

· 温阳解郁方治疗抑郁症机制研究专题 ·

〔编者按〕 该课题组自 2006 年提出以温阳解郁法论治抑郁症，以“阳虚肝郁”为基本病机，拟定了二仙汤与逍遥散合方（温阳解郁方）治疗抑郁症，选择母婴分离小鼠为基础模型，进行抑郁症的药效、作用机制及病机规律研究，发现该方可有效调节社会交互行为、下丘脑-垂体-肾上腺（HPA）轴功能及基因组 DNA 甲基化。母婴分离作为早年不良应激可增加抑郁症易感性，在此基础上，以慢性束缚应激作为“二次打击”诱导抑郁症模型（母婴分离联合束缚应激，MS+RS），可持续激活 HPA 轴，造成阳气过度消耗，导致肝气激发精神活动功能下降，出现典型抑郁行为。通过宏观行为学表现观察，结合 5-HT 神经系统、HPA 轴、脑源性神经营养因子（BDNF）信号通路相关指标的变化，以及温阳方二仙汤、解郁方逍遥散和温阳解郁方的方药反证，认为二次打击致抑郁小鼠的证候属性可能是阳虚肝郁型。课题组还发现温阳解郁方缓解抑郁样行为与改善 MS+RS 小鼠的神经可塑性有关，且疗效优于单一的温阳方和解郁方，因此通过 BDNF/蛋白激酶 B（Akt）/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mTOR）信号通路，发现温阳解郁方能改善 MS+RS 小鼠神经元凋亡情况，并保护其突触结构和功能。课题组前期研究发现神经炎症反应是应激诱导抑郁症的重要媒介，对神经发生、树突及突触修剪和神经细胞命运均有重要影响，因此选择 NOD 样受体蛋白 3（NLRP3）炎症通路，发现温阳解郁方可减轻小胶质细胞诱导的神经炎症，增加海马神经递质含量，改善突触可塑性。

该专题旨在通过温阳解郁方治疗 MS+RS 抑郁症模型的药理机制解析，对近年来课题组温阳解郁方治疗抑郁症的重要研究结果和发现进行介绍，并以药理研究的角度，对抗抑郁用药规律进行了思考，期冀为临床诊疗抑郁症提供借鉴。

二次打击致抑郁小鼠的证候属性及其机制

巩子汉¹，王英²，杨婧雯²，梁文青³，孟丹华²，余楷杰²，梁媛²，岳广欣^{2*}

（1. 宁夏回族自治区中医医院暨中医研究院，银川 750021；

2. 中国中医科学院 中医基础理论研究所，北京 100700；

3. 河南中医药大学，郑州 450000）

〔摘要〕 目的：探讨母婴分离（MS）联合慢性束缚应激（RS）致抑郁小鼠的证候属性及其机制研究。方法：仔鼠出生第 0 天（PD0）随机分为空白组和造模组。PD21 后剔除雌鼠，随机分为模型组、温阳组、解郁组、温阳解郁组、氟西汀组，采用 MS+RS 建立二次打击模型，每组 15 只。采用糖水、悬尾及旷场实验评估小鼠焦虑抑郁样行为；酶联免疫吸附测定法（ELISA）检测各组小鼠血浆促肾上腺皮质激素（ACTH）及皮质酮（CORT）含量；高效液相-电化学法（HPLC-ECD）检测各组小鼠海马单胺类神经递质含量；实时荧光定量聚合酶链式反应（Real-time PCR）检测各组小鼠海马 5-羟色胺（5-HT）系统、下丘脑-垂体-肾上腺（HPA）轴及脑源性神经营养因子（BDNF）信号通路基因表达水平；免疫组化法（IHC）检测各组小鼠海马 5-HT 系统及 HPA 轴蛋白表达水平；全自动蛋白表达分析系统（Simple Wes）检测各组小鼠海马 BDNF 等蛋白表达水平。结果：与空白组比较，模型组小鼠出现抑郁样行为，温阳解郁方及氟西汀可显著缓解。与空白组比较，模型组血浆 CORT 及 ACTH 含量显著升高（ $r<0.01$ ）；与模型组比较，温阳解郁方及氟西汀组小鼠血浆 CORT 及 ACTH 含量明显降低（ $r<0.05$ ， $r<0.01$ ）。与空白组比较，单胺类神经递质表达方面，模型组海马神经递质表达水平明显降低（ $r<0.05$ ， $r<0.01$ ）；与模型组比较，温阳解郁方及氟西汀组小鼠海马神经递质表达水平明显升高（ $r<0.05$ ， $r<0.01$ ）。与空白组比较，模型组小鼠 5-HT 能神经受到抑制、HPA 轴异常激活，温阳解郁方及氟西汀可调控 5-HT 能神经及 HPA 轴的异常状态。与空白组比较，海马组织 BDNF、TrkB mRNA 及蛋白表达明显降低（ $r<0.05$ ， $r<0.01$ ）；与模型组比较，温阳、解郁、温阳解郁方及氟西汀组小鼠海马 BDNF、TrkB mRNA 及蛋白表达水平明显升高（ $r<0.05$ ， $r<0.01$ ）。结论：二次打击致抑郁小鼠的证候属性可能是阳虚肝郁型，温阳解郁方可能通过调节 5-HT 神经系统及 HPA 轴介导的 BDNF 信号通路，增加海马神经递质含量，进而缓解模型小鼠抑郁样行为。

〔关键词〕 二次打击；抑郁样行为；5-羟色胺（5-HT）神经系统；下丘脑-垂体-肾上腺（HPA）轴；脑源性神经营养因子（BDNF）信号通路；阳虚肝郁

〔中图分类号〕 R2-0；R33；R289；R742 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903（2024）06-0029-10

〔收稿日期〕 2023-10-31

〔基金项目〕 国家自然科学基金面上项目 (82174251 , 81573846);北京市自然科学基金面上项目 (7232300);中国中医科学院科技创新工程项目 (CI2021A00607);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (YZ-202107 , YZ-202148 , YZX-202242)

〔第一作者〕 巩子汉, 博士, 副研究员, 从事情志病的中医药防治基础及方证相关研究, E-mail : 1217253647@qq. com

〔通信作者〕 * 岳广欣, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事情志病的中医药防治基础及方证相关研究, E-mail : yuegx73@hotmail. com

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20232244

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20240129.1606.003>

[网络出版日期] 2024-01-30 11:57:49

Syndromes and Mechanisms of Depression Induced by Second Hit in Mice

GONG Zihan¹, WANG Ying², YANG Jingwen², LIANG Wenqing³, MENG Danhua², SHE Kaijie²,

LIANG Yuan², YUE Guangxin^{2*}

(1. Ningxia Chinese Medicine Research Center, Yinchuan 750021, China; 2. Institute of Basic Theory for Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3. Traditional Chinese Medicine (TCM) School, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] Objective : To explore the syndromes and mechanisms of depression induced by maternal separation (MS) combined with chronic restraint stress (RS) in mice. **Method :** On postnatal day 0 (PD0) , the offspring mice were randomized into a blank group (NC) and a modeling group. The mouse model of depression was established by MS+RS for 21 days. After removal of female mice on PD21 , the modeled mice were randomized into model , Wenyang , Jieyu , Wenyang Jieyu , and fluoxetine groups , with 15 mice in each group. The sucrose preference , tail suspension , and open field tests were carried out to evaluate the anxiety and depression-like behavior in mice. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to measure the adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and corticosterone (CORT) levels in mouse plasma. High performance liquid chromatography-electrochemical detector was used to determine the content of monoamine neurotransmitters in the hippocampus. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction was employed to determine the mRNA levels of genes in the 5-hydroxytryptamine (5-HT) system , hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis , and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) signaling pathway in the hippocampus. Immunohistochemistry was employed to determine the expression levels of proteins in the 5-HT system and HPA axis in the hippocampus. The Simple Western system was used to determine the protein levels of BDNF and tyrosine kinase receptor B (TrkB) in the hippocampus. **Result :** Compared with the NC group , the model group exhibited depression-like behavior , which was significantly relieved by Wenyang Jieyu prescription and fluoxetine. Compared with the NC group , the model group showed elevated levels of CORT and ACTH in the plasma ($P<0.01$) , which , however , were lowered by Wenyang Jieyu prescription and fluoxetine ($P<0.05$, $P<0.01$) . Compared with the NC group , the model group showed inhibited expression of neurotransmitters in the hippocampus ($P<0.05$, $P<0.01$) , while Wenyang Jieyu prescription and fluoxetine restored the expression of neurotransmitters ($P<0.05$, $P<0.01$) . Compared with NC group , the model group showed inhibition of the 5-HTergic nerve and abnormal activation of the HPA axis , and Wenyang Jieyu prescription and fluoxetine regulated the abnormal state of the 5-HTergic nerve and HPA axis. Compared with NC group , the modeling down-regulated the mRNA and protein levels of BDNF and TrkB in the hippocampus ($P<0.05$, $P<0.01$) , which , however , were recovered in Wenyang , Jieyu , Wenyang Jieyu , and fluoxetine groups ($P<0.05$, $P<0.01$) . **Conclusion :** The mouse model of depression induced by MS+RS may present the syndrome of Yang deficiency and liver depression. Wenyang Jieyu prescription may increase the content of hippocampal neurotransmitters by regulating the 5-HT system and the BDNF signaling pathway mediated by the HPA axis , thereby alleviating depression-like behavior in mice .

[**Keywords**] second hit ; depression-like behavior ; 5-hydroxytryptamine (5-HT) system ; hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis ; brain-derived neurotrophic factor (BDNF) signaling pathway ; Yang deficiency and liver depression

抑郁症的发病率呈逐年上升趋势,据世界卫生组织(WHO)统计,全球约有3.5亿抑郁症患者^[1],尤其在全球遭受新冠肺炎疫情肆虐后,很大比例的个体在后疫情时代呈现出焦虑/抑郁样状态^[2-4],给全球健康及经济发展带来严重危害。早年不良经历是抑郁症的重要危险因素,可致精神和躯体疾病的易感性,并引起机体表观遗传学改变,其影响可持续至成年,甚至遗传至后代。母婴分离作为早年不良经历的一种形式,可引起下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴的高反应性,显著影响大脑的发育和行为模式,已成为研究抑郁症发病机制的重要模型。

课题组前期研究发现,母婴分离可造成小鼠抑郁易感性,表现为社会行为异常,HPA轴功能、神经营养因子信号通路多基因甲基化异常,并经宏观表征观察、方证反证确定其基础证候属性为阳虚肝郁。目前临床对于抑郁症阳虚肝郁证候属性的认识得到广泛认可,但在疾病发展过程中,阳虚肝郁证形成的机制及生物学内涵是什么,将直接影响临床诊疗的精确性。因此本实验通过研究温阳、解郁、温阳解郁方对母婴分离联合束缚应激模型小鼠糖水偏好、悬尾及旷场实验的影响,运用现代生物学指标及“方证相关”理论进行证候评价,以确定母婴分离联合束缚应激致抑郁样小鼠的证候属性和生物学机制。

1 材料

1.1 动物 SPF级健康C57BL/6J小鼠,2月龄,体质量(20±2)g,雌性20只,雄性5只,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号SCXK(京)2021-0006,饲养于中国中医科学院中医基础理论研究所清洁级动物房,许可证号SYXK(京)2021-0017。所有动物饲养、实验操作均严格按照中国中医科学院中医基础理论研究所要求进行。动物实验伦理经中国中医科学院中医基础理论研究所医学伦理委员会批准,批准文号IBTCMCACMS-21-2105-05。

1.2 药物及试剂 北柴胡、当归、白芍、白术、茯苓、薄荷、炙甘草、仙茅、炙淫羊藿、制巴戟天、黄柏、知母均购自北京同仁堂中药有限公司,货号分别为211009009、210811011、210826004、210801002、210716002、210825004、210908006、210227005、210316003、210414006、210309004、210423003,由中国中医科学院中医基础理论研究所岳广欣研究员鉴定;盐酸氟西汀胶囊(礼来苏州制药有限公司,货号20160029);促肾上腺皮质激素(ACTH)、皮质

酮(CORT)试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,货号分别为ml001895、ml037564);去甲肾上腺素(NE)、肾上腺素(E)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)对照品[Sigma(上海)贸易有限公司,货号分别为A9512、I5627、H8502、H9523];糖皮质激素受体(GR)抗体(美国Abcam公司,货号ab183127);促肾上腺皮质激素释放激素受体1(CRHR1)、5-HT_{1A}R、5-HT_{2A}R抗体[赛默飞世尔科技(中国)有限公司,货号分别为PAG-27121、PA5-95035、MA5-32717];5-HT_{2C}R抗体(美国MerK公司,货号MABNI595);TRIzol(美国Ambion公司,货号152104);GoScript™ Reverse Transcription System、GoTaq® qPCR and RT-qPCR Systems(普洛麦格北京生物技术有限公司,货号分别为A5001、A6002);检测模块、5×荧光混合物、二抗[普诺森生物科技(上海)有限公司,货号分别为DM-001、SM-W00412(230 kDa)、042-206]。

逍遥散和二仙汤分别出自《太平惠民和剂局方》、上海中医学院《中医方剂临床手册》,其组成如下,逍遥散:柴胡15g、当归15g、白芍15g、白术15g、茯苓15g、生姜5g、薄荷5g、炙甘草7.5g;二仙汤:仙茅9g、淫羊藿9g、巴戟天9g、当归9g、知母4.5g、黄柏4.5g;温阳解郁方为二方合方,其中当归为15g。于上述药物中首次加入10倍量水浸泡30min,武火煮开后文火煎煮1.5h取滤液,药渣中再加入8倍量水,操作同上。将2次煎煮药汁合并,水浴浓缩并干燥,制成药粉于4℃冰箱中备用。

1.3 仪器 2K15型超速低温离心机(德国Sigma公司),Eclipse E100型光学显微镜(日本尼康公司),CFX96™型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(美国Bio-Rad公司),DECADE II型电化学检测器(荷兰Antec公司),AperioVersa 8型全自动明场荧光全切片成像分析系统(德国Leica公司)。

2 方法

2.1 动物模型制备与分组^[5-6] 母婴分离动物模型(MS):将C57BL/6J小鼠50只,雌、雄小鼠按4:1数量进行混居,孕鼠待产前单笼饲养,分娩后每窝仔鼠保持在4~7只,以小鼠出生日记为PD0,于P5进行母婴分离动物模型制备:先将母鼠移至新笼,再将仔鼠移至分离盒后置于孵育箱(32℃),8h·d⁻¹,共10d(PD5~PD14)。后继续饲养至PD21离乳,选取雄性小鼠纳入后续实验。束缚应激动物模型(RS):取90日龄(P90)雄性小鼠,使用预处理的

50 mL 离心管作为束缚装置对小鼠进行束缚应激，3 h/d。“二次打击”动物模型 (MS+RS):将经母婴分离的雄性小鼠饲养至 90 日龄，使用预处理的 50 mL 离心管作为束缚装置对小鼠进行束缚应激，3 h·d⁻¹。

未进行母婴分离的小鼠作为空白组，将母婴分离小鼠随机分为母婴分离组、模型组、温阳组、解郁组、温阳解郁方组、氟西汀组，共 7 组，每组 15 只，温阳、解郁、温阳解郁方及氟西汀组小鼠分别给予二仙汤、逍遥散、温阳解郁方及氟西汀的药混饲料干预，90 日龄时给与 21 d 的束缚应激。

2.2 给药 温阳、解郁及温阳解郁方的出膏率分别为 26.9%、25.4% 及 27.3%，干燥、打粉备用。按成年小鼠进食量 (5 g·d⁻¹)，将饲料打粉，按体型系数计算小鼠用药量，将药粉按温阳、解郁、温阳解郁方及氟西汀 (5.85、12.03、16.71、2.6×10⁻³ g·kg⁻¹) 的用药剂量混入饲料粉末中，烘干、压条，制备药混饲料。

2.3 动物取材 血浆取样：禁食不禁水 12 h 后，以 0.4% 戊巴比妥钠 (10 mL·kg⁻¹) 腹腔注射麻醉小鼠，眼球取血存放于乙二胺四乙酸 (EDTA) 抗凝管，静置 2 h，3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min (离心半径 16 cm)，取上清于 -80 ℃ 冰箱保存备用。全脑取样：将取血后的小鼠仰卧置于冰板上，暴露心脏，生理盐水灌注，需做免疫组化小鼠继续采用 4% 多聚甲醛灌注，取全脑备用。

2.4 指标检测

2.4.1 糖水偏好实验 将各组小鼠预先暴露于 2 瓶 2% 蔗糖水环境适应饮用 24 h 后，更换为 1 瓶 2% 蔗糖水和 1 瓶纯水饮，12 h 后换位。实验开始各组小鼠禁水 12 h，给予小鼠 2% 蔗糖水、纯水各 1 瓶，并记录质量，12 h 后称量剩余蔗糖水、纯水的质量，计算蔗糖水消耗比例^[7]。糖水偏好占比 = $V1_{糖水消耗量} / (V1_{糖水消耗量} + V2_{纯水消耗量}) \times 100\%$ 。

2.4.2 悬尾实验 距尾尖 1 cm 处固定小鼠，使其头部向下悬挂并距离地面 60 cm，计时 6 min，在后 4 min 记录小鼠的不动时间。使用 XR-XQ202 型 SuperFst 悬尾实验分析软件记录小鼠不动时间。

2.4.3 旷场实验 将小鼠放入旷场箱 (40 cm×40 cm×35 cm) 中心点，设中心点附近 20 cm×20 cm 区域为中央区，记录前 5 min 小鼠运动总长度，中央区进入次数，中央区停留时间。75% 乙醇清洁旷场，然后进行下一批小鼠旷场实验。采用 TopScan Version 2.0 软件进行行为学数据分析^[8]。

2.4.4 ELISA 检测 各组小鼠血浆 ACTH 及 CORT 含量 将试剂盒和待测样品平衡至室温，制备对照品

和洗涤液，按要求加样、温育、洗涤、温育、洗涤、显色、终止。酶标仪内测定 450 nm 波长时各孔吸光度 A，并绘制标准曲线，计算样品浓度。

2.4.5 高效液相-电化学法 (HPLC-ECD) 检测 各组小鼠脑内单胺类神经递质含量 参照小鼠脑立体定位图谱^[9]，冰上分离海马组织，采用 HPLC-ECD 法检测 NE、E、DA 及 5-HT 的含量。

2.4.6 Real-time PCR 检测 小鼠海马组织 5-HT 能神经及 HPA 轴相关 mRNA 表达水平 称取海马组织，TRIzol 法提取总 RNA。PCR 扩增 ACTH、促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH)、单胺氧化酶 (MAOA)、5-羟色胺转运体 (SERT)、5-HT_{1A}R、GR 基因片段 (引物由上海生工有限公司设计合成)。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 作为内参，反应条件：95 ℃ 预变性 100 s，95 ℃ 变性 15 s，60 ℃ 退火 55 s，循环 42 次，终末延伸 65 ℃ 5 s，95 ℃。用 2^{-ΔΔCt} 法计算各 mRNA 相对表达量，引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物	序列 (5'-3')	长度 /bp
GAPDH	上游 GGTGTCTCTCTGCGACTTCA	183
	下游 TGGTCCAGGGTTTCTTACTCC	
ACTH	上游 CAGCAGATGACATCATTGACTG	103
	下游 GCATGGAAGATGGTGATGTAAC	
CRH	上游 CAGCCCTTGAATTTCTTGCGAG	106
	下游 GACTTCTGTTGAGATTCCCCAG	
MAOA	上游 CAAGAGCCTGAGTCCAAGGATGTTT	106
	下游 ACAAGCAGAGAAGAGCCACAGAAG	
SERT	上游 GAACAGGAGAAACAGAGGGCTGATG	127
	下游 AATGTTGCCAACTATCTCATCG	
5-HT _{1A} R	上游 GTTCACGTAGTCTATAGGGTCG	234
	下游 ACTCCAAAGAATCCTTAGCTCC	
GR	上游 TATACAAGTCCATCACGCTTCC	90
	下游 CCCATGAAAGAAGTAAACGTCC	

2.4.7 免疫组化法检测 小鼠海马组织 5-HT 系统及 HPA 轴蛋白表达 取小鼠全脑组织，切片，进行抗原抗体反应后显色，GR、5-HT_{1A}R、5-HT_{2A}R、CRHR₁ 一抗稀释比例 1:1 000，5-HT_{2C}R 稀释比例 1:200。将切片裱于载玻片上，干燥、脱水、透明、封片，采用全自动明场荧光全切片成像分析系统拍照，Image

1.8.0 图像分析系统进行分析，根据小鼠脑立体定位图谱确定核团位置^[9]。

2.4.8 全自动蛋白表达分析系统 (Simple Wes) 法
检测各组小鼠相关脑区 BDNF 及 TrkB 蛋白表达水平 称取海马组织 10 mg，加入裂解液 500 μ L 提取

蛋白。BCA 蛋白定量法测定样品蛋白浓度，按照 Simple Wes 上机要求，依次配制并在上样板上加入缓冲液、抗体稀释液、链霉亲和素及发光液等。其中一抗稀释比例为 GAPDH (1:8 000)、BDNF (1:200)、TrkB (1:20 000)，二抗 (1:5 000)；取出毛细管放入 Wes，运行程序。采用 Compass for SW 软件分析得到条带灰度值。

2.5 统计学处理 采用 SPSS 24.0 软件对实验数据进行分析，所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。对数据进行正态性检验，符合后进行单因素方差分析 (One-way ANOVA) 分析多组间差异，方差齐时采用最小显著性差异法 (LSD) 检验，方差不齐时采用 Welch 检验， $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

表 2 温阳、解郁及温阳解郁方对各组小鼠糖水、悬尾及旷场实验的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

Table 2 Effect of Wenyang, Jieyu and Wenyang Jieyu prescription on sugar water, tail suspension, and open field experiments of mice in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	糖水消耗占比/%	悬尾不动时间/s	旷场实验		
				运动距离/m	穿越中央次数/次	中央停留时间/s
空白组		0.68±0.08	126.07±14.95	1.42±0.22	25.87±10.53	30.43±12.05
母婴分离组		0.70±0.08	147.53±13.92 ¹⁾	1.57±0.33	34.87±9.95	28.83±7.09
模型组		0.45±0.10 ^{2, 4)}	166.80±15.26 ^{2, 4)}	1.34±0.18 ³⁾	20.87±4.26 ⁴⁾	20.07±5.38 ³⁾
温阳组	5.85	0.55±0.11 ⁷⁾	138.93±33.81	1.47±0.28	31.27±10.96	28.08±12.72
解郁组	12.03	0.52±0.09 ⁷⁾	156.67±11.55 ⁸⁾	1.39±0.23	22.47±11.88	23.49±5.25
温阳解郁组	16.71	0.63±0.16 ⁶⁾	126.33±20.52 ⁶⁾	1.48±0.38	31.67±10.18 ⁶⁾	31.13±11.78 ⁶⁾
氟西汀组	2.6×10^{-3}	0.67±0.13 ⁶⁾	134.27±16.05 ⁶⁾	1.46±0.19	27.87±6.60	29.76±9.18 ⁵⁾

注：与空白组比较¹⁾ $P<0.05$ ，²⁾ $P<0.01$ ；与母婴分离组比较³⁾ $P<0.05$ ，⁴⁾ $P<0.01$ ；与模型组比较⁵⁾ $P<0.05$ ，⁶⁾ $P<0.01$ ；与温阳解郁组比较⁷⁾ $P<0.05$ ，⁸⁾ $P<0.01$

3.2 对各组小鼠血浆 ACTH 及 CORT 含量的影响

与空白组、及母婴分离组比较，模型组小鼠血浆 CORT 及 ACTH 含量显著升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，温阳解郁及氟西汀组小鼠血浆 CORT 及 ACTH 含量明显降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。见表 3。

3.3 对各组小鼠脑内单胺类神经递质含量的影响

3 结果

3.1 对小鼠糖水、悬尾及旷场实验的影响 与空白组比较，母婴分离组小鼠悬尾不动时间明显升高 ($P<0.05$)，模型组小鼠糖水消耗占比显著降低 ($P<0.01$)，悬尾不动时间显著升高 ($P<0.01$)；与母婴分离组比较，模型组小鼠糖水消耗占比显著降低 ($P<0.01$)，悬尾不动时间显著升高 ($P<0.01$)，旷场运动距离、穿越中央区域次数及中央区域停留时间明显降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较，温阳解郁方及氟西汀组小鼠糖水消耗占比显著升高 ($P<0.01$)，悬尾不动时间显著降低 ($P<0.01$)，温阳解郁方组小鼠穿越中央区域次数、中央区域停留时间显著升高 ($P<0.01$)。见表 2。

与空白组及母婴分离组比较，模型组小鼠海马 NE、E、DA、5-HT 含量显著降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，温阳、解郁、温阳解郁及氟西汀组海马 NE、E、DA、5-HT 含量明显升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。见表 4。

3.4 对各组小鼠海马 5-HT 能神经关键 mRNA 及蛋白表达水平的影响

与空白组及母婴分离组比较，模型组小鼠海马 5-HT、SERT 及 MAOA mRNA 表达显著升高 ($P<0.01$) ;与模型组比较，温阳、温阳解郁组及氟西汀组 5-HT、SERT 及 MAOA mRNA 表达明显降低 ($P<0.05$, $P<0.01$) ,解郁组小鼠海马 MAOA mRNA 表达显著降低 ($P<0.01$) 。见表 5。

表 3 温阳、解郁及温阳解郁方对各组小鼠血浆 CORT 及 ACTH含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 3 Effect of Wenyang, Jieyu and Wenyang Jieyu prescription on plasma CORT and ACTH content in mice of each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	CORT/μg·L ⁻¹	ACTH/ng·L ⁻¹
空白组		103.59±4.61	100.28± 13.59
母婴分离组		112.24±9.56	119.64± 18.14
模型组		140.19± 10.77 ^{1, 2)}	161.32± 18.34 ^{1, 2)}
温阳组	5.85	129.32± 13.38	141.32± 12.05 ⁵⁾
解郁组	12.03	122.01±9.76	145.11±20.02
温阳解郁组	16.71	117.30±7.42 ³⁾	137.04±23.08 ³⁾
氟西汀组	2.6×10 ⁻³	128.54± 17.48 ³⁾	126.12± 17.92 ⁴⁾

注：与空白组比较¹⁾ $P<0.01$ ；与母婴分离组比较²⁾ $P<0.01$ ；与模型组比较³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$ ；与温阳解郁组比较⁵⁾ $P<0.05$, ⁶⁾ $P<0.01$ (表 4-表 7 同)

与空白组及母婴分离组比较，模型组小鼠海马 CA3 区 5-HT_{1A}R、5-HT_{2A}R 及 5-HT_{2C}R 蛋白表达明显

表 4 温阳、解郁及温阳解郁方对各组小鼠海马 NE、E、DA、5-HT 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 4 Effect of Wenyang, Jieyu and Wenyang Jieyu prescription in NE, E, DA, and 5-HT content in hippocampus of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=8$)

ng · g⁻¹

组别	剂量/g · kg ⁻¹	NE	E	DA	5-HT
空白组		2 063.89±175.44	866.19±80.84	1 259.37±135.37	481.81±31.14
母婴分离组		2 161.42±204.50	1 048.59±98.34	1 174.53±115.18	522.06±29.94
模型组		1 537.14±220.15 ^{1, 2)}	447.77±40.34 ^{1, 2)}	785.74±95.61 ^{1, 2)}	352.29±54.11 ^{1, 2)}
温阳组	5.85	2 018.75±174.56 ⁴⁾	714.59±31.52 ^{4, 6)}	1 202.32±94.67 ^{4, 6)}	462.93±46.15 ^{4, 6)}
解郁组	12.03	1 750.21±223.04 ^{3, 6)}	609.15±35.32 ^{4, 6)}	1 107.63±141.75 ^{4, 6)}	400.38±44.77 ^{3, 6)}
温阳解郁组	16.71	2 109.15±179.35 ⁴⁾	929.33±63.25 ⁴⁾	1 354.38±60.61 ⁴⁾	522.52±36.59 ⁴⁾
氟西汀组	2.6 × 10 ⁻³	2 087.60±179.35 ⁴⁾	1 052.43±63.25 ⁴⁾	1 156.77±60.61 ⁴⁾	535.47±36.59 ⁴⁾

表 5 温阳、解郁及温阳解郁方对各组小鼠海马 5-HT、SERT 及 MAOA mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 5 Effect of Wenyang, Jieyu and Wenyang Jieyu prescription on 5-HT, SERT, and MAOA mRNA expression in hippocampus of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/g · kg ⁻¹	5-HT	SERT	MAOA
空白组		1.00±0.10	1.00±0.05	1.00±0.07
母婴分离组		0.94±0.10	0.96±0.10	1.13±0.11
模型组		1.38±0.15 ^{1, 2)}	1.48±0.12 ^{1, 2)}	4.62±0.37 ^{1, 2)}
温阳组	5.85	1.24±0.08 ³⁾	1.27±0.13 ³⁾	2.19±0.13 ^{4, 5)}
解郁组	12.03	1.33±0.15	1.38±0.17 ⁶⁾	3.26±0.09 ^{4, 6)}
温阳解郁组	16.71	1.21±0.07 ³⁾	1.17±0.05 ⁴⁾	2.51±0.08 ⁴⁾
氟西汀组	2.6 × 10 ⁻³	1.12±0.09 ⁴⁾	1.10±0.08 ⁴⁾	2.42±0.24 ⁴⁾

增多；与模型组比较，温阳组海马 CA3 区 5-HT_{2A}R 及 5-HT_{2C}R 蛋白表达明显减少，温阳解郁组及氟西汀

组小鼠海马 CA3 区 5-HT_{1A}R、5-HT_{2A}R 及 5-HT_{2C}R 蛋白表达明显减少。见图 1-图 3。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/078025101026006062>