

温胆汤对精神分裂症模型大鼠海马组织 PI3K, Akt 和 GSK3 β 的影响

朱金华, 徐义勇, 万红娇*, 孙昊鑫, 徐佳, 吴帆, 周国佩
(江西中医药大学, 南昌 330004)

[摘要] **目的:** 研究温胆汤对精神分裂症模型鼠海马组织磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)/糖原合成酶激酶 3 β (GSK3 β) 信号通路的影响。**方法:** 将 60 只大鼠随机分为 6 组, 分别为正常组、模型组、氯氮平组、温胆汤高、中、低剂量组, 每组 10 只。正常组和模型组灌胃生理盐水, 氯氮平组灌胃氯氮平原药 20 mg·kg⁻¹; 温胆汤高、中、低剂量组分别灌胃温胆汤生药 40, 20, 10 g·kg⁻¹; 1 次/d, 共 21 d。在最后 1 次给药 2 h 后, 除正常组外, 其余各组采用一次性左侧腹腔注射 MK801 0.6 mg·kg⁻¹, 以诱发精神分裂症。观察并记录大鼠的刻板行为, 3 d 后, 处死并取其海马组织待测。依照 Sams Dodd 和 Hoffman 标准对大鼠的刻板行为评分; 蛋白免疫印迹法(Western blot)测定海马组织 PI3K, Akt 和 GSK3 β 蛋白表达; 实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测海马组织 PI3K, Akt, GSK3 β mRNA 表达。**结果:** 与正常组比较, 模型组大鼠刻板行为评分显著升高($P < 0.01$), 海马组织 PI3K, Akt, GSK3 β 蛋白和 mRNA 表达水平显著下降($P < 0.01$)。与模型组比较, 温胆汤给药组能明显降低大鼠刻板行为评分($P < 0.05$), 升高海马组织 PI3K, Akt, GSK3 β 蛋白和 mRNA 表达水平($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:** 温胆汤通过改善精神分裂症模型鼠刻板行为、升高其海马组织 PI3K, Akt, GSK3 β 的表达, 调控 PI3K/Akt/GSK3 信号通路, 从而达到治疗精神分裂症的目的。

[关键词] 温胆汤; 精神分裂症; 磷脂酰肌醇 3 激酶; 蛋白激酶 B; 糖原合成酶激酶 3 β

[中图分类号] R2-0; R22; R285.5; R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)01-0101-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190127

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181015.1719.006.html>

[网络出版时间] 2018-10-19 10:09

Effect of Wendantang on PI3K, Akt and GSK3 β of Hippocampus in Rats with Schizophrenia

ZHU Jin-hua, XU Yi-yong, WAN Hong-jiao*, SUN Hao-xin, XU Jia, WU Fan, ZHOU Guo-pei
(Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To research the effect of Wendantang on phosphatidylinositol-3-kinases (PI3K) /protein kinase B (Akt) /glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β) signaling pathway of hippocampus in rats with schizophrenia. **Method:** Sixty SD rats were randomly divided six groups: normal group (A), model group (B), Clozapine group (C), high-dosage group Wendantang (D), medium-dosage Wendantang group (E) and low-dosage Wendantang group (F), with 10 rats in each group. The rats of normal group and model group were given normal saline. The rats of Clozapine group were given 20 mg·kg⁻¹ Clozapine. The rats of high-dosage, medium-dosage, low-dosage Wendantang groups were respectively given 40, 20, 10 g·kg⁻¹ Wendantang, once a day, for 21 days. Two hours later after the last administration with Wendantang or saline, except for group A, groups B, C, D, E, F were intraperitoneally given MK-801 0.6 mg·kg⁻¹ to establish the rat schizophrenia

[收稿日期] 20180629(005)

[基金项目] 2016 年度江西省教育厅科技计划项目(GJJ160839); 2017 年度江西省教育厅科技计划项目(GJJ170741)

[第一作者] 朱金华, 硕士, 高级实验师, 从事中医药与病原性疾病研究, E-mail: jzjh8160260@sina.com

[通信作者] * 万红娇, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中医药与病原性疾病的研究, Tel: 0791-87118816, E-mail: ann.wan@163.com

model. After modeling, the changes in stereotyped behavior of each group were observed and recorded. After three days, the rats were put to death, and the hippocampus tissue were tested. According to Sams Dodd and Hoffman's standard, the stereotyped behavior of rats was scored. The protein expressions of PI3K, Akt and GSK3 β of hippocampus were determined by Western blot. The mRNA expressions of PI3K, Akt and GSK3 β of hippocampus were tested by Real-time PCR. **Result:** Compared with A, the stereotyped behavior score of the B was significantly increased ($P < 0.01$). The expressions of PI3K, Akt, GSK3 β protein and mRNA of hippocampus were significantly decreased ($P < 0.01$) in rats of the B. Compared with the B, Wendantang administration groups could reduce the stereotyped behavior score ($P < 0.05$), increased significantly the expressions of PI3K, Akt, GSK3 β protein and PI3K, Akt and GSK3 β mRNA of hippocampus ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Wendantang could regulate the PI3K/Akt/GSK3 signaling pathway by improving the stereotyped behavior and increasing the expressions of PI3K, Akt, GSK3 β of hippocampus in rats with schizophrenia, so as to achieve the purpose of treating schizophrenia.

[Key words] Wendantang; schizophrenia; phosphatidylinositol-3-kinases (PI3K); protein kinase B (Akt); glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β)

精神分裂症是一种行为和认知异常的复杂而严重的精神疾病,因该病好发于青壮年并呈遗传性的特点,故其严重影响着患者的生活质量并使得社会医疗负担明显加重^[1-2]。目前,精神分裂症的发病机制尚未完全阐明,其多类治疗药物作用机制都与糖原合成酶激酶 3 (GSK3) 信号通路相关^[3-4]。GSK3 β 是多种信号转导途径中的一个关键因子,通过调节结构蛋白、转录因子和酶等参与神经元的分化与增殖、基因表达等多种神经系统生理过程,以致 GSK3 β 的活性或表达异常均可导致多种神经精神疾病。磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt)/GSK3 β 信号通路是细胞内信号网络的重要组成部分,调节多种与精神分裂症有关的转录因子的表达^[5]。

精神分裂症多属于中医学“癫狂”“痴呆”“郁证”等范畴,多表现于沉默痴呆、忧郁寡欢、喜静勿动、语无伦次等,其病机为气滞痰凝。温胆汤是经典的祛痰名方,出于《三因极一病证方论》^[6],由半夏、竹茹、枳实、陈皮、甘草(炙)、茯苓、生姜、大枣配伍而成;综合全方,半夏、陈皮、生姜偏温,竹茹、枳实偏凉,温凉兼进,令全方不寒不燥,理气化痰以和胃,胃气和降则胆郁得舒,痰浊得去则胆无邪扰,如是则复其宁谧,诸症自愈;其功用理气祛痰、和胃利胆,主治胆郁痰扰证,胆怯易惊、头眩心悸、心烦不眠、夜多异梦,或呕恶呃逆、眩晕、癫痫等,多治于“无形之痰”所致之精神疾病,临床疗效肯定^[7-10]。本课题组前期的研究表明温胆汤对精神分裂症模型大鼠有改善学习记忆、抗氧化损伤、调节免疫、海马组织病理损伤保护以及调节神经胶质细胞缝隙连接通讯等作

用^[11-17]。本研究在前期实验的基础上,通过对精神分裂症模型大鼠海马组织 PI3K, Akt, GSK3 β 的检测,来探讨温胆汤是否通过调控 PI3K/Akt/GSK3 信号通路,从而达到治疗精神分裂症的目的,为进一步的临床应用,提供实验研究依据。

1 材料

1.1 动物 清洁级 SD 大鼠,雄性,60 只,8~12 周龄,体质量 180~220 g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(湘)2016-0002,本研究实验动物获江西中医药大学实验动物伦理委员会审查(批准号 jzllsc2017-0015)。

1.2 药物及制备 温胆汤按原方组成半夏(汤洗 7 次)、竹茹、枳实(麸炒,去瓢)各 6 g,陈皮 9 g,甘草(炙)3 g,茯苓 4.5 g 配伍,加生姜 5 片,大枣 1 枚。全方经水煎、浓缩后,配制成质量浓度为含温胆汤生药 2.5, 2.0, 1.5 g·mL⁻¹,放 4℃ 冰箱保存备用。以上诸药均由江西中医药大学附属医院提供,经江西中医药大学副教授曹岚鉴定为正品。氯氮平(江苏瑞年前进制药有限公司,国药准字 H32022268)。

1.3 试剂 地卓西平马来酸盐 (MK-801) (美国 Sigma 公司,批号 022M4616V); PI3K 一抗(美国 Abcom 公司,批号 ab86714); Akt, GSK3 β 一抗(美国 Signalway Antibody 公司,批号分别为 21054, 21002); 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) (D16H11) XP® Rabbit mAb (美国 Cell Signaling 公司,批号 5174S); 辣根酶标记山羊抗兔免疫球蛋白 (Ig) G (批号 112586); trizol, RNA 提取试剂盒, HiFiScript cDNA 第一链合成试剂盒, UltraSYBR Mixture (康为世纪生物科技有限公司,批号分别为 CW0580S,

CW0581M, CW2569M, CW0957M)。

1.4 仪器 MULTISKAN FC 型酶标仪[赛默飞世尔(上海)仪器有限公司];PowerPacTW 通用型电泳仪,小型垂直电泳槽,Tanon VE-186 小型转印电泳槽(美国 Bio-Rad 公司);凝胶成像系统 Fluor Chem M(美国 Protein Simple 公司);CFX Connect™ 型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪[伯乐生命医学产品(上海)有限公司]。

2 方法

2.1 分组、给药与模型建立^[17] 大鼠适应性饲养 5 d 后,将其随机分为 6 组,分别为正常组、模型组、氯氮平组、温胆汤高、中、低剂量组,每组 10 只。正常组和模型组灌胃(*ig*)生理盐水,氯氮平组 *ig* 氯氮平原药 20 mg·kg⁻¹;温胆汤高、中、低剂量组分别 *ig* 温胆汤生药 40, 20, 10 g·kg⁻¹(给药剂量依照《中药药理研究方法学(第 3 版)》中人和大鼠体表面积换算);1 次/d,共 21 d。在最后 1 次给药 2 h 后,除正常组外,其余各组采用一次性左侧腹腔注射 MK801 0.6 mg·kg⁻¹,以诱发精神分裂症。

2.2 指标检测 造模成功后,各组大鼠不再给药,观察并记录大鼠的刻板行为和共济失调,3 d 后,处死大鼠,取海马组织检测。

2.2.1 大鼠刻板行为的观察 造模后,刻板行为由 2 名实验人员按盲法依照 Sams Dodd 和 Hoffman 标准^[18]独立评分,每 10 min/次,观察 60 min,共 6 次,每只大鼠分别给予一个单独的得分,取其 2 人之平均值。刻板行为评分标准为 0 分,静止不动,几乎或根本没有活动;1 分,正常活动,偶尔有向前的运动;2 分,活动伴随反复的向前探索;3 分,连续的向前探索;4 分,重复的抬头,摇头或旋转;5 分,快速的摇头,转圈或头的背腹运动

2.2.2 蛋白免疫印迹法(Western blot)测定大鼠海马组织 PI3K, Akt, GSK3β 蛋白的表达 取海马组织 100 mg 经过匀浆、裂解、超声破碎、高速离心后,取上清液,采用 BCA 试剂盒在酶标仪上测定蛋白浓度。再取上述等量(总蛋白 50 μg)蛋白提取液进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE, 10% 分离胶),采用湿转法将蛋白转移至 PVDF 膜上,37 ℃ 封闭 1 ~ 2 h(封闭液:含 5% 脱脂牛奶的 TBST 溶液)、洗膜后分别加入 PI3K, Akt, GSK3β 一抗(1:1 000),4 ℃ 慢摇孵育过夜,洗膜后以相应的二抗(1:1 000)37 ℃ 孵育 1 h,加入化学发光检测试剂,进行条带显色后,置于凝胶成像系统中曝光检测。以 GAPDH 为内参,采用凝胶成像系统自带的图像分析软件

Alphaview SA 分析蛋白条带的吸光度 *A*,以目标蛋白的 *A* 与相应的 GAPDH 的 *A* 的比值反映目标蛋白的半定量表达。

2.2.3 Real-time PCR 检测大鼠海马组织 PI3K, Akt, GSK3β mRNA 表达 取新鲜海马组织放入 RNA 样本保存液中备用。称量海马组织 100 mg,采用 trizon RNA 提取试剂盒提取 RNA,使用紫外分光光度计在 260 nm 处测定 RNA 含量;使用 HiFiScript cDNA 第一链合成试剂盒将 RNA 逆转录合成 cDNA;以 cDNA 作为模板扩增,GAPDH 为内参,应用 Real-time PCR 仪扩增,检测大鼠海马组织 PI3K, Akt 和 GSK3β 目的基因与内参基因 GAPDH 表达的荧光强度,以 2^{-ΔΔC_t} 相对定量法计算目的基因与内参基因荧光的比值,用于表示目的基因的表达情况,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计、合成,见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences of PCR

名称	序列(5'-3')	产物长度 /bp	退火温度 /℃
PI3K	上游 CTTGCCTCCATTCACCACCTCT	97	62
	下游 GCCTCTAATCTTCTCCTCTCCTTC		
Akt	上游 TGTCTCGTGAGCGCGTGTITTT	159	62
	下游 CCGTTATCTTGATGTGCCCGCTC		
GSK3β	上游 TTATTGCTCTGTCCACGGTCT	106	59
	下游 CCATCCTTATCCCTCCTCACC		
GAPDH	上游 GCAAGTTCACGGCAG	141	58.6
	下游 CGCCAGTAGACTCCACGAC		

2.3 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件统计分析,所有数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组均数采用单因素方差分析,组间两两比较用 LSD 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对精神分裂症模型鼠刻板行为评分的影响 与正常组比较,其余各组大鼠注射 MK801 后,均出现了明显的刻板行为($P < 0.01$)。与正常组比较,模型组大鼠刻板行为评分显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,温胆汤各组大鼠在造模后 10 ~ 40 min 刻板行为评分无明显差异,而从造模 50 min 后,温胆汤各组大鼠在 50, 60 min 的刻板行为均有较大程度的改善,评分有明显差异($P < 0.05$)。见表 2。

3.2 对精神分裂症模型大鼠海马组织中 PI3K, Akt 和 GSK3β 蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组

表 2 温胆汤对精神分裂症模型鼠刻板行为评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

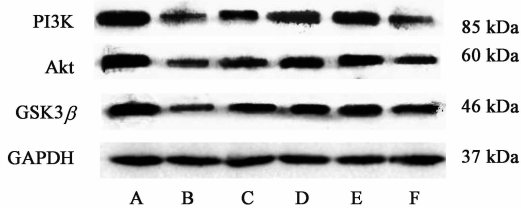
Table 2 Effect of Wendantang on stereotyped behavior score of rats with schizophrenia ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	造模后 10 min	造模后 20 min	造模后 30 min	造模后 40 min	造模后 50 min	造模后 60 min
正常	-	0.21 ± 0.07	0.21 ± 0.07	0.21 ± 0.07	0.21 ± 0.07	0.21 ± 0.07	0.21 ± 0.07
模型	-	2.50 ± 0.47 ²⁾	3.02 ± 0.50 ²⁾	3.52 ± 0.58 ²⁾	3.81 ± 0.65 ²⁾	3.37 ± 0.64 ²⁾	2.86 ± 0.54 ²⁾
氯氮平	0.02	2.21 ± 0.59 ²⁾	2.87 ± 0.46 ²⁾	3.21 ± 0.40 ²⁾	3.32 ± 0.45 ²⁾	2.30 ± 0.39 ^{2,3)}	1.48 ± 0.39 ^{2,3)}
温胆汤	40	2.30 ± 0.65 ²⁾	2.91 ± 0.61 ²⁾	3.22 ± 0.64 ²⁾	3.36 ± 0.61 ²⁾	2.41 ± 0.43 ^{2,3)}	1.34 ± 0.40 ^{2,3)}
	20	2.11 ± 0.41 ²⁾	2.76 ± 0.42 ²⁾	3.13 ± 0.45 ²⁾	3.19 ± 0.57 ²⁾	2.35 ± 0.48 ^{2,3)}	1.51 ± 0.46 ^{2,3)}
	10	2.30 ± 0.61 ²⁾	3.07 ± 0.66 ²⁾	3.30 ± 0.58 ²⁾	3.42 ± 0.63 ²⁾	2.62 ± 0.59 ^{2,3)}	1.62 ± 0.43 ^{2,3)}

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 3,4 同)。

大鼠海马组织中 PI3K, Akt 和 GSK3 β 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较,温胆汤各组大鼠海马组织中 PI3K, Akt 和 GSK3 β 蛋白表达水平明显上升 ($P < 0.05, P < 0.01$),只有温胆汤低剂量组海马组织 Akt 蛋白表达水平没有明显变化。见图 1,表 3。

PI3K, Akt 和 GSK3 β mRNA 的表达显著下降 ($P < 0.01$)。与模型组比较,温胆汤高、中剂量组均能显著升高海马组织 PI3K, Akt 和 GSK3 β mRNA 的表达 ($P < 0.01$);而温胆汤低剂量组海马组织 PI3K mRNA 的表达显著升高 ($P < 0.01$), Akt 和 GSK3 β mRNA 的表达没有明显变化。见表 4。



A. 正常组; B. 模型组; C. 温胆汤高剂量组; D. 温胆汤中剂量组; E. 温胆汤低剂量组; F. 氯氮平组

图 1 大鼠海马组织中 PI3K, Akt 和 GSK3 β 蛋白表达电泳

Fig. 1 Electrophoresis of PI3K, Akt and GSK3 β protein of hippocampus in rats

表 3 温胆汤对精神分裂症模型大鼠海马组织 PI3K, Akt 和 GSK3 β 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of Wendantang on expression of PI3K, Akt and GSK3 β protein of hippocampus in rats with schizophrenia ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	PI3K /GAPDH	Akt /GAPDH	GSK3 β /GAPDH
正常	-	1.60 ± 0.01	1.44 ± 0.04	1.46 ± 0.02
模型	-	0.78 ± 0.00 ²⁾	0.65 ± 0.03 ²⁾	0.63 ± 0.03 ²⁾
氯氮平	0.02	0.82 ± 0.00 ⁴⁾	0.79 ± 0.01 ⁴⁾	0.77 ± 0.01 ⁴⁾
温胆汤	40	1.00 ± 0.08 ⁴⁾	1.19 ± 0.04 ⁴⁾	1.27 ± 0.00 ⁴⁾
	20	1.19 ± 0.03 ⁴⁾	1.17 ± 0.01 ⁴⁾	1.38 ± 0.06 ⁴⁾
	10	0.80 ± 0.01 ³⁾	0.68 ± 0.02	0.71 ± 0.01 ³⁾

3.3 大鼠海马组织中 PI3K, Akt 和 GSK3 β mRNA 的表达 与正常组比较,模型组大鼠海马组织

表 4 温胆汤对精神分裂症模型鼠海马组织 PI3K, Akt 和 GSK3 β mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of Wendantang on expression of PI3K, Akt and GSK3 β mRNA of hippocampus in rats with schizophrenia ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	PI3K	Akt	GSK3 β
正常	-	1.00	1.00	1.00
模型	-	0.35 ± 0.13 ²⁾	0.38 ± 0.07 ²⁾	0.33 ± 0.08 ²⁾
氯氮平	0.02	0.81 ± 0.28 ⁴⁾	0.63 ± 0.19 ⁴⁾	0.77 ± 0.04 ⁴⁾
温胆汤	40	0.79 ± 0.38 ⁴⁾	0.72 ± 0.04 ⁴⁾	0.83 ± 0.30 ⁴⁾
	20	0.83 ± 0.20 ⁴⁾	0.80 ± 0.11 ⁴⁾	0.88 ± 0.13 ⁴⁾
	10	0.55 ± 0.17 ⁴⁾	0.39 ± 0.08	0.35 ± 0.11

4 讨论

目前,精神分裂症的病因假说有多巴胺假说,神经发育假说和谷氨酸假说等;虽然这些假说从不同方面解释了精神分裂症的相关症状,但其真正的病因尚不明确。为揭开精神分裂症的神秘面纱,从精神分裂症具有高遗传性的特点入手,运用基因组学工具,找到了大量的精神分裂症易感基因。易感基因通过 GSK3 相关信号通路参与精神分裂症的发生与发展^[19-20]。

与精神分裂症相关的 GSK3 信号通路主要有 PI3K/Akt/GSK3 信号通路。在 PI3K/Akt/GSK3 信号通路中,PI3K 可以在上游信号通路蛋白作用下

进行磷酸化激活 Akt, 激活的 Akt 可以在 GSK3 β 的 Ser-9 位进行磷酸化来降低 GSK3 过度表达或激活所产生的细胞损伤^[21-22]。作为神经系统中一条重要的信号通路, PI3K/Akt/GSK3 β 参与轴突再生、神经元极性、神经元凋亡和神经系统稳态维持等, 具有多种关键调控作用^[23]。

研究发现, PI3K 对神经具有保护作用, 在精神疾病模型鼠海马组织中 PI3K 蛋白、磷酸化和 mRNA 表达水平明显低于正常, 而中医药可以有效促进其表达升高^[24]。Akt 作为 PI3K 的下游蛋白分子, 越来越多的证据表明, 精神分裂症的发病与 Akt 的参与有关, Akt 可作为精神分裂症及其治疗可靠的生物标记物^[25]。有文献报道, 精神分裂症患者脑和外周血淋巴细胞中 Akt 蛋白及其磷酸化水平显著降低, 其与 Akt 的基因多态性密切相关^[26], 且 GSK3 β 的磷酸化水平随 Akt1 含量的下降而显著降低^[27]。在精神分裂症患者大脑中 GSK3 β 蛋白和磷酸化表达都下降^[28], 而抗精神病药物可以通过增加 GSK3 β 的磷酸化表达来抑制其活性, 从而发挥生物学效应^[29]。由此可知, GSK3 β 的表达水平和活性与精神分裂症密切相关。

有研究显示, PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路通过多因素对精神分裂症的生理、病理进行调控, 其调节可能构成一个重要的突触神经传递的信号中心。因此, 调控 PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路目前已经成为治疗精神分裂症的新策略。本研究通过动物实验, 运用 NMDA 受体拮抗剂——MK801 制造“气滞痰凝”的精神分裂症模型, 观察并记录大鼠的刻板行为, 检测海马组织 PI3K, Akt 和 GSK3 β 的表达, 其结果显示大鼠注射 MK801 造模后, 均出现了明显的刻板行为, 海马组织 PI3K, Akt, GSK3 β 蛋白和 PI3K, Akt 和 GSK3 β mRNA 表达都显著下调, 与上述文献报道一致; 而温胆汤干预后, 大鼠刻板行为评分明显降低, 海马组织 PI3K, Akt, GSK3 β 蛋白和 PI3K, Akt 和 GSK3 β mRNA 表达都显著上调。因此, 推测温胆汤通过改善刻板行为, 上调 PI3K, Akt, GSK3 β 表达, 从而调控 PI3K/Akt/GSK3 信号通路, 以期达到治疗精神分裂症的目的, 为以后深入研究温胆汤治疗精神分裂症的作用机制提供了一些实验依据。

[参考文献]

[1] Owen M J, Sawa A, Mortensen P B. Schizophrenia[J]. Lancet, 2016, 388(10039): 86-97.
[2] Howes O, McCutcheon R, Stone J. Glutamate and

dopamine in schizophrenia: An update for the 21st century[J]. J Psychopharmacol, 2015, 29(2): 97-115.
[3] Karam C S, Ballon J S, Bivens N M, et al. Signaling pathways in schizophrenia: emerging targets and therapeutic strategies[J]. Trends Pharmacol Sci, 2010, 31(8): 381-390.
[4] Singh K K. An emerging role for Wnt and GSK3 signaling pathways in schizophrenia[J]. Clin Genet, 2013, 83(6): 511-517.
[5] 唐倩倩, 郭小云, 刘迪, 等. GSK-3 β 参与神经精神疾病的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2014, 30(9): 1193-1196.
[6] 李冀, 连建伟. 方剂学[M]. 4 版. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 270.
[7] 万红娇, 杨翠萍, 丁舸. 中医药治疗精神分裂症的临床研究概况[J]. 江西中医学院学报, 2009, 21(5): 92-95.
[8] 郭艳梅, 史彦彦, 李玉欣, 等. 中药治疗精神分裂症的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(27): 3543-3545.
[9] 徐义勇, 田真真, 易惺钱, 等. 温胆汤联合抗精神病物治疗精神分裂症疗效与安全性的 Meta 分析[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(10): 2536-2540.
[10] 周叔平. 论温胆汤之功效与主治[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(3): 97-98.
[11] 付艳丽, 万红娇, 朱金华, 等. 温胆汤对地卓西平马来酸盐诱发精神分裂症模型大鼠脑组织中 Cx43 mRNA 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(20): 173-175.
[12] 朱金华, 田真真, 万红娇, 等. 温胆汤对精神分裂症模型鼠血清 SOD, MDA, NO, PKC 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13): 254-257.
[13] 朱金华, 孙昊鑫, 魏妍妍, 等. 温胆汤对精神分裂症模型鼠海马组织 Cx43、谷氨酸及神经胶质细胞超微结构的影响[J]. 中药药理与临床, 2014, 30(5): 1-5.
[14] 朱金华, 孙昊鑫, 熊秋迎, 等. 温胆汤对精神分裂症模型鼠血清 TNF- α , IL-6 及海马组织 Glu 活性表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(14): 160-164.
[15] 熊怀亮, 朱金华, 戎文娟, 等. 温胆汤含药血清对谷氨酸条件下星形胶质质 Cx43 和 GJIC 功能的影响[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(1): 1-5.
[16] 朱金华, 田真真, 戎文娟, 等. 温胆汤对精神分裂症大鼠海马组织 NRG1、ErbB4 mRNA 表达及其行为学的影响[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(3): 2-5.
[17] 魏妍妍, 刘丹丹, 戎文娟, 等. 温胆汤对精神分裂症模型鼠海马 PKC, p38MAPK 及 P-Cx43 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(11): 103-106.
[18] Koros E, Rosenbrock H, Birk G, et al. The selective

- mGlu5 receptor antagonist MTEP, similar to NMDA receptor antagonists, induces social isolation in rats[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2007, 32(3):562-576.
- [19] Emamian E S. AKT/GSK3 signaling pathway and schizophrenia [J]. *Front Mol Neurosci*, 2012, 5(33):33.
- [20] Beurel E, Grieco S F, Jope R S. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): regulation, actions, and diseases [J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 148:114-131.
- [21] 田龙夫,张琦,王波涛,等. 血根碱通过调控 PI3K/Akt 信号通路诱导胰腺癌细胞凋亡的机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(19):166-171.
- [22] 徐厚谦,颜春鲁,张永花,等. 当归补血汤通过 PI3K/Akt 通路对 Ang II 诱导肥大心肌细胞的保护作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(2):135-139.
- [23] Saijilafu, Hur E M, LIU C M, et al. PI3K-GSK3 signaling regulates mammalian axon regeneration by inducing the expression of Smad1 [J]. *Nat Commun*, 2013, doi:10.1038/ncomms3690.
- [24] 徐少群,徐乐,李向宇,等. 电针对异氟醚诱导阿尔茨海默样病小鼠海马区 PI3K/Akt 信号通路的影响 [J]. *吉林中医药*, 2016, 36(3):294-297.
- [25] ZHENG W, WANG H, ZENG Z, et al. The possible role of the Akt signaling pathway in schizophrenia [J]. *Brain Research*, 2012, 1470(35):145-158.
- [26] Thiselton D L, Vladimirov V I, Kuo P H, et al. AKT1 is associated with schizophrenia across multiple symptom dimensions in the Irish study of high density schizophrenia families [J]. *Biol Psychiatry*, 2008, 63(5):449-457.
- [27] Amar S, Shaltiel G, Mann L, et al. Possible involvement of post-dopamine D2 receptor signalling components in the pathophysiology of schizophrenia [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2008, 11(2):197-205.
- [28] Emamian E S, Hall D, Birnbaum M J, et al. Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3 β signaling in schizophrenia [J]. *Nat Genet*, 2004, 36(2):131-137.
- [29] Benedetti F, Poletti S, Radaelli D, et al. Temporal lobe grey matter volume in schizophrenia is associated with a genetic polymorphism influencing glycogen synthase kinase 3- β activity [J]. *Genes Brain Behav*, 2010, 9(4):365-371.

[责任编辑 周冰冰]