

人参总皂苷对尾吊模拟微重力大鼠学习记忆损伤和焦虑的保护作用

鲍余¹, 陈颖², 曾贵荣³, 杨紫玉², 潘瑞乐⁴, 石哲⁵, 胡秦⁶, 吕静薇², 卢聪⁷, 贺阳¹,
姜宁², 彭博³, 刘新民^{2*}, 文连奎^{1*}

(1. 吉林农业大学, 长春 130118; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;
3. 湖南省药物安全评价中心, 湖南 浏阳 410331; 4. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100193;
5. 湖南中医药大学, 长沙 410208; 6. 北京工业大学, 北京 100024;
7. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193)

[摘要] 目的:通过人参总皂苷干预尾吊大鼠,检测大鼠在水迷宫、高架十字迷宫中的表现以及下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴、炎症因子以及色氨酸通路的相关因子表达,探讨人参总皂苷对尾吊大鼠学习记忆损伤及焦虑的影响。方法:将Wistar雄性大鼠分为正常组,尾吊模型组,石杉碱甲组(0.1 mg·kg⁻¹),人参总皂苷低、高剂量组(100,200 mg·kg⁻¹),每组8只。除正常组外,其余组大鼠均24 h保持-30°尾部悬吊状态。正常组与模型组给予纯净水灌胃,灌胃体积为10 mL·kg⁻¹,连续灌胃给药28 d后进行水迷宫和高架十字迷宫行为学检测。检测结束后腹主动脉取血,冰上剥离大鼠脑皮层,液氮猝灭,-80℃保存备用。采用液质联用(LC-MS/MS)检测大鼠脑皮层中多巴胺,乙酰胆碱,谷氨酸,γ-氨基丁酸的神经递质水平以及色氨酸通路代谢物(色氨酸,5-羟色胺,5-羟吲哚乙酸,犬尿氨酸,3-羟基犬尿氨酸,犬尿喹啉酸)。采用酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒检测大鼠血清中炎症因子白细胞介素-6(IL-6),白细胞介素-10(IL-10)水平以及HPA轴相关激素促肾上腺皮质激素(ACTH),皮质酮(CORT)水平。结果:与正常组比较,模型组在水迷宫中逃避潜伏期显著性升高,穿台次数显著性降低,在高架十字迷宫中开臂进入次数与开臂进入次数百分比明显降低($P<0.05$, $P<0.01$),皮层中多巴胺,乙酰胆碱,谷氨酸,γ-氨基丁酸含量降低,犬尿氨酸,犬尿喹啉酸呈上升趋势,3-羟基犬尿氨酸,5-羟色胺,5-羟吲哚乙酸呈下降趋势,血清中IL-6,IL-10,ACTH,CORT水平显著升高($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组大鼠比较,人参总皂苷低、高剂量组在水迷宫中逃避潜伏期降低,增加穿台次数及高架十字迷宫的开臂次数,大鼠的多巴胺,乙酰胆碱,谷氨酸,γ-氨基丁酸含量升高,犬尿氨酸,犬尿喹啉酸呈下降趋势,3-羟基犬尿氨酸,5-羟色胺,5-羟吲哚乙酸呈上升趋势及下调了IL-6,IL-10,ACTH,CORT水平($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:尾吊28 d模拟微重力可损害大鼠的学习记忆能力并出现焦虑样行为,人参总皂苷具有改善其学习记忆损伤和焦虑样行为的作用,其机制可能是主要与抑制机体炎症和调节HPA轴失衡有关。

[关键词] 人参总皂苷;失重;学习记忆;焦虑;神经递质;色氨酸通路;下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴;炎症因子

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)07-0049-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210405

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210203.0959.001.html>

[网络出版日期] 2021-2-3 13:26

Protective Effect of Total Ginsenoside Ginseng Root on Learning and Memory Impairment and Anxiety in Rats Induced by Hindlimb Suspension

BAO Yu¹, CHEN Ying², ZENG Gui-rong³, YANG Zi-yu², PAN Rui-le⁴, SHI Zhe⁵, HU Qin⁶,
LYU Jing-wei², LU Cong⁷, HE Yang¹, JIANG Ning², PENG Bo³, LIU Xin-min^{2*}, WEN Lian-kui^{1*}

(1. Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

[收稿日期] 20201127(019)

[基金项目] 载人航天工程航天医学实验领域项目(HYZHXM05003);国家自然科学基金项目(82074103);国家“重大新药创制”科技重大专项(2017ZX09101002-002-008);北京市自然科学基金项目(7182012)

[第一作者] 鲍余,在读硕士,从事神经药理学研究工作,E-mail:625573359@qq.com

[通信作者] *文连奎,博士生导师,教授,从事长白山野生植物资源开发利用研究工作,E-mail:wenzhankuai@163.com;

*刘新民,博士生导师,研究员,从事神经精神疾病药理及方法学研究工作,Tel:010-57833245,E-mail:liuxinmin@hotmail.com

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
3. Hunan Drug Safety Evaluation Center, Liuyang 410331, China;
4. Institute of Medicinal Plants, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China;
5. Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China;
6. Beijing University of Technology, Beijing 100024, China; 7. Institute of Agricultural Products Processing, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of total ginsenoside ginseng root on the learning and memory impairment and anxiety of hindlimb suspension rats by detecting the performance of rats in the water maze, elevated plus maze, and the expression of hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, inflammatory factors and tryptophan pathway related factors through the intervention of ginsenosides in hindlimb suspension rats. **Method:** The Wistar male rats were divided into normal group, hindlimb suspension model group, Huperzine A group ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), and total ginsenoside ginseng root low and high dose groups ($100, 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), with 8 rats in each group. Except for the normal group, the rats in the other groups maintained a -30° hindlimb suspension state for 24 h. The normal group and the model group received intragastric administration of $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ pure water. After 28 days of continuous administration, the water maze and elevated plus maze behavioral tests were performed. After the tests, blood was taken from the abdominal aorta, and the rat brain cortex was peeled off on ice, quenched with liquid nitrogen, and stored at -80°C for later use. LC-MS/MS was used to detect neurotransmitter levels of dopamine, acetylcholine, glutamate, γ -aminobutyric acid and tryptophan pathway metabolites (tryptophan, 5-hydroxytryptamine, 5-hydroxyindoleacetic acid, kynurenine, 3-hydroxykynurenine, and kynurenine) in rat brain cortex. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit was used to detect the levels of inflammatory factors interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), the HPA axis-related hormone corticotropin (ACTH), and the level of corticosterone (CORT). **Result:** Compared with the normal group, the escape latency in the water maze significantly increased, the number of crossings was significantly reduced, and the number of open-arm entry and the percentage of open-arm entry were significantly reduced in the elevated plus maze in model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the content of dopamine, acetylcholine, glutamic acid, and γ -aminobutyric acid in the cortex decreased, kynurenine and kynurenic acid showed an upward trend, 3-hydroxykynurenine, 5-hydroxytryptamine, 5-hydroxyindole acetic acid showed a downward trend, and the levels of IL-6, IL-10, ACTH, and CORT in the serum significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group of rats, total ginsenoside ginseng root low and high dose groups group reduced the avoidance latency in the water maze, and increased the number of crossings and the number of open arms of the elevated plus maze, dopamine, acetylcholine, glutamate, and γ -aminobutyl content increased, while kynurenine and kynurenic acid showed a downward trend, 3-hydroxykynurenine, serotonin, and 5-hydroxyindole acetic acid showed an upward trend, and IL-6, IL-10, ACTH, and CORT factor levels were down-regulated ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Hindlimb suspension for 28 days in simulated microgravity can impair the learning and memory ability of rats and cause anxiety-like behaviors. Total ginsenoside ginseng root can improve their learning and memory impairment and anxiety-like behaviors. The mechanism may be mainly related to inhibiting body inflammation and regulating HPA axis imbalance.

[Key words] total ginsenoside ginseng root; weightlessness; learning and memory; anxiety; neurotransmitters; Tryptophan pathway; hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis; inflammatory factors

中国空间站的即将建立,标志着航天事业已从短期飞行迈向中长期驻留。长期的在轨飞行中,微重力、狭小空间和辐射等因素会诱发航天员学习记忆损伤及情绪问题,导致认知功能损伤、决策能力

下降,甚至引发事故造成重大损失^[1-3]。防护航天应激诱导的学习记忆能力下降及情绪障碍是保证航天作业任务完成的重要举措。因此,针对航天飞行中航天员认知功能和情绪的相关防护药物的研发

势在必行。

大鼠-30°尾吊是通过血液头向分布状态模拟航天员因失重环境导致全身血液头部转移的航天失重效应模型^[4-5]。尾吊可诱导下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴产生应激反应及改变相关神经递质水平的分泌^[6],HPA轴是维持机体中枢环境分泌网络的中枢,在应激反应中发挥调节作用,HPA轴激活时会对神经-内分泌及炎症因子等产生调节作用,此时机体免疫系统的调节作用会增强机体识别和杀伤抗原性异物的能力^[7]。机体内炎症因子水平升高会对神经元造成损伤,导致学习记忆能力下降以及出现焦虑样的表现。人参是益智中药代表,其主要活性部位人参总皂苷具有改善学习记忆能力与抗焦虑作用^[8-10],研究表明,人参总皂苷具有改善聚合 β 淀粉样蛋白₂₅₋₃₅(A β ₂₅₋₃₅)引起的记忆障碍,增强了大鼠齿状回基本突触传递和突触传递长时程增强^[11]。但人参总皂苷作用于航天特因环境动物模型鲜有报道,本课题发现其具有抗航天应激作用,其作用机制并未被完全阐明^[12-13]。

因此,本研究采用水迷宫和高架十字迷宫检测评价人参总皂苷对尾吊28 d后大鼠的学习记忆能力和情绪的影响,初步探讨人参总皂苷对尾吊大鼠HPA轴、炎症因子的调节作用,为人参皂苷作为改善航天应激诱导的学习记忆损伤及情绪障碍的候选药物提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 40只SPF级Wistar大鼠,体质量(200±20)g,雄性,购自湖南长沙天勤生物技术有限公司,合格证号SCXK(湘)2019-0013。动物饲养于中国湖南药物安全评价中心屏蔽环境,许可证号SYXK(湘)2015-0016,经湖南省药物安全评价中心实验动物伦理委员会审查(批准号20191106)。饲养期间给予动物标准饲料和洁净饮水,12h照明/12h黑暗(照明8:00~20:00)。本动物实验遵守国际实验动物伦理学要求。实验前动物适应环境5d。

1.2 药物及试剂 人参总皂苷(中国医学科学院药用植物研究所,批号ALH-13-0918);石杉碱甲片(河南太龙药业股份有限公司,批号201001);白细胞介素-6(IL-6),白细胞介素-10(IL-10)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(达科为生物技术股份有限公司,批号分别为131002,1311002);促肾上腺皮质激素(ACTH),皮质酮(CORT)(南京建成生物工程研究所,批号分别为H097,H205); γ -氨基丁酸,乙酰胆碱,5-羟色胺,色氨酸,犬尿氨酸,犬尿喹啉酸,3-羟

基犬尿氨酸,5-羟吲哚乙酸(美国Sigma公司,批号分别为A2129,A6625,H9523,T0254,K8625,K3375,H1771,H8876);多巴胺(北京百灵威科技有限公司,批号LP30L21);谷氨酸,盐酸苯海拉明(中国食品药品检定研究院,批号分别为140690-200802,100066-200807)。

1.3 仪器 WMT-100S型Morris水迷宫(成都泰盟软件有限公司);PMT-100型高架十字迷宫(成都泰盟软件有限公司);HPLC-MS/MS包括ExionLC-20AC型高效液相色谱仪,Ion Drive™ Turbo V型离子源,Sciex 6500+三重四极杆检测器,Analyst 1.7数据采集系统(美国AB SCIEX公司)。

2 方法

2.1 动物分组及给药 将适应环境后的Wistar雄性大鼠根据体质量进行随机分组,空白组、尾吊模型组、石杉碱甲组(0.1 mg·kg⁻¹),人参总皂苷低、高剂量组(100,200 mg·kg⁻¹),每组8只。给药方式为经口灌胃,给药体积为10 mL·kg⁻¹,空白组与尾吊模型组给予等体积的水。造模及给药28 d。

2.2 Morris水迷宫实验 用大鼠水迷宫实时监测系统检测大鼠活动情况。实验分为定位航行阶段、空间探索阶段、工作记忆阶段。定位航行阶段,共5 d,每天训练3次,每次训练前后各适应15 s,检测时间为90 s,若时间范围内找到平台,算作寻台成功并记录其逃避潜伏期,若动物没有发现平台,训练结束,其逃避潜伏期记录为90 s。空间探索阶段,撤去平台,将动物从原平台象限的对角象限面向池壁放入水中,监测其在90 s内动物的总游程、平均速度,以及穿过原平台所在位置的速度和穿台次数。在工作记忆模式中^[15],按照定位航行步骤进行,此时每天在不同的象限更换平台的位置。实验时间应为90 s,每天测试1次,完成3个不同象限的测试,连续检测4 d,统计动物逃避潜伏期。

2.3 高架十字迷宫 用大鼠高架十字迷宫实时监测系统检测大鼠活动情况,将大鼠从开臂放入,检测大鼠在5 min内的活动情况,记录大鼠进入开臂次数以及大鼠进入开臂次数百分比。

2.4 大鼠皮层的神经递质和色氨酸通路代谢物含量测定 取大鼠皮层,精密称质量,加入甲醇乙腈500 μ L(1:1)于4 °C匀浆,然后取匀浆液200 μ L,加入40 μ L内标苯海拉明2 mg·L⁻¹,涡旋混匀后,12 000 r·min⁻¹离心10 min(离心半径10 cm),取上清100 μ L,按本课题组所建立的色谱及质谱条件^[12]进行液质联用(LC-MS/MS)分析,检测大鼠皮层中

的多巴胺,乙酰胆碱,谷氨酸, γ -氨基丁酸,色氨酸,犬尿氨酸,犬尿喹啉酸,3-羟基犬尿氨酸,5-羟色胺,5-羟吲哚乙酸。

2.5 ELISA 试剂盒测定大鼠血清中 IL-6, IL-10 的含量 将大鼠血样, 3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min 取上清, 通过 ELISA 试剂盒按照试剂盒说明书测定 IL-6, IL-10 含量。

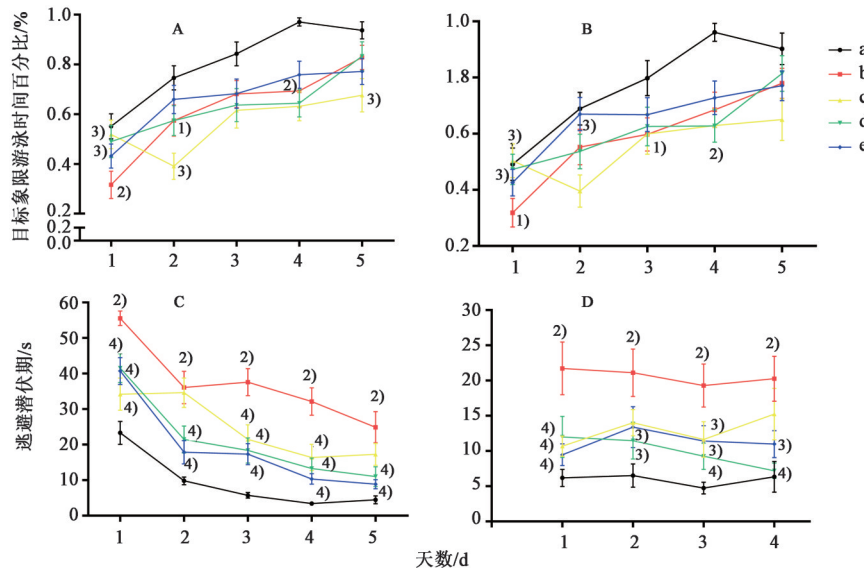
2.6 ELISA 试剂盒测定大鼠血清中 ACTH, CORT 测定 同 2.5 项取得大鼠血清后通过 ELISA 试剂盒测定 ACTH, CORT。

2.7 统计学分析 数据采用 SPSS 21.0 软件进行统计, 组间数据比较采用单因素方差分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 Morris 水迷宫实验的影响 在定位航行阶

段中, 随着训练周期的延长, 大鼠的逃避潜伏期逐渐降低。与空白组比较, 尾吊 28 d 显著升高大鼠的逃避潜伏期 (第 1~5 天, $P < 0.01$), 并且目标象限游泳时间百分比及目标象限游泳距离百分比显著降低, 而与尾吊模型组比较, 人参总皂苷高、低剂量组逆转了上述指标, 降低了逃避潜伏期以及升高了目标象限游泳时间百分比以及目标象限游泳距离百分比; 在空间探索阶段中, 与空白组比较, 尾吊组显著降低了大鼠目标游泳距离百分比以及穿台次数 ($P < 0.01$), 与尾吊组比较, 人参总皂苷高、低剂量组表现出了改善作用; 在工作记忆阶段中, 与空白组比较, 尾吊组大鼠显著增加了在工作记忆模式下的逃避潜伏期 (第 1~4 天, $P < 0.01$), 与尾吊组比较, 人参总皂苷高、低剂量组均降低了指标, 缩短了大鼠的逃避潜伏期。见图 1 和表 1。



与正常组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与尾吊模型组比较 ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 1~6 同); A. 定位航行-目标象限游泳时间百分比; B. 定位航行-目标象限游泳距离百分比; C. 定位航行-逃避潜伏期; D. 工作记忆-逃避潜伏期; a. 正常组; b. 尾吊模型组; c. 石杉碱甲组; d. 人参总皂苷低剂量组; e. 人参总皂苷高剂量组

图 1 人参总皂苷对尾吊大鼠水迷宫定位航行和工作记忆的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 1 Effect of total ginsenoside ginseng root (TGGR) on navigation and working memory of tail-hanging rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

表 1 人参总皂苷对大鼠水迷宫定位航行的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Effect of TGGR on navigation of water maze in rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	目标距离百分比/%	穿台次数/次
正常		0.40±0.02	5.38±1.12
尾吊模型		0.20±0.06 ²⁾	1.25±0.25 ²⁾
石杉碱甲	0.1	0.26±0.03	2.25±0.92
人参总皂苷	100	0.31±0.03 ⁴⁾	4.38±0.92 ³⁾
	200	0.31±0.01 ⁴⁾	3.12±0.58

3.2 对尾吊大鼠高架十字迷宫实验的影响 高架十字迷宫实验中, 与正常组比较, 尾吊模型组在开臂进入次数与开臂进入次数百分比指标中明显降低 ($P < 0.05$); 与尾吊模型比较, 人参总皂苷高、低剂量组在 2 个指标中呈升高趋势, 但差异无统计学意义。见表 2。

3.3 对尾吊大鼠皮层中神经递质的影响 与空白组比较, 尾吊模型组的多巴胺, 乙酰胆碱, 谷氨酸, γ -氨基丁酸成下降趋势, 但差异无统计学意义; 与尾吊模型组比较, 人参总皂苷组多巴胺, 乙酰胆碱, 谷氨

表2 人参总皂苷对尾吊大鼠高架十字迷宫的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 2 Effect of TGGR on elevated plus maze in tail-hanging rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	开臂进入次数/ 次	开臂进入次数 百分比/%
正常		5.50±2.82	17.80±7.20
尾吊模型		0.57±0.57 ¹⁾	1.68±1.68 ¹⁾
石杉碱甲	0.1	1.00±0.46	18.41±8.18 ³⁾
人参总皂苷	100	1.12±0.01	6.17±3.90
	200	0.38±0.18	2.82±1.58

酸, γ -氨基丁酸均呈升高趋势, 其中多巴胺指标中的人参总皂苷组低剂量组明显升高, 乙酰胆碱指标中人参总皂苷高剂量组明显升高 ($P<0.05$)。见表3。

表3 人参总皂苷对尾吊大鼠神经递质的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 3 Effect of TGGR on neurotransmitter of tail-suspended rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	多巴胺	乙酰胆碱	谷氨酸	γ -氨基丁酸
正常		0.53±0.32	2.94±0.21	968.84±86.70	201.79±12.60
尾吊模型		0.25±0.12	1.99±0.30	791.81±133.51	165.29±32.78
石杉碱甲	0.1	0.52±0.22	1.65±0.28	587.04±99.17	161.18±28.42
人参总皂苷	100	1.11±0.34 ³⁾	2.87±0.22	886.28±67.23	211.31±14.72
	200	0.77±0.29	3.12±0.61 ³⁾	858.95±54.80	227.57±24.66

表4 人参总皂苷对尾吊大鼠色氨酸通路代谢物的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 4 Effect of TGGR on tryptophan path metabolites of tail-suspended rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	色氨酸	5-羟色胺	5-羟吲哚乙酸	犬尿氨酸	3-羟基犬尿氨酸	犬尿喹啉酸
正常		0.22±0.01	2.95±0.20	0.55±0.03	2.15±0.28	0.05±0.01	0.02±0.01
尾吊模型		0.20±0.03	1.84±0.21 ²⁾	0.39±0.05	3.09±0.92	0.04±0.01	0.02±0.01
石杉碱甲	0.1	0.14±0.02	1.46±0.24	0.44±0.09	1.49±0.44	0.04±0.01	0.01±0.01
人参总皂苷	100	0.19±0.01	2.19±0.12	0.89±0.10 ⁴⁾	5.77±2.11	0.05±0.01	0.04±0.01
	200	0.27±0.02 ³⁾	2.70±0.32 ³⁾	0.89±0.21 ⁴⁾	3.56±0.91	0.06±0.01	0.02±0.01

3.5 对尾吊大鼠血清中IL-6, IL-10的影响 与空白组比较, 尾吊模型组的IL-6, IL-10炎症因子水平明显升高 ($P<0.05, P<0.01$); 与尾吊模型组比较, 人参总皂苷组高、低剂量组在IL-6, IL-10炎症因子水平中均明显下降 ($P<0.05, P<0.01$)。见表5。

3.6 对尾吊大鼠血清中ACTH, CORT的影响 与空白组比较, 尾吊模型组的ACTH, CORT水平显著升高 ($P<0.01$); 与尾吊模型组比较, 人参总皂苷组高、低剂量组在ACTH, CORT水平中均明显下降 ($P<0.05, P<0.01$)。见表6。

4 讨论

航天微重力环境下, 在轨飞行期间航天员的认

3.4 对尾吊大鼠皮层中色氨酸通路代谢物的影响 与空白组比较, 尾吊模型组的犬尿氨酸, 犬尿喹啉酸成上升趋势; 3-羟基犬尿氨酸, 5-羟色胺, 5-羟吲哚乙酸成下降趋势, 5-羟色胺显著下降 ($P<0.01$)。与尾吊模型组比较, 人参总皂苷组色氨酸, 3-羟基犬尿氨酸, 5-羟色胺, 5-羟吲哚乙酸均呈升高趋势, 其中色氨酸指标中的人参总皂苷高剂量组显著升高, 5-羟色胺指标中人参总皂苷高剂量组明显升高 ($P<0.05$), 5-羟吲哚乙酸指标中人参总皂苷高、低剂量组显著升高 ($P<0.01$)。与尾吊模型组比较, 人参总皂苷组低剂量组犬尿氨酸、犬尿喹啉酸呈升高趋势, 但差异无统计学意义。见表4。

表5 人参总皂苷对尾吊大鼠炎症的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 5 Effect of TGGR on inflammation in tail-hanging rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	IL-6	IL-10
正常		57.55±1.92	38.23±0.65
尾吊模型		70.24±2.90 ¹⁾	46.84±3.08 ²⁾
石杉碱甲	0.1	68.92±3.78	38.77±0.78 ⁴⁾
人参总皂苷	100	54.41±4.22 ⁴⁾	41.04±1.12 ³⁾
	200	56.04±3.82 ⁴⁾	40.97±1.12 ³⁾

知功能、情绪行为发生一定程度的变化, 造成航天员工作能力下降, 影响到航天员的健康和航天任务的完成^[16]。本研究结果显示28 d尾吊大鼠在定位

表 6 人参总皂苷对尾吊大鼠 HPA 轴的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)
Table 6 Effect of TGGR on HPA axis of tail-suspended rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	ACTH	CORT
正常		140.09±13.08	384.65±17.87
尾吊模型		188.72±11.26 ²⁾	464.43±15.76 ²⁾
石杉碱甲	0.1	151.03±12.78 ³⁾	433.86±13.22
人参总皂苷	100	140.90±13.84 ⁴⁾	407.74±22.11 ³⁾
	200	125.95±8.22 ⁴⁾	412.89±12.11 ³⁾

航行中逃避潜伏期显著升高,空间探索中的穿台次数增加,表明尾吊应激损害了大鼠的空间学习记忆;并且在工作记忆模式中大鼠逃避潜伏期显著性升高,提示其工作记忆也受到损伤。有研究表明,尾吊还会影响大鼠的情绪,产生焦虑样行为^[17-18],本研究也证实了,尾吊 28 d 可降低大鼠在高架十字迷宫的开臂进入次数,表现出焦虑样行为。人参总皂苷组大鼠不但缩短了在水迷宫中逃避潜伏期,也增加了高架十字迷宫的开臂进入次数,表明人参总皂苷同时具有改善大鼠学习记忆损伤和抗焦虑的药效。

大鼠脑内不同的神经递质会激活特定受体,发挥不同作用,调控着学习记忆和情绪等功能。当机体学习和记忆损伤时,分泌多巴胺的神经细胞活动会得到减弱^[18-19]。长期的尾吊应激状态下,多巴胺分泌减少会使学习记忆能力下降。胆碱能系统在学习记忆功能中起到重要调控作用^[20-21],乙酰胆碱的含量减少可能是导致学习记忆能力下降的关键因素之一。抑制性神经递质 γ -氨基丁酸与兴奋性神经递质谷氨酸在学习记忆中均起着重要作用,在与突触后膜上受体结合后,形成受体复合物并发生构型改变,进而激活离子通道,使离子选择性通过,引起神经元超极化^[22-24], γ -氨基丁酸与谷氨酸下降可能会引起尾吊大鼠的学习记忆能力受损。

色氨酸及其代谢产物在神经系统,尤其是学习记忆和抑郁焦虑等情绪活动中具有重要的作用。前期尾吊 14 d 模拟微重力诱导的大鼠尿液非靶向代谢组学结果显示,尾吊大鼠尿液中色氨酸、精氨酸、脯氨酸和苯丙氨酸相关的代谢水平发生了显著变化,因此在本研究中采用了靶向代谢组学的方法,重点比较了大鼠皮层中与抑郁焦虑样行为最相关的色氨酸代谢通路的变化^[25]。TRP 主要有两条代谢途径:第一条为 TRP 在色氨酸羟化酶的作用下代谢成 5-HT,继而代谢为 5-HIAA;5-HT 是与情绪

和学习记忆相关的单胺类神经递质^[26-27]。本研究中尾吊 28 d 诱导机体学习记忆能力下降及焦虑样行为可能与 5-羟色胺水平的降低有关;人参总皂苷 200 mg·kg⁻¹ 可显著增加皮层中 5-HT 的水平;人参总皂苷(100, 200 mg·kg⁻¹) 均可显著增加皮层中 5-HIAA 水平;说明人参皂苷可以改善尾吊诱导的大脑皮层 TRP-5HT 代谢通路的异常。TRP 第二条代谢途径为在吲哚胺-2,3-双加氧酶或色氨酸-2,3-双加氧酶的作用下生成犬尿氨酸(KYN);犬尿氨酸在犬尿氨酸-3-单氧化酶的作用下生成 3-羟基犬尿氨酸(3-HK),或者在犬尿氨酸氨基转移酶的作用下转化为犬尿喹啉酸(KYNA)^[25]。KYN 在肠道是芳香烃受体激动剂,可促进调节性 T 细胞的生成,减少免疫反应;3-HK 因促进氧化应激被认为具有一定的神经毒性;KYNA 作为 N-甲基-D-天门冬氨酸受体和 α 7-烟碱型乙酰胆碱受体的拮抗剂,被认为具有神经保护作用。TRP 代谢途径的失衡,尤其是具有特定神经活性特性的代谢产物过量或者比例的变化,被认为是多种神经精神疾病的原因。在本研究中,尾吊模型组大鼠皮层的 KYN, 3-HK 和 KYNA 与模型组无显著变化;人参皂苷对 KYN 和 KYNA 含量略有升高的趋势。综合可见,在尾吊 28 d 诱导微重力模型大鼠,TRP 主要沿 5-HT 途径分解而不是 KYN 途径。

当机体处于应激状态时,HPA 轴表现为亢奋状态,机体激素分泌增多,下丘脑释放出促肾上腺皮质激素释放激素(CRH),进而促进垂体前叶合成和分泌 ACTH 的作用,进而导致血浆中 ACTH, CORT 的含量升高,从而激活 HPA 轴^[28]。长时间应激状态使机体促炎症因子 IL-6 表达增加,而 HPA 轴中 CORT 及 ACTH 表达增加,指示着免疫功能受到抑制,假设免疫抑制有利于炎症的发展,IL-10 是炎症的细胞和分子抑制的主要参与者^[29-30]。研究表明 IL-10 过表达引起机体免疫抑制导致 IL-6 促炎因子的释放增加。本研究揭示了人参总皂苷对 28 d 尾吊大鼠学习记忆损伤及焦虑样行为具有改善作用。其可能作用机制是人参总皂苷通过抑制 HPA 轴的激活,进而增强机体的免疫功能抑制炎症的发展,HPA 轴相关激素释放得到减弱从而使神经元的损伤减轻,从而改善了学习记忆损伤以及焦虑样行为。本研究对人参总皂苷治疗尾吊大鼠引起的学习记忆损伤及焦虑样行为的机制进行了初步探讨,为航天失重环境下致学习记忆损伤及情绪障碍的提供候选药物和作用靶点提供数据支撑。在模

拟失重模型下大鼠的HPA轴的整体状态及关键因子的变化,以及人参总皂苷针对炎症免疫的作用机制值得进一步研究。

[参考文献]

- [1] SMITH S M, ZWART S R, BLOCK G, et al. The nutritional status of astronauts is altered after long-term space flight aboard the international space station[J]. *J Nutr*, 2005, 135(3):437-443.
- [2] 张林, 谢鸣. 模拟失重和辐射对大鼠脾T细胞和胸腺的影响及中药太空变理汤的作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2009, 15(3):35-37.
- [3] TEMPLE M D, KOSIK K S, STEWARD O. Spatial learning and memory is preserved in rats after early development in a microgravity environment [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2002, 78(2):199-216.
- [4] SONNENFELD G. Animal models for the study of the effects of spaceflight on the immune system [J]. *Adv Space Res*, 2003, 32(8):1473-1476.
- [5] WRONSKI T J, MOREY-HOLTON E R. Skeletal response to simulated weightlessness: a comparison of suspension techniques [J]. *Aviat Space Environ Med*, 1987, 58(1):63-68.
- [6] KLOET C S D, VERMETTEN E, GEUZE E, et al. Assessment of HPA-axis function in posttraumatic stress disorder: pharmacological and non-pharmacological challenge tests, a review [J]. *J Psychiatr Res*, 2006, 40(6):550-567.
- [7] LOU L X, GENG B, DU J B, et al. Hydrogen sulphide-induced hypothermia attenuates stress-related ulceration in rats [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2008, 35(2):223-228.
- [8] 郑彩霞, 李喜平, 陈丽萍. 人参总皂苷联合淫羊藿苷对血管性痴呆大鼠学习记忆及海马神经细胞凋亡的影响研究[J]. *中国药师*, 2014, 9:1444-1447.
- [9] 张丹参, 张均田. 人参总皂苷对 β -淀粉样肽致小鼠记忆障碍的影响[J]. *中国药理学通报*, 2000, 16(4):422-425.
- [10] 王晓勇, 吕冬岭, 梁森. 人参果总皂苷联合舍曲林治疗高血压合并广泛性焦虑障碍[J]. *吉林中医药*, 2017, 37(4):360-362.
- [11] 万茜淋, 吴新民, 刘淑莹, 等. 人参皂苷参与调控神经系统功能的研究进展[J]. *中药药理与临床*, 2020, 36(6):230-235.
- [12] DANG H X, CHEN Y, LIU X M, et al. Antidepressant effects of ginseng total saponins in the forced swimming test and chronic mild stress models of depression [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2009, 33(8):1417-1424.
- [13] FENG L, YUE X F, CHEN Y X, et al. LC/MS-based metabolomics strategy to assess the amelioration effects of ginseng total saponins on memory deficiency induced by simulated microgravity [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 125:329-338.
- [14] ZHANG X, JIANG X, HUANG L, et al. Central cholinergic system mediates working memory deficit induced by anesthesia/surgery in adult mice [J]. *Brain Behav*, 2018, 8(5):e00957.
- [15] WANG L S, HANG M D, TAO X, et al. LC-MS/MS-based quantification of tryptophan metabolites and neurotransmitters in the serum and brain of mice [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2019, 1112:24-32.
- [16] SHANG X, XU B, LI Q, et al. Neural oscillations as a bridge between glutamatergic system and emotional behaviors in simulated microgravity-induced mice [J]. *Behav Brain Res*, 2017, 317:286-291.
- [17] MATSUMOTO M, TAKADA M. Distinct representations of cognitive and motivational signals in midbrain dopamine neurons [J]. *Neuron*, 2013, 79(5):1011-1024.
- [18] PUIG M V, ANTZOULATOS E G, MILLER E K. Prefrontal dopamine in associative learning and memory [J]. *Neuroscience*, 2014, 282:217-229.
- [19] MENESES A. Physiological, pathophysiological and therapeutic roles of 5-HT systems in learning and memory [J]. *Rev Neurosci*, 1998, 9(4):275-289.
- [20] 崔勇, 王艳杰, 赵丹玉, 等. 六味地黄丸对APP/PS1小鼠学习记忆能力及胆碱能系统的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(3):148-151.
- [21] HASSELMO M E. The role of acetylcholine in learning and memory [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2006, 16(6):710-715.
- [22] ZHANG X, XIE Y, XU W, et al. Effects of 5-Aza on p-Y1472 NR2B related to learning and memory in the mouse hippocampus [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109:701-707.
- [23] HEANEY C F, KINNEY J W. Role of GABAB receptors in learning and memory and neuropsychological disorders [J]. *Neuro Biobehav Rev*, 2016, 63:1-28.
- [24] 黄运芳, 毕欣宁, 郑伟, 等. 交泰丸对心肾不交型失眠大鼠中枢及外周神经递质的调控作用 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(9):2172-2179.
- [25] XU T, LU C, FENG L, et al. Liquid chromatography-mass spectrometry-based urinary metabolomics study

- on a rat model of simulated microgravity-induced depression [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 165: 31-40.
- [26] ZEMDEGS J, QUESSEVEUR G, JARRIAULT D, et al. High-fat diet-induced metabolic disorders impairs 5-HT function and anxiety-like behavior in mice [J]. *Br J Pharmacol*, 2016, 173(13):2095-2110.
- [27] MENESES A, LIY-SALMEROR G. Serotonin and emotion, learning and memory [J]. *Rev Neuro*, 2012, 23(5/6):543-553.
- [28] 张娜娜, 崔瑾, 张振巍. 燥湿和胃方对脾胃湿热证大鼠HPA轴、炎症因子及免疫功能的影响 [J]. *中国现代应用药学*, 2019, 36(13):1633-1638.
- [29] WORTHMANN H, TRYC A B, DIRKS M, et al. Lipopolysaccharide binding protein, interleukin-10, interleukin-6 and C-reactive protein blood levels in acute ischemic stroke patients with post-stroke infection [J]. *J Neuroinflammation*, 2015, doi: 10.1186/s12974-014-0231-2.
- [30] O'FARRELL A M. IL-10 inhibits macrophage activation and proliferation by distinct signaling mechanisms: evidence for Stat3-dependent and -independent pathways [J]. *EMBO J*, 1998, 17(4): 1006-1018.
- [责任编辑 周冰冰]

· 书 ·

胃癌根治术后全胃肠外营养支持对患者免疫功能的影响 ——评《癌症的免疫治疗:免疫抑制与肿瘤生长》(第2版)

胃癌是临床中较常见的一种恶性消化道肿瘤疾病,临床给予符合手术指征的胃癌患者首选治疗方式就是实施胃癌根治术。胃癌根治术使肿瘤细胞对患者机体所产生的消耗及侵蚀显著降低,肿瘤病灶对机体细胞免疫功能所产生的抑制作用得以解除。但是胃癌根治术会对患者机体造成很大创伤,加速患者机体的分解及代谢,使患者机体发生一系列并发症,如应激性高血糖、低蛋白血症及负氮平衡等,以致营养不良。而营养不良又会使机体内的体液及细胞免疫功能显著降低,从而使患者不断发生相关并发症。胃癌患者因自身病情原因,如饮食减少、易出血等,很患者并发营养不良现象。与此同时,肿瘤细胞还会释放部分相关免疫抑制细胞因子,使患者自身免疫力显著降低,增多抑制性细胞的水平,胃癌根治术对患者机体所造成的创伤会使患者预后及生活质量水平进一步降低。因此,在胃癌根治术后给予胃癌患者实施科学、合理的肠外营养支持干预,对患者术后康复、改善患者的身体营养情况都具有重要意义。本文将结合《癌症的免疫治疗:免疫抑制与肿瘤生长》(第2版)一书来探讨胃癌根治术后全胃肠外营养支持对患者免疫功能的影响。

《癌症的免疫治疗:免疫抑制与肿瘤生长》(第2版)可以协助临床医护人员对胃癌患者接受根治术后实施全肠外营养支持的意义有更进一步的认知及了解,该书是由(美)乔治·C·普伦德加斯特,(美)伊丽莎白·M·扎菲共同编著而成,鲁翔,苏东明翻译,2019年11月在东南大学出版社出版发行,其翻译背景也是在癌症的免疫治疗现状下,对临床目前的现实需求进行叙述。《癌症的免疫治疗:免疫抑制与肿瘤生长》(第2版)科学、全面的将癌症临床新兴领域:免疫化学疗法及免疫学的飞速发展反映出来。该书共包括两大部分内容,在这两大部分内容中又细分成三个小部分。书中针对癌症免疫质量的相关基本知识,为临床肿瘤科医护人员提供更多的知识储备,利于从事肿瘤治疗人员进行肿瘤治疗方面的学习,便于日后实际临床工作中更规范、专业的进行肿瘤免疫治疗。

胃癌根治术后全肠外营养(TPN)支持内容:在胃癌根治术的24h之内(首天),通过患者的外周静脉来给予患者输注肠外营养混和液,同时依据不同胃癌患者的应激状态及营养状态,为患者提供充足的微量元素、维生素、蛋白质及能量。TPN制剂的主要组成内容:相关微量元素(安达美、维他利匹特、水乐维他)、维生素、电解质、胰岛素、葡萄糖、乐凡命(复方氨基酸注射液(18AA II))、丙氨酰谷氨酰胺、力能MCT(中/长链脂肪乳注射液(C6-24))。能量通过脂糖双能源的形式来进行供给,脂糖之间的比例4:6。热氮比120:1,规格3L/袋。给予患者配置TPN制剂时,全部都在专业的配液室中完成,每天进行营养液的配置之前,使用紫外线灯进行30min的照射,操作完成后进行打扫及通风,配置营养制剂的操作台面使用75%乙醇进行彻底擦拭,并在层流空气操作台中完成营养制剂的相关操作,风速0.5m/s。

经周围静脉中心静脉置管相比中心静脉置管包括以下几方面的优势:第一,置管操作方法更加简单;第二,置管时间持续更长;第三,插管舒适性更高,且更容易进行固定,无需对患者的上臂正常运动进行严格限制。

胃癌患者通常会合并出现相关营养不良的表现,在国际临床当中,将跟营养不良之间存在关系的免疫功能障碍称之为营养不良获得性免疫缺陷综合征(NAIDS)。胃癌患者自身会合并出现免疫抑制现象,会使得患者机体抗肿瘤效应显著降低。免疫功能虽然不能对肿瘤病灶攻击机体的能力产生直接性反映,但能够对胃癌患者的预后产生较大影响。胃癌根治术后同样也会导致患者术后发生营养不良,降低患者机体免疫抵抗能力,从而降低胃癌患者对临床后续支持治疗的依从性及耐受性,还会显著增加患者发生并发症的风险。即便营养支持不能直接影响胃癌患者的死亡率,通过营养支持能够使患者的营养情况得到有效改善,对患者免疫功能进行调节,改善其代谢情况,提高免疫功能,提高胃癌患者的耐受性及生活质量。

基金项目:2019年度皖南医学院校级中青年科研基金(WK2019F31)

(作者王超,皖南医学院弋矶山医院,安徽 芜湖 241000)