

五味子乙素对慢性应激抑郁大鼠海马 BDNF/TrkB/CREB 通路的影响

王 钦，蔡萧君^{*}，吴圆圆，李 宇，王 彤，余真真，李文丽

黑龙江省中医药科学院，黑龙江 哈尔滨 150000

摘要：目的 研究五味子乙素对慢性应激抑郁大鼠海马脑源性神经营养因子（BDNF）/酪氨酸激酶B（TrkB）/环磷腺苷效应元件结合蛋白（CREB）信号通路的影响。方法 40只SD大鼠随机选择10只作为对照组，其余大鼠采用慢性不可预知温和应激（chronic unpredictable mild stress, CUMS）结合孤养制备抑郁症模型，造模结束后随机分为3组：模型组、盐酸氟西汀（3 mg·kg⁻¹）组、五味子乙素（5 mg·kg⁻¹）组，每天ig给药1次，连续8周。分别于造模前、造模后及给药后进行旷场、悬尾、强迫游泳行为学实验；通过苏木素-伊红（HE）染色观察大鼠海马形态学改变；免疫组织化学染色（IHC）法观察大鼠海马 BDNF 蛋白表达；实时荧光定量PCR（qRT-PCR）法检测大鼠海马 BDNF、TrkB、CREB mRNA 相对表达量；Western blotting 检测大鼠海马 BDNF、TrkB、CREB 蛋白相对表达量。结果 与对照组比较，模型组大鼠旷场实验水平、垂直得分显著降低（ $P < 0.05$ ），悬尾不动时间和强迫游泳漂浮时间显著增加（ $P < 0.05$ ）；HE 染色结果显示海马神经元结构损伤，IHC 结果显示海马 BDNF 表达明显降低；海马 BDNF、TrkB、CREB mRNA 及蛋白相对表达显著降低（ $P < 0.05$ ）。与模型组比较，盐酸氟西汀及五味子乙素组大鼠水平、垂直得分显著增加（ $P < 0.05$ ），不动时间和漂浮时间显著减少（ $P < 0.05$ ）；海马神经元结构明显复原，海马组织中 BDNF 染色明显增加；BDNF、TrkB、CREB mRNA 和蛋白相对表达量显著增加（ $P < 0.05$ ）。结论 五味子乙素可以改善慢性应激抑郁大鼠抑郁样行为、海马区神经元数量及形态，其机制可能与上调 BDNF/TrkB/CREB 信号通路有关。

关键词：五味子乙素；抑郁；慢性不可预知温和应激；海马；脑源性神经营养因子（BDNF）/酪氨酸激酶B（TrkB）/环磷腺苷效应元件结合蛋白（CREB）

中图分类号：R285.5 文献标志码：A 文章编号：1674-6376（2022）05-0895-07

DOI：10.7501/j.issn.1674-6376.2022.05.011

Effects of schisandrin B on hippocampal BDNF/TrkB/CREB pathway in rats with chronic stress depression

WANG Qin, CAI Xiaojun, WU Yuanyuan, LI Yu, WANG Tong, YU Zhenzhen, LI Wenli

Traditional Chinese Medicine Academy of Heilongjiang, Harbin 150000, China

Abstract: **Objective** To study the effect of schisandrin B on the hippocampal brain-derived neurotrophic factor (BDNF)/tyrosine kinase B (TrkB)/cyclic adenosine phosphate response element binding protein (CREB) signaling pathway in rats with chronic stress depression. **Method** Among 40 SD rats, 10 were selected as control group, and the remaining 30 rats were randomly divided into three groups after establishing the chronic stress depression rat model, namely the model group and the fluoxetine hydrochloride group (3 g·kg⁻¹)，schisandrin B group (5 g·kg⁻¹)。The rats were given by ig administration for eight weeks, once a day. Behavioral experiments were performed to evaluate the depression state of the rats before modeling, after modeling and after the injection. The hematoxylin-eosin staining (HE) was used to observe the morphological changes in hippocampus of rats. The immunohistochemical staining (IHC) was used to quantitatively detect BDNF protein expression in rat hippocampus; the real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR) method was used to quantitatively detect the relative expression of BDNF, TrkB, CREB mRNA in rat hippocampus, and Western blotting was used to quantitatively detect the relative expression of BDNF, TrkB, and CREB protein in rat hippocampus. **Results** Compared with control group, the horizontal and vertical scores, immobility time and floating time were significantly increased in model group ($P < 0.05$). HE staining results showed that hippocampal neuron structure was damaged.

收稿日期：2022-01-06

基金项目：黑龙江省应用技术研究与开发计划项目(GA19C108)

第一作者：王 钦，在读硕士，从事中西医结合内分泌研究。E-mail:2628846034@qq.com

*通信作者：蔡萧君，博士，主任医师，从事中西医结合内分泌伴躯体性疾病研究。E-mail:ssycxj@163.com

Immunohistochemical staining showed that the expression of BDNF was significantly decreased ($P < 0.05$), and the mRNA and protein expressions of BDNF, TrkB and CREB were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with model group, the horizontal and vertical scores were significantly increased and the immobility time and floating time were significantly decreased in fluoxetine hydrochloride group and schisandrin B group ($P < 0.05$), and the hippocampal neuron structure was significantly recovered. Immunohistochemical staining showed that the expression of BDNF was significantly increased ($P < 0.05$), and the mRNA and protein expressions of BDNF, TrkB and CREB were significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Schisandrin B can significantly improve the depression-like behavior of rats after chronic stress stimulation and enhance the regeneration and repair of neurons in the hippocampus, and the mechanism may be related to the up-regulation of the BDNF/TrkB/CREB signaling pathway in the hippocampus of rats.

Key words: schisandrin B; depression; chronic unpredictable mild stress; hippocampus; brain-derived neurotrophic factor (BDNF)/tyrosine kinase B (TrkB)/cyclic adenosine phosphate response element binding protein (CREB)

抑郁症是世界范围内的一种常见疾病,据2014年世界卫生组织的报告显示,估计有3.5亿各个年龄段的人受抑郁症困扰,并且该病也是造成全球总体疾病负担的主要因素^[1]。抑郁症是一种异质性综合症,会导致幸福感缺失,甚至产生轻生念头^[2]。抑郁症的发病机制十分复杂,其中单胺类神经递质的量的不足或功能降低仍是目前被广泛接受的假说^[3]。近年来,基于脑源性神经营养因子(BDNF)的神经营养假说逐渐被研究人员广泛关注,BDNF在海马大量表达,是5-羟色胺(5-HT)能神经元的生长因子,能够与其特异性受体酪氨酸激酶B(TrkB)结合,磷酸化细胞内环磷腺苷效应元件结合蛋白(CREB)从而改善抑郁症状^[4]。

五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 是一味临床常用中药,具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心等作用^[5]。研究表明五味子提取物在抗抑郁中发挥重要作用^[6],其中五味子乙素已被证明可以通过增加抑郁大鼠单胺类神经递质的分泌、抑制炎症反应及氧化应激反应,从而改善抑郁行为^[7],还有研究表明五味子乙素使血清素、血清素受体和BDNF的表达水平增加而发挥抗抑郁作用^[8],但具体机制尚未完全阐明。本研究以慢性应激刺激建立抑郁大鼠模型,对五味子乙素改善模型动物抑郁行为及其潜在机制进行探讨。

1 材料

1.1 实验动物

40只SPF级SD雄性大鼠,体质量(200±20)g,8周龄,购于哈尔滨医科大学实验动物部,实验动物生产许可证号SCXK(黑)2020-0001。动物实验通过黑龙江省中医药科学院动物伦理委员会批准。

1.2 药物及主要试剂

盐酸氟西汀分散片(法国礼来公司,批号9492AA,每片20 mg);五味子乙素(成都普菲德公

司,批号19112705,每瓶22 mg,质量分数≥98%)。

苏木色精、伊红染液(Solarbio公司,货号分别为H8070、E8080);超敏ECL化学发光试剂盒(万类生物科技公司,货号WLA006a);一步法PCR试剂盒(Promega公司,货号A6020);Trizol(Yingjie Life Technology Co. Ltd.,货号R0016);Bradford法蛋白检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号W0421);PMSF蛋白酶抑制剂(赛默飞世尔科技有限公司,货号P0100);BSA标准蛋白(索莱宝生物有限公司,货号H1130);彩虹蛋白Marker(索莱宝生物有限公司,货号PR1920);PVDF膜(Biosharp公司,货号IPVH00010);SDS-PAGE凝胶制备试剂盒(北京Solarbio公司,货号P1200);BDNF、TrkB、CREB、β-肌动蛋白(β-actin)的原代抗体(美国Bioss公司,货号分别为DF6387、AF6461、AF6188、AH11286487);过氧化物酶结合山羊抗兔IgG(H+L)(北京中杉金桥生物技术有限公司,货号ZB-230)。

1.3 主要仪器

JA31002型电子精密天平(上海舜宇恒平);BX41-DP72显微镜(Olympus公司);CUT4062型石蜡切片机(德国SLEE公司);LINEGENE 9600荧光定量PCR仪(日本大和博日公司);M200多功能酶标仪(奥地利TECAN公司);DYCP-31DN电泳仪、DYZC-26B垂直电泳槽、DYY-6C型电泳仪电源(北京六一生物科技有限公司);HD-100恒温金属浴(杭州博日公司);Quantity One软件、ACDSee 5.0软件、VersaDoc显影仪器(BIO-RAD公司);凝胶成像系统(美国伯乐公司);Anilab软件、玻璃桶(30 cm×40 cm×5 mm)、悬尾仪、摄像头(江苏赛昂斯生物科技有限公司);自制敞箱(100 cm×100 cm×40 cm);超声波清洗机、生物安全柜、脱色摇床、立式压力蒸汽灭菌器离心机、水浴锅、EP管、移液枪、枪头及动

物饲料由黑龙江省中医药科学院动物实验中心提供。

2 方法

2.1 实验动物造模、分组及给药

采用慢性不可预知温和应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)结合孤养造模,具体造模方法、给药标准参照本课题组前期实验^[7,9]。予以悬尾3 min、禁水24 h、禁食24 h、夹尾1 min、昼夜颠倒24 h、电击1 min、4 °C冰水游泳5 min等7种刺激方法(期间应激刺激每天施加1次,每种至少随机施加4次,使之无法预测下一次压力的类型和时间),共安排6周。每只大鼠单独1笼以不透光挡板遮挡以建立孤养环境。抑郁模型制备完成后,30只模型大鼠按体质量随机分为模型组、盐酸氟西汀(3 mg·kg⁻¹)组、五味子乙素(5 mg·kg⁻¹)^[7]组,每组各10只,对照组不造模。ig给药,连续给药8周,通过旷场实验、悬尾实验、强迫游泳实验等对各组大鼠行为表现进行观察和评分。

2.2 旷场实验

分别于造模前、造模后、给药后进行,采用摄像机及Anilab软件记录分析各大鼠在箱内的运动情况,记录时间为5 min,整个过程中保证环境安静,每只大鼠测试完成后使用75%乙醇清洁设备。观察每只大鼠规定时间内的运动轨迹和行为,计算大鼠水平活动得分(以穿越底面方格数为准)、垂直活动得分(为前肢腾空或攀附在箱壁次数为准)。

2.3 悬尾实验

分别于造模前、造模后、给药后进行,用医用胶布将大鼠尾部距末端约1/3处缠绕固定于悬尾仪上,使大鼠呈倒挂状态,用聚苯乙烯泡沫隔板隔离各大鼠,采用悬尾仪及摄像头观察并记录大鼠在5 min内^[10]不动时间。

2.4 强迫游泳实验

分别于造模前、造模后、给药后进行,在透明玻璃桶中加水(20±2)°C至30 cm处,将大鼠单独且平稳放入水中,使用摄像机及行为学分析软件记录5 min内大鼠漂浮时间(以四肢偶尔微小滑动,保持头部浮在水面,露出鼻孔保持呼吸为“漂浮”标准),各玻璃桶间用隔板隔离,每只动物测试完成后换水并将其擦干。

2.5 苏木素-伊红(HE)染色观察海马组织形态

行为学实验结束后,取大鼠脑组织放入4%多聚甲醛磷酸盐缓冲液固定24 h,制成蜡块并进行切片,后脱蜡、水化。苏木精染色,自来水清洗,置于

盐酸乙醇分化,并用纯水冲洗。乙醇伊红染色,纯水冲洗。再脱水,分别放入二甲苯I、II中透明。将切片取出,于组织上滴加中性树脂,盖上盖玻片,用cellSens软件及高倍显微镜(×200)拍照观察海马形态学变化。

2.6 免疫组织化学染色(IHC)分析海马区BDNF蛋白的表达

取脑切片,PBS缓冲液冲洗,H₂O₂阻断内源性过氧化氢酶,枸橼酸缓冲液进行抗原修复,滴加一抗BDNF(1:100),4 °C孵育过夜,PBS冲洗后分别滴加反应增强液、二抗,DAB染色,封片。用cellSens软件及高倍显微镜(×400)观察BDNF表达情况^[9]。

2.7 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)法检测大鼠海马组织BDNF、TrkB、CREB mRNA水平

行为学实验结束后,收集各组大鼠海马组织,加入TRIzol试剂提取总RNA,经M200多功能酶标仪检测浓度后,选取纯度为1.9~2.0的RNA提取液稀释至100 ng·μL⁻¹。实验反应体系:1 μL组织RNA,上下游引物各1 μL,17 μL反应液(按照试剂盒说明书配制)。扩增条件为:95 °C、10 min,95 °C、10 s,60 °C、30 s,72 °C、30 s,40个循环;熔解曲线分析:95 °C 10 s、台阶采样、台阶温度0.5 °C。引物由上海生工生物工程(上海)股份有限公司合成,序列见表1。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequence

基因	引物序列	长度/bp
BDNF F:5'-TAGGCAGAATGAGCAATGTC-3'		178
R:5'-CCCAAGAGGTAAAGTGTAGAACG-3'		
TrkB F:5'-TGCTCAAGTTGGCGAGACAT-3'		304
R:5'-GTCCCAGGAGTTAGCTCAC-3'		
CREB F:5'-TGTTGTTCAAGCTGCCCTGGTG-3'		126
R:5'-GCTTCTTCAGCAGGCTGTGTAGG-3'		
GAPDH:5'-AGGAAATGATGACCTCCTGAAC-3'		79
R:5'-TGTTTTGTAAGTATCTGGTGCCT-3'		

2.8 Western blotting检测大鼠海马组织中BDNF、TrkB、CREB蛋白表达

行为学实验结束后,将大鼠脑组织中的皮层和海马组织分离后放入-80 °C保存。①提取蛋白:取单个样本50 mg海马组织于1.5 mL EP管中,加入450 μL细胞裂解液,置于研磨机中(研磨120 s,60 Hz,中断60 s),直至无肉眼可见组织块。在静置于冰上

30 min 经电子秤配平后, 放入已经预冷4 °C的离心机中13 500 r·min⁻¹离心30 min, 取上清分装; ②测蛋白浓度: 在EP管中将2 μL上清与38 μL裂解液混匀, 取16 μL加入到800 μL的稀释A液(纯水16 mL与蛋白定量溶液A 4 mL混匀后滤纸过滤)中即为蛋白定量工作液, 涡旋30 s后, 将蛋白定量工作液加入96孔板, 每孔加200 μL, 平行3次后, 置于酶标仪进行蛋白样品浓度测定; ③进行清洗玻璃板、制胶、配药(目的蛋白加loading buffer水浴后-80 °C冷藏过夜)、上样、电泳、转膜、封闭、抗体孵育、化学发光显影等操作。

2.9 统计学分析

采用SPSS 26.0统计软件进行数据分析, 2组计

量资料如符合正态分布, 方差齐则采用t检验, 方差不齐采用t'检验, 用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多于3组的数据(包括3组)的比较采用单因素方差分析; 非正态分布时采用秩和检验, 以中位数(四分位数)即M(P25, P75)表示。

3 结果

3.1 对抑郁大鼠旷场实验水平和垂直得分的影响

与对照组比较, 造模后模型组大鼠水平得分和垂直得分均显著降低($P < 0.05$); 与模型组比较, 经盐酸氟西汀、五味子乙素给药治疗后, 各给药组水平得分和垂直得分均显著升高($P < 0.05$)。结果见表2。

表2 五味子乙素对抑郁大鼠旷场实验水平得分和垂直得分的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of schisandrin B on horizontal score and vertical score in rat mine experiment ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	水平得分			垂直得分		
		造模前	造模后	给药后	造模前	造模后	给药后
对照		60.82±4.50	60.43±2.97	60.12±2.84	17.07±1.72	16.68±1.93	16.91±1.74
模型		60.57±1.96	46.11±1.81*	46.19±1.37*	16.95±1.81	6.37±2.01*	6.65±2.09*
盐酸氟西汀	3	60.18±2.12	45.95±1.99	50.39±1.94#	17.08±1.69	6.45±2.06	12.24±1.56#
五味子乙素	5	60.49±1.62	46.17±2.07	52.15±1.83#	16.91±1.67	6.44±1.97	13.57±1.15#

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

3.2 对抑郁大鼠悬尾实验不动时间的影响

与对照组比较, 造模后模型组大鼠悬尾不动时间显著增加($P < 0.05$); 与模型组比较, 经盐酸氟西汀、五味子乙素给药治疗后, 各给药组悬尾不动时间显著减少($P < 0.05$)。结果见表3。

3.3 对抑郁大鼠强迫游泳实验漂浮时间的影响

与对照组比较, 造模后模型组大鼠游泳漂浮时间显著增加($P < 0.05$); 与模型组比较, 经盐酸氟西汀、五味子乙素给药治疗后, 各给药组游泳漂浮时间显著减少($P < 0.05$)。见表4。

表3 五味子乙素对抑郁大鼠悬尾实验不动时间的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of schisandrin B on immobility time of rats' tail suspended ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	不动时间/s		
		造模前	造模后	给药后
对照	—	62.16±1.17	63.02±1.03	63.18±0.97
模型	—	61.24±2.15	119.91±2.24*	120.12±2.15*
盐酸氟西汀	3	62.47±0.97	120.02±1.66	83.47±2.04#
五味子乙素	5	61.81±1.57	119.90±1.59	81.41±2.19#

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4 五味子乙素对抑郁大鼠强迫游泳实验漂浮时间的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Effect of schisandrin B on floating time of depressed rats in forced swimming experiment ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	漂浮时间/s		
		造模前	造模后	给药后
对照	—	85.15±16.20	85.42±13.24	85.67±17.41
模型	—	84.93±15.81	254.17±17.64*	255.52±18.20*
盐酸氟西汀	3	84.92±14.70	259.21±16.01	135.84±11.79#
五味子乙素	5	85.07±11.68	257.38±15.47	134.96±11.31#

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

3.4 对抑郁大鼠海马组织病理形态学的影响

对照组大鼠海马区组织显微结构正常, 神经细胞形态结构正常, 排列整齐, 细胞质饱满, 细胞核清晰; 造模后, 模型组神经细胞数目相对减少, 体积变小, 细胞核出现皱缩; 给药后, 与模型组比较, 五味子乙素组和盐酸氟西汀组大鼠神经细胞数目减少、体积变小、细胞核皱缩情况均有不同程度减轻, 其中五味子乙素组改善明显。结果见图1。

3.5 对海马组织中BDNF定位表达的影响

与对照组比较, 模型组BDNF表达明显减少; 与模型组比较, 盐酸氟西汀、五味子乙素组BDNF表达明显增多。结果见图2。

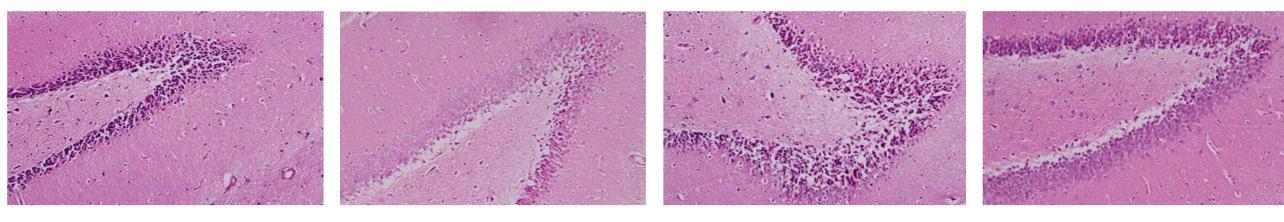


图1 五味子乙素对抑郁大鼠海马组织病理学的影响(HE, ×200)

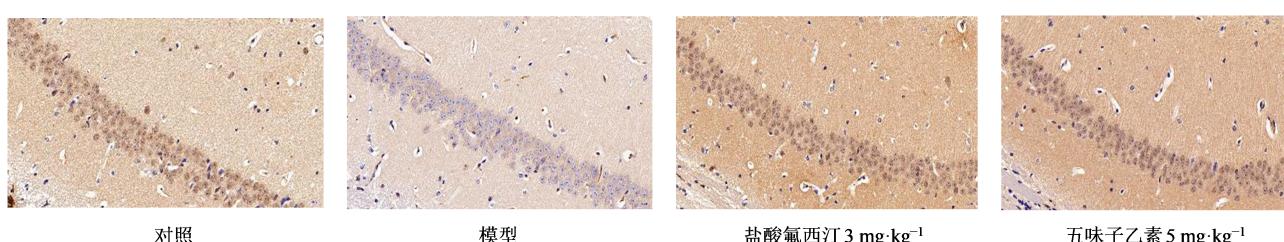
Fig. 1 Effect of schisandrin B on pathological changes of hippocampus in depressed rats (HE, $\times 200$)

图2 五味子乙素对抑郁大鼠海马组织中 BDNF 表达的影响(IHC, ×400)

Fig. 2 Effect of schisandrin B on BDNF expression in hippocampus of depressed rats (IHC, $\times 400$)

3.6 对抑郁大鼠海马组织中 BDNF、TrkB、CREB mRNA 表达的影响

与对照组比较,模型组大鼠海马组织中 BDNF、TrkB、CREB mRNA 表达显著降低($P<0.05$);与模型组比较,盐酸氟西汀、五味子乙素组大鼠海马组织中 BDNF、TrkB、CREB mRNA 表达显著升高($P<0.05$)。结果见表 5。

3.7 对抑郁大鼠海马组织中 BDNF、TrkB、CREB 蛋白表达的影响

与对照组比较,模型组大鼠海马组织中 BDNF、TrkB、CREB 蛋白表达显著降低($P<0.05$);与模型组比较,盐酸氟西汀、五味子乙素组大鼠海马组织中 BDNF、TrkB、CREB 蛋白表达显著升高($P<0.05$)。结果见图 3 和表 6。

表5 五味子乙素对抑郁大鼠海马 BDNF、TrkB、CREB mRNA 表达的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 5 Effect of schisandrin B on relative expression of BDNF, TrkB, and CREB mRNA in hippocampus of depressed rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	BDNF/GAPDH	TrkB/GAPDH	CREB/GAPDH
对照	—	1.00±0.04	1.00±0.06	1.02±0.07
模型	—	0.86±0.05*	0.85±0.10*	0.87±0.03*
盐酸氟西汀	3	2.63±0.07 [#]	1.21±0.08 [#]	1.06±0.03 [#]
五味子乙素	5	2.95±0.02 [#]	1.17±0.09 [#]	1.03±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

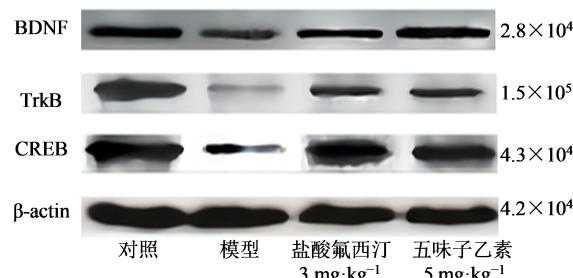


图3 大鼠海马 BDNF、TrkB、CREB 蛋白表达电泳
Fig. 3 Electrophoresis of BDNF, TrkB, and CREB protein expression in hippocampus of rats

表6 五味子乙素对抑郁大鼠海马组织 BDNF、TrkB、CREB 蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 6 Effect of schisandrin B on expression of BDNF, TrkB, CREB protein in hippocampus of depressed rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	BDNF/β-actin	TrkB/β-actin	CREB/β-actin
对照	—	1.07±0.03	1.03±0.06	1.06±0.05
模型	—	0.55±0.04*	0.51±0.11*	0.54±0.04*
盐酸氟西汀	3	1.01±0.06 [#]	0.88±0.02 [#]	1.17±0.05 [#]
五味子乙素	5	1.05±0.04 [#]	0.87±0.08 [#]	1.04±0.03 [#]

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

4 讨论

BDNF 信号通路是与抑郁发病机制相关的研究热点,目前仍与抗抑郁药作用机制的研究密切联系^[11]。此外,大量的实验证据支持 BDNF 主要通过

与TrkB结合,导致TrkB酪氨酸残基的自磷酸化以及下游信号分子的激活来减轻抑郁症状,包括已知磷酸化CREB的细胞外调节蛋白激酶1/2(ERK1/2)^[12]。并且全长的TrkB自磷酸化在BDNF激活时调节ERK,这也可能增加cAMP并激活CREB调节的基因转录,这种机制进一步促进了BDNF的转录^[13]。不仅如此,BDNF/TrkB还可以激活胞内磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路正反馈促进BDNF产生^[14-15],并破坏糖原合成酶激酶-3(GSK-3)磷酸化从而降低实验动物抑郁的倾向^[16-17]。

研究表明五味子提取物可通过调节小鼠BDNF水平和提高脑内多巴胺和5-HT水平,还可通过上调TrkB/CREB/ERK和PI3K/Akt/GSK-3通路来改善抑郁症^[11]。由于中药成分复杂,可过多靶点、多环节治疗抑郁,不同中药提取成分作用机制也不尽相同,具体起主要抗抑郁作用的成分仍需深入研究。本实验选择了较合适的动物模型^[18-19]为五味子乙素治疗抑郁的机制提供更多佐证。

CUMS结合孤养模式复制抑郁大鼠模型的制备方法可导致抑郁行为产生(如快感缺乏、自发和探索行为减少等),BDNF/TrkB/CREB信号通路受损、单胺类神经递质减少及海马神经元损伤等,与抑郁症患者存在高度相似性^[20]。旷场实验、悬尾实验、强迫游泳实验可用于评价应激性抑郁模型的表面效度,BDNF、TrkB、CREB等水平可用于检测模型的结构效度^[21-22]。

本研究分别于造模前、造模后、给药后进行旷场实验、悬尾实验、强迫游泳实验,以验证各给药组抗抑郁效果。结果发现,经盐酸氟西汀、五味子乙素干预后,抑郁大鼠旷场实验中水平得分、垂直得分均显著增加,悬尾实验不动时间、强迫游泳实验漂浮时间均显著减少,说明盐酸氟西汀、五味子乙素可通过改善绝望行为发挥抗抑郁作用,这与本课题组前期研究结果一致^[7]。HE染色发现,药物干预后,抑郁大鼠海马锥体细胞排列规整,细胞体积较大,偶有胞核深染,表明盐酸氟西汀、五味子乙素抗抑郁机制可能与改善海马区神经元数量及形态有关。IHC结果表明,药物干预后大鼠海马组织中BDNF表达水平明显升高;qRT-PCR结果表明,药物干预后大鼠海马组织中BDNF、TrkB、CREB mRNA相对表达水平显著增加;Western blotting检测结果表明,药物干预后大鼠海马组织中BDNF、TrkB、CREB相对蛋白表达量显著增加,表明盐酸氟西汀、

五味子乙素可能是通过上调抑郁大鼠海马BDNF、TrkB、CREB水平参与抗抑郁过程。

本研究结果表明,五味子乙素可以改善抑郁样行为、海马区神经元数量及形态,其机制可能与上调BDNF/TrkB/CREB信号通路有关,为靶向抗抑郁治疗提供了更多选择方案,但目前关于五味子乙素发挥抗抑郁作用其他内在途径仍需进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Smith K. Mental health: A world of depression [J]. Nature, 2014, 515(7526): 181.
- [2] Kim J L, Cho J, Park S, et al. Depression symptom and professional mental health service use [J]. BMC Psychiatry, 2015, 15: 261.
- [3] 高贵元, 黄捷, 刘丹, 等. 抑郁症的发病机制及抗抑郁药物的研究进展 [J]. 中国医药导报, 2021, 18(1): 52-55, 70.
- [4] Gao G Y, Huang J, Liu D, et al. The pathogenesis of depression and the research progress of antidepressants [J]. China Med Her, 2021, 18(1): 52-55, 70.
- [5] 瑶李亮, 曹月, 赵炳佳, 等. BDNF/TrkB与抑郁症的研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(9): 1014-1017.
- [6] Ju L L, Cao Y, Zhao B J, et al. Research progress of BDNF/TrkB and depression [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2021, 30(9): 1014-1017.
- [7] 中国药典 [S]. 一部. 2020.
- [8] Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.
- [9] 安继东, 郭旭彤, 陈分乔, 等. 近5年中药治疗抑郁症及其作用机制研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(8): 139-142.
- [10] An J D, Guo X T, Chen F Q, et al. Research progress in the treatment of depression and its mechanism of action by traditional Chinese medicine in recent 5 years [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2020, 22(8): 139-142.
- [11] 蔡萧君, 颜彦鹏, 陆振华, 等. 五味子乙素对抑郁模型大鼠海马神经递质含量、炎症及氧化应激程度的影响 [J]. 海南医学院学报, 2019, 25(15): 1125-1129.
- [12] Cai X J, Xie Y P, Lu Z H, et al. Effects of schisandrin B on neurotransmitter contents, inflammation and oxidative stress in Hippocampus of depression model rats [J]. J Hainan Med Univ, 2019, 25(15): 1125-1129.
- [13] Yeh C H, Lin M W, Lin H C. Anti-neuroinflammation and antidepressant effects of Schisandrin B in mice [J]. FASEB J, 2013, 27: 1099.5.
- [14] 颜彦鹏. 基于5-HT2AR、CaMKIIα表达变化研究柴胡

- 加龙骨牡蛎汤抗抑郁机制 [D]. 哈尔滨: 黑龙江省中医药科学院, 2020.
- Xie Y P. Study on the antidepressant mechanism of Chaihu Jia Longgu Muli Decoction based on the expression changes of 5-HT2AR and CaMK II α [D]. Harbin: Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine, 2020.
- [10] 李宇, 蔡萧君, 王钦, 等. 巴戟天对慢性应激大鼠肠道微生物代谢多样性的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29(2): 55-62.
- Li Y, Cai X J, Wang Q, et al. Effects of *Morinda Officinalis Radix* on intestinal microbial metabolic diversity in chronic stress rats [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2022, 29(2): 55-62.
- [11] Yan T X, He B S, Wan S T, et al. Antidepressant-like effects and cognitive enhancement of *Schisandra chinensis* in chronic unpredictable mild stress mice and its related mechanism [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 6903.
- [12] Lin P P, Wang C, Xu B, et al. The VGF-derived peptide TLQP62 produces antidepressant-like effects in mice via the BDNF/TrkB/CREB signaling pathway [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2014, 120: 140-148.
- [13] He Q S, Wang S X, Liu X L, et al. Salvianolate lyophilized injection promotes post-stroke functional recovery via the activation of VEGF and BDNF-TrkB-CREB signaling pathway [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8 (1): 108-122.
- [14] Cazorla M, Prémont J, Mann A, et al. Identification of a low-molecular weight TrkB antagonist with anxiolytic and antidepressant activity in mice [J]. J Clin Invest, 2011, 121(5): 1846-1857.
- [15] Wu C H, Hung T H, Chen C C, et al. Post-injury treatment with 7, 8-dihydroxyflavone, a TrkB receptor agonist, protects against experimental traumatic brain injury via PI3K/Akt signaling [J]. PLoS One, 2014, 9 (11): e113397.
- [16] Ludka F K, Constantino L C, Dal-Cim T, et al. Involvement of PI3K/Akt/GSK-3 β and mTOR in the antidepressant-like effect of atorvastatin in mice [J]. J Psychiatr Res, 2016, 82: 50-57.
- [17] Liang Y X, Jing Z Y, Deng H, et al. Soluble epoxide hydrolase inhibition ameliorates proteinuria-induced epithelial-mesenchymal transition by regulating the PI3K-Akt-GSK-3 β signaling pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 463(1/2): 70-75.
- [18] 曲书苑, 庞宝兴. 应激性抑郁动物模型评价方法研究进展 [J]. 实验动物科学, 2019, 36(6): 59-63.
- Qu S Y, Pang B X. Research progress on evaluation methods of stress depression animal models [J]. Lab Animal Sci, 2019, 36(6): 59-63.
- [19] Kraus C, Castrén E, Kasper S, et al. Serotonin and neuroplasticity - links between molecular, functional and structural pathophysiology in depression [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2017, 77: 317-326.
- [20] Yan T X, Xu M J, Wan S T, et al. *Schisandra chinensis* produces the antidepressant-like effects in repeated corticosterone-induced mice via the BDNF/TrkB/CREB signaling pathway [J]. Psychiatry Res, 2016, 243: 135-142.
- [21] Qiao Y J, Zhao J B, Li C, et al. Effect of combined chronic predictable and unpredictable stress on depression-like symptoms in mice [J]. Ann Transl Med, 2020, 8(15): 942.
- [22] Li K W, Yan L, Zhang Y P, et al. Seahorse treatment improves depression-like behavior in mice exposed to CUMS through reducing inflammation/oxidants and restoring neurotransmitter and neurotrophin function [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 250: 112487.

[责任编辑 兰新新]