

## 交泰丸对慢性温和不可预知性应激抑郁模型大鼠炎性细胞因子的影响

梁 如, 殷 佳, 潘 晔, 周好波\*, 高树明\*, 于春泉

天津中医药大学, 天津 300193

**摘 要:** **目的** 探讨交泰丸对慢性温和不可预知性应激 (CUMS) 抑郁模型大鼠致炎、抗炎细胞因子的影响。**方法** 大鼠采用 CUMS 方法制备抑郁模型, 比较体质量变化, 进行糖水消耗实验和开场实验; 并采用酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 测定大鼠血清及海马组织中炎性细胞因子白细胞介素 (IL)-1 $\beta$ 、IL-6、肿瘤坏死因子 (TNF)- $\alpha$ 、IL-4、IL-10 的水平, 尼氏染色法观察大鼠海马神经元形态。**结果** 与对照组比较, 模型组大鼠糖水消耗量、穿越横格数和直立次数均明显减少; 血清及海马内 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-4 明显升高, IL-10 明显降低; 海马神经元分层不清, 排列紊乱, 尼氏体浅染或消失。与模型组比较, 交泰丸给药组大鼠糖水消耗量、穿越横格数和直立次数均明显增加; 血清及海马内 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  明显降低, IL-4、IL-10 明显升高; 海马神经元分层较明显, 尼氏体浅染。**结论** 交泰丸可明显改善大鼠抑郁样行为及海马神经元损伤, 其机制可能与下调血清及海马致炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  和上调抗炎细胞因子 IL-4、IL-10 表达有关。

**关键词:** 交泰丸; 抑郁症; 慢性温和不可预知性应激抑郁模型; 致炎细胞因子; 抗炎细胞因子

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2018)05-1100-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.05.017

## Effects of Jiaotai Pill on inflammatory cytokines in depression model mice with chronic unpredictable mild stress

LIANG Ru, YIN Jia, PAN Ye, ZHOU Hao-bo, GAO Shu-ming, YU Chun-quan

Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

**Abstract:** **Objective** To study the mechanism of Jiaotai Pill on inflammation and anti-inflammatory cytokines in mice with chronic unpredictable mild stress (CUMS) depression. **Methods** Mice were treated with CUMS depression model, then the weight comparison, sugar test, opening experiment was conducted; The levels of IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$ , IL-4, and IL-10 in the serum and hippocampus of rats were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and rat hippocampal neuron morphology was observed by Nissl's staining. **Results** Compared with the blank group, the consumption of sugar, the number of crosses and the number of vertical bars in the model group were significantly decreased; The levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , and IL-4 in serum and hippocampus were significantly higher than those in the blank group, and IL-10 significantly reduced; Hippocampal neurons stratified unclear, arranged disorder, Nissl shallow staining or disappear. Compared with the model group, the consumption of sugar, the number of crosses and the number of vertical bars in Jiaotai Pill administration group were significantly increased; The levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$  in serum and hippocampus were significantly decreased, and the levels of IL-4 and IL-10 was significantly increased; Hippocampal neuronal stratification was more obvious, Nissl shallow staining. **Conclusion** Jiaotai Pill can significantly improve the behavior of rat depression and hippocampal neuronal injury whose mechanism may be related to down-regulation of serum and hippocampus proinflammatory cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , up-regulation of anti-inflammatory cytokines IL-4 and IL-10.

**Key words:** Jiaotai Pill; depression; chronic unpredictable mild stress depression model; proinflammatory cytokines; anti-inflammatory cytokines

抑郁症是一种常见的情感性精神疾病, 随着生活节奏的加快和压力的增加, 近年来其发病率呈逐

年上升趋势, 已成为中国 15~35 岁人群非正常死亡的首要原因<sup>[1]</sup>。临床抑郁症患者主要表现为明显的

收稿日期: 2017-07-01

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81273896)

作者简介: 梁 如 (1992—), 女, 硕士研究生在读, 主要从事中医内科学方向研究。E-mail: 13602061763@163.com

\*通信作者 周好波 E-mail: zhouhaobo23@163.com

高树明 E-mail: shm\_gao6703@163.com

情绪改变,轻者表现为心情不佳、兴趣减退、自责等,伴食欲减退、体质量减轻,重者悲观绝望,常伴有自杀倾向<sup>[2]</sup>。交泰丸组方由黄连肉桂(10:1)组成,黄连性寒、味苦,入心经,可泄心脏火,肉桂性大热,入肾经,温肾助阳,引火归元,两药一寒一热,一上一下,共奏交通心肾,调神定志之。有文献证实,临床中交泰丸对抑郁症心肾不交证、肝肾阴虚证等均有显著疗效<sup>[3-4]</sup>。另有研究显示,黄连中小檗碱<sup>[5]</sup>及肉桂中的肉桂醛、肉桂多酚<sup>[6]</sup>均具有抗抑郁、抗炎作用。本课题组的实验研究<sup>[7-9]</sup>已证实交泰丸可通过影响脑内单胺类神经递质含量,起到抗抑郁作用。为进一步探讨交泰丸的抗抑郁作用机制,本研究观察交泰丸对慢性温和不可预知性应激刺激(CUMS)抑郁模型大鼠血清和海马中致炎细胞因子白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 、IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 及抗炎细胞因子IL-4、IL-10的影响,以及对海马神经元形态的改变,探讨其抗抑郁作用机制,为该方的临床应用及进一步机制研究奠定基础。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

健康 Wistar 雄性大鼠 150 只,体质量 390~410 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证号 SCXK(京)2012-0001。饲养于天津中医药大学实验动物中心,实验前适应性喂养 1 周。

### 1.2 药品

黄连、肉桂均购自安徽省亳州市药材总公司中西药公司,由天津中医药大学中药学院李天祥教授鉴定分别为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch 的干燥根茎及樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮。阳性对照药盐酸氟西汀胶囊(百优解),礼来苏州制药有限公司,批号 4482A,药物使用之前用超纯水配制成混悬液,超声助溶。

### 1.3 主要仪器与试剂

Digibehave 双画面动物行为视频分析系统 2.1 版(上海吉量软件科技有限公司);电子超声匀浆器(美国 Untrasound Technology 公司);冷冻离心机(美国 Beckman 公司);DM3000 荧光显微镜和显微照相系统(德国 Leica 公司);CUT4062 手动旋转式石蜡切片机(德国 Slee 公司);水合氯醛、甲苯胺蓝(北京索莱宝科技有限公司);IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-4、IL-10 ELISA 试剂盒(武汉优尔生商贸有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 交泰丸受试药物制备

黄连、肉桂以 10:1 的比例,取黄连饮片 1 000 g、肉桂饮片 100 g,制成 20 目粗粉。黄连粉加水回流提取 3 次,加水量依次为 10、8、8 倍,提取 170、80、40 min,滤过,2 000 r/min 离心 20 min,合并上清液;肉桂粉加水用双提法提取 3 次,加水量依次为 10、8、8 倍,提取 170、80、40 min,滤过,2 000 r/min 离心 20 min,合并上清液;将分别获取的黄连、肉桂上清液混合,水浴浓缩,60 °C 烘干,粉碎成干粉(出膏率为 31.5%),超声溶解备用。

### 2.2 动物分组及造模

选择行为学及体质量比较接近的大鼠 150 只,随机分为对照组、模型组、阳性药对照组(盐酸氟西汀,7.5 mg/kg)和交泰丸低、中、高剂量(生药 0.75、1.50、3.0 g/kg)组,每组 25 只,分笼适应性饲养 1 周。对照组大鼠不接受任何刺激。其余各组大鼠均接受 35 d CUMS 刺激,每组动物每天随机给予 1 种刺激,同 1 种刺激累计使用不超过 5 次,主要包括冰水游泳、束缚、昼夜颠倒、夹尾、振荡、禁食和禁水,从而制备 CUMS 抑郁症大鼠模型<sup>[9]</sup>。刺激第 21 天,对照组、模型组按 10 mL/kg ig 生理盐水,其余各组按 10 mL/kg ig 给予相应药物,直至第 35 天。

### 2.3 行为学检测

**2.3.1 体质量** 分别在实验的第 0、7、14、21、28、35 天分别称量大鼠体质量,并记录分析各组大鼠体质量的变化。

**2.3.2 糖水消耗实验** 实验开始前对大鼠进行糖水适应训练。每笼大鼠同时放置 2 个水瓶,一瓶为 1%糖水,一瓶为饮用水,训练时间持续 24 h。训练结束后,分别在实验的第 0、7、14、21、28、35 天进行 1%糖水消耗实验,每次持续 1 h,对比观察实验前后糖水的消耗量,计算糖水消耗率。

糖水消耗率=糖水消耗量/(糖水消耗量+普通水消耗量)

**2.3.3 开场实验** 将大鼠逐次置于 50 cm×50 cm×40 cm 敞口箱子(内壁为黑色,底部用白线平均分成 25 格)中央,使用动物行为视频分析系统记录 4 min 内大鼠的自主活动行为,记录并分析后 3 min 内大鼠穿越横格数量和直立的次数,分别在实验的第 35 天进行开场实验。

### 2.4 血清及海马组织中炎性细胞因子检测

在第 36 天使用 10%水合氯醛将大鼠麻醉,腹主动脉取血后断头处死,冰上取出大鼠脑组织并迅

速分离出海马组织,称质量后于液氮中速冻,然后置于 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存待测。ELISA 法检测大鼠血清、海马组织中致炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平和抗炎细胞因子 IL-4、IL-10 水平,严格按照试剂盒说明书进行操作。

## 2.5 大鼠海马神经元的形态观察

取大鼠全脑,固定于 4%甲醛溶液中至少 48 h,改刀切取视交叉至乳头体厚 2~3 mm 的脑组织(包含完整海马的组织块),进行常规石蜡包埋切片,尼氏染色后,在光镜下观察大鼠海马 CA1 区及 CA3 区神经元及尼氏体变化并摄片。

## 2.6 统计学分析

采用 SPSS 18.5 软件进行统计分析,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较使用单因素方差分析(One-Way ANOVA)法。

## 3 结果

### 3.1 对大鼠体质量的影响

实验前各组大鼠体质量差异不显著。实验的第

7、14、21 天后模型组的大鼠体质量与对照组比较显著减轻( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。各应激组经慢性应激刺激 21 d 后体质量与对照组比较也明显减轻( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ),说明慢性应激可引起大鼠食欲减退,导致体质量下降。在应激刺激 21 d 后,连续给药 14 d,交泰丸低、中、高剂量组以及阳性药组大鼠体质量明显增加,与模型组比较差异显著( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ),说明交泰丸具有抵抗由抑郁引起的消化功能减退的作用,对应激状态下大鼠有改善其体质量增长抑制状态的作用。见表 1。

### 3.2 对大鼠糖水偏好度的影响

实验前各组大鼠糖水消耗率差异不显著。实验的第 14、21 天,模型组大鼠糖水消耗率逐渐减少,与对照组比较差异显著( $P < 0.01$ )。在给药 14 d 后,交泰丸低、中、高剂量以及阳性药组大鼠糖水消耗率显著增加,且与模型组比较差异显著( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ),说明交泰丸能改善抑郁大鼠的快感缺失。见表 2。

表 1 各组大鼠体质量比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )

Table 1 Comparison on body weight of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )

| 组别    | 剂量/<br>(g·kg <sup>-1</sup> ) | 大鼠体质量/g        |                              |                              |                              |                              |                              |
|-------|------------------------------|----------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|       |                              | 0 d            | 7 d                          | 14 d                         | 21 d                         | 28 d                         | 35 d                         |
| 对照    | —                            | 407.71 ± 25.09 | 445.42 ± 20.46               | 459.52 ± 26.75               | 468.66 ± 34.50               | 471.46 ± 35.27               | 485.39 ± 38.03               |
| 模型    | —                            | 401.64 ± 23.53 | 424.05 ± 22.45 <sup>#</sup>  | 396.80 ± 36.53 <sup>##</sup> | 398.85 ± 24.58 <sup>##</sup> | 376.11 ± 27.08 <sup>##</sup> | 379.06 ± 15.96 <sup>##</sup> |
| 盐酸氟西汀 | 0.007 5                      | 410.54 ± 34.98 | 428.78 ± 25.99               | 394.71 ± 41.60 <sup>##</sup> | 391.61 ± 34.88 <sup>##</sup> | 386.41 ± 39.35               | 411.70 ± 24.45 <sup>*</sup>  |
| 交泰丸   | 0.75                         | 408.80 ± 31.00 | 424.85 ± 30.65 <sup>#</sup>  | 396.83 ± 43.09 <sup>##</sup> | 395.80 ± 32.30 <sup>##</sup> | 392.24 ± 38.01 <sup>*</sup>  | 416.28 ± 37.99 <sup>**</sup> |
|       | 1.50                         | 412.09 ± 27.51 | 431.17 ± 20.71               | 404.21 ± 34.68 <sup>##</sup> | 395.42 ± 30.04 <sup>##</sup> | 389.08 ± 41.70 <sup>*</sup>  | 417.08 ± 41.04 <sup>**</sup> |
|       | 3.00                         | 398.50 ± 47.30 | 409.22 ± 41.99 <sup>##</sup> | 384.54 ± 54.50 <sup>##</sup> | 377.70 ± 52.71 <sup>##</sup> | 377.83 ± 43.69               | 408.32 ± 47.20 <sup>*</sup>  |

与对照组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ , 下表同

<sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group, following tables are same

表 2 各组大鼠糖水消耗率比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )

Table 2 Comparison on sucrose water consumption of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )

| 组别    | 剂量/<br>(g·kg <sup>-1</sup> ) | 糖水消耗率/%      |                             |                             |                             |                             |                            |
|-------|------------------------------|--------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|       |                              | 0 d          | 7 d                         | 14 d                        | 21 d                        | 28 d                        | 35 d                       |
| 对照    | —                            | 65.55 ± 4.18 | 82.74 ± 6.83                | 78.78 ± 5.65                | 79.85 ± 5.33                | 72.25 ± 5.39                | 70.58 ± 8.59               |
| 模型    | —                            | 68.30 ± 2.42 | 72.25 ± 14.79 <sup>##</sup> | 62.58 ± 18.60 <sup>##</sup> | 59.93 ± 11.22 <sup>##</sup> | 62.82 ± 7.86 <sup>##</sup>  | 60.38 ± 8.06 <sup>##</sup> |
| 盐酸氟西汀 | 0.007 5                      | 67.24 ± 2.75 | 78.93 ± 2.61                | 71.44 ± 7.70 <sup>#</sup>   | 65.45 ± 3.84 <sup>##</sup>  | 69.68 ± 10.33 <sup>**</sup> | 74.43 ± 7.30 <sup>**</sup> |
| 交泰丸   | 0.75                         | 70.12 ± 4.98 | 68.32 ± 7.09 <sup>##</sup>  | 67.50 ± 6.76 <sup>##</sup>  | 61.14 ± 4.14 <sup>##</sup>  | 66.22 ± 7.88                | 70.68 ± 7.94 <sup>**</sup> |
|       | 1.50                         | 70.93 ± 5.10 | 72.72 ± 3.92 <sup>##</sup>  | 68.50 ± 9.52 <sup>##</sup>  | 62.65 ± 5.05 <sup>##</sup>  | 67.70 ± 9.21 <sup>*</sup>   | 71.93 ± 6.79 <sup>**</sup> |
|       | 3.00                         | 63.97 ± 4.46 | 72.66 ± 0.54 <sup>##</sup>  | 67.22 ± 3.24 <sup>##</sup>  | 60.72 ± 7.77 <sup>##</sup>  | 67.40 ± 5.99                | 74.48 ± 5.16 <sup>**</sup> |

### 3.3 对大鼠开场实验的影响

实验前对各组大鼠按开场实验进行分组, 各组无明显差异。模型组大鼠在经过 35 d 的慢性应激刺激后穿越横格数和直立次数均明显减少, 与对照组比较差异显著 ( $P < 0.01$ ), 说明慢性应激导致大鼠自主活动下降, 对周围环境兴趣缺乏。给药 14 d 后, 阳性药组、交泰丸高剂量组的大鼠直立次数、穿越横格数显著增加, 与模型组比较差异显著 ( $P < 0.01$ ), 说明交泰丸具有抵抗由于抑郁引起的自主活动减少、兴趣缺乏的药理活性, 可有效改善大鼠抑郁样行为。见表 3。

### 3.4 对大鼠血清、海马中致炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平的影响

与对照组比较, 模型组大鼠血清、海马中 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  的水平均明显升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 阳性药组大鼠血清、海马中 IL-1 $\beta$ 、IL-6

和 TNF- $\alpha$  水平均明显降低, 差异显著 ( $P < 0.01$ ); 交泰丸低、中、高剂量组大鼠血清、海马中 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  的水平均明显降低, 差异显著 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 表明交泰丸可以降低大鼠血清、海马中致炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平。见表 4、5。

表 3 各组大鼠 35 d 应激后行为学的比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )  
Table 3 Comparison on open-field activity behavior of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )

| 组别    | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | 穿越格数                        | 直立次数                       |
|-------|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| 对照    | —                        | 25.14 ± 10.43               | 5.31 ± 2.44                |
| 模型    | —                        | 11.43 ± 5.33 <sup>###</sup> | 3.22 ± 1.40 <sup>###</sup> |
| 盐酸氟西汀 | 0.007 5                  | 27.56 ± 12.68 <sup>**</sup> | 5.83 ± 1.79 <sup>**</sup>  |
| 交泰丸   | 0.75                     | 18.79 ± 9.14                | 3.76 ± 1.39                |
|       | 1.50                     | 19.88 ± 12.23 <sup>*</sup>  | 4.07 ± 1.33                |
|       | 3.00                     | 23.80 ± 8.53 <sup>**</sup>  | 4.88 ± 1.65 <sup>**</sup>  |

表 4 交泰丸对 CUMS 大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )  
Table 4 Effect of Jiaotai Pill on levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$  in serum of CUMS rats ( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )

| 组别    | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | IL-1 $\beta$ /(pg·mL <sup>-1</sup> ) | IL-6/(pg·mL <sup>-1</sup> )   | TNF- $\alpha$ /(pg·mL <sup>-1</sup> ) |
|-------|--------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|
| 对照    | —                        | 181.30 ± 12.66                       | 115.79 ± 27.74                | 98.02 ± 12.14                         |
| 模型    | —                        | 210.17 ± 14.88 <sup>###</sup>        | 317.82 ± 48.92 <sup>###</sup> | 137.40 ± 32.27 <sup>###</sup>         |
| 盐酸氟西汀 | 0.007 5                  | 178.08 ± 12.71 <sup>**</sup>         | 81.87 ± 17.48 <sup>**</sup>   | 57.78 ± 13.77 <sup>**</sup>           |
| 交泰丸   | 0.75                     | 196.76 ± 18.86                       | 270.03 ± 35.47 <sup>*</sup>   | 101.47 ± 10.72 <sup>**</sup>          |
|       | 1.50                     | 192.41 ± 17.73 <sup>*</sup>          | 237.82 ± 35.56 <sup>*</sup>   | 101.45 ± 5.38 <sup>**</sup>           |
|       | 3.00                     | 191.68 ± 13.19 <sup>*</sup>          | 148.61 ± 23.23 <sup>**</sup>  | 95.23 ± 19.47 <sup>**</sup>           |

表 5 交泰丸对 CUMS 大鼠海马组织中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )  
Table 5 Effect of Jiaotai Pill on levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$  in hippocampal tissue of CUMS rats ( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )

| 组别    | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | IL-1 $\beta$ /(pg·mg <sup>-1</sup> ) | IL-6/(pg·mg <sup>-1</sup> )  | TNF- $\alpha$ /(pg·mg <sup>-1</sup> ) |
|-------|--------------------------|--------------------------------------|------------------------------|---------------------------------------|
| 对照    | —                        | 1.90 ± 0.08                          | 24.76 ± 4.68                 | 52.72 ± 7.30                          |
| 模型    | —                        | 2.07 ± 0.09 <sup>###</sup>           | 52.05 ± 12.11 <sup>###</sup> | 81.19 ± 14.74 <sup>###</sup>          |
| 盐酸氟西汀 | 0.007 5                  | 1.87 ± 0.08 <sup>**</sup>            | 31.38 ± 4.06 <sup>**</sup>   | 43.51 ± 3.33 <sup>**</sup>            |
| 交泰丸   | 0.75                     | 2.04 ± 0.08                          | 42.48 ± 5.86                 | 66.10 ± 7.26 <sup>*</sup>             |
|       | 1.50                     | 1.97 ± 0.09 <sup>*</sup>             | 34.17 ± 6.74 <sup>**</sup>   | 59.56 ± 10.33 <sup>**</sup>           |
|       | 3.00                     | 1.96 ± 0.06 <sup>*</sup>             | 32.87 ± 7.57 <sup>**</sup>   | 53.35 ± 9.51 <sup>**</sup>            |

### 3.5 对大鼠血清、海马中抗炎细胞因子 IL-4、IL-10 的影响

与对照组比较, 模型组大鼠血清、海马组织中 IL-4 的水平有升高趋势, 但差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 应激导致的 Th1/Th2 细胞亚群失衡可能是 IL-4 分泌异常的原因; 模型组大鼠血清、海马组织中 IL-10 水平明显降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); 与模型组比较, 阳性药组及交泰丸中、高剂量组大鼠血清、海马组织中 IL-4 和 IL-10 水平明显升高 ( $P < 0.05$ 、

$0.01$ )。结果表明, 交泰丸可通过增加大鼠血清、海马中抗炎细胞因子 IL-10 的水平, 抑制致炎细胞因子的产生, 发挥免疫调节的作用, 见表 6。

### 3.6 对 CUMS 抑郁模型大鼠海马神经元形态的影响

图 1 结果表明, 对照组海马组织 CA1 区、CA3 区神经元分层明显, 锥体细胞排列规则, 胞膜结构完整, 胞质丰富, 胞核明显, 形态结构正常, 尼氏体深染。与对照组比较, 模型组海马组织 CA1 区、CA3 区神经元分层不清, 锥体细胞排列紊乱, 胞膜

表 6 交泰丸对 CUMS 大鼠血清和海马组织中 IL-4、IL-10 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )Table 6 Effect of Jiaotai Pill on levels of IL-4 and IL-10 in serum and hippocampal tissue of CUMS rats ( $\bar{x} \pm s, n = 25$ )

| 组别    | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | 血清/(pg·mL <sup>-1</sup> )    |                          | 海马/(pg·mg <sup>-1</sup> )  |                            |
|-------|--------------------------|------------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|
|       |                          | IL-4                         | IL-10                    | IL-4                       | IL-10                      |
| 对照    | —                        | 47.01 ± 11.92                | 8.75 ± 3.03              | 54.15 ± 9.78               | 10.67 ± 1.40               |
| 模型    | —                        | 60.15 ± 12.93                | 5.17 ± 1.32 <sup>#</sup> | 63.67 ± 7.18               | 7.21 ± 1.64 <sup>##</sup>  |
| 盐酸氟西汀 | 0.007 5                  | 179.39 ± 39.30 <sup>**</sup> | 5.86 ± 1.48              | 70.88 ± 11.30              | 9.69 ± 1.70 <sup>*</sup>   |
| 交泰丸   | 0.75                     | 164.24 ± 32.91 <sup>**</sup> | 6.25 ± 2.74              | 67.68 ± 7.07               | 9.02 ± 1.51                |
|       | 1.50                     | 184.31 ± 25.72 <sup>**</sup> | 7.84 ± 2.93 <sup>*</sup> | 78.94 ± 12.19 <sup>*</sup> | 11.09 ± 2.80 <sup>**</sup> |
|       | 3.00                     | 194.11 ± 23.17 <sup>**</sup> | 8.19 ± 2.35 <sup>*</sup> | 80.77 ± 7.44 <sup>**</sup> | 13.10 ± 3.31 <sup>**</sup> |

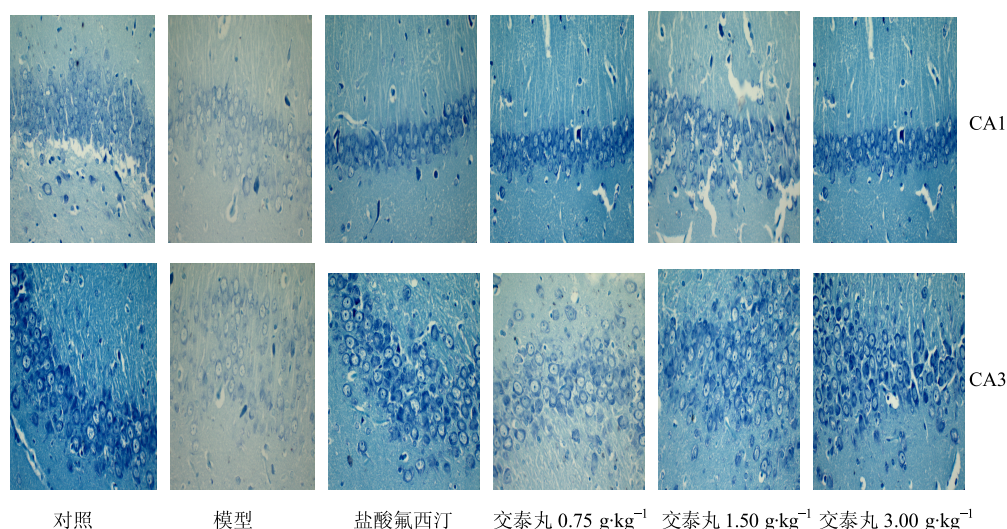


图 1 交泰丸对 CUMS 大鼠海马神经元形态的影响 (尼氏染色, 40×10)

Fig. 1 Effect of Jiaotai Pill on morphology of hippocampal neuron of CUMS rats (Nissl staining, 40 × 10)

皱缩或不清, 神经元萎缩、数量减少或丢失, 核染色质浓集、可见核固缩, 尼氏体浅染或消失。与模型组比较, 阳性药组及交泰丸低、中、高剂量组海马组织 CA1 区、CA3 区神经元分层较明显、部分可见完整的细胞膜, 除偶见细胞核缩小外, 胞核内染色质分布较为均匀, 尼氏体浅染。

#### 4 讨论

目前, 大量的科学研究尚未阐明抑郁症的发病机制, 除了单胺类神经递质假说、神经营养假说、垂体-下丘脑-肾上腺皮质轴紊乱假说以外, Maes<sup>[10]</sup>提出了抑郁症的细胞因子假说, 大量研究论证了抑郁症常伴有免疫激活, 表现为炎性细胞因子分泌增多。“抑郁症细胞因子假说”认为<sup>[10]</sup>抑郁症是一种心理-神经-免疫紊乱性疾病, 慢性应激可激活机体外周及中枢免疫系统, 产生免疫应答, 通过增加炎性细胞因子的释放, 导致神经元凋亡、氧化应激、兴奋性中毒、代谢紊乱等神经生化及神经内分泌系

统紊乱, 从而引起抑郁症相关的行为改变, 引发抑郁症。细胞因子被看做抑郁症的生物标记物<sup>[11-12]</sup>, 细胞因子主要调节免疫应答生物活性, 在细胞间传递生物信息的亲水性蛋白质或小分子多肽, 主要分为致炎性细胞因子 (IL-1 $\beta$ 、IL-6、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  等) 和抗炎性细胞因子 (IL-4、IL-10 等) 2 类。IL-1 $\beta$ 、IL-6、IFN- $\alpha$  等细胞因子是参与免疫和炎症反应的多效性因子, 在外周血细胞和中枢神经细胞中均可被表达。

慢性应激是抑郁症产生的重要原因<sup>[13]</sup>。本研究通过 35 d CUMS 刺激建立大鼠抑郁模型, 研究结果发现, 经 21 d 刺激后, 各造模组大鼠体质量明显减轻, 且与对照组比较有统计学差异, 模型组大鼠糖水消耗量及行为学穿越横格数、直立次数明显减少, 海马神经元存在损伤, 证明大鼠抑郁模型制备成功, 同时模型组血清及海马内致炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  明显升高, 抗炎细胞因子 IL-10

降低,说明慢性应激激活了大鼠免疫炎症反应。与模型组比较,阳性药组及交泰丸中、高剂量组大鼠抑郁样行为明显改善,血清及海马内致炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平明显降低,血清及海马内抗炎细胞因子 IL-10 水平升高,海马神经元损伤有一定程度修复。慢性应激刺激可导致大鼠抑郁模型外周及海马等脑区内致炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 mRNA 水平不同程度地升高<sup>[14]</sup>,使海马神经元萎缩、凋亡。抗炎性细胞因子(IL-4、IL-10)与前炎性细胞因子的激活同时产生,主要拮抗前炎性细胞因子的作用,可通过调节单胺类神经递质含量,调控丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)家族信号传导,激发 HPA 轴活动等途径<sup>[15]</sup>抵抗抑郁症患者机体的免疫应答,抑制前炎性细胞因子的分泌,以维持细胞因子体系的动态平衡<sup>[16]</sup>。本实验结果证实,交泰丸具有改善免疫炎症反应,恢复机体内分泌免疫系统的动态平衡的作用。

传统抗抑郁药只对 60%~70%的抑郁症患者有效<sup>[17]</sup>,中医药辨证论治对抑郁症的治疗有一定的优势。抑郁症属中医“郁证”范畴,与失眠、脏躁、百合病、梅核气等疾病相关,交泰丸组方出自《韩氏医通》,由黄连、肉桂组成,黄连大苦大寒,入心经,清热燥湿又泻火解毒,可协滋阴降火之功,肉桂辛、甘,大热,归肾、脾、心、肝经,补火助阳亦温经通脉,适增引火归原之势,二味相合,使心肾相交,水火相济<sup>[18]</sup>。本研究证实,交泰丸对大鼠血清及海马中致炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  和抗炎细胞因子 IL-4、IL-10 有双向调节作用,验证了抑郁症细胞因子假说,为交泰丸临床治疗抑郁症提供了实验依据,初步阐明了交泰丸对抑郁症炎性细胞因子影响的机制,更进一步的分子、基因水平研究有待探索。

#### 参考文献

- [1] 刘佳莉,苑玉和,陈乃宏,等. 抑郁症的治疗研究进展[J]. 中国药理学通报, 2011, 27(9): 1193-1196.
- [2] Belmaker R H, Agam G. Major depression discover [J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(1): 55-68.
- [3] 熊志明. 配伍肉桂醛对盐酸小檗碱在快速动眼睡眠剥夺大鼠血液与脑组织分布的影响 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2015.
- [4] 王秋,方志军. 不同比例交泰丸镇静催眠作用的药效学研究 [J]. 中医临床研究, 2011, 3(11): 16-17.
- [5] 张月月,王君明,崔瑛,等. 中药生物碱类成分抗焦虑或抑郁活性及黄连生物碱药理作用研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(4): 1184-1187.
- [6] 吴存恩,王瑞平,滕钰浩. 肉桂活性成分及抗肿瘤作用研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2015, 26(8): 1985-1987.
- [7] 于春泉,王怡,高杉,等. 交泰丸不同配比抗抑郁作用的实验研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(6): 225-228.
- [8] 于泽胜,潘晔,宋彦奇,等. 交泰丸对利血平诱导小鼠抑郁模型的影响 [J]. 天津中医药, 2016, 33(12): 740-744.
- [9] 杨帅,潘晔,宋彦奇,等. 交泰丸对抑郁大鼠行为学及脑内单胺类神经递质的影响 [J]. 中草药, 2016, 47(23): 4218-4223.
- [10] Maes M. Evidence for an immune response in major depression: A review and hypothesis [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 1995, 19(1): 11-38.
- [11] Lichtblau N, Schmidt F M, Schumann R, et al. Cytokines as biomarkers in depressive disorder: current standing and prospects [J]. *Int Rev Psychiat*, 2013, 25(5): 592-603.
- [12] Patel A. Review: the role of inflammation in depression [J]. *Psychiatra Danubina*, 2013, 25(2): 216-223.
- [13] 王东林,林文娟. 细胞因子与抑郁症发病机制研究进展 [J]. 中国神经精神疾病杂志, 2007, 33(9): 572-574.
- [14] You Z L, Luo C M, Zhang W Z, et al. Pro-and anti-inflammatory cytokines expression in rat's brain and spleen exposed to chronic mild stress: Involvement in depression [J]. *Behav Brain Res*, 2011, 225(1): 135-141.
- [15] 徐说,林文娟. 抗炎性细胞因子与抑郁症 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2014, 41(11): 1099-1108.
- [16] Henry C J, Yan H, Wynne A, et al. Minocycline attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammation, sickness behavior, and anhedonia [J]. *J Neuroinflamm*, 2008, 5(1): 15.
- [17] 邓朔,张鸿燕. 抑郁症发病机制的神经免疫相关靶点研究现状 [J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(3): 280-283.
- [18] 张敏,于春泉. 交泰丸抗抑郁作用的研究进展 [J]. 天津中医药, 2012, 29(1): 101-104.