

# 加味丹栀逍遥散对抑郁模型大鼠 HPA 轴功能的影响

许二平<sup>1</sup>, 郭晓冬<sup>2\*</sup>, 李琳<sup>2</sup>, 姚建平<sup>1</sup>, 卫向龙<sup>1</sup>, 赵少英<sup>1</sup>

(1. 河南中医学院, 郑州 450008; 2. 河南中医学院第一附属医院, 郑州 450008)

**[摘要]** **目的:**观察加味丹栀逍遥散对抑郁模型大鼠血浆内 CORT 和 ACTH 含量的变化,探讨加味丹栀逍遥散对抑郁模型大鼠下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴功能的影响。**方法:**将 50 只 Wistar 雄性大鼠随机分为空白对照组、模型组、氟西汀组、加味丹栀逍遥散低、高剂量组,每组 10 只;采用孤养结合慢性轻度不可预见性应激的复合模型,除空白组外,其余各组均接受不同应激因子刺激 21 d,建立慢性应激抑郁大鼠模型,随后分别按氟西汀组 2.5 mg·kg<sup>-1</sup>、加味丹栀逍遥散低、高剂量组 2.04, 4.08 g·kg<sup>-1</sup>,各组均按 10 mL·kg<sup>-1</sup>ig 给药,空白对照组和模型组 ig 10 mL·kg<sup>-1</sup>生理盐水 1 次/d,每天应激前灌胃,从造模第 22 天开始,至动物处死当天,共 21 d,实验周期共 42 d;采用放射免疫分析法(RIA)测定大鼠血浆皮质醇(CORT)和促肾上腺皮质激素(ACTH)的变化。**结果:**与空白组比较,模型组大鼠血浆 CORT(33.22 ± 3.84) ng·L<sup>-1</sup>和 ACTH(203.78 ± 12.69) ng·L<sup>-1</sup>的水平显著高于空白对照组( $P < 0.05$ ),说明抑郁模型动物存在 HPA 轴的异常兴奋;经过治疗后,各组大鼠 CORT 和 ACTH 的水平明显低于模型组水平( $P < 0.05$ )。**结论:**加味丹栀逍遥散可以通过降低血浆中 CORT 和 ACTH 的水平,拮抗应激导致的 HPA 轴亢进从而起到治疗作用。

**[关键词]** 加味丹栀逍遥散; 抑郁症模型; 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(2013)10-0236-03

**[doi]** 10.11653/syjf2013100236

## Effect of Jiawei Danzhi Xiaoyao Powder on the function of HPA in the Depression Rats

XU Er-ping<sup>1</sup>, GUO Xiao-dong<sup>2\*</sup>, LI Lin<sup>2</sup>, YAO Jian-ping<sup>1</sup>, WEI Xiang-long<sup>1</sup>, ZHAO Shao-ying<sup>1</sup>

(1. Henan University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Zhengzhou 450008, China;

2. No. 1 Affiliated Hospital of Henan University of TCM, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of Jiawei Danzhi Xiaoyao powder on the concentration changes of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and corticosterone (CORT) in blood plasma of depression model in rats, and discuss the effect of Jiawei Danzhi Xiaoyao powder on the function of HPA in the depression rats. **Method:** Depression model of rat was produced by using chronic unpredictable mild stress stimulation combined with lonely raising for 42 days. The first 21 days is built model, From the twenty-second days of models, the rats received the stress and medicine intervention. Use radioimmunoassay (RIA) to determine the change of cortisol (CORT) and adrenocorticotropin (ACTH). **Result:** The concentrations of CORT and ACTH were increased significantly in blood plasma of the model rats compared to that of the normal group ( $P < 0.05$ ); also the concentrations of CORT and ACTH were reduced significantly in blood plasma of Jiawei Danzhi Xiaoyao powder group compared to that of the model group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Jiawei Danzhi Xiaoyao powder can reduce the concentration changes of CORT and ACTH in blood plasma of depression model in rats, thereby play its treating role.

**[Key words]** depression; Jiawei Danzhi Xiaoyao powder; HPA

**[收稿日期]** 20120705(001)

**[基金项目]** 郑州市科技攻关计划(112PPTSF319-6)

**[第一作者]** 许二平,教授,硕士研究生导师,从事方剂配伍及作用机制规律的研究,Tel:13607696328,E-mail:xuerping@sina.com

**[通讯作者]** \*郭晓冬,硕士,从事方剂配伍及作用机理规律的研究,Tel:13783603559,E-mail:zhzhgxd@sina.com

抑郁症是一种以显著而持久的心境低落为主要表现的情感性障碍综合征,临床以情绪低落,兴趣减低,思维迟缓,言语动作减少,睡眠障碍,思虑过度为主要表现,常伴有全身多系统的与客观检查不相符的多种多样的躯体不适,严重者可出现自杀念头和行为,具有高患病率、高复发率、高疾病负担率及高自杀率的精神疾患。随着社会的发展,竞争的加剧,其发病率呈上升趋势,且发病呈现出低龄化的特点,已经成为当今社会严重危害人们身心健康、生活质量和社会职业功能的重大精神心理生理疾病<sup>[1]</sup>。目前在我国有超过2 600万抑郁症患者,在自杀和自杀未遂的人群中抑郁症患者占50%~70%,严重影响了社会经济的发展与稳定,因此,中医药干预抑郁症成为近年来研究的焦点<sup>[2]</sup>。下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamus-pituitary-adrenal axis, HPA)是机体最主要的应激反应轴。在正常情况下,当机体受到强烈刺激时,机体会发生一系列神经内分泌的改变,分泌一些激素来应对强烈刺激引起的机体应激,从而使机体处于一种稳态,而HPA轴是最主要的。本实验以导师组临床运用的加味丹栀逍遥散为基础,结合抑郁症独特的发病机制——肝脑同病,作为研究的切入点,旨在观察抑郁模型大鼠血浆内CORT和ACTH的含量,从而探讨加味丹栀逍遥散对抑郁模型大鼠HPA轴功能的影响。

## 1 材料

**1.1 药物** 加味丹栀逍遥散是临床经验方,依据明代薛立斋的《内科摘要》中加味逍遥散(丹栀逍遥散)的用量并结合临床经验而组方,由柴胡、当归、芍药、茯苓、炒白术、牡丹皮、炒栀子、炙甘草、石菖蒲、远志等药物组成,中药购于河南中医学院第三附属医院中药房,按成年人60 kg体重剂量的2, 4倍分别水煎煮浓缩至含生药0.204, 0.408 g·mL<sup>-1</sup>。4℃冰箱保存备用。盐酸氟西汀片(常州四药制药有限公司,批号20100623NO.294)。根据“按人与动物等效剂量的折算方法”<sup>[3]</sup>

**1.2 试剂与仪器** 皮质醇(CORT)酶免试剂盒和肾上腺皮质激素(ACTH)酶免试剂盒(均为美国RD公司,批号20111201B)。自制的敞箱和电击仪、HY-5型回旋振荡器(金坛市天竞实验仪器厂)、FA2004A型电子天平(上海精天电子仪器有限公司)、Bio-rad680型酶标仪(美国,伯乐公司)等。

**1.3 动物** SPF级雄性Wistar大鼠50只,体重(180±20)g,由山东省动物实验中心提供,许可证号SCXK(鲁)2008-0002。

## 2 方法

**2.1 动物分组与模型复制** 大鼠经过1周的适应性喂养,对每只大鼠进行敞箱实验(open-field test)和糖水消耗训练实验。对敞箱实验水平运动和垂直运动总得分低于30分或高于120分的大鼠予以剔除。根据敞箱实验结果编号,随机分为5组,每组10只,分为空白对照组、模型组、盐酸氟西汀组、加味丹栀逍遥散低、高剂量组。采用慢性轻度不可预见性应激结合孤养的复合模型,参照夏军、王建醒等的方法复制<sup>[4-5]</sup>,并结合预实验结果加以改进。模型制作的应激处理参照文献改进如下:电击足底(20V电压,每次持续10 s,延迟10 s,20次,共3次)、冰水游泳(4℃,持续5 min,共3次)、热刺激(45℃,持续5 min,共3次)、水平震荡(速率1次/s,5 min,共3次)、夹尾(持续1 min,共3次)、禁水(24 h,共3次)、禁食(24 h,共3次)、昼夜颠倒(共2次)、潮湿垫料(共2次)、束缚(持续5 h,共3次)、明暗循环(频闪照射120次/m,12 h,共3次)、通宵照明(共3次)、合笼(共3次)、禁水禁食(24 h,共3次)、休息(共2次),将以上不同应激因子在实验全程中随机运用,使大鼠不可预见刺激的发生,平均每种刺激使用最多不超过3次,相邻2 d的刺激不能重复,同时配合单笼(正常组除外)饲养,共刺激42 d。

**2.2 给药方法** 盐酸氟西汀组2.5 mg·kg<sup>-1</sup>、加味丹栀逍遥散低、高剂量组2.04, 4.08 g·kg<sup>-1</sup>,各组均按10 mL·kg<sup>-1</sup>ig给药,空白对照组和模型组按10 mL·kg<sup>-1</sup>生理盐水ig,1次/d,每天应激前ig给药,从造模第22天开始,至动物处死当天,共给药21 d,给药期间,各造模组大鼠均继续给予刺激。

**2.3 标本的制备及检测** 各组动物末次造模结束后,禁水禁食24 h,10%水合氯醛ip麻醉,腹主动脉采血6 mL,其中3 mL放入加10% EDTA-Na<sub>2</sub> 30 μL和抑肽酶20 μL的试管内,混匀,4℃,3 000 r·min<sup>-1</sup>,离心10 min,分离血浆,置于-70℃冰箱保存,待测ACTH;另3 mL放入加入肝素钠40 μL的试管,混匀,4℃,3 000 r·min<sup>-1</sup>,离心10 min,分离血浆,置于-20℃冰箱保存,待测CORT。采用放射免疫分析法(RIA)测定大鼠血浆CORT和ACTH的变化。

**2.4 统计方法** 以SPSS 17.0 FOR Windows统计软件包作为统计工具,各项指标结果采用表示,组间数据比较若符合正态分布采用完全随机设计资料单因素方差分析两两样本比较,其中方差齐者采用

LSD 法检验, 方差不齐者采用 Dunnett's  $T_3$  法检验。 $P < 0.05$  为有统计学意义。

### 3 结果

模型组大鼠血浆 CORT 和 ACTH 的水平显著高于空白对照组 ( $P < 0.05$ ), 有统计学意义, 说明抑郁模型动物存在 HPA 轴的异常兴奋; 经过治疗后, 各组大鼠 CORT 和 ACTH 的水平明显低于模型组水平 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 加味丹栀逍遥散对抑郁模型大鼠血浆 CORT 和 ACTH 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	剂量	CORT	ACTH
	$/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$		
对照	-	11.21 $\pm$ 1.46	92.56 $\pm$ 6.44
模型	-	33.22 $\pm$ 3.84 <sup>1)</sup>	203.78 $\pm$ 12.69 <sup>1)</sup>
氟西汀	2.5	12.40 $\pm$ 2.36 <sup>2)</sup>	101.79 $\pm$ 7.63 <sup>2)</sup>
加味丹栀逍遥散	4.08	14.54 $\pm$ 2.57 <sup>2)</sup>	107.44 $\pm$ 5.23 <sup>2)</sup>
	2.04	20.67 $\pm$ 2.21 <sup>2)</sup>	119.80 $\pm$ 5.67 <sup>2)</sup>

注: 与空白对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ; 与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ 。

### 4 讨论

目前在抑郁症的发病机制中, 下丘脑-垂体-肾上腺轴功能亢进是较为公认的抑郁症发病机制之一。近年来神经内分泌学研究提示, 抑郁症常伴有内分泌功能的改变, 特别是 HPA 轴功能亢进, 主要表现为中枢、外周及代谢产物中 ACTH 分泌增强, CORT 水平增高, 昼夜分泌节律改变<sup>[6][7]</sup>。众所周知, HPA 轴是机体最主要的应激反应轴。在正常情况下, 当机体受到强烈刺激时, 机体会发生一系列神经内分泌的改变, 分泌一些激素来应对强烈刺激引起的机体应激, 从而使机体处于一种稳态, 而 HPA 轴是最主要的。其神经内分泌过程是<sup>[7-8]</sup>: 当机体受到强烈刺激时, 周围神经传导神经冲动至下丘脑室旁核 (paraventricular nucleus, PVN), 然后刺激下丘脑室旁核神经元分泌促肾上腺皮质激素释放激素 (corticotropin-releasing hormone, CRH), 而 CRH 则通过垂体门脉系统输送至神经垂体, 然后刺激神经垂体释放 ACTH, 而后 ACTH 通过体循环到达肾上腺, 促进肾上腺皮质释放糖皮质激素 (glucocorticoid, GC)。在不同种类的动物中 GC 的命名不同, 灵长类动物分泌的 GC 主要为皮质醇 (cortisol, CORT), 啮齿类动物分泌的 GC 主要为皮质酮 (corticosterone, CORT), 故 CORT 是 HPA 轴的终末激素之一, 可以作为 HPA 轴的活性标志。本实验结果显示: 模型组大鼠血浆 CORT 和 ACTH 的水平显著高于空白对照组 ( $P < 0.05$ ), 经过药物干预后, 各组大鼠 CORT 和 ACTH 的水平明显低于模型组水

平 ( $P < 0.05$ )。

加味丹栀逍遥散方中柴胡疏肝解郁, 使肝气得条达, “独柴胡一味, 一以为厥阴之报使, 一以升发诸阳”; 石菖蒲开窍醒神, 宁神益智、远志开窍益智、利气安神, 定元神而助疏肝解郁之责, 二者共奏健脑益智, 推陈出新之功, 三药相互为用, 疏肝解郁, 健脑益智共为君药。当归辛、甘、温, 补血活血, 芍药酸、苦、微寒, 养血敛阴, 柔肝缓急; 当归、芍药与柴胡同用, 补肝体而助肝用, 使血和则肝和, 血充则肝柔; 牡丹皮辛、苦、微寒, 可泻血中之火; 栀子清三焦之火, 导热下行, 兼利水道, 兼入营血, 可清郁久化生之热, 四药养肝柔肝, 以助君药疏肝健脑之功, 而为臣; 木郁不达而致脾虚不运, 故以白术、茯苓、甘草健脾益气, 既能实土以御木侮, 且使营血生化有源, 共为佐药; 诸药合用, 既补肝体, 又助肝用, 既健脑益智, 又疏肝解郁, 气血兼顾, 肝脑并治, 故为治疗抑郁症之要方。

通过观察抑郁模型大鼠血浆 CORT 和 ACTH 含量的变化说明, 抑郁模型大鼠存在 HPA 轴功能的亢进, 与公认的抑郁症发病机制一致, 同时也表明加味丹栀逍遥散可以通过降低血浆中 CORT 和 ACTH 的水平, 拮抗应激导致的 HPA 轴功能亢进, 从而起到治疗作用。

### [参考文献]

- [1] 许二平. 抑郁症诊疗学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2009: 2.
- [2] 李雅莉, 赵玲, 魏海峰, 等. 开郁胶囊对抑郁动物模型的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 182.
- [3] 徐叔云, 卞如廉, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 181.
- [4] 夏军, 叶慧, 周义成, 等. 慢性应激大鼠抑郁模型的建立及其有效性的探讨 [J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2005, 34(4): 495.
- [5] 王建醒, 周丽, 徐华锋, 等. 慢性应激大鼠抑郁模型的建立及评价 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2006, 27(6): 646.
- [6] 李喆, 孙学礼. 下丘脑-垂体-肾上腺轴与抑郁症的相关性 [J]. 中国临床康复, 2006, 10(42): 133.
- [7] 董莉, 姜琳, 孟炜, 等. 补肾解郁清心方对抑郁症大鼠行为学及 HPA 轴的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(5): 65.
- [8] 沈渔邨. 精神病学 [M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 429.
- [9] 柴丽, 赵博. 抑郁症与 HPA 轴关系及中药干预的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 270.

[责任编辑 聂淑琴]