

温阳解郁汤对抑郁模型大鼠的影响

冯振宇¹, 刘慧宇², 赵杰^{1*}

(山西中医学院 中西医结合医院, 太原 030013)

[摘要] **目的:**研究温阳解郁汤对慢性应激抑郁模型大鼠抑郁行为的影响。**方法:**选取120只雄性Wistar大鼠,随机分为6组:正常组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、温阳解郁汤高、中、低剂量组(8,6,4 g·kg⁻¹)和氟西汀组(3.33 mg·kg⁻¹)。所有大鼠ig给药,ig容量均为20 mL·kg⁻¹。同时,除正常组外,其余各组接受慢性不可预知温和刺激(CUMS)并孤养21 d,在实验21 d采用旷场实验(OFT)、强迫游泳实验(FST)和悬尾实验(TST)对大鼠行为进行评价,并于21 d检测大鼠血清皮质酮(CORT)、促肾上腺皮质激素(ACTH)水平。**结果:**模型组大鼠强迫游泳、悬尾不动时间(94±10),(90±9) s和穿格次数(11.4±3.5)次较正常组(19±5),(28±6) s,(48±10)次有明显改变($P < 0.05$)。与模型组比较,高、中剂量(8,6 g·kg⁻¹)温阳解郁汤组大鼠强迫游泳、悬尾实验不动时间减少(53±8),(47±7) s;(58±9),(50±9) s, ($P < 0.05$);高剂量温阳解郁汤组大鼠旷场实验中穿格数增多(28.6±7.6)次, ($P < 0.05$),血CORT和ACTH水平(246±21) μg·L⁻¹,(234±19) ng·L⁻¹较模型组(290±19) μg·L⁻¹,(279±20) ng·L⁻¹降低($P < 0.05$)。**结论:**温阳解郁汤具有改善CUMS大鼠抑郁行为的作用;温阳解郁汤能够降低抑郁模型大鼠升高的血皮质酮和促肾上腺皮质激素水平。

[关键词] 温阳解郁汤; 抑郁症; 慢性不可预知温和刺激; 皮质酮; 促肾上腺皮质激素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)06-0099-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015060099

Effect of Wenyang Jieyu Decoction in Depression Model Rats FENG Zhen-yu¹, LIU Hui-yu², ZHAO Jie^{1*}
(Shanxi Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, Taiyuan 030013, China)

[Abstract] **Objective:** To study the influence of Wenyang Jieyu (WYJY) decoction on behavior and serum cortisol (CORT) in the rat models with chronic stress depression. **Method:** One hundred and twenty male Wistar rats were randomly divided into six groups: the normal control group, the model control group, high, medium and low dose of WYJY group (8, 6, 4 g·kg⁻¹); and the fluoxetine control group (3.33 mg·kg⁻¹). All rats were fed via intragastric administration at doses of 0.02 mL·g⁻¹. Depression model groups were treated by chronic unpredictable mild stress (CUMS) and single house for 21 d. All rats' behavior changes were observed through open field test (OFT), forced swimming test (FST) and tail suspension test (TST) at 21 d. The serum CORT and adrenocorticotrophic hormone (ACTH) level was also detected by radio-immunoassay at 21 d. **Result:** Compared with the normal control group, the model control group rats' behavior and hormone level in serum were changed significantly ($P < 0.05$), and WYJY could improve these changes. In FST and TST, the immobility time of the rats in high and medium dose (8, 6 g·kg⁻¹) of WYJY groups were decreased significantly ($P < 0.05$). In OFT the cross number of the rats in high dose (8 g·kg⁻¹) of WYJY groups were increased significantly ($P < 0.05$). The serum CORT and ACTH level of rats in high dose (8 g·kg⁻¹) of WYJY groups were decreased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion:** WYJU can improve the depressive behavior of CUMS rats and it also can reduce the serum cortisol and adreno-cortico-tropic-hormone level.

[Key words] Wenyang Jieyu decoction; depressive disorder; chronic unpredictable mild stress; cortisol; adreno-cortico-tropic-hormone

[收稿日期] 20140724(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(8137399)

[第一作者] 冯振宇,医学硕士,主治医师,从事经方疑难病治疗,Tel:15934040918

[通讯作者] *赵杰,主任医师,从事心身疾病治疗,E-mail:sxfzy@163.com

抑郁症是一组由多种因素引起的以心境显著低落为主要特征的精神疾病^[1]。随着人们所受的生活压力的逐渐升高,抑郁症的发病率也呈逐年升高趋势,因此对抑郁症的治疗也逐渐在世界范围内受到重视^[2]。近年来,使用温阳补肾方剂治疗抑郁症的思路被提出并进行了初步的论证^[3-4],这些研究结果显示:由柴胡、白芍、当归、仙茅、淫羊藿等中草药组成的温补肾阳、理气解郁的方剂能够缩短母婴分离模型小鼠抉择和回避抉择式时间;能够降低皮质酮(CORT)水平,改善下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴功能,这提示温补肾阳、理气解郁在抑郁症治疗方面具有可行性。本研究建立慢性不可预知应激抑郁大鼠模型(CUMS),采用由桂枝、附子、炙甘草等组成的温阳解郁方剂,从增强机体阳气角度研究其对抑郁模型大鼠的影响,为进一步研究温阳药的抗抑郁机制提供实验基础。

1 材料

1.1 动物 120只SPF级雄性大鼠,初始体重150~180g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号SCXK(京)2012-0001。

1.2 试剂 盐酸氟西汀分散片(西班牙礼来公司,批号A496002),CORT,促肾上腺皮质激素(ACTH)放免试剂盒(北京华英生物技术研究所,批号HY-10063, HY-10057);中草药购自同仁堂药店,其他实验相关试剂均由我院中心实验室提供。

1.3 温阳解郁汤浓缩煎剂制备 温阳解郁汤组成药物:桂枝、附子各15g,炙甘草10g,生姜、乌梅各30g,大枣5个;以上药物按比例称取,加入药材质量10倍量70%乙醇溶液提取3次,第1次为1.5h,第2,3次分别为45min,合并提取液,减压回收乙醇并浓缩至稠膏状,减压干燥成干膏并粉碎成细粉,过80目筛备用。

1.4 仪器 自制旷场箱80cm×80cm×40cm,自制悬尾箱30cm×45cm×55cm,直径20cm、高45cm有机玻璃缸, BGZ-146型电热鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂), XMTD-204型数码电热恒温水浴锅(上海博迅实业有限公司医疗设备厂), G154DW型自动高压灭菌器(美国, Zealway公司), GC-1200型 γ 放射免疫计数器(科大创新股份有限公司中佳分公司)。

2 方法

2.1 建立慢性应激抑郁大鼠模型及分组给药 将Wistar大鼠首先饲养7d以适应环境,最后一天用视频跟踪分析系统进行Open-field行为学测定,选

取评分相近的120只健康雄性大鼠,依照体重随机分为正常组、模型组、温阳解郁高、中、低剂量组和氟西汀对照组,每组20只。正常组和模型组大鼠ig生理盐水;温阳解郁高、中、低剂量组ig温阳解郁汤浓缩煎剂(8,6,4g·kg⁻¹);氟西汀对照组ig盐酸氟西汀(3.33mg·kg⁻¹),ig容量均为20mL·kg⁻¹。结合慢性不可预知应激和孤养两种方法建立抑郁大鼠模型。120只Wistar大鼠饲养于恒定温度为22℃的室内环境中,日照与黑暗时间各为12h。除正常组每笼5只饲养不给予任何刺激外,其余各组均每笼1只饲养,每天给予不同刺激:冷水游泳(4℃,5min),禁水(24h),热应激(45℃,5min),禁食(24h),夹尾(1min),摇晃(1次/s,5min),电击足底(5mV,每隔30s刺激1次,每次持续10s,共15次)和昼夜颠倒等。ig给药1h后,实施相应刺激:每日内随机安排每日给予1种刺激,每种刺激出现2~3次,同一种刺激不连续出现,使大鼠不能预知给予的刺激,实验持续21d,并于21d时对大鼠进行行为学评价。

2.2 强迫游泳试验(FST) 将大鼠置于水深30cm的玻璃缸中,保持水温(25±2)℃,大鼠后肢不能触及缸底,前肢不能附于缸壁顶部。观察6min,记录后4min内的累积不动时间。严格控制水温,且每只大鼠试验前更换试验用水。

2.3 悬尾试验(TST) 采用自制悬尾木箱,大鼠尾部穿过木箱顶部孔板,距尾尖3cm处软夹、胶布固定,大鼠头部距离箱底3cm。试验悬挂6min,记录后4min内累计静止时间。

2.4 旷场试验(OFT) 采用旷场箱内壁及底部刷黑,底面划分成25个面积相等的方格,摄像头垂直距敞箱30cm。观察并拍摄记录大鼠5min内测定运动格数。每次均从固定的中央格放入大鼠。每只大鼠测评结束后,敞箱擦拭干净,以免影响下次试验。

2.5 大鼠血清CORT和ACTH水平的测定 21d试验结束后将大鼠迅速断头取血,置于离心管内,4℃4000r·min⁻¹,离心10min,取上清液-20℃保存待测。采用放免法检测CORT和ACTH的含量。

2.6 统计学处理 本实验数据采用SPSS Statistics Version 17.0软件分析。量数据资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用T检验。以 $P < 0.05$ 判断有显著性差异。

3 结果

3.1 强迫游泳试验 模型组大鼠强迫游泳不动时

间,与正常组相比差异具有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比温阳解郁汤高、中剂量组和阳性药对照组均可减少强迫游泳不动时间,组间差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

3.2 悬尾试验 模型组大鼠悬尾不动时间逐渐延长,与正常组相比差异具有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比温阳解郁汤高、中、低剂量组和阳性药对照组均可减少悬尾不动时间,组间差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

3.3 旷场试验 模型组大鼠穿格次数减少,与正常组相比存在显著性差异($P < 0.05$);与模型组相比温阳解郁汤高剂量组和阳性药对照组均可改善大鼠穿格次数的减少程度,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 温阳解郁汤对抑郁模型大鼠行为的影响($\bar{x} \pm s, n = 20$)
Table 1 Influence of Wenyang Jieyu decoction on behavior of CUMS model rats($\bar{x} \pm s, n = 20$)

分组	剂量 /g·kg ⁻¹	FST 不动 时间/s	TST 不动 时间/s	OFT 穿格数 /次
正常	-	19 ± 5	28 ± 7	48.2 ± 9.7
模型	-	94 ± 10 ¹⁾	90 ± 9 ¹⁾	11.4 ± 3.5 ¹⁾
WYJY	4	81 ± 10	75 ± 10	14.2 ± 4.3
	6	58 ± 9 ²⁾	50 ± 9 ²⁾	20.3 ± 5.4
	8	53 ± 8 ²⁾	47 ± 7 ²⁾	28.6 ± 7.6 ²⁾
氟西汀	3.33 × 10 ⁻³	43 ± 6 ²⁾	44 ± 7 ²⁾	32.1 ± 6.3 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

3.4 大鼠血清 CORT 和 ACTH 水平 模型组大鼠 CORT 和 ACTH 水平均高于正常组,具有显著差异($P < 0.05$);温阳解郁汤组,随着给药剂量的增加,大鼠血 CORT 和 ACTH 水平均呈下降趋势,高剂量组大鼠 CORT 和 ACTH 水平与模型组比较具有显著差异($P < 0.05$)。见表 2。

4 讨论

中医中虽无“抑郁”病名,但“郁证”、“癫证”、“脏躁”、“百合病”等病症论述与抑郁症有相似的病症描述。随着中医药的发展,使用中医方剂治疗抑郁症的论述屡见报道,如:主张疏肝理气、解郁安神的柴胡疏肝散^[5-6]、四逆散^[7]、逍遥散^[8-10]、苏郁胶囊^[11]、枳术宽中胶囊^[12]等;亦有主张补益心脾、气血并补治疗抑郁症的方剂,如归脾汤^[13]、归脾丸^[14]等,这些方剂及理论在临床及实验研究中均取得一定的效果。近年来,用温阳补肾法治疗抑郁症的报道逐渐增多^[3-4],长期生活压力、精神紧张导致

表 2 温阳解郁汤对抑郁模型大鼠血 CORT 和 ACTH 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 2 Influence of Wenyang Jieyu decoction on hormone level of CUMS model rats($\bar{x} \pm s, n = 20$)

分组	剂量 /g·kg ⁻¹	CORT /μg·L ⁻¹	ACTH /ng·L ⁻¹
正常	-	252 ± 24	212 ± 17
模型	-	290 ± 19 ¹⁾	279 ± 20 ¹⁾
WYJY	4	285 ± 18	275 ± 15
	6	266 ± 13	257 ± 18
	8	246 ± 21 ²⁾	234 ± 19 ²⁾
氟西汀	3.33 × 10 ⁻³	229 ± 17 ²⁾	240 ± 16 ²⁾

的抑郁症可能与肾精受损、阳气不足有关,温阳解郁汤以大辛大热之补阳要药附子、肉桂为主,以补坎中之真阳,温肾暖脾,乌梅补木气,生津液,助肝阳之用,配姜、草、大枣调中,交通上下,对阳虚型抑郁症可谓方证对应,因此选用本方研究其对慢性不可预见性应激抑郁模型大鼠的影响。

实验结果显示:模型组大鼠强迫游泳和悬尾不动时间延长,旷场试验穿格数减少,与正常组比较具有统计学意义($P < 0.05$),该结果与秦丽娟^[15]、罗文等^[16]研究中建立的 CUMS 抑郁模型大鼠实验结果相近,表明本研究采用慢性不可预见性刺激并孤养方法成功建立了抑郁模型大鼠。与模型组相比,阳性药氟西汀组和高、中剂量温阳解郁组抑郁模型大鼠强迫游泳和悬尾不动时间缩短($P < 0.05$),阳性药氟西汀组和高剂量温阳解郁组抑郁模型大鼠旷场试验穿格数增多($P < 0.05$);大鼠血 CORT 检测结果显示,模型组大鼠血 CORT 高于正常组($P < 0.05$),而阳性药氟西汀组和高剂量温阳解郁组大鼠血 CORT 低于模型组($P < 0.05$),该结果表明温阳解郁汤浓缩煎剂能有效提高抑郁症大鼠的自主活动,减少强迫游泳下被动活动的不动时间,可能改善模型大鼠情绪低落、思维迟滞等症状,其作用与盐酸氟西汀治疗效果相似,且高剂量温阳解郁汤浓缩煎剂能够起到更好的效果,与低剂量组比较有统计学差异,提示本方可能存在量效关系。

HPA 轴功能亢进是抑郁症的神经内分泌机制研究中较为公认的。在正常人体的调节下,急、慢性应激事件都可以促使下丘脑的室旁核分泌大量的促肾上腺皮质激素释放激素(CRH),然后刺激垂体分泌大量的促肾上腺皮质激素(ACTH),进而导致皮质醇(CORT)的合成以及释放增加。温阳解郁汤能

够降低由于慢性应激导致的血 ACTH, CORT 水平升高, 表明本方对抑郁模型大鼠 ACTH, CORT 具有良好的调节作用, 提示调控异常的 HPA 轴功能是本方治疗抑郁的可能机制。

[参考文献]

[1] Duric V, Duman R S. Depression and treatment response: dynamic interplay of signaling pathways and altered neural processes[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(1):39-53.

[2] 樊蔚虹, 禹方, 姚建平. 中医药对抑郁症下丘脑-垂体-肾上腺轴的影响[J]. *国际中医中药杂志*, 2013, 35(5):453-456.

[3] 谢磊, 张鹏, 罗瑞, 等. 基于肾为元阳之本探讨温补肾阳方治疗抑郁症[J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(5):1130-1134.

[4] 岳广欣, 张玲, 卢贺起, 等. 温阳解郁法对母婴分离小鼠行为模式及 HPA 轴功能的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2014, 1(20):42-45.

[5] Wang S, Hu S, Zhang C, et al. Antidepressant-like activity of Chaihu-Shugan-San aqueous extract in rats and its possible mechanism [J]. *Pharmacognosy Magazine*, 2014, 10(37):50.

[6] Qiu J, Hu S Y, Zhang C H, et al. The effect of Chaihu-Shugan-San and its components on the expression of ERK5 in the hippocampus of depressed rats [J]. *J Ethnopharmacology*, 2014, 152(2):320-326.

[7] Sun X, Lin D, Wu W, et al. Translational chinese medicine: a way for development of traditional chinese medicine [J]. *Chinese Medicine*, 2011, 2:186-190.

[8] Park H J, Shim H S, Chung S Y, et al. Effects of soyosan in repeated immobilization stress-induced

ovariectomized female rats [J]. *BMC Complem Altern Med*, 2014, 14(1):34.

[9] Lu X, Yang D, Yao J, et al. Effects of traditional and western medicine therapy on the HPA, HPT and HPG axis in depression patients [J]. *Clinical Medical & Engineering*, 2011, 8:1256-1267.

[10] Yang D, Lu X, Yao J. Effects of Xiaoyao Powder combined with paroxetine on the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in senile depression patients [J]. *Med J Chin People Health*, 2010, 17(22):2224-2226.

[11] 黄真, 毛庆秋, 潘爱娟, 等. 苏郁胶囊对双侧嗅球损伤抑郁大鼠行为学及下丘脑-垂体-肾上腺轴的影响[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2009, 14(2):163-166.

[12] 畅洪昇, 梁吉春, 石任兵, 等. 枳术宽中胶囊对嗅球损毁大鼠抑郁症模型的抗抑郁作用研究[J]. *北京中医药大学学报*, 2009, 32(8):557-560.

[13] 于鸿飞. 归脾汤对抑郁模型大鼠血中 ACTH、CORT 及 IL- β 影响的实验研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2009:21-28.

[14] 叶金竹. 基于中医藏象整体观探讨抑郁症从心脾论治的理论和应用研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2010:101-111.

[15] 秦丽娟, 刘丹, 蒋兴惠, 等. 文拉法辛抗 FMHD 致大鼠抑郁行为涉及阻遏海马 TH 和 TPH 表达下调[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2014, 19(4):398-403.

[16] 罗文. 美洛昔康对 CUMS 大鼠抑郁行为的影响[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2012:18-19.

[17] 张玲, 刘治中, 梁媛, 等. 温阳解郁方对母婴分离社会击败应激小鼠的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2010, 7(16):563-566.

[责任编辑 聂淑琴]