

表没食子儿茶素没食子酸酯对慢性温和不可预知应激抑郁小鼠的保护作用

陈 杰, 林小东, 刘立滢, 张 伟, 陈德沈, 戴伯坚

温州市第七人民医院, 浙江 温州 325000

摘 要: **目的** 研究表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 的抗抑郁作用。 **方法** 制备慢性温和不可预知应激 (CUMS) 刺激小鼠抑郁模型; 通过旷场实验、体质量、糖水偏爱率、强迫游泳实验和悬尾实验静止时间等指标考察 EGCG 的抗抑郁作用; 检测血清皮质酮 (CORT)、促肾上腺皮质激素 (ACTH) 水平; 检测海马组织丙二醛 (MDA) 水平及超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性; 实时定量 PCR (RT-PCR) 检测海马组织中吲哚胺 2,3-双加氧酶 (IDO)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6 mRNA 表达。 **结果** EGCG 改善小鼠抑郁状态行为活动; 降低血清 CORT、ACTH 水平; 减少海马中 MDA 的量, 提高 SOD、GSH-Px 活性, 下调 IDO、IL-6 及 IL-1 β mRNA 表达。 **结论** EGCG 可改善小鼠抑郁症状, 其机制可能与降低血清中 CORT、ACTH 水平, 抑制海马中 MDA 的生成, 促进 SOD、GSH-Px 分泌, 以及下调 IDO、IL-6、IL-1 β 基因表达有关。

关键词: 表没食子儿茶素没食子酸酯; 慢性温和不可预知应激; 抑郁; 氧化应激; 吲哚胺 2,3-双加氧酶

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)06-1351-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.06.018

Protective effects of epigallocatechin gallate on depressive mice induced by chronic unpredictable mild stress

CHEN Jie, LIN Xiao-dong, LIU Li-ying, ZHANG Wei, CHEN De-shen, DAI Bo-jian

Wenzhou 7th People's Hospital, Wenzhou 325000, China

Abstract: **Objective** To observe the protective effects of epigallocatechin gallate (EGCG) on the depression. **Methods** The depressive mice model induced by chronic unpredictable mild stress (CUMS) was established. The behavioristics of the mice exposed to various stress were tested from the open-field, body weight, sucrose preference, forced swimming and tail suspension test for investigating the antidepressant effect of EGCG. Meanwhile, serum CORT, ACTH levels, and the hippocampus MDA, SOD and GSH-Px were estimated. The mRNA expression of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), IL-1 β , and IL-6 in the hippocampus tissue were detected by RT-PCR. **Results** EGCG improved the behavioristics of depressive mice, however, it ameliorated the serum CORT and ACTH levels. Moreover, EGCG increased the activity of SOD and GSH-Px, and reduced MDA, IDO, IL-6, and IL-1 β expression on the mRNA levels in the hippocampus tissue. **Conclusion** EGCG could attenuate depressive status of mice, and the underlying mechanism may related to the reduction of serum CORT and ACTH, down-regulation of MDA, IL-1 β , IL-6, and IDO, and up-regulation of SOD and GSH-Px in hippocampus.

Key words: epigallocatechin gallate; chronic unpredictable mild stress; depression; oxidative stress; indoleamine 2,3-dioxygenase

抑郁症又称抑郁障碍, 是一种以持久性心境低落、兴趣缺失、自主意志活动减退、无快感体验及睡眠障碍为主的躯体症状综合征^[1], 具有高发病率、高致残率、高复发率等特点, 严重危害人类健康。目前全球约有 3.5 亿人患有抑郁症, 约 2/3 的抑郁症患者会选择自杀来终结自己的生命^[2]。据 WHO 预测, 到 2020 年抑郁症将会成为导致人类死亡和残疾的第 2 大疾病^[3]。抑郁症发病因素十分复杂, 生物、心理与社会环境等诸多因素均参与其中^[4]。研究发

现慢性应激与抑郁症发病密切相关, 长期慢性应激状态导致下丘脑-垂体-肾上腺轴 (HPA) 轴功能亢进, 进而引起中枢 (特别是海马内) 神经元代谢与功能障碍, 加剧抑郁症的发生、发展, 而相关的慢性应激模型常被用于抗抑郁药筛选^[5-6]。

近年来, 从天然植物中寻找有效的抗抑郁成分成为精神类药物研发领域的新思潮。茶叶中含有大量茶多酚, 具有较强的抗氧化能力, 一直作为天然的食品抗氧化添加剂^[7]。而茶多酚主要成分是儿茶

收稿日期: 2017-10-28

作者简介: 陈 杰, 主治医师, 研究方向为精神病学。Tel: 13626585001 E-mail: 506639057@qq.com

素类化合物(70%~80%),其氧化还原性质主要是由 B 环上的羟基和 C 环上的没食子基上的羟基所决定,是有效的抗氧化剂和金属螯合剂^[8-9]。儿茶素类以表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)含量最高,占 50%~60%,具有抗癌、抗突变、预防和治疗心脑血管系统疾病以及调理内分泌、免疫系统等生物活性,同时对机体内生物代谢酶也具有抑制活性^[10-12]。研究表明,EGCG 和其他抗氧化剂联合使用可以起到缓解情绪、治疗抑郁的作用^[13],但其作用机制尚不清晰。本实验拟采用慢性温和不可预知应激(CUMS)小鼠抑郁模型,探讨 EGCG 的抗抑郁作用及机制,为 EGCG 的抗抑郁作用提供科学依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

EGCG(质量分数≥98%,批号 E4143)、度洛西汀(duloxetine,质量分数≥98%,批号 Y0001453),Sigma 公司;促肾上腺皮质激素(ACTH)、皮质酮(CORT)ELISA 试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司;丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;其他试剂为国产分析纯。

1.2 仪器

Direct-Q 超纯水仪,美国 Millipore 公司;SynergyHT 酶标仪,美国 BioTeK 公司;荧光定量 PCR 仪,美国 ABI 7500;COUVTER 高速冷冻离心机,美国 Beckman 公司;IKA T18 basic 匀浆器,德国 Ultraturrax 公司;悬尾及强迫游泳测试仪器均购自上海玉研科学仪器有限公司。

1.3 实验动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠,体质量 18~22 g,北京市维通利华实验动物中心,许可证号 SCXK(京)2011-0006。小鼠适应性喂养 1 周,保持室温 20~25 ℃,湿度 40%~60%,自由摄食、饮水,12 h 昼夜循环。所涉及实验均遵循实验动物伦理要求及相关管理条例。

2 方法

2.1 分组及给药

取健康雄性小鼠,随机分为模型组,度洛西汀组(10 mg/kg),EGCG 低、高剂量(10、50 mg/kg)组,每组 12 只。各组小鼠每天随机接受 1 种刺激以制备 CUMS 抑郁模型,刺激包括电击足底(1 min)、冰水游泳(4 ℃、5 min)、热应激(45 ℃、5 min)、高速水平摇晃(60 Hz、15 min)、夹尾(1 min)、

禁水(24 h)、禁食(24 h)或昼夜颠倒,同 1 种刺激不得连续出现。另取 12 只健康小鼠设为对照组。造模后第 3 周开始 ig 给药,各组在刺激前 1 h 给予相应剂量药物,对照组及模型组给予等量蒸馏水,连续 3 周。

2.2 小鼠抑郁状态考察

2.2.1 体质量 给药 3 周后,在安静环境中称量小鼠体质量。实验时严禁各种外界刺激或干扰,从而影响结果,精确记录体质量数据并分析。

2.2.2 旷场实验 在造模前和造模第 35 天进行旷场实验。采用边长 125 cm,高 40 cm 的黑壁白底敞箱,将底部划分为 25 个等边方格(25 cm×25 cm),摄像头垂直距敞箱 30 cm,四周用帘布围好。观察并记录小鼠 3 min 内水平穿越、垂直直立次数。以小鼠的四肢完全进入另一方格区域计 1 分(水平穿越),以双前肢完全抬离地面计 1 分(垂直直立)。每次实验均从固定的中央方格放置小鼠。单次测评结束,酒精擦拭敞箱,晾干待用。

2.2.3 糖水偏爱实验 先训练动物适应含糖饮水,每笼放置水瓶 2 个,1 瓶盛放 2%蔗糖水,另 1 瓶装纯水,每隔 12 h 换 1 次瓶子位置。48 h 后适应训练结束,先禁食禁水 8 h,再给予每笼小鼠已知质量的 2 瓶水,包括 1 瓶 2%蔗糖水,1 瓶纯水。16 h(中途 8 h 时交换瓶子位置)后,取走 2 瓶并称质量,称量糖水消耗量和纯水消耗量,计算小鼠糖水偏好率[糖水偏好率=糖水消耗量/(糖水消耗量+纯水消耗量)]。

2.2.4 强迫游泳实验 实验前 1 天进行预游泳,将小鼠放入高 20 cm、直径 12 cm、水深 11 cm 的圆形玻璃容器中,水温 25 ℃,游泳 15 min。正式实验开始,小鼠放入容器,后肢不能触及缸底,前肢不能附于缸壁顶部。实验共 6 min,适应 2 min,记录后 4 min 内累计不动时间。判定不动的标准是小鼠在水中停止挣扎,呈漂浮状态,或仅有细小的肢体运动以保持头部浮在水面。单次实验结束干燥处理,及时更换实验用水,严格控制水温。

2.2.5 小鼠悬尾实验 采用长胶布(10 cm)粘住小鼠尾端 2 cm 处,悬挂于高架(50 cm),呈倒悬体位,小鼠间用挡板隔开。观察 6 min,适应 2 min,记录后 4 min 内累计不动时间。不动状态以小鼠停止挣扎,身体呈静止垂直倒悬状态为准。

2.3 血清 CORT、ACTH 及海马 MDA、SOD、GSH-Px 水平检测

实验结束后,各组小鼠眼眶取血,按 ELISA 试

剂盒说明书检测小鼠血清中 CORT、ACTH 水平；剥离脑内海马组织，按试剂盒说明测定小鼠脑组织中 MDA 水平及 SOD、GSH-Px 的活性。

2.4 实时定量 PCR (RT-PCR) 法检测海马组织吗啡胺 2,3-双加氧酶 (IDO)、白细胞介素-6 (IL-6) 及 IL-1 β

取海马组织于 Trizol 中匀浆，按说明提取总 RNA。采用 DNaseI 处理去除 DNA，使用 Revert Aid First Strand eDNA Synthesis kit (Fermentas) 逆转录为 cDNA，随后采用 Taqman SYBR kit (Life Technologies) 进行 RT-PCR，以 GAPDH 作为内参。

2.5 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据分析，计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示；采用单因素方差分析 (One way ANOVA) 进行组间差异分析。

3 结果

3.1 EGCG 在抑郁模型小鼠行为活动方面的作用

3.1.1 EGCG 对旷场实验中小鼠水平运动、垂直运动的影响 与对照组比较，模型组小鼠水平运动、垂直运动得分明显减少 ($P < 0.05$)；与模型组比较，各给药组小鼠得分明显增加 ($P < 0.05$ 、 0.01)，而 EGCG 高剂量组小鼠运动得分显著增加 ($P < 0.01$)。表明 EGCG 改善小鼠抑郁行为，提升运动强度，见表 1。

3.1.2 EGCG 对小鼠体质量、糖水偏好率影响 与对照组比较，模型组小鼠体质量显著减轻 ($P < 0.01$)；与模型组比较，各给药组中小鼠体质量明显增加 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与对照组比较，模型组小鼠糖水偏好率显著下调 ($P < 0.01$)；与模型组比较，各组给药后可明显提升小鼠对糖水的偏好 ($P < 0.05$ 、 0.01)，其中以 EGCG 高剂量组最为显著 ($P < 0.01$)。表明 EGCG 缓解小鼠抑郁，促进主动进食，见表 2。

表1 EGCG对CUMS抑郁小鼠自主活动性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)
Table 1 Effects of EGCG on autonomic activities of depressive mice induced by CUMS ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	水平运动得分	垂直运动得分
对照	—	112.8 ± 11.0	33.4 ± 2.5
模型	—	31.8 ± 6.1 [#]	12.1 ± 4.8 [#]
度洛西汀	10	98.5 ± 9.1 ^{**}	31.2 ± 2.1 ^{**}
EGCG	10	76.2 ± 6.6 [*]	19.0 ± 5.5 [*]
	50	107.3 ± 15.1 ^{**}	30.7 ± 3.8 ^{**}

与对照组比较：[#] $P < 0.05$ ^{###} $P < 0.01$ ；与模型组比较：^{*} $P < 0.05$

^{**} $P < 0.01$ ，下同

[#] $P < 0.05$ ^{###} $P < 0.01$ vs control group；^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below

表2 EGCG对CUMS抑郁小鼠体质量和糖水偏好的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effects of EGCG on body weight and sucrose preference of depressive mice induced by CUMS ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	体质量/g	糖水偏好率/%
对照	—	37.3 ± 3.4	81.1 ± 8.2
模型	—	26.0 ± 2.3 ^{###}	54.4 ± 5.7 ^{###}
度洛西汀	10	35.8 ± 2.6 ^{**}	80.0 ± 7.6 ^{**}
EGCG	10	32.8 ± 3.4 [*]	68.9 ± 6.1 [*]
	50	34.5 ± 2.3 [*]	75.6 ± 5.1 ^{**}

3.1.3 EGCG 对小鼠强迫游泳静止时间及悬尾静止时间的影响 与对照组比较，模型组小鼠强迫游泳的静止时间明显延长 ($P < 0.05$)；度洛西汀、EGCG 低剂量和高剂量均可缩短静止时间，与模型组比较存在明显差异 ($P < 0.05$)。与对照组比较，模型组小鼠悬尾静止时间明显延长 ($P < 0.05$)；度洛西汀、EGCG 低剂量和高剂量均可明显缩短静止时间，与模型组比较存在明显差异 ($P < 0.05$ 、 0.01)，其中 EGCG 高剂量组的作用强于低剂量组。表明 EGCG 通过改善小鼠抑郁症状，缩短强迫游泳及悬尾期间的静止时长，见图 1 和 2。

3.2 EGCG 对抑郁模型小鼠血清中 ACTH 及 CORT 水平的影响

与对照组比较，模型组小鼠血清中 ACTH 水平显著增加 ($P < 0.01$)；各给药组小鼠血清 ACTH 水平降低，与模型组比较存在明显差异 ($P < 0.05$)；与对照组比较，模型组小鼠血清中 CORT 水平明显降低 ($P < 0.05$)，各给药组小鼠血清 ACTH 水平降低，与模型组比较存在明显差异 ($P < 0.05$)。表明 EGCG 可减少 ACTH 及 CORT 的分泌，改善小鼠抑郁，见表 3。

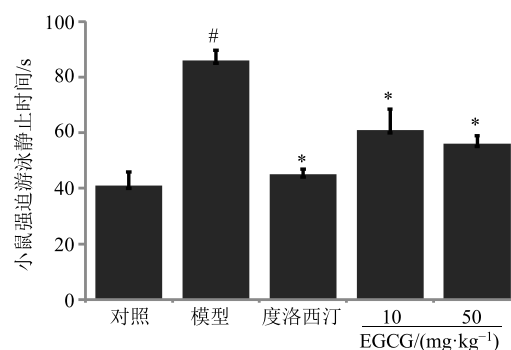


图1 EGCG对CUMS抑郁小鼠强迫游泳实验静止时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 1 Effects of EGCG on immobility duration of mice in forced swimming test ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

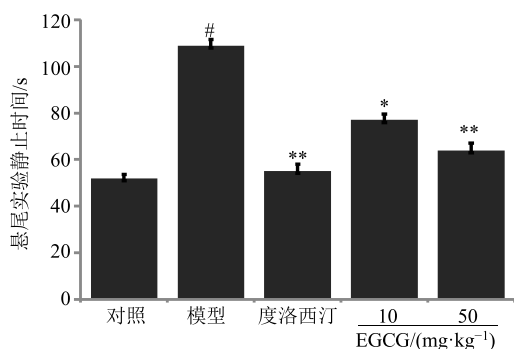


图 2 EGCG 对 CUMS 抑郁小鼠悬尾实验静止时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 2 Effects of EGCG on immobility duration of mice in tail suspension test ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

表 3 EGCG 对 CUMS 抑郁小鼠血清中 ACTH 和 CORT 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 3 Effects of EGCG on ACTH and CORT in serum of depressive mice induced by CUMS ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ACTH/(pg·mL ⁻¹)	CORT/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	207.3 ± 15.5	50.6 ± 7.1
模型	—	298.8 ± 31.0 ^{##}	66.7 ± 5.5 [#]
度洛西汀	10	229.8 ± 21.3 [*]	51.8 ± 4.3 [*]
EGCG	10	235.4 ± 23.6 [*]	60.5 ± 5.1 [*]
	50	227.3 ± 16.3 [*]	53.6 ± 5.5 [*]

表 4 EGCG 对 CUMS 抑郁小鼠脑组织中 MDA 水平以及 SOD、GSH-Px 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 4 Effects of EGCG on content of MDA and activities of SOD and GSH-Px in brain tissue of depressive mice induced by CUMS ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	GSH-Px/(U·mg ⁻¹)
对照	—	2.65 ± 1.71	210.28 ± 61.62	15.40 ± 2.52
模型	—	3.55 ± 1.26 [#]	131.81 ± 36.15 [#]	9.12 ± 4.85 [#]
度洛西汀	10	2.67 ± 0.98 ^{**}	199.53 ± 39.52 ^{**}	14.25 ± 2.10 ^{**}
EGCG	10	3.18 ± 1.49 [*]	173.38 ± 46.38 [*]	12.80 ± 3.15 [*]
	50	2.95 ± 0.86 [*]	197.62 ± 15.75 ^{**}	13.73 ± 2.81 ^{**}

表 5 EGCG 对 CUMS 抑郁小鼠脑组织中 IDO、IL-6 及 IL-1β mRNA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 5 Effects of EGCG on mRNA expression of IDO, IL-6, and IL-1β in hippocampus of depressive mice induced by CUMS ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	mRNA 相对表达量		
		IDO	IL-6	IL-1β
对照	—	1.25 ± 0.71	1.08 ± 0.12	0.94 ± 0.25
模型	—	1.75 ± 0.23 [#]	1.73 ± 0.15 [#]	1.32 ± 0.33 [#]
度洛西汀	10	1.67 ± 0.18	1.19 ± 0.52 ^{**}	0.77 ± 0.20 ^{**}
EGCG	10	1.68 ± 0.24	1.37 ± 0.38 [*]	0.84 ± 0.15 ^{**}
	50	1.29 ± 0.86 ^{**}	0.94 ± 0.35 ^{**}	0.71 ± 0.31 ^{**}

3.3 EGCG 对抑郁模型小鼠海马组织中 MDA 水平及 SOD、GSH-Px 活性的影响

与对照组比较, 模型组小鼠海马组织中 MDA 的水平明显增加 ($P < 0.05$), 度洛西汀、EGCG 低剂量及高剂量均可有效降低海马组织中 MDA 水平 ($P < 0.05, 0.01$)。与对照组比较, 模型组小鼠海马组织 SOD 及 GSH-Px 活性明显降低 ($P < 0.05$), 度洛西汀、EGCG 低剂量及高剂量可显著升高 SOD、GSH-Px 活性 ($P < 0.05, 0.01$), 其中 EGCG 高剂量组作用优于低剂量组。表明 EGCG 可通过缓解海马组织内氧化应激状态, 改善小鼠抑郁症状, 见表 4。

3.4 EGCG 对抑郁模型小鼠海马组织中 IDO、IL-6、IL-1β mRNA 表达的影响

与对照组比较, 模型组小鼠海马组织中 IDO、IL-6、IL-1β mRNA 表达量均明显上调 ($P < 0.05$); 给药后小鼠海马组织中 IDO、IL-6、IL-1β mRNA 水平出现下调趋势。与模型组比较, 低剂量 EGCG 可明显下调 IL-6 ($P < 0.05$), 显著下调 IL-1β ($P < 0.01$); 与模型组比较, 高剂量 EGCG 可显著下调 IDO、IL-6 及 IL-1β 的 mRNA 表达 ($P < 0.01$)。由此发现, EGCG 可通过下调 IDO、IL-6 及 IL-1β 表达, 改善小鼠抑郁症状, 见表 5。

4 讨论

抑郁是一种情感性精神障碍,并伴随情绪低迷、意志活动减弱,对外界刺激敏感度降低,其发病率呈上升趋势。目前可采用多种抑郁症实验模型进行研究,而良好、有效的动物模型能推动抑郁症的研究并获得客观的实验结果。研究表明,采用 CUMS 模型的造模方法可较好地模拟临床抑郁症发病原因及抑郁状态,故 CUMS 抑郁动物模型广泛用于评价药物的抗抑郁作用^[14-15]。本实验采用 CUMS 造模方法成功复制小鼠抑郁模型,在理论依据方面与人类抑郁症中慢性、低水平的应激源导致抑郁症的发生并加速抑郁症发展的机制更接近^[16-18]。旷场实验结果表明,抑郁模型组小鼠的水平活动和直立次数明显减少,水平活动得分减少客观反映出动物活动度降低,垂直直立得分减少从侧面反映出抑郁小鼠对新鲜环境的好奇程度降低。在随后实验中研究了抑郁模型小鼠的体质量及糖水偏好状况,分别表明抑郁小鼠食欲减弱,对喜好奖赏的反应性亦显著衰退^[19]。抑郁小鼠加剧的行为绝望状态在强迫游泳和悬尾静止不动测试中得到深刻反映^[20]。通过上述行为学实验研究发现,抑郁模型小鼠抑郁状态加剧、活动能力下降、兴趣丧失等特征与临床抑郁症表现十分接近,可作为理想的抑郁动物模型进行药效机制研究。给药后发现,与模型组小鼠比较,EGCG 可有效增加小鼠的自发行为活动,表现出较好的抗抑郁作用。在强迫游泳和悬尾静止实验中,EGCG 显著延长了小鼠不动时间,表明 EGCG 在抗抑郁方面的有效性,其作用呈浓度依赖性。与此同时,EGCG 以改善由抑郁症导致的食欲减弱,促进小鼠摄食,增加体质量;糖水偏好实验揭示 EGCG 可改善由抑郁症导致的兴致缺失。由此表明,EGCG 可有效缓解小鼠抑郁症,改善其各项生理活动。

研究发现,慢性应激所致抑郁动物模型常有表现 HPA 轴功能失调,如血清 ACTH、CORT 升高等,与临床抑郁病人情况一致^[21]。HPA 轴在人体的学习、记忆、情绪变化中起到了关键作用。HPA 轴对外界应激较为敏感,各种应激刺激都会严重干扰 HPA 轴的稳定性^[22]。在慢性应激作用下可诱发动动物 HPA 轴功能失调,使其长期处于高反应状态。HPA 轴的负反馈失调亦可促进 CORT、ACTH 水平升高,诱发海马病变,加剧氧化应激损伤,进一步扰乱其功能^[23-24]。近年来,氧化应激损伤成为抑郁症的研究热点之一,临床发现氧化应激损伤,体内自由基

增多,是造成情感性精神障碍疾病(如焦虑或抑郁症)的重要因素^[25]。在抑郁症患者血液样本中可发现 MDA 水平升高,SOD 等抗氧化因子水平降低^[26];而各类治疗方案表明抗氧化应激药物具有改善实验性抑郁症状的作用^[27]。本研究结果表明,EGCG 可降低小鼠血清中 CORT、ACTH 水平,进而减轻海马中氧化应激状态,降低 MDA 水平,提高 SOD 及 GSH-Px 活性,有效改善抑郁症小鼠海马中病理损伤。

IL-1 β 和 IL-6 在中枢神经系统的发育、功能上均表现出重要功能,脑内神经元和神经胶质细胞中分布着特异的 IL-1 β 和 IL-6 受体,与相应配体结合后可调节神经胶质细胞、神经元的生长、分化和修复。研究发现抑郁症患者外周血中 IL-1 β 和 IL-6 水平较正常人高,且与抑郁症严重程度呈正相关^[28]。在经治疗后抑郁症患者外周血中 IL-1 β 和 IL-6 水平得到控制,且 SOD 等抗炎因子水平出现提升^[29-30]。由此可知 EGCG 或可通过减少 IL-1 β 和 IL-6 等促炎因子表达促进神经细胞的生长、分化和修复从而发挥其抗抑郁作用。另有研究发现,促炎因子可增加海马组织中 IDO 的表达^[31],IDO 介导的色氨酸代谢异常受到高度重视。色氨酸是 5-羟色胺(5-HT)的合成原料,既可以在色氨酸羟化酶的作用下合成 5-HT,也可以在 IDO 的作用下代谢形成犬尿氨酸等。色氨酸及犬尿氨酸代谢异常与抑郁症发病紧密联系:色氨酸耗竭可造成 5-HT 能神经元功能障碍;犬尿氨酸的神经元活性代谢产物增加,造成 *N*-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)过度激活和自由基的产生,引起中枢特定部位神经元变性等^[32-33]。而色氨酸及犬尿氨酸代谢途径以及相关的代谢产物、代谢酶已成为抗抑郁药物的研究热点^[34]。通过本实验发现,EGCG 可抑制海马组织中 IL-1 β 、IL-6 及 IDO 的表达,有效控制组织病变损伤,改善抑郁症。

综上所述,EGCG 可有效平衡 HPA 轴,减少体内 CORT、ACTH 水平,继而缓解海马组织中氧化应激状态,抑制 MDA 分泌,加强 SOD、GSH-Px 抗氧化作用,下调 IL-1 β 、IL-6 及 IDO 的表达,阻滞海马组织病理损伤进程,最终改善慢性应激所致小鼠抑郁症,控制抑郁症相关行为学变化。本研究为 EGCG 治疗抑郁症提供了科学依据。另有研究发现,在小鼠实验中用放射性同位素素标记 EGCG,在大鼠实验中用化学发光法检测 EGCG,显示 EGCG 可穿过血脑屏障进入脑组织,与此同时可分

布在全身多种组织器官^[35], 由此表明, EGCG 可能通过全身性地调控氧化应激、炎症及内分泌等, 系统地发挥其抗抑郁效应, 而其具体作用机制有待深入研究。

参考文献

- [1] Surget A, Tanti A, Leonardo E D, *et al.* Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation [J]. *Molecul Psych*, 2011, 16(12): 1177-1188.
- [2] Duman R S, Malberg J, Nakagawa S. Regulation of adult neurogenesis by psychotropic drugs and stress [J]. *J Pharmacol Exper Therap*, 2001, 299(2): 401-407.
- [3] Rutledge R B, Moutoussis M, Smittenaar P, *et al.* Association of neural and emotional impacts of reward prediction errors with major depression [J]. *JAMA Psych*, 2017, 74(8): 790-797.
- [4] Ledford H. Medical research: If depression were cancer [J]. *Nature*, 2014, 515(7526): 182-184.
- [5] Wulsin L, Alterman T, Timothy B P, *et al.* Prevalence rates for depression by industry: a claims database analysis [J]. *Soc Psych Psych Epidemiol*, 2014, 49(11): 1805-1821.
- [6] Kotzalidis G D, Rapinesi C, Savoja V, *et al.* Neurobiological evidence for the primacy of mania hypothesis [J]. *Curr Neuropsychopharmacol*, 2017, 15(3): 339-352.
- [7] 宛晓春. 茶叶生物化学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [8] Nanjo F, Goto K, Seto R, *et al.* Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical [J]. *Free Rad Biol Med*, 1996, 21(6): 895-902.
- [9] Kumamoto M, Sonda T, Nagayama K, *et al.* Effects of pH and metal ions on antioxidative activities of catechins [J]. *J Agric Chem Soc Japan*, 2001, 65(1): 126-132.
- [10] Zaveri N T. Green tea and its polyphenolic catechins: medicinal uses in cancer and noncancer applications [J]. *Life Sci*, 2006, 78(18): 2073-2080.
- [11] Nagle D G, Ferreira D, Zhou Y D. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG): Chemical and biomedical perspectives [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(17): 1849-1855.
- [12] 王苗苗, 韩杰, 姜海燕. 表没食子儿茶素没食子酸酯对心脑血管缺血再灌注损伤保护作用机制的研究进展 [J]. *中草药*, 2014, 45(18): 2732-2736.
- [13] Rondanelli M, Opizzi A, Solerte S B, *et al.* Administration of a dietary supplement (*N*-oleyl-phosphatidylethanolamine and epigallocatechin-3-gallate formula) enhances compliance with diet in healthy overweight subjects: a randomized controlled trial [J]. *British J Nutr*, 2009, 101(3): 457-464.
- [14] 赵思俊, 赵晓喆, 向欢, 等. 基于代谢通路调控的沙棘籽油抗抑郁作用机制研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(13): 2682-2690.
- [15] 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.
- [16] 李晓秋, 许晶. 抑郁动物模型的研究进展 [J]. *中华精神科杂志*, 2002, 35(3): 184-186.
- [17] Grønli J, Murison R, Fiske E, *et al.* Effects of chronic mild stress on sexual behavior, locomotor activity and consumption of sucrose and saccharine solutions [J]. *Physiol Behav*, 2005, 84(4): 571-577.
- [18] Bekris S, Antoniou K, Daskas S, *et al.* Behavioural and neurochemical effects induced by chronic mild stress applied to two different rat strains [J]. *Behav Brain Res*, 2005, 161(1): 45-59.
- [19] Katz R J, Roth K A, Carroll B J. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: Implications for a model of depression [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 1981, 5(2): 247-251.
- [20] Cryan J F, Valentino R J, Lucki I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2005, 29(4): 547-569.
- [21] Flandreau E I, Ressler K J, Owens M J, *et al.* Chronic overexpression of corticotropin-releasing factor from the central amygdala produces HPA axis hyperactivity and behavioral anxiety associated with gene-expression changes in the hippocampus and paraventricular nucleus of the hypothalamus [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2012, 37(1): 27-38.
- [22] Xu Y, Ku B, Tie L, *et al.* Curcumin reverses the effects of chronic stress on behavior, the HPA axis, BDNF expression and phosphorylation of CREB [J]. *Brain Res*, 2006, 1122(1): 56-64.
- [23] Mizoguchi K, Shoji H, Ikeda R, *et al.* Persistent depressive state after chronic stress in rats is accompanied by HPA axis dysregulation and reduced prefrontal dopaminergic neurotransmission [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2008, 91(1): 170-175.
- [24] Fumagalli F, Molteni R, Racagni G, *et al.* Stress during development: Impact on neuroplasticity and relevance to psychopathology [J]. *Progr Neurobiol*, 2007, 81(4): 197-217.
- [25] Lanfumey L, Mongeau R, Cohen-Salmon C, *et al.*

- Corticosteroid-serotonin interactions in the neurobiological mechanisms of stress-related disorders [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2008, 32(6): 1174-1184.
- [26] 张心华, 徐 璐. 抑郁症及焦虑症病人血浆 SOD 活性和 MDA 含量的变化 [J]. 齐鲁医学杂志, 1997, 12(4): 157-158.
- [27] Zhao Z, Wang W, Guo H, *et al*. Antidepressant-like effect of liquiritin from *Glycyrrhiza uralensis*, in chronic variable stress induced depression model rats [J]. *Behav Brain Res*, 2008, 194(1): 108-113.
- [28] Raedler T J. Inflammatory mechanisms in major depressive disorder [J]. *Current Opin Psych*, 2011, 24(6): 519-525.
- [29] Catenadell'Osso M, Bellantuono C, Consoli G, *et al*. Inflammatory and neurodegenerative pathways in depression: A new avenue for antidepressant development? [J]. *Current Med Chem*, 2011, 18(2): 245-255.
- [30] Song C, Wang H. Cytokines mediated inflammation and decreased neurogenesis in animal models of depression [J]. *Progr Neuro-psychopharmacol Biol Psych*, 2011, 35(3): 760-768.
- [31] Corona A W, Norden D M, Skendelas J P, *et al*. Indoleamine 2, 3-dioxygenase inhibition attenuates lipopolysaccharide induced persistent microglial activation and depressive-like complications in fractalkine receptor (CX(3) CR1)-deficient mice [J]. *Brain Behav Imm*, 2013, 31(24): 134-142.
- [32] Oxenkrug G F. Tryptophan kynurenine metabolism as a common mediator of genetic and environmental impacts in major depressive disorder: The serotonin hypothesis revisited 40 years later [J]. *Israel J Psychiatry Relat Sci*, 2010, 47(1): 56-63.
- [33] Christmas D M, Potokar J P, Davies S J. A biological pathway linking inflammation and depression: activation of indoleamine 2,3-dioxygenase [J]. *Neuropsych Dis Treat*, 2011, 7(1): 431-439.
- [34] 刘宇凝, 蒋春雷, 王云霞. 炎症诱发抑郁症: 吲哚胺 2,3 双加氧酶的激活是关键环节之一 [J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(14): 2751-2756.
- [35] Suganuma M, Okabe S, Oniyama M, *et al*. Wide distribution of [³H] (-)-epigallocatechin gallate, a cancer preventive tea polyphenol, in mouse tissue [J]. *Carcinogenesis*, 1998, 19(10): 1771-1776.