

柴越汤对抑郁症大鼠 HPA 轴的调节作用

刘丽军^{1,2*}, 刘思尧², 沙春河², 樊航², 李炳辉², 孙亚芳², 王亚楠²

(1. 河南大学 淮河医院, 河南 开封 475000, 2. 河南大学 淮河临床学院, 河南 开封 475000)

[摘要] **目的:**探讨柴越汤对慢性应激抑郁模型大鼠下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴的作用及可能的机制,为临床用药提供理论依据。**方法:**将筛选合格的 60 只雄性 Wistar 大鼠适应性饲养 1 周后,随机分成正常组、抑郁模型组、阳性组、中药治疗组(包括柴越汤组、小柴胡汤组和越鞠丸组)。除正常组外,其余各组接受孤养结合慢性轻度不可预见性不同应激源的刺激 21 d 制备抑郁模型。造模后按临床等效剂量给予药物干预,持续给药 21 d,给药期间,各造模组大鼠均继续给与刺激。通过体重变化、糖水消耗和敞箱实验进行行为学评价,海马组织形态学变化、大鼠血浆促肾上腺皮质激素(ACTH),皮质酮(CORT)的变化,脑内海马糖皮质激素受体(GR)和盐皮质激素受体(MR)蛋白表达的变化,探讨柴越汤的抗抑郁作用机制。**结果:**与模型组比较,各给药组均可显著提高大鼠体重、增加大鼠糖水消耗比率和行为学得分($P < 0.05$),逆转抑郁模型大鼠过高的血浆 ACTH 和 CORT 水平,上调大鼠的海马 GR 蛋白的表达,而对 MR 蛋白无影响,在中药组中以柴越汤效果更好。**结论:**柴越汤对抑郁症具有良好的疗效,拆方后小柴胡汤组、越鞠丸治疗抑郁症疗效较柴越汤略有下降。其作用机制可能通过增强海马 GR 蛋白的表达,降低血浆 ACTH 含量和血清 CORT 含量而起到抗抑郁作用。

[关键词] 柴越汤; 抑郁症; 下丘脑-垂体-肾上腺轴

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)10-0133-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2017100133

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170308.0924.006.html>

[网络出版时间] 2017-03-08 9:24

Regulatory Effect of Chaiyue Decoction on Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis of Depression Model in Rat

LIU Li-jun^{1,2*}, LIU Si-yao², SHA Chun-he², FAN Hang², LI Bing-hui², SUN Ya-fang², WANG Ya-nan²

(1. Huaihe Hospital of Henan University, Kaifeng 475000, China;

2. Huaihe Medical College of Henan University, Kaifeng 475000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect and possible mechanism of Chaiyue decoction on hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis of model in rats with chronic stress depression model, in order to provide the theoretical basis for clinical medication. **Method:** Sixty healthy male Wistar rats were used as experimental animals, all of which were fed for 7 days and then randomly divided into six groups, namely normal control group, disease model group, positive control group, traditional Chinese medicine (TCM) groups (including Chaiyue decoction group, Xiao Chaihutang group, and Yuejuwan group). Except for the normal control group, all of the other groups were provided with isolated supporting and different chronic unpredictable moderate stressors for 21 days, in order to establish the depression model. After modeling, the rats were administered with clinic equivalent doses of drugs for 21 days. The changes in weight, sugar consumption experiment and open field test were observed for behavioral evaluation. The pathological changes in hippocampus, the changes in adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and corticosterone (CORT), the expression of GR and MR in hippocampus were detected to explore Chaiyue decoction's anti-depression effect. **Result:** Compared to the model group, all of

[收稿日期] 20161208(020)

[基金项目] 开封市科委科技攻关项目(130333);2014 年地方高校国家级大学生创新创业训练计划项目(201410475025);河南大学大学生创新创业训练计划项目(14NA023)

[通讯作者] *刘丽军, 硕士, 主治医师, 从事经方治疗疑难杂病临床及科学研究, Tel:0371-23906574, E-mail:liulijun@henu.edu.cn

TCM groups can significantly increase body weight, behavior number scores and sugar consumption ($P < 0.05$), and reverse ACTH and CORT level and up-regulate GR in hippocampus, but with no impact on MR protein. Chaiyue decoction group showed the best effect in TCM groups. **Conclusion:** Chaiyue decoction has a good antidepressant effect, while the effect of its separated prescriptions (Chaiyue decoction and Yuejuwan) is decreased. Its action mechanism may be related to increase in the expression of GR in hippocampus and decrease in plasma ACTH and serum CORT content, which can resist depression.

[**Key words**] Chaiyue decoction; depression; hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA)

抑郁症 (major depressive disorder, MDD) 是临床中常见的一种情感障碍疾患, 以显著而持久的情感低落等为主要临床特征, 同时伴认知、生物学等紊乱和躯体不适症状, 自杀率较高, 已成为引起全世界劳动力严重丧失的主要病种之一, 其有效防治将成为公共卫生事业所面临的重大挑战之一。目前学者提出抑郁症发病机制的假说包括: 单胺类神经递质假说、受体假说、下丘脑-垂体-肾上腺轴假说、脑源性神经营养因子假说和抑郁症的细胞分子机制假说^[1]。由于其机制目前尚不完全清晰, 西药治疗抑郁症常伴有一定的中枢神经系统毒性、心血管毒性和恶心、呕吐、食欲下降等副作用。中药复方的抗抑郁机制可以从多环节、多部位发挥作用, 显示出明显的多靶点效应, 所以受到越来越多人的认可。

柴越汤是由《伤寒杂病论》中的小柴胡汤和《丹溪心法》中越鞠丸组合而成, 张保伟主任在临床中应用已久, 发现此方在临床中对各型抑郁症均有较好的疗效^[2]。小柴胡汤首见于《伤寒杂病论》, 是治疗少阳证的经典名方, 文献对其报道较多, 具有较好的抗抑郁作用^[2-3]。越鞠丸是治疗郁证的代表方剂, 最早见于《丹溪心法》: “越鞠丸, 解诸郁”, 由苍术、香附、川芎、神曲、栀子 5 药组成, 临床上广泛用于卒中后抑郁、老年性抑郁、产后抑郁、焦虑性抑郁等^[4]; 而二者合方后的柴越汤的文献报道极少, 对其抗抑郁作用的机制无人探索。结合目前抑郁症的发病机制假说, 作者在前期工作中研究了柴越汤对抑郁症大鼠脑内单胺类神经递质的影响, 发现柴越汤能增加抑郁症模型动物脑内 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 和多巴胺 (dopamine, DA) 等神经递质含量, 改善肝郁证动物血液流变学的各项指标, 提高模型动物的生存质量^[5-7]。本文从抑郁症发病机制的另一假说“下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA) 轴”假说入手, 通过统计体重变化、糖水消耗量、行为学得分、海马组织形态学观察、检测促肾上腺皮质激素 (ACTH), 皮质酮 (CORT) 和海马糖皮质激素受体 (GR), 盐皮质激素受体 (MR) 蛋白表达的

变化, 分析柴越汤对抑郁模型大鼠上述指标的影响, 进一步探讨柴越汤对抑郁症大鼠 HPA 轴的调节作用, 同时考察小柴胡汤与越鞠丸合方后其抗抑郁作用是否会增强, 为临床用药提供客观的理论依据, 以期更好的指导临床。

1 材料

1.1 试剂 盐酸氟西汀片 (常州四药制药有限公司, 批号 20120623NO. 294); 水合氯醛 (天津科密欧化学试剂公司, 批号 20140814); β -actin 抗体, 兔抗大鼠 GR 抗体, 兔抗大鼠 MR 抗体 (美国 Santa cruz 公司, 批号分别为 sc-67457, sc-9846, sc-64003); ACTH, CORT 放免检测试剂盒 (美国 Sigma 公司, 批号分别为 201406, 201408)。

1.2 药物 柴越汤组成为柴胡 16 g, 黄芩 10 g, 清半夏 14 g, 党参 10 g, 川芎 10 g, 香附 10 g, 栀子 10 g, 苍术 10 g, 神曲 10 g, 生姜 10 g, 大枣 12 枚, 炙甘草 10 g。小柴胡汤组成为柴胡 12 g, 党参 6 g, 清半夏 9 g, 黄芩 9 g, 炙甘草 5 g, 生姜 9 g, 大枣 4 枚。越鞠丸组成为川芎 10 g, 苍术 10 g, 神曲 10 g, 香附 10 g, 栀子 10 g。上述各饮片均购自河南大学淮河医院, 并经河南大学药学院中药教研室李昌勤教授鉴定, 均为正品, 符合 2015 年版《中国药典》一部规定。按方剂组成, 称取各方剂饮片, 分别加水浸泡 0.5 h 后, 水煎 2 次, 滤汁弃渣, 合并药液, 浓缩至含生药 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 冷藏备用。

1.3 动物 选用健康 Wistar 大鼠, 雄性, 清洁级, 体重 (180 ± 20) g, 由山东省动物实验中心提供, 合格证号 SCXK (鲁) 2012-0002。本实验经河南大学实验动物伦理委员会批准, 动物伦理委员会编号 HUS0M2016-164。

1.4 仪器 FA2004A 型电子天平 (上海垒固仪器有限公司), TGL-16A 型台式高速离心机 (金坛市科析仪器有限公司), DYCZ-40D 转膜仪 (北京市六一仪器厂), SK-30A 型高速冷冻离心机 (美国 Sigma 公司), DYY-6C 型电泳仪 (北京市六一仪器厂), PT1200E 型手提式组织匀浆机 (瑞士 Kinematica 公

司), Mini-6K 微型离心机(珠海黑马医学仪器有限公司), HH. S11-8-S 型恒温水浴锅(上海跃进医疗器械厂), -80 ℃ 低温冰箱(德国 GFL 公司), D-140 型图像记录分析系统(大连竞迈仪器有限公司), CX-21 光学显微镜[奥林巴斯(中国)有限公司], RM2235 型轮转切片机(德国 Leica 公司), HY-2A 水平震荡器(金坛市科析仪器有限公司), 敞箱及电击足底箱(均自制)。

2 方法

2.1 筛选动物 清洁级雄性 Wistar 大鼠 90 只, 适应性喂养 1 周, 室温(20 ± 2) ℃ 左右, 自由饮食, 提供充足的饮水和标准鼠饲料, 控制干扰噪音, 12 h/12 h 昼夜交替。适应环境期间给予 1% 糖水进行适应性训练。1 周后, 对每只大鼠通过敞箱实验(Open-Field)和糖水消耗实验进行初步筛选。如果大鼠在敞箱实验中水平运动和垂直运动总得分高于 120 分或低于 30 分, 均予以剔除, 同时注意观察实验前各组大鼠摄食量、体重和糖水消耗有无显著性差异。通过筛选, 最终符合要求的大鼠共 70 只, 随机选择 60 只大鼠进行正式实验。

2.2 造模方法 除正常组外, 其他各组大鼠均参照文献[5, 8-9], 采用水平震荡、夹尾、电击足底、冰水游泳、潮湿垫料、禁食、禁水、禁食禁水、合笼、通宵照明、热应激、明暗循环、昼夜颠倒、制动等 14 种应激源刺激, 结合孤养的复合造模法制备抑郁症模型。

2.3 实验分组 将筛选合格的大鼠按数字随机法分为 6 组: 正常组、模型组、盐酸氟西汀组(阳性组)、柴越汤组、小柴胡汤组和越鞠丸组, 每组 10 只。正常组大鼠每笼 5 只饲养, 其他各组分别孤养。在抑郁造模 21 d 后, 各组大鼠灌胃给药, 1 次/d。根据氟西汀、柴越汤、小柴胡汤剂越鞠丸的成人(60 kg)临床用量, 按照实验动物与人剂量换算公式计算, 确定盐酸氟西汀组给予盐酸氟西汀 2.5 g·kg⁻¹, 柴越汤组给予柴越汤 3.3 g·kg⁻¹, 小柴胡汤组给予小柴胡汤 2.0 g·kg⁻¹, 越鞠丸组给予越鞠丸 1.4 g·kg⁻¹, 各给药组连续给药 21 d, 给药期间, 各造模组大鼠均继续给与刺激。正常组与抑郁模型组每天给予生理盐水。

2.4 指标测定

2.4.1 体重 分别于实验前、抑郁造模 21 d, 给药 21 d 记录大鼠体重。

2.4.2 糖水消耗量 蔗糖水摄入量于实验前, 造模 21 d, 给药 21 d 时进行测试。大鼠先禁食、禁水 20 h, 然后各组鼠笼同时放入 2 个水瓶(其中 1 瓶为

纯水, 另 1 瓶为 1% 糖水), 测量 1 h 后各只大鼠的饮水量及蔗糖水消耗量, 计算糖水消耗比率即动物对糖水的偏爱性。

$$\text{偏爱性} = \frac{1\% \text{糖水摄入量}}{\text{饮用水摄入量} + 1\% \text{糖水摄入量}} \times 100\%$$

2.4.3 敞箱实验 分别于实验前, 抑郁造模 21 d, 给药 21 d 时进行 3 次。敞箱, 高 40 cm, 底面为(80 cm × 80 cm)的正方形。箱壁四周及底面涂为黑色, 底面用白线划分为等大的 25 个方格。大鼠四爪进入同一方格内计为行走 1 格, 两前爪离地计为站立 1 次。安静房间内, 旷场试验安排在上午 8:30 ~ 11:30, 每只大鼠单独测试, 每次测试前保持敞箱内干净。用计数器计 3 min 内每只大鼠行走及站立的次数, 每次计为 1 min, 分别统计站立和行走得分数, 进行统计学处理。

2.4.4 血浆 ACTH 和 CORT 含量测定 给药 21 d, 大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉, 腹主动脉取血 5 mL, 加入含肝素的试管中, 混匀, 4 ℃ 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 分离血浆, 取血清。按 ACTH 和 CORT 试剂盒说明书操作进行二者含量测定。

2.4.5 海马病理学观察 大鼠给药结束后, 每组取大鼠 2 只, 10% 水合氯醛腹腔麻醉, 鼠铡断头处死大鼠, 用消毒手术器械迅速于冰上取脑, 分离海马, 用冰生理盐水清洗后, 滤纸吸干, 浸入 10% 的甲醛中固定 48 h, 常规石蜡包埋、切片(片厚 5 μm), 苏木素-伊红(HE)染色, 光学显微镜下观察各组大鼠海马组织形态。

2.4.6 海马 GR 蛋白和 MR 蛋白含量的测定 按 2.4.5 项方法, 每组另外 8 只大鼠处死后剥离海马, 放入冻存管, 经液氮速冻后, 置于 -80 ℃ 冰箱内保存, 采用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠 GR 和 MR 蛋白含量。

2.5 数据处理 数据资料经手工整理后输入 Excel 表, 建立数据库, 运用 SPSS 17.0 统计软件包对数据进行统计学处理。结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 如若方差齐采用 ANOVA/LSD 方法, 如若方差不齐则采用 Dunnett's T3 方法, 以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

3 结果

3.1 柴越汤对抑郁症大鼠体重的变化情况 与正常组比较, 造模 21 d 后, 抑郁造模各组大鼠体重增长明显减慢, 说明造模成功。各给药组干预后, 大鼠体重增长有所增快, 与抑郁模型组比较有显著差异, 且柴越汤作用强于小柴胡汤和越鞠丸。见表 1。

表 1 柴越汤对抑郁症大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of Chaiyue decoction on body weight and behavior of depressive rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	实验前	造模 21 d	给药 21 d
正常	-	190.60 ± 6.45	315.10 ± 4.26	418.60 ± 2.79
模型	-	192.50 ± 5.52	281.10 ± 6.87 ¹⁾	354.10 ± 8.56 ²⁾
盐酸氟西汀	2.5	188.89 ± 4.44	279.80 ± 6.94 ¹⁾	398.50 ± 8.07 ^{1, 3)}
柴越汤	3.3	194.02 ± 2.59	282.80 ± 5.64 ¹⁾	389.50 ± 12.28 ^{1, 3)}
小柴胡汤	2.0	193.16 ± 2.66	280.20 ± 5.29 ¹⁾	375.30 ± 6.72 ^{1, 3, 4, 5)}
越鞠丸	1.4	189.70 ± 5.08	281.20 ± 6.48 ¹⁾	381.10 ± 8.17 ^{1, 3)}

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.001$;与模型组比较³⁾ $P < 0.001$;与盐酸氟西汀组比较⁴⁾ $P < 0.05$;与柴越汤组比较⁵⁾ $P < 0.05$ (表 2, 3 同)。

3.2 柴越汤对抑郁症大鼠糖水消耗量变化 与正常组比较,抑郁模型组大鼠在造模 21 d 糖水消耗量开始明显降低 ($P < 0.001$);与模型组相比,用盐酸

氟西汀、柴越汤、小柴胡汤及越鞠丸治疗 21 d 后能显著提高大鼠对糖水的消耗量 ($P < 0.05$),且柴越汤治疗作用要强于小柴胡汤 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 柴越汤对抑郁症大鼠糖水消耗率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Chaiyue decoction on sucrose consumption of depressive rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	实验前	造模 21 d	给药 21 d
正常	-	86.41 ± 1.05	87.05 ± 3.27	86.59 ± 3.84
模型	-	85.42 ± 4.02	52.36 ± 4.87 ²⁾	50.14 ± 5.36 ²⁾
盐酸氟西汀	2.5	86.59 ± 2.01	56.02 ± 5.13 ²⁾	76.35 ± 6.12 ^{1, 3)}
柴越汤	3.3	85.68 ± 2.19	57.15 ± 4.72 ²⁾	73.26 ± 8.28 ^{1, 3)}
小柴胡汤	2.0	87.23 ± 1.76	50.12 ± 3.28 ²⁾	66.39 ± 5.42 ^{1, 3, 4, 5)}
越鞠丸	1.4	86.70 ± 2.08	54.23 ± 4.02 ²⁾	70.12 ± 5.17 ^{1, 3)}

3.3 柴越汤对抑郁症大鼠行为学的影响 与正常组比较,在造模 21 d 后,大鼠活动能力明显降低 ($P < 0.001$);给药 21 d 后,与模型组比较,各给药组

均可提高大鼠的水平运动及垂直运动得分,表明各给药组均可显著提高大鼠的行为学能力 ($P < 0.05$),且柴越汤组作用强于小柴胡汤 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 柴越汤对抑郁症大鼠行为学评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of Chaiyue decoction on behavioral score of depressive rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	水平得分			垂直得分		
		实验前	造模 21 d	给药 21 d	实验前	造模 21 d	给药 21 d
正常	-	62.12 ± 2.31	63.23 ± 2.31	61.20 ± 1.23	14.40 ± 2.03	15.94 ± 1.27	17.56 ± 2.36
模型	-	63.56 ± 3.48	42.15 ± 3.23 ²⁾	21.13 ± 2.31 ²⁾	14.91 ± 2.02	5.16 ± 0.77 ²⁾	5.34 ± 1.04 ²⁾
盐酸氟西汀	2.5	64.02 ± 1.36	41.23 ± 3.23 ²⁾	50.23 ± 1.12 ^{1, 2)}	14.56 ± 1.23	5.48 ± 1.41 ²⁾	16.01 ± 1.02 ^{1, 2)}
柴越汤	3.3	62.35 ± 2.31	41.02 ± 3.26 ²⁾	41.23 ± 5.28 ^{1, 2)}	14.89 ± 1.59	5.96 ± 2.16 ²⁾	15.49 ± 1.28 ^{1, 2)}
小柴胡汤	2.0	63.03 ± 1.01	40.12 ± 2.28 ²⁾	31.39 ± 1.42 ^{1, 3, 4, 5)}	14.39 ± 2.59	6.01 ± 2.53 ²⁾	12.39 ± 1.02 ^{2, 3, 4, 5)}
越鞠丸	1.4	64.70 ± 1.08	42.23 ± 2.02 ²⁾	37.12 ± 2.17 ^{1, 2)}	14.82 ± 2.45	5.86 ± 2.13 ²⁾	14.72 ± 1.17 ^{2, 3)}

3.4 柴越汤对抑郁症大鼠血浆 ACTH 和 CORT 含量的影响 与正常组比较,模型组大鼠的血浆 ACTH 和 CORT 含量均显著增加,呈抑郁样改变 ($P < 0.001$),说明造模成功;与模型组比较,盐酸氟西汀组与各中药组大鼠的血浆 ACTH 和 CORT 含量均有显著下降 ($P < 0.001$),说明各给药组均可改善抑郁症大鼠抑郁状态,其中以盐酸氟西汀作用最强,其次是柴越汤组;与柴越汤组比较,小柴胡汤组大鼠血浆 ACTH 含量有显著性差别 ($P < 0.05$),越鞠丸

组大鼠血浆 ACTH 含量有极显著性差别 ($P < 0.001$);与柴越汤组相比,小柴胡汤组和越鞠丸组大鼠血浆 CORT 含量有显著性差别 ($P < 0.05$),结果表明,与小柴胡汤和越鞠丸相比,柴越汤改善抑郁症大鼠的作用更强。见表 4。

3.5 柴越汤对抑郁症大鼠海马组织形态学的影响

长期的慢性刺激,如冷热、噪音、禁食禁水等可使海马细胞排列稀疏、核膜皱缩^[10]。由图 1 可以看出,光镜下观察到正常组大鼠海马细胞排布整齐紧

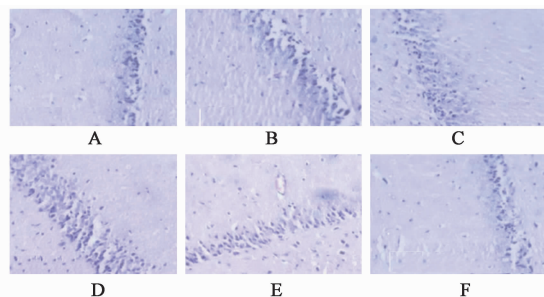
表 4 柴越汤对大鼠血浆 ACTH 和 CORT 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of Chaiyue decoction on content of ACTH and CORT in rat plasma ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	血浆 ACTH/ng·L ⁻¹	血浆 CORT/μg·L ⁻¹
正常	-	87.56 ± 11.63	11.21 ± 1.46
模型	-	203.78 ± 12.69 ¹⁾	33.42 ± 3.69 ¹⁾
盐酸氟西汀	2.5	98.79 ± 6.88 ²⁾	13.10 ± 1.90 ²⁾
柴越汤	3.3	138.57 ± 10.75 ²⁾	20.90 ± 1.62 ²⁾
小柴胡汤	2.0	165.07 ± 9.31 ^{2,4)}	22.87 ± 1.23 ^{2,3)}
越鞠丸	1.4	150.01 ± 4.13 ^{2,3)}	23.64 ± 1.44 ^{2,3)}

注:与正常组比较¹⁾P < 0.001;与模型组比较²⁾P < 0.001;与柴越汤组比较³⁾P < 0.05;与柴越汤组比较⁴⁾P < 0.001(表 5 同)。

密,细胞数量较多,形态完整,核膜清晰,有核仁。抑郁模型组大鼠海马细胞分布明显少,排列不规则,部分核膜皱缩,出现较多空隙,表明模型组大鼠在慢性应激刺激下,其海马细胞形态结构受到损害。与模型组比较,盐酸氟西汀组、柴越汤组、小柴胡汤组和越鞠丸组大鼠海马细胞排列相对整齐,核膜完整,空隙明显减少,表明盐酸氟西汀、柴越汤、小柴胡汤与越鞠丸均可减轻慢性刺激造成的大鼠海马神经元损伤。



A. 正常组;B. 模型组;C. 盐酸氟西汀组;D. 柴越汤组;E. 小柴胡组;F. 越鞠丸组(图 2 同)

图 1 柴越汤对抑郁症大鼠海马组织形态学的影响(HE, ×200)
Fig. 1 Effect of Chaiyue decoction on histomorphology of hippocampus of depressive rats(HE, ×200)

3.6 柴越汤对抑郁症大鼠脑内海马 GR 和 MR 蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组大鼠海马内 GR 蛋白表达显著降低,MR 蛋白表达明显增加,呈抑郁样改变(P < 0.001),说明造模成功;与模型组比较,盐酸氟西汀组与各中药组大鼠的海马内 GR 蛋白表达显著增加,而 MR 表达降低显著(P < 0.001),具有统计学意义;与模型组比较,柴越汤、小柴胡汤与越鞠丸组大鼠 GR 蛋白表达显著增加,而 MR 蛋白表达无显著性区别;与柴越汤组比较,小柴胡汤组大鼠海马内 GR 蛋白表达无明显区别,越鞠丸组大鼠海马内 GR 蛋白表达的增加有显著性差别(P < 0.05),MR 蛋白表达无显著性区别。结果表明各给药组均有抗抑郁作用,以合方后的柴越汤抗抑郁作用最强,且通过调节海马内 GR 的蛋白表达而起到抗抑郁作用。见表 5,图 2。

表 5 柴越汤对抑郁症大鼠海马 GR 和 MR 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Effect of Chaiyue decoction on content of GR and MR of hippocampus of depressive rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	GR/β-action	MR/β-action
正常	-	0.80 ± 0.03	0.34 ± 0.02
模型	-	0.25 ± 0.01 ¹⁾	0.69 ± 0.04 ¹⁾
盐酸氟西汀	2.5	0.74 ± 0.03 ²⁾	0.41 ± 0.01 ²⁾
柴越汤	3.3	0.64 ± 0.03 ²⁾	0.65 ± 0.03
小柴胡汤	2.0	0.61 ± 0.02 ²⁾	0.63 ± 0.02
越鞠丸	1.4	0.59 ± 0.03 ^{2,3)}	0.66 ± 0.04

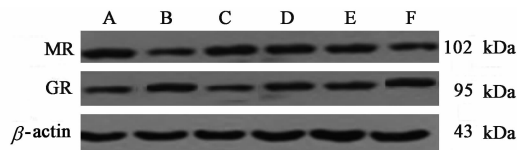


图 2 柴越汤对抑郁症大鼠海马 GR,MR 蛋白的相对表达

Fig. 2 Effect of Chaiyue decoction on protein expression pattern of GR and MR of hippocampus of depressive rats

4 讨论

历代中医学家从不同角度论述其对抑郁症的认识,抑郁症的病机主要为肝失疏泄、脾失健运、心失所养及脏腑阴阳气血失调,其中肝郁气滞是最基本的病机。其临床表现以精神抑郁、萎靡不振、失眠多梦、胸闷胁胀、善太息、不思饮食、多疑善虑、悲伤痛苦等为主,与现代医学抑郁症临床表现基本相符。ACTH 主要由脑腺垂体肾上腺皮质激素细胞分泌而来,通过 HPA 轴,刺激糖皮质类固醇的合成和分泌。ACTH 作为 HPA 轴的重要组成部分,其水平高低能够直接反映 HPA 轴的功能状态。CORT 作为一种主要的应急激素,由肾上腺皮质分泌产生,它的产生直接受 HPA 轴的调控,同时又能对下丘脑和垂体进行负反馈调节^[1]。HPA 轴的功能的发挥在于它的反馈调节通路。临床中抑郁症患者神经内分泌变化表现为血中 CORT 升高或 HPA 轴功能亢进。本实验复制的孤养结合慢性轻度不可预见性应激复合抑郁模型动物,其血浆 ACTH 和 CORT 的水平显

著高于正常组,说明抑郁模型动物存在 HPA 轴的异常亢奋状态,造模成功。中药组与西药盐酸氟西汀组治疗后抑郁症大鼠血浆 ACTH 和 CORT 的含量均显著降低,中药组中以柴越汤降低血浆 ACTH 和 CORT 的含量更为明显,说明柴越汤、小柴胡汤和越鞠丸与西药盐酸氟西汀一样,可以通过调节 ACTH 及 CORT 而发挥抗抑郁作用。小柴胡汤和越鞠丸合方之后的柴越汤抗抑郁作用更强。海马是与情感密切相关的重要脑区,对应激非常敏感,是调节 HPA 轴的高位中枢,且富含 GR 和 MR。其中 GR 主要介导有关情感、认知和神经元的生存能力、可塑性、基因表达方面的损害作用,而 MR 则起着保护作用。MR/GR 平衡对神经元兴奋性、应激反应及行为适应起关键作用。一旦 GR 受损海马对 HPA 轴负反馈作用就会明显减弱,造成 GR 数量和功能的下调,MR/GR 比例失衡,致使海马应激关闭功能障碍,导致 HPA 轴的应激反应持续亢进,使神经元处于易损状态,引发抑郁症状。本实验研究表明,抑郁症模型组大鼠海马 HE 染色后,在光镜下观察到其细胞排列不规则,神经细胞缺失,核膜皱缩,证明其海马损伤;蛋白免疫法检测到海马内 GR 的含量显著减少。给予中药和西药盐酸氟西汀干预后的大鼠海马细胞排列紧密,少部分出现核膜皱缩,GR 的含量明显增加,中药组中以柴越汤组大鼠海马内 GR 含量增加的更为明显,而中药组海马内 MR 含量与模型组无显著性差异,表明各中药组可能是通过调节大鼠海马 GR 蛋白而非 MR 蛋白,以改善抑郁模型大鼠的 HPA 轴功能亢进。

小柴胡汤临床试验和现代药理研究均证明其有较好的抗抑郁疗效^[2-3],有效成分主要是黄酮类和皂苷类成分^[11];越鞠丸又名芎术丸,功用行气解郁,现代研究发现在越鞠丸方剂 5 味中药中,川芎和栀子合用是其抗抑郁的有效组合,有效成分为川芎挥发油,及二者的水提物^[12];而二者合方后的柴越汤的文献报道极少。本文采用孤养结合慢性轻度不可预见性应激复合造模法,建立长期慢性刺激导致大鼠肾上腺皮质激素过度分泌,HPA 轴亢奋的大鼠抑郁模型。研究结果表明,柴越汤、小柴胡汤及越鞠丸可通过增强海马 GR 蛋白的表达,降低血浆 ACTH 含量和血清 CORT 含量,降低 HPA 轴的亢进程度而发挥抗抑郁作用,并且小柴胡汤和越鞠丸合方之后的柴越汤抗抑郁作用更强。柴越汤是小柴胡汤与越鞠丸的合方,非两方简单相加,而是将疏理肝胆的小

柴胡汤与侧重畅气和胃的越鞠丸合方而起到疏肝和胃,解郁开结,畅行三焦滞结,功效增强。诚如刘渡舟教授所认为:小柴胡汤善治两胁苦满,能疏理肝胆之郁,而侧重于“横向治疗”;越鞠丸畅气舒胃,善治胸脘痛闷,而侧重于“纵向治疗”。小柴胡汤与越鞠丸合用,则“合纵连横”,互相为援,故纵横捭开,能起到“疏肝和胃,解郁开结,畅行三焦滞结”的作用。应用恰当,则临床可效如桴鼓^[13]。应进一步对柴越汤的药效物质进行研究,以明确小柴胡汤和越鞠丸合方后抗抑郁作用增强的原因。

[参考文献]

- [1] 张潇,田俊生,刘欢,等. 抗抑郁中药新药研发进展[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(1): 29-33.
- [2] 原红霞,韦彩柳,程遥,等. 小柴胡汤抗抑郁作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 190-191.
- [3] 王东明,刘琳琳,孙平,等. 小柴胡汤改善抑郁症状及相关神经递质与神经营养因子分析[J]. 国际精神病学杂志, 2016, 43(1): 100-103.
- [4] 任荔,吴颢昕,陈刚. 越鞠丸抗抑郁研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2016, 22(10): 1429-1431.
- [5] 颜艳. 小柴胡汤干预抑郁症的实验研究[D]. 福州:福建中医学院, 2008.
- [6] 郑晓瞳. 越鞠丸治疗抑郁症的作用及机理研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2004.
- [7] 刘丽军,张保伟. 柴越汤对抑郁症模型大鼠行为学和脑内单胺类神经递质影响的实验研究[J]. 中医临床研究, 2012, 4(21): 1-5.
- [8] Katz R J, Roth K A, Carroll B. 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.
- [9] 许晶,李晓秋. 慢性应激抑郁模型的建立及其评价[J]. 中国行为医学科学, 2003, 12(1): 14-17.
- [10] 谢守付,贾丁鑫,秦晓松,等. 慢性应激对大鼠行为及海马各区神经元凋亡的影响[J]. 中国行为医学科学, 2003, 12(3): 257-259.
- [11] 杨杰,黄丹雪,鹿秀梅,等. 小柴胡汤化学成分及其在抑郁症模型大鼠体内代谢成分的分析[J]. 中草药, 2012, 43(9): 1691-1698.
- [12] 蒋麟. 以越鞠丸为基础的抗抑郁中药复方药理作用及其机理研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2004.
- [13] 张保伟. 刘渡舟教授对小柴胡汤的理解与应用探微[J]. 北京中医药大学学报, 2002, 25(4): 48-50.

[责任编辑 邹晓翠]