

柴胡总皂苷对小鼠抑郁样行为及学习记忆障碍的改善作用

杨久山¹, 张楠², 宋铭晶², 王琼³, 孙秀萍^{2*}

(1. 山东中医药大学附属医院, 济南 250014; 2. 北京协和医学院比较医学中心, 中国医学科学院北京协和医学院医学实验动物研究所, 卫生部人类疾病比较医学重点实验室, 国家中医药管理局人类动物模型三级实验室, 北京 100021; 3. 四川医科大学, 泸州 646000)

[摘要] 目的:研究柴胡总皂苷连续给药抗抑郁作用起效时间及作用维持时间,以及柴胡总皂苷对皮质酮损伤引起的小鼠抑郁样行为及认知功能障碍的影响。方法:ICR 雄性小鼠随机分为正常组(蒸馏水)、柴胡总皂苷低剂量组(12.5 mg·kg⁻¹),柴胡总皂苷中剂量组(25 mg·kg⁻¹),柴胡总皂苷高剂量组(50 mg·kg⁻¹)。每周称体重,给药 13 d 后,进行空场实验。给药 14 d 后 1 h,3 d,6 d 观察柴胡总皂苷对强迫游泳实验不动时间的影响。C57BL/6J 雄性小鼠随机分为正常组,皮质酮组(CORT 组),西酞普兰组(10 mg·kg⁻¹)和柴胡总皂苷(25 mg·kg⁻¹)组。CORT 组、西酞普兰组和柴胡总皂苷组饮用皮质酮。造模 3 周后,ig 给予柴胡总皂苷,给药时间为 2 周,至第 5 周结束,西酞普兰 ig,给药时间同柴胡总皂苷。给药结束后 1 d,进行强迫游泳实验和水迷宫实验。行为学实验结束后,各组各取 3 只小鼠,断头,取海马,蛋白质免疫印迹(Western blot)进行脑源性神经营养因子(BDNF)和酪氨酸激酶 B(TrkB)蛋白表达检测。结果:柴胡总皂苷连续给药 14 d,与正常组比较,对体重和空场实验运动路程及速度无影响。停药后 1 h 和 3 d,柴胡总皂苷各剂量组均可缩短小鼠强迫游泳不动时间($P < 0.01$, $P < 0.05$);停药后 6 d,柴胡总皂苷 25,50 mg·kg⁻¹ 仍可缩短小鼠强迫游泳实验不动时间($P < 0.05$)。柴胡总皂苷 25 mg·kg⁻¹ 连续给药 14 d,可缩短皮质酮损伤小鼠强迫游泳不动时间($P < 0.01$),缩短水迷宫实验寻台潜伏期($P < 0.05$),提高穿台次数($P < 0.05$),并增加皮质酮损伤小鼠海马 BDNF 和 TrkB 蛋白表达($P < 0.01$)。结论:柴胡总皂苷连续给药产生较快而持久的抗抑郁作用,逆转皮质酮损伤引起的小鼠抑郁样行为及学习记忆障碍。其作用机制可能与增加小鼠海马 BDNF 及 TrkB 表达有关。

[关键词] 柴胡总皂苷; 抑郁症; 强迫游泳; 脑源性神经营养因子

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)24-0134-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016240134

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160929.0924.024.html>

[网络出版时间] 2016-09-29 9:24

Effect of Total Saponins from Bupleuri Radix on Improvement in Depression-Like Behavior and Learning and Memory Ability in Mice

YANG Jiu-shan¹, ZHANG Nan², SONG Ming-jing², WANG Qiong³, SUN Xiu-ping^{2*}

(1. Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Jinan 250014, China.

2. Comparative Medicine Center, Peking Union Medical College, Institute of Laboratory

Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences, Key Laboratory of Human

Disease Comparative Medicine, Ministry of Health, Key Laboratory of Human Disease

Animal Models, State Administration of TCM, Beijing

100021, China; 3. Sichuan Medical University, Luzhou 646000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the onset time and duration of action for the antidepressant effect

[收稿日期] 20151115(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31301890);北京市自然科学基金项目(7142105);四川省科技厅-泸州市人民政府-泸州医学院联合科研资金项目(14JC01323-LH50)

[第一作者] 杨久山,博士,副主任医师,从事运动医学研究,Tel: 0531-68617062, E-mail: yangjiushan@163.com

[通讯作者] *孙秀萍,博士,助理研究员,从事神经精神药理及方法学研究,Tel:010-67770093, E-mail: supering_sun@126.com

of total saponins from Bupleuri Radix, and observe their effects on corticosterone damage-induced depression behavior and learning and memory impairment in mice. **Method:** Male ICR mice were randomly divided into normal group (distilled water), total saponins from Bupleuri Radix low, middle and high dose groups (12.5, 25, 50 mg·kg⁻¹). They were weighed every week, and field experiment was conducted after drug administration for 13 days. Total saikosaponins was given intragastrically once a day for 14 consecutive days. The effects of total saponins from Bupleuri Radix on motionless time in forced-swimming test were observed after the last administration at different time (1 h, 3 d, 6 d). Male c57BL/6J mice were randomly divided into normal group, corticosterone (CORT) group, citalopram group (10 mg·kg⁻¹) and total saponins from Bupleuri Radix group (25 mg·kg⁻¹). Corticosterone (35 mg·L⁻¹, equivalent to 5 mg·kg⁻¹·d⁻¹) was delivered for 5 weeks in drinking water in CORT group, citalopram group and total saponins from Bupleuri Radix group. 3 weeks after modeling, total saponins from Bupleuri Radix were given by *ig* administration for 2 weeks until week 5; citalopram was also given by *ig* administration for 2 weeks. 1 day after drug administration, forced swimming test and water maze test were conducted. After the behavioral experiment, 3 mice were taken from each group. They were sacrificed then, and hippocampus was taken to detect the expression levels of brain derived neurotrophic factor (BDNF) and tyrosine kinase B (TrkB) by Western blot. **Result:** As compared with the normal group, total saponins from Bupleuri Radix had no effects on weight and moving distance and velocity in field experiment after 14 days administration, but could decrease the motionless time in forced swimming test at different time (1 h and 3 d after drug with drawal) ($P < 0.05$, $P < 0.01$). 6 days after drug withdrawal, total saponins from Bupleuri Radix 25 and 50 mg·kg⁻¹ could still shorten the motionless time in forced swimming test ($P < 0.05$). Two weeks treatment with total saponins from Bupleuri Radix at dose of 25 mg·kg decreased the motionless time in forced swimming test ($P < 0.01$) and shorten the latency to reach the platform, and increase the number of platform crossing times in Morris Water Maze ($P < 0.05$); in addition, they could increase the BDNF and Trk B levels in the hippocampus of mice with corticosterone damage ($P < 0.01$). **Conclusion:** Total saponins from Bupleuri Radix could have a rapid and sustained antidepressant activity and reverse the depression-like behavior as well as learning and memory impairment induced by corticosterone damage. The mechanism may be associated with up-regulating BDNF and Trk B expression levels in the hippocampus of mice.

[**Key words**] total saponins from Bupleuri Radix; depression; forced swim test; brain derived neurotrophic factor

抑郁症是一种以显著而持久的兴趣缺失、心境低落为主要特征的慢性、反复发作性情感精神障碍。全球抑郁症的发病率约为 10% ~ 15%, 抑郁症已成为威胁人类健康的第四大疾病^[1]。认知功能障碍, 如学习记忆、注意力及执行力障碍是抑郁症的常见并发症^[2]。其中学习记忆是认知活动的重要内容, 抑郁症患者急性期及缓解期均存在明显的学习记忆障碍^[3]。柴胡始载于《神农本草经》, 柴胡及其复方在古今临床被广泛应用于抑郁症的治疗^[4]。银州柴胡在我国西北部分布广泛, 被广为应用, 其主要活性成分为柴胡总皂苷。前期研究结果表明, 银州柴胡总皂苷可以显著缩短小鼠的悬尾和强迫游泳实验的不动时间, 并可通过提高 5-羟色胺等神经递质, 改善慢性不可预测性应激小鼠的抑郁行为^[5]。细胞实验证实, 银州柴胡总皂苷可拮抗皮质酮损伤引

起的 PC12 细胞凋亡, 表现为神经细胞保护作用^[6]。大量文献表明, 柴胡及以柴胡为主要药物的复方具有学习记忆改善作用^[7]。本研究在以往研究基础上, 应用强迫游泳实验, 进一步观察柴胡总皂苷连续给药的抗抑郁作用起效时间及作用持续时间。同时, 观察柴胡总皂苷对皮质酮损伤模型的抗抑郁作用及学习记忆改善作用, 并对其作用机制进行初步研究, 为柴胡总皂苷抗抑郁及认知功能改善作用的深入研究提供数据支撑。

1 材料

1.1 动物 ICR 雄性小鼠, SPF 级, 体重 23 ~ 25 g; C57BL/6J 雄性小鼠, SPF 级, 体重 23 ~ 25 g, 由北京华阜康生物科技股份有限公司, 提供合格证号 SCXK(京)2014-0004。动物使用许可证号 SYXK(京)2014-0029。动物自由进食进水, 室内温度

23 ~ 25 °C, 相对湿度 55% ± 10%。维持 12 h 光照/12 h 黑暗的昼夜节律。动物适应环境 1 周进行实验。

1.2 药物及试剂 柴胡总皂苷由中国医学科学院药用植物研究所天然药物化学中心潘瑞乐教授提供。羟丙基-β-环糊精(山东滨州致源生物科技有限公司提供), 脑源性神经营养因子(BDNF, 美国 Millipore 公司, 批号 #2476683), 酪氨酸激酶 B(TrkB, 美国 Santa Cruz 公司, 批号 794)。

1.3 仪器 EthoVision XT 型动物行为学视频跟踪系统(荷兰 Noldus Information Technology 公司)。

2 方法

2.1 柴胡总皂苷连续给药抗抑郁起效时间及药效维持时间研究 48 只 ICR 小鼠按照随机数字表分为正常组(蒸馏水)、柴胡总皂苷低、中、高剂量组(12.5, 25, 50 mg·kg⁻¹), 每组 12 只。各组均 ig 给予 0.2 mL/10 g, 给药时间为 14 d。每天称取体重。第 13 天给药后 1 h, 进行空场实验。第 14 天停药后 1 h, 3 d 及 6 d, 分别进行强迫游泳实验。

2.1.1 空场实验 方形空场环境尺寸为 50 cm × 50 cm × 30 cm(长 × 宽 × 高)。中央区是以方形空场对角线交点为中心, 边长 20 cm 的正方形区域, 边缘区宽 8 cm。将小鼠置于空场, 观察 5 min 内的自发活动。实验采用动物行为学视频跟踪系统, 记录动物的运动路程、速度等。

2.1.2 强迫游泳实验 根据 Porsolt 等方法^[8], 将小鼠放入高 20 cm, 直径 12 cm, 水深 14 cm 的圆形玻璃容器中, 水温 25 °C, 观察 6 min, 记录后 4 min 的累计不动时间。判定不动的标准是动物在水中停止挣扎, 呈漂浮状态, 仅有细小的肢体运动以保持头部浮在水面。

2.2 柴胡总皂苷对皮质酮损伤模型抗抑郁作用及认知功能改善作用研究

2.2.1 皮质酮损伤模型的制备 参照文献^[9]将皮质酮溶于 0.45% 羟丙基-β-环糊精水溶液中, 供动物饮用。皮质酮质量浓度为 35 mg·L⁻¹, 相当于每天 5 mg·kg⁻¹。动物饮用 5 周后, 进行强迫游泳行为学检测。

2.2.2 动物分组及干预方法 48 只 c57BL/6J 雄性小鼠按照随机数字表分为正常组、皮质酮组(CORT 组)、西酞普兰组和柴胡总皂苷(25 mg·kg⁻¹)组, 每组 12 只。正常组饮用 0.45% 羟丙基-β-环糊精水溶液。CORT 组和柴胡总皂苷组饮用皮质酮(溶于 0.45% 羟丙基-β-环糊精水溶液)。造模 3 周后, ig 给予 25 mg·kg⁻¹ 柴胡总皂苷干预, 给药时间为 2 周, 至第 5 周结

束。西酞普兰按 10 mg·kg⁻¹ ig。在给药结束后 1 d, 进行强迫游泳实验, 实验方法同 2.1.2 项。

2.2.3 水迷宫实验 动物在测试房间适应 1 h 后, 进行水迷宫实验。实验装置直径为 100 cm, 高 50 cm。将水池等分为 4 个象限, 平台象限的中央放置直径为 9 cm, 高 27 cm 的圆形平台。水中加入奶粉, 水温 25 °C。根据文献^[10], 水迷宫实验过程分为可视平台实验、定位航行(隐藏平台)实验和空间探索实验 3 个阶段。第 1 天, 进行可视平台实验, 平台露出水面 1 cm, 每只动物从 3 个象限(平台象限除外), 内壁放入水中, 游泳 1 min。定位航行实验: 第 2 至第 5 天进行定位航行实验。平台位于水面以下约 1 厘米。动物从 3 个象限(平台象限除外)入水, 共游泳 3 次。每次 1 min。动物找到平台并停留 5 s, 或测试时间到, 实验自动停止。不论动物是否找到平台, 一次游泳结束, 均将动物引导至平台, 停留 10 s。空间探索实验: 定位航行实验结束 24 h 后, 撤除平台。将动物从对角象限(与实验象限相对应的象限)放入水中, 观察 1 min 内动物在平台象限的穿台次数。

2.2.4 BDNF 及 TrkB 蛋白表达测定 停药 1 h, 强迫游泳实验结束后, 各组各取 3 只动物, 断头取海马, 蛋白质免疫印迹(Western blot)方法检测海马 BDNF 及 TrkB 的表达。每 10 mg 组织加 100 μL 预冷的裂解液, 冰上裂解 30 min。12 000 r·min⁻¹, 4 °C 离心 20 min。取上清液, 用 BCA 法测定蛋白浓度。SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE), 转膜(300 mA, 2 h)。5% 小牛血清封闭 1 h。一抗孵育过夜, 加入 HRP 标记的二抗和内参。一抗稀释浓度为 1:500, 甘油醛-3-磷酸盐脱氢酶(GADPH)稀释浓度为 1:1 000。ECL 试剂盒显色。应用 Image J 软件进行统计分析。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单样本 K-S 检验进行正态分布检验, 正态分布数据采用单因素方差分析, 不满足正态分布的数据采用非参数检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 柴胡总皂苷给药 14 d 抗抑郁作用及药效维持时间研究

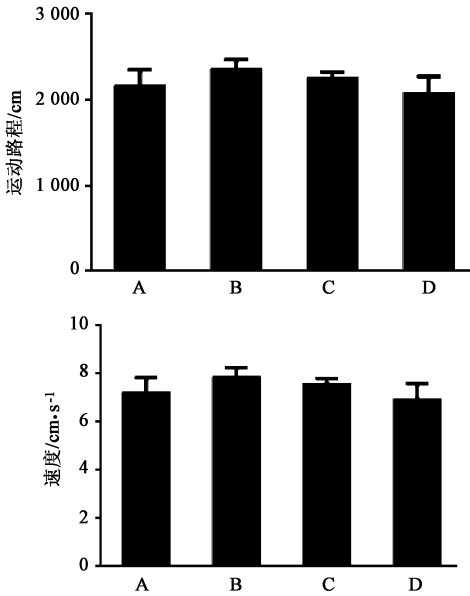
3.1.1 对小鼠体重的影响 给药前及给药 7 d 和 14 d 后, 各组小鼠体重差异无统计学意义, 见表 1。

3.1.2 对小鼠空场实验的影响 与正常组比较, 柴胡总皂苷各剂量组空场实验运动路程及速度, 与正常组比较, 差异无统计学意义。见图 1。

表 1 柴胡总皂苷对小鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of total saponins from Bupleuri Radix on weight in mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

| 组别 | 剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 给药前 | 给药 7 d | 给药 14 d |
|-------|--------------------------------------|------------|------------|------------|
| 正常 | - | 26.3 ± 1.0 | 28.2 ± 1.6 | 30.5 ± 2.4 |
| 柴胡总皂苷 | 12.5 | 27.3 ± 0.7 | 29.1 ± 1.3 | 30.5 ± 2.0 |
| | 25 | 27.0 ± 1.7 | 28.6 ± 1.3 | 29.9 ± 1.5 |
| | 50 | 27.5 ± 1.0 | 29.3 ± 1.6 | 30.5 ± 2.0 |



A. 正常组; B. 柴胡总皂苷 12.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; C. 柴胡总皂苷 25 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; D. 柴胡总皂苷 50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组

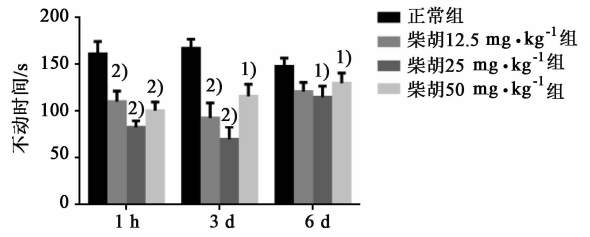
图 1 柴胡总皂苷对小鼠空场实验运动路程和速度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 1 Effect of total saponins from Bupleuri Radix on distance moved and velocity in open field test ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

3.1.3 对强迫游泳实验的影响 给药 14 d, 停药后 1 h 时, 与正常组比较, 柴胡总皂苷各剂量组均可缩短小鼠强迫游泳不动时间 ($P < 0.01$); 停药后 3 d, 柴胡总皂苷各剂量组均可缩短小鼠强迫游泳不动时间 ($P < 0.01, P < 0.05$); 停药后 6 d, 柴胡总皂苷 25, 50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可缩短小鼠强迫游泳不动时间 ($P < 0.05$)。柴胡总皂苷 12.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组小鼠未能缩短强迫游泳不动时间, 与正常组比较差异无统计学意义。见图 2。

3.2 柴胡总皂苷对皮质酮损伤小鼠抗抑郁及学习记忆改善作用

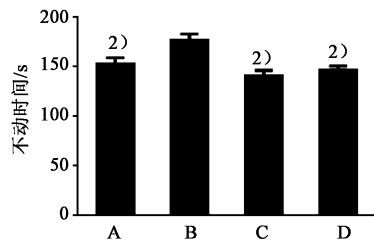
3.2.1 对皮质酮损伤小鼠强迫游泳不动时间的影响 与正常组比较, 皮质酮组小鼠强迫游泳不动时间显著延长 ($P < 0.01$); 与皮质酮组比较, 西酞普兰和柴胡总皂苷组缩短不动时间 ($P < 0.01$)。见图 3。



与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

图 2 柴胡总皂苷对小鼠强迫游泳实验不动时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 2 Effect of total saponins from Bupleuri Radix on forced swimming test time in mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)



A. 正常组; B. 皮质酮组; C. 西酞普兰组; D. 柴胡总皂苷 25 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组。与皮质酮组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (图 4, 5 同)

图 3 柴胡总皂苷给药对皮质酮损伤小鼠强迫游泳实验不动时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 3 Effect of total saponins from Bupleuri Radix on immobility time in forced swim test in chronic corticosterone treated mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

3.2.2 对皮质酮损伤小鼠水迷宫实验的影响 随着训练时间的延长, 正常组和皮质酮组寻台潜伏期均逐渐缩短, 正常组缩短更明显, 与正常组比较, 至第 4 天时, 皮质酮组学习能力进一步下降, 寻台潜伏期延长 ($P < 0.01$)。柴胡总皂苷组小鼠寻台潜伏期较皮质酮组短 ($P < 0.05$)。与正常组比较, 皮质酮组穿台次数明显下降 ($P < 0.05$)。与皮质酮组比较, 柴胡总皂苷组穿台次数增加 ($P < 0.05$)。见图 4。

3.2.3 对小鼠海马 BDNF 及 TrkB 表达的影响 与正常组比较, 皮质酮组小鼠海马 BDNF 及 TrkB 表达均下降 ($P < 0.01$)。与皮质酮组比较, 柴胡总皂苷 25 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 连续给药 14 d, 可逆转皮质酮损伤引起的上述变化, 小鼠海马 BDNF 及 TrkB 表达增加 ($P < 0.01$)。见图 5。

4 讨论

动物在空场环境中总体活动的增加或减少可以反应模型或药物对中枢神经系统的兴奋或抑制作用^[11]。在药物评价中, 需要首先通过空场实验对药物是否具有中枢神经系统的兴奋或抑制作用进行监

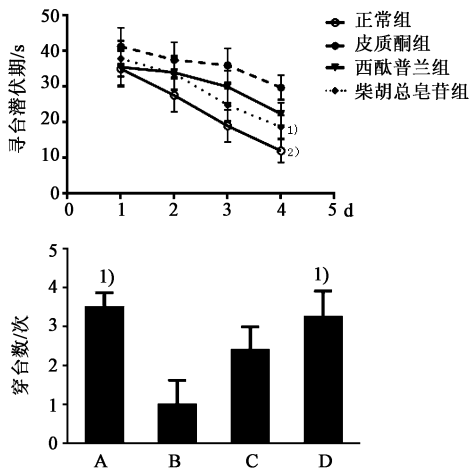


图 4 柴胡总皂苷对皮质酮损伤小鼠水迷宫实验的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)
Fig. 4 Effect of total saponins from Bupleuri Radix on Morris Water Maze in chronic corticosterone treated mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

剂量范围内,对中枢神经系统没有明显的兴奋或抑制作用。另外,柴胡总皂苷给药两周对动物的体重无明显影响,提示在上述剂量范围内,柴胡总皂苷对动物饮食无明显影响。

目前应用的抗抑郁药物存在起效缓慢,连续服用,不良反应严重等一系列问题^[12]。最近人们在抗抑郁药物的起效时间、药效维持时间等时效关系方面进行了探索性研究。如酚类化合物在强迫游泳实验中,抗抑郁作用起效时间在 30 min 和 (或) 1 h,药效至少可持续 2 h^[13]。越鞠丸在获得性无助和悬尾实验中,表现为快速抗抑郁作用,药效至少可持续 24 h^[14]。姜黄素给药 10 d,抗抑郁作用可以持续 1 周^[15]。临床大多数抗抑郁药物给药 2~3 周开始起效,因此本实验柴胡总皂苷采用连续给药 2 周方案。柴胡总皂苷 12.5, 25, 50 mg·kg⁻¹ 连续给药 2 周,停药 1 h 和 3 d 后,均显著缩短强迫游泳实验不动时间,并表现出倒“U”型量效关系。25 mg·kg⁻¹ 组抗抑郁作用最强,其药效维持至停药 6 d 后,而 12.5 和 50 mg·kg⁻¹ 在停药 6 d 后,药效作用消失。柴胡总皂苷连续给药实验结果提示,柴胡总皂苷起效较快,以 25 mg·kg⁻¹ 药效作用最强并且最持久。

抑郁症患者常伴有认知功能损害,尤以学习记忆损害更为明显。一般认为,应激因素引起下丘脑-垂体-肾上腺轴 (hypothalamus-pituitary-adrenal, HPA) 负反馈失调,促使体内糖皮质激素 (啮齿类动物称为皮质酮) 释放,导致海马、前额皮层等受损,引发抑郁症及学习记忆等认知功能损害^[16]。目前应用的物理性应激抑郁症动物模型可伴发认知功能损伤。近年来,人们通过皮下注射、饮入皮质酮等人为方式,增加动物体内的皮质酮水平,可以模拟应激引起海马功能和结构受损。该模型表现为强迫游泳实验不动时间延长等抑郁行为表型,同时也出现学习记忆等认知功能损伤^[9]。本研究应用该皮质酮损伤模型,发现皮质酮组强迫游泳实验不动时间显著延长,水迷宫定位航行实验显示寻台潜伏期延长,探索实验显示穿台次数显著降低,与文献报道一致。本研究中,西酞普兰可缩短皮质酮损伤引起的小鼠强迫游泳不动时间。柴胡总皂苷 25 mg·kg⁻¹ 给药 14 d,也显著缩短强迫游泳实验不动时间,显示其抗抑郁作用。同时,缩短寻台潜伏期,增加穿台次数,显示其学习记忆改善作用,而西酞普兰未表现认知功能改善作用。

研究表明,多种病理生理机制参与抑郁症及其认知功能损伤。近年来,神经突触功能失调和结构

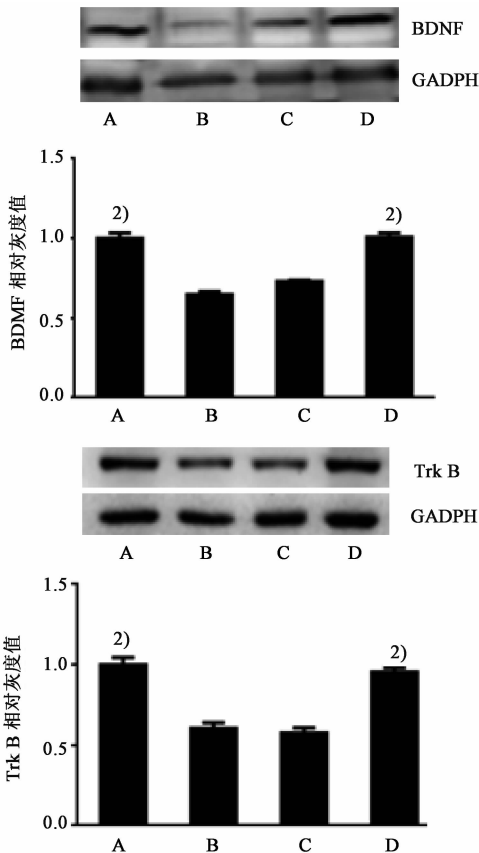


图 5 柴胡总皂苷对皮质酮损伤小鼠海马 BDNF 及 TrkB 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)
Fig. 5 Effect of total saponins from Bupleuri Radix on BDNF and TrkB expression in chronic corticosterone treated mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

测,从而确定药物作用的特异性。本实验中,柴胡总皂苷给药 2 周,对空场实验动物的运动路程和速度没有影响,提示柴胡总皂苷在 12.5, 25, 50 mg·kg⁻¹

受损成为研究热点^[17]。其中, BDNF 及其受体 TrkB 信号通路引起越来越多的重视。BDNF 作为神经营养家族成员之一, 广泛分布在中枢神经系统中。TrkB 是 BDNF 的高亲和力受体, BDNF 与 TrkB 受体结合, 可通过蛋白激酶 A 途径, 激活西罗莫司靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路, 上调突触相关蛋白的表达, 促进神经突触发生, 抗抑郁药物可能通过 BDNF/TrkB 通路调控突触可塑性发挥抗抑郁作用^[18]。本研究表明, 柴胡总皂苷组可提高小鼠海马 BDNF 及 TrkB 表达水平, 提示柴胡总皂苷可能通过上述途径, 促进神经突触的发生发挥其抗抑郁及认知功能改善作用。本研究中, 西酞普兰对 BDNF 及 TrkB 通路无作用。

综上所述, 柴胡总皂苷连续给药表现出较快而持久的抗抑郁作用, 可逆转皮质酮损伤引起的小鼠抑郁样行为及学习记忆障碍。其作用机制可能与增加小鼠海马 BDNF 及 TrkB 表达有关。本研究为柴胡总皂苷更深入的抗抑郁时效关系及认知功能改善研究提供实验依据。

[参考文献]

[1] Lepine J P, Briley M. The increasing burden of depression[J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2011, 7(S1): 3-7.

[2] Goeldner C, Ballard T M, Knoflach F, et al. Cognitive impairment in major depression and the mGlu2 receptor as a therapeutic target[J]. *Neuropharmacology*, 2013, 64(1): 337-346.

[3] Gouirand A M, Matuszewich L. The effects of chronic unpredictable stress on male rats in the water maze[J]. *Physiol Behav*, 2005, 86(2): 21-31.

[4] 胡燕, 洪敏. 柴胡类方治疗抑郁症研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(17): 247-249.

[5] Sun X, Shi Z, Li T, et al. Antidepressant-like effects of total saikosaponins of *Bupleurum yinchowense* in mice [J]. *J Med Plant Res*, 2012, 6(26): 4308-4316.

[6] Li Z Y, Jiang Y M, Liu Y M, et al. Saikosaponin D acts against corticosterone-induced apoptosis via regulation of mitochondrial GR translocation and a GR-dependent pathway [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2014, 53: 80-89.

[7] 季吉, 董榕. 柴胡注射液对小鼠学习记忆功能的影响[J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2006, 26(12): 1183-1186.

[8] Porsolt R D, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants[J]. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1977, 229(2): 327-328.

[9] Darcey F, Mendez-David I, Tritschler L, et al. Learning and memory impairments in a neuroendocrine mouse model of anxiety/depression[J]. *Front Behav Neurosci*, 2014, 8: 136.

[10] Aisa B, Elizalde N, Tordera R. Effects of neonatal stress on markers of synaptic plasticity in the hippocampus: implications for spatial memory [J]. *Hippocampus*, 2009, 19(12): 1222-1231.

[11] 王琼, 买文丽, 李翊华, 等. 自主活动实时测试分析处理系统的建立与开心散安神镇静作用验证[J]. *中草药*, 2009, 40(11): 1773-1779.

[12] Bessa J M, Ferreira D, Melo I. The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal remodeling [J]. *Mol Psychiatry*, 2009, 14(8): 764-773.

[13] Gai B M, Sanna M D, Stein A L, et al. Erk1/2 phosphorylation is involved in the antidepressant-like action of 2, 5-diphenyl-3-(4-fluorophenylseleno)-selenophene in mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 736: 44-54.

[14] Tang J, Xue W, Xia B, et al. Involvement of normalized NMDA receptor and mTOR-related signaling in rapid antidepressant effects of Yueju and ketamine on chronically stressed mice [J]. *Sci Rep*, 2015, doi: 10.1038/srep13573.

[15] Hurley L, Akinfiresoye L, Nwulia E, et al. Antidepressant-like effects of curcumin in WKY rat model of depression is associated with an increase in hippocampal BDNF [J]. *Behav Brain Res*, 2013, 239: 27-30.

[16] 严璘璘. 慢性应激对海马损伤的影响及其分子机制[J]. *神经解剖学杂志*, 2008, 24(5): 556-559.

[17] 陈琳, 杜力军, 赵玉男. 糖皮质激素与海马结构可塑性[J]. *神经药理学报*, 2011, 1(2): 58-64.

[18] Koike H, Fukumoto K, Iijima M, et al. Role of BDNF/TrkB signaling in antidepressant-like effects of a group II metabotropic glutamate receptor antagonist in animal models of depression [J]. *Behav Brain Res*, 2013, 238(2): 48-52.

[责任编辑 周冰冰]