]

与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$ * $P<0.05$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group调($P<0.05$)。

3.3 红景天苷对LPS诱导小鼠小胶质细胞激活的影响

Iba1 是小胶质细胞特异性标记物, Iba1 表达增加能够反映小胶质细胞的激活情况。如表3和图1所示, 与对照组比较, LPS 造成小鼠海马组织 CA1 区中小胶质细胞激活, 表现为 Iba1 荧光强度显著增加($P<0.05$), 小胶质细胞体积增加, 树枝状分叉增加。与模型组比较, 红景天苷与盐酸氟西汀给药能够明显抑制小胶质细胞激活, Iba1 荧光强度显著降低($P<0.05$)。

表3 各组小鼠脑组织中 Iba1 荧光强度($\bar{x}\pm s, n=3$)Table 3 Quantitation of Iba1 in mice brain of each group($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Iba1 荧光强度
对照	—	1.00±0.17
模型	—	2.96±0.13*
盐酸氟西汀	20	1.54±0.13 [#]
红景天苷	25	1.11±0.13 [#]

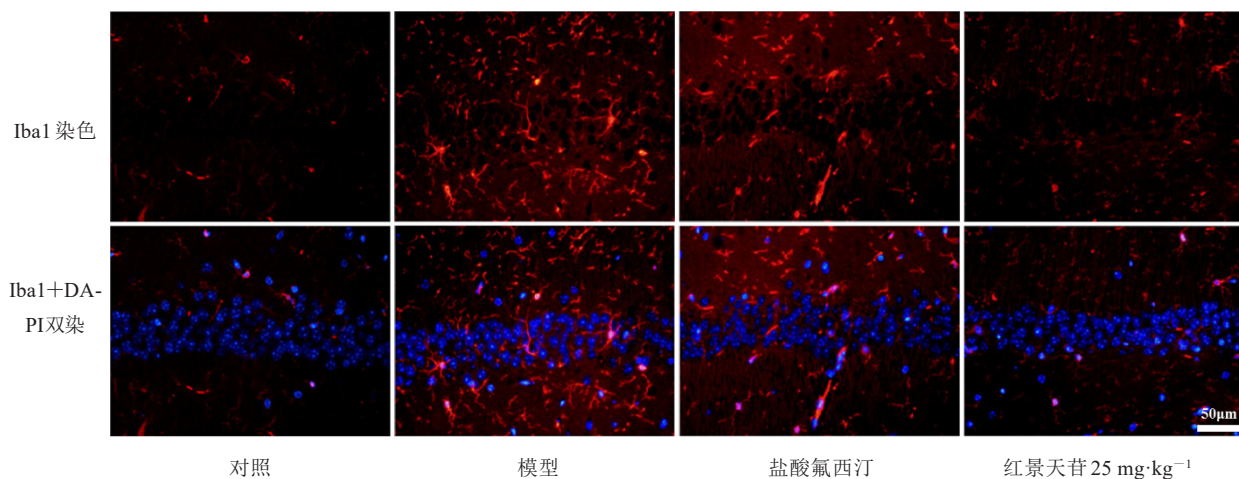
与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$ * $P<0.05$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group

图1 各组小鼠脑组织中 Iba1 表达

Fig. 1 Expression of Iba1 in mice brain of each group

3.4 红景天苷对LPS诱导小鼠TLR信号通路的影响

小胶质细胞激活是LPS与小胶质细胞膜上TLR4结合,介导NLRP3信号通路活化导致的。如图2和表4所示,与对照组比较,模型组小鼠海马组织中TLR4、NLRP3与cleaved-Caspase-1表达显著上调($P<0.05$)。与模型组比较,红景天苷与盐酸氟西汀显著降低脑组织中TLR4、NLRP3与cleaved-Caspase-1表达($P<0.05$)。

4 讨论

一直以来,LPS被广泛应用于实验动物炎症模型的建立。LPS是革兰阴性菌外膜的主要构成部

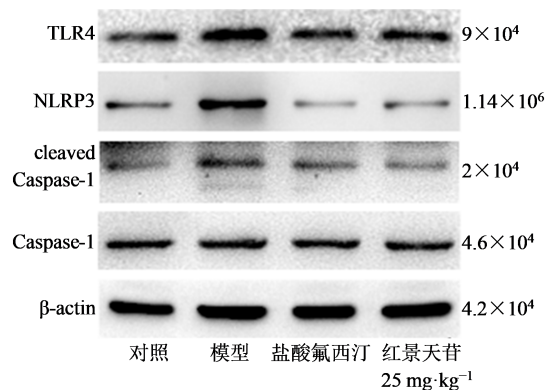


图2 各组小鼠海马组织中TLR4信号通路相关蛋白表达
Fig. 2 TLR4 signaling pathway related protein expression in mice hippocampus of each group

表4 各组小鼠海马组织中TLR4信号通路相关蛋白表达($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4 TLR4 signaling pathway related protein expression in mice hippocampus of each group($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TLR4/β-actin	NLRP3/β-actin	cleaved-Caspase-1/Caspase-1
对照	—	0.46±0.04	0.44±0.04	0.39±0.06
模型	—	0.99±0.18*	0.84±0.14*	0.87±0.08*
盐酸氟西汀	20	0.58±0.11 [#]	0.22±0.05 [#]	0.24±0.04 [#]
红景天苷	25	0.57±0.07 [#]	0.30±0.06 [#]	0.20±0.05 [#]

与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$

* $P<0.05$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group

分,通过与小胶质细胞膜上TLR4结合,介导NLRP3信号通路,激活小胶质细胞,从而促使其分泌多种炎性介质^[15]。小鼠ip 20 mg/kg LPS会诱导小鼠出现炎症相关的急性败血症^[16],ip 0.83 mg/kg LPS可引起脑组织及血液中IL-1β、IL-6 mRNA水平暂时升高^[17]。抑郁症作为一种长期反复性疾病,其特征是持续而高水平的炎性细胞因子表达。因此,为了与临床患者的生理情况更接近,本研究利用1 mg/kg LPS连续ip 7 d,旨在诱导小鼠脑组织和血清中炎性细胞因子长期高水平释放。本研究通过ELISA试剂盒检测显示,7 d连续ip LPS导致小鼠脑组织及血清中炎性细胞因子水平明显升高。此外,本研究还通过糖水摄取实验检测了小鼠的喜感偏好,结果显示LPS造成小鼠对于白水和糖水无差别摄取。且旷场实验中,LPS导致小鼠出现与临床患者相似的反应迟钝,丧失对周围环境探索行为,表现为旷场中穿格次数显著减少。与此同时,在强迫游泳和悬尾实验中,LPS导致小鼠的求生反应丧失,表现为不动时间显著增加。以上实验结果提示本研究小鼠抑郁模型构建成功。

抑郁症发病机制复杂,涉及假说众多,包括神经递质5-羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NE)传递

阻滞,下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA)功能亢进、神经元凋亡、神经元焦亡、神经再生抑制等。然而,现阶段针对抑郁症药物治疗主要是以盐酸氟西汀为代表的5-HT再摄取抑制药物,大部分患者难以获益,且存在一定副作用。近年来,中医药凭借抗抑郁症治疗效果优且副作用小的优势,在抑郁症治疗方面取得了显著临床疗效,受到越来越多的医生和患者重视。红景天作为传统中医药,具有补气清肺、益智养心、收涩止血的作用,常用于刺激神经系统、增强体质、调节心理和疲劳治疗^[18]。已有不少研究显示,红景天苷具有显著的神经保护作用,通过NLRP3/Caspase-1信号通路改善缺血性脑卒中造成的神经炎症^[19],且对于Aβ脑室注射诱导老年痴呆具有显著的改善作用^[20]。本研究应用红景天苷对LPS诱导抑郁症小鼠预给药,与此同时预防给药盐酸氟西汀作为阳性对照。结果显示,红景天苷与盐酸氟西汀对小鼠抑郁样行为方面改善效果一致,能够明显提高小鼠的糖水摄取,增加小鼠空间探索行为,减少强迫游泳与悬尾实验中不动时间。此外,两者都可以有效减少脑组织与血液中炎性细胞因子的表达。

TLR4是先天性免疫小胶质细胞上模式识别受体之一。Kéri等^[21]报道称抑郁症患者的外周血单核

细胞中TLR4表达较正常人升高,且TLR4水平通过认知行为疗法在抑郁样行为改善后降低。在急性束缚应激大鼠中^[22],无论是mRNA还是蛋白质水平,TLR4的表达均增强。与此同时,TLR4抑制剂的干预能够显著改善急性束缚应激诱导大鼠的抑郁样行为^[23]。上述研究表明TLR4与抑郁症的发生和发展呈正相关。NLRP3炎性小体是位于小胶质细胞中的复合体,由凋亡相关斑点样蛋白和Caspase-1组成,是固有免疫系统中重要的模式识别受体。TLR4相关信号激活NLRP3炎性小体后,Caspase-1被活化,剪切后促进IL-1 β 和IL-6等炎症因子释放介导神经炎症,诱发并加重机体抑郁样行为。研究中,NLRP3敲低可以改善N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)激活引起的兴奋性毒性,逆转炎症诱导的视网膜细胞损伤^[24]。

小胶质细胞是中枢神经系统固有的免疫细胞,约占中枢神经系统(CNS)细胞总数5%~10%,与外周巨噬细胞相似,又称脑实质巨噬细胞。在脑组织受到感染、炎症、损伤和应激刺激的信号时,激活形成炎症反应表型。主要特征表现包括细胞数量上显著增加,体积上膨大,形态上细胞分支减少,生理方面包括细胞因子、趋化因子、活性氧分子在内的多种炎性细胞因子的大量释放^[25]。小胶质细胞激活与抑郁症发病和加重关系密切。临床上对重度抑郁症死亡患者的腹侧前额叶白质尸检发现,抑郁症患者激活的小胶质细胞显著增加^[26]。与此同时,小鼠体内研究显示,束缚应激介导的抑郁小鼠脑组织中小胶质激活程度与应激引起的快感缺失相关^[27]。Liu等^[28]研究显示,TLR4药物抑制剂CLI-095的预干预能够逆转LPS与A β 1-42联合造模导致的小胶质细胞激活,抑制炎性细胞因子的释放,同时改善小鼠认知功能损伤。因此,LPS需要与TLR4结合,才能有效激活小胶质细胞,介导神经炎症。本研究结果显示,连续7 d ip LPS通过上调TLR4表达,激活小胶质细胞,介导NLRP3与cleaved-Caspase-1表达升高,造成小鼠脑组织中炎性细胞因子表达升高;红景天苷预防给药则显著下调了TLR4表达,抑制了小胶质细胞激活。

本研究表明,红景天苷对于炎症相关抑郁症具有显著的改善作用,其机制在于通过TLR4调节小胶质细胞激活,逆转NLRP3与cleaved-Caspase-1表达升高,减少脑组织中IL-6与TNF- α 释放,降低血液中IL-6与TNF- α 水平,为红景天苷用于临床治疗抑郁症提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wang J Z, Yang C X, Liu Z F, et al. Association of the TLR4 gene with depressive symptoms and antidepressant efficacy in major depressive disorder [J]. *Neurosci Lett*, 2020, 736: 135292.
- [2] Enache D, Pariante C M, Mondelli V. Markers of central inflammation in major depressive disorder: A systematic review and meta-analysis of studies examining cerebrospinal fluid, positron emission tomography and post-mortem brain tissue [J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 81: 24-40.
- [3] Kohler C A, Freitas T H, Maes M, et al. Peripheral cytokine and chemokine alterations in depression: A meta-analysis of 82 studies [J]. *Acta Psychiatr Scand*, 2017, 135(5): 373-387.
- [4] Emanuele F O, Toby P, Irene M R, et al. Inflammatory markers in depression: A Meta-analysis of mean differences and variability in 5,166 patients and 5,083 controls [J]. *Brain Behav Immun*, 2020, 87: 901-909.
- [5] 张明发, 沈雅琴. 红景天苷的神经保护作用及作用机制研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2017, 40(7): 1019-1028.
Zhang M F, Shen Y Q. Research progress on neuroprotective effect and mechanism of salidroside [J]. *Drug Eval Res*, 2017, 40(7): 1019-1028.
- [6] 蔡静, 黄文静, 刘时喜, 等. 基于TGF- β 1/Smad3信号探讨红景天苷对缺血性脑卒中大鼠的神经保护作用机制 [J]. *中草药*, 2020, 51(24): 6294-6301.
Cai J, Huang W J, Liu S X, et al. Study on neuroprotective mechanism of salidroside after ischemic stroke based on TGF- β 1/Smad3 signaling pathway [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2020, 51(24): 6294-6301.
- [7] Zhang J, Zhen Y F, Song L G, et al. Salidroside attenuates beta amyloid-induced cognitive deficits via modulating oxidative stress and inflammatory mediators in rat hippocampus [J]. *Behav Brain Res*, 2013, 244: 70-81.
- [8] Hung Y Y, Kang H Y, Huang K W, et al. Association between toll-like receptors expression and major depressive disorder [J]. *Psychiatry Res*, 2014, 220(1-2): 283-286.
- [9] Guo L T, Wang S Q, Su J, et al. Baicalin ameliorates neuroinflammation-induced depressive-like behavior through inhibition of toll-like receptor 4 expression via the PI3K/AKT/FoxO1 pathway [J]. *J Neuroinflamm*, 2019, 16(1): 95.
- [10] Lai W F, Xie X L, Zhang X Q, et al. Inhibition of complement drives increase in early growth response proteins and neuroprotection mediated by salidroside

- after cerebral ischemia [J]. *Inflammation*, 2018, 41(2): 449-463.
- [11] Liliya V V, Kremena E S, Mariya V I, et al. Antidepressant-like effect of salidroside and curcumin on the immunoreactivity of rats subjected to a chronic mild stress model [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 121: 604-611.
- [12] 庞从妃, 朱碧仪, 蓝雪丹, 等. 慢性应激大鼠抑郁症模型的建立 [J]. *右江民族医学院学报*, 2016, 38(4): 355-358.
Pang C F, Zhu B Y, Lan X D, et al. Establishment of chronic stress rat model of depression [J]. *J Youjiang Med Univ*, 2016, 38(4): 355-358.
- [13] Song M T, Ruan J, Zhang R Y, et al. Astragaloside IV ameliorates neuroinflammation-induced depressive-like behaviors in mice via the PPAR γ /NF- κ B/NLRP3 inflammasome axis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39 (10): 1559-1570.
- [14] 高娜娜, 李帅琦, 金增亮. 莲心碱对抑郁症模型小鼠的抗抑郁作用 [J]. *神经疾病与精神卫生*, 2016, 16(4): 459-461.
Gao N N, Li S Q, Jin Z L. Antidepressant activity of liensinine to depression model mice [J]. *J Neurosci Ment Health*, 2016, 16(4): 459-461.
- [15] 郑雨秋, 廖旺, 范胜诺, 等. 神经妥乐平对LPS刺激后小胶质细胞炎症因子及Toll样受体表达的干预效应 [J]. *国际医药卫生导报*, 2018, 9: 1311-1317.
Zhen Y Q, Liao W, Fang S N, et al. The interventional effects of neurotropin on the expression of inflammatory cytokines and Toll-like receptors in LPS-induced microglial cells [J]. *Int Med Health Guid News*, 2018, 24 (9): 1311-1317.
- [16] Tanaka K A, Kurihara S, Shibakusa T, et al. Cystine improves survival rate in LPS-induced sepsis mouse model [J]. *Clin Nutr*, 2015, 34(6): 1159-1165.
- [17] Jiang X, Chen L, Shen L L, et al. Trans-astaxanthin attenuates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and depressive-like behavior in mice [J]. *Brain Res*, 2016, 1649(A): 30-37.
- [18] 于连婷, 杨丽恒, 马莹慧. 长白山红景天黄酮类成分的提取纯化及药理活性研究进展 [J]. *吉林医药学院学报*, 2019, 40(4): 291-293.
Yu L T, Yang L H, Ma Y H. Research progress on extraction, purification and pharmacological activity of flavonoids from *Rhodiola* from Changbai Mountain [J]. *Jilin Med Univ*, 2019, 40(4): 291-293.
- [19] Hu R, Wang M Q, Ni S H, et al. Salidroside ameliorates endothelial inflammation and oxidative stress by regulating the AMPK/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway in AGEs-induced HUVECs [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 867: 172797.
- [20] Wang H L, Li Q Q, Sun S, et al. Neuroprotective effects of salidroside in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2020, 7: 1133-1142.
- [21] Kéri S, Szabó C, Kelemen O. Expression of Toll-Like Receptors in peripheral blood mononuclear cells and response to cognitive-behavioral therapy in major depressive disorder [J]. *Brain Behav Immun*, 2014, 40: 235-243.
- [22] Gárate I, García-Bueno B, Madrigal J L, et al. Toll-like 4 receptor inhibitor TAK-242 decreases neuroinflammation in rat brain frontal cortex after stress [J]. *J Neuroinflamm*, 2014, 11: 8.
- [23] Fu S N, Wang J T, Hao C G, et al. Tetramethylpyrazine ameliorates depression by inhibiting TLR4-NLRP3 inflammasome signal pathway in mice [J]. *Psychopharmacology*, 2019, 236(7): 2173.
- [24] Lambuk L, Jafri A J A, Arfuzir N N N. Neuroprotective effect of magnesium acetyltaurate against NMDA-induced excitotoxicity in rat retina [J]. *Neurotox Res*, 2017, 31(1): 31-45.
- [25] Sun H, Yu X, Wu J W, et al. The P2X7 receptor in activated microglia promotes depression- and anxiety-like behaviors in lithium -pilocarpine induced epileptic rats [J]. *Neurochem Int*, 2020: 104773.
- [26] Holtman I R, Divya D, Miller J A, et al. Induction of a common microglia gene expression signature by aging and neurodegenerative conditions: a co-expression meta-analysis [J]. *Acta Neuropathol Com*, 2015, 3(1): 1-18.
- [27] Hu P L, Wang D, Zhang Y R, et al. Apoptosis-triggered decline in hippocampal microglia mediates adolescent intermittent alcohol exposure-induced depression-like behaviors in mice [J]. *Neuropharmacology*, 2020, 170: 108054.
- [28] Liu Y, Daiab Y, Liab Q, et al. Beta-amyloid activates NLRP3 inflammasome via TLR4 in mouse microglia [J]. *Neurosci Lett*, 2020, 736:135279.

[责任编辑 兰新新]