

# 四逆散对抑郁症大鼠的治疗效果及机制探究\*

方足兵<sup>1</sup>, 余雪丹<sup>1</sup>, 胡红涛<sup>2</sup>, 董汉宁<sup>1</sup>

(1.武汉市汉口医院心理康复科, 武汉 430012; 2.深圳康宁医院心理康复科, 深圳 518020)

**摘要:** [目的] 探究四逆散对抑郁大鼠行为、中枢神经递质及 ERK1/2-CREB-BDNF 信号通路的影响。 [方法] 实验大鼠随机分为正常组、模型组、阳性对照组、四逆散低剂量组、四逆散中剂量组、四逆散高剂量组, 每组 20 只。给药结束后, 进行糖水消耗实验、旷场实验; Elisa 试剂盒检测大鼠海马组织中多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NE)、5-羟色胺(5-HT); 放免试剂盒检测血清中神经肽 Y(NPY)、P 物质(SP)、生长抑素(SS)含量; Western blot 检测皮质中 ERK1/2-CREB-BDNF 信号通路关键蛋白表达情况。 [结果] 与正常组相比, 模型组大鼠糖水偏爱度和旷场运动评分显著降低( $P < 0.001$ ), 海马组织中 DA、NE、5-HT 含量显著下调( $P < 0.001$ ), 血清中 NPY、SS 显著下调( $P < 0.001$ ), SP 显著上调( $P < 0.001$ ), 皮质中 ERK1/2、CREB 蛋白磷酸化水平及 BDNF 蛋白表达显著下调( $P < 0.001$ ); 与模型组相比, 四逆散给药组大鼠糖水偏爱度和旷场运动评分显著上调( $P < 0.001$ ), 海马组织中 DA、NE、5-HT 含量显著上调( $P < 0.001$ ), 血清中 NPY、SS 显著上调( $P < 0.001$ ), SP 显著下调( $P < 0.001$ ), 皮质中 ERK1/2、CREB 蛋白磷酸化水平及 BDNF 蛋白表达显著增加( $P < 0.01$ )。 [结论] 四逆散可上调海马中神经递质含量; 调节血清神经肽水平; 促进 ERK1/2-CREB-BDNF 信号通路磷酸化激活, 发挥改善大鼠抑郁样行为的功能。

**关键词:** 抑郁症; 四逆散; 神经递质; ERK1/2-CREB-BDNF 信号通路

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-9043(2023)02-0206-06

抑郁症在全球范围内广泛存在且发病率逐年增加, 临床症状主要表现为对各种事物失去兴趣、缺乏快乐感、心情抑郁等, 同时伴随入睡困难、缺乏食欲、体质量下降、性欲降低等, 被世界卫生组织定义为最易引起患者伤残的十大疾病之一<sup>[1-2]</sup>。抑郁症具体的发病机制目前尚无明确定义, 临床上认为抑郁症可能与遗传、神经内分泌紊乱、神经递质水平、免疫功能紊乱等多种因素相关<sup>[3-4]</sup>。近几年抑郁症患者相关数据分析显示, 除遗传因素外, 长期慢性应激也属于诱发抑郁症的重要原因<sup>[5]</sup>。临床上治疗抑郁症常用药物有选择性 5-羟色胺(5-HT)的再摄取

抑制剂(氟西汀、舍曲林、帕罗西汀等)、单胺环氧化酶抑制剂、去甲肾上腺素再摄取抑制剂(NE)、三环和四环抗抑郁药(氯米帕明、米帕明、多赛平等), 对于上述药物治疗效果差和严重的抑郁症患者常采用电抽搐治疗<sup>[6-7]</sup>。西医治疗抑郁症虽应用广泛, 但其疗效有限且伴随着药物依赖性和不良反应, 在一定程度上限制了抑郁症患者药物的使用<sup>[8]</sup>。因此, 开发抗抑郁效果好且不良反应小的抑郁症治疗药意义重大。四逆散一方出自张仲景的《伤寒论》, 具有调和肝脾、疏肝解郁的作用, 被用于肝气郁结型抑郁症的治疗, 大量临床数据证实四逆散能显著改善患者抑郁症症状。基于此本研究拟计划通过建立大鼠抑郁症模型, 探究四逆散改善大鼠抑郁症的作用机制, 为四逆散临床广泛应用提供更多基础数据。

## 1 实验材料

**1.1 实验动物** 150 只 7 周龄 SPF 级 SD 雄性大鼠, 体质量为 250~270 g, 购买于三峡大学实验动物中心, 实验动物许可证号: SYXK(鄂)2017-0061。动

\* 基金项目: 武汉市卫生和计划生育委员会科研项目(WX18D33)。

作者简介: 方足兵(1976-), 男, 主治医师, 主要研究方向为心理康复。

通讯作者: 董汉宁, E-mail: 780541690@qq.com。

引用格式: 方足兵, 余雪丹, 胡红涛, 等. 四逆散对抑郁症大鼠的治疗效果及机制探究[J]. 天津中医药大学学报, 2023, 42(2): 206-211.

物实验遵循减少(Reduction)、优化(Refinement)和替代(Replacement)的3R原则。

**1.2 主要仪器试剂** 四逆散配伍药材购自广州中医药大学附属医院;盐酸氟西汀胶囊(国药准字J20170022)购自礼来苏州制药公司;神经肽Y(NPY)、生长抑素(SS)、P物质(SP)放免检测试剂盒购自北京华英生物技术公司;NE、多巴胺(DA)、5-HT检测试剂盒购自美国TSZ生物贸易有限公司;细胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)抗体、p-ERK1/2抗体、环磷酸腺苷反应结合蛋白(CREB)抗体、p-CREB抗体、脑源性神经营养因子(BDNF)、 $\beta$ -actin抗体均购自英国ABCAM公司。

BW-OF302旷场实验视频分析系统购买于上海软隆科技发展有限公司;MK3全自动酶标仪购自Eppendorf公司;Mini Protean 3 cell电泳仪购自美国BioRed公司。

## 2 实验方法

**2.1 模型构建** 150只大鼠随机抽取20只为正常组,其余130只根据参考文献[9]采用慢性温和不可预知性应激并联合单笼饲养的方式构建大鼠抑郁症模型,造模期间大鼠每日选择以下方式中的1种刺激大鼠:断食24h、断水24h、4℃冰水游泳5min、夹尾1min、更换潮湿垫料、50mV电压电击足底、摇晃、昼夜颠倒,且连续两天刺激方式不得重复,持续处理4周,造模期间正常组自由饮食饮水。造模完成后观察大鼠状态,大鼠出现毛色暗沉、自主活动减少、体质量下降,糖水偏爱度降低,呈现出绝望、抑郁症状提示大鼠造模成功,造模成功大鼠共100只,模型成功率77%。

**2.2 分组给药** 将造模成功的100只大鼠随机分为模型组、四逆散低剂量组、四逆散中剂量组、四逆散高剂量组及氟西汀阳性对照组,每组20只。参考胡海燕等<sup>[10]</sup>给药剂量配置生药浓度为1.33、2.66、5.32g/mL的四逆散药液,分别灌胃给予四逆散低、中、高剂量组大鼠,氟西汀按0.5mg/mL灌胃给药,每日每只灌胃给予2mL,持续给药2周,正常组和模型组大鼠每日给予等量的生理盐水。

**2.3 糖水消耗实验** 给药结束后,各组大鼠禁食禁水24h,每只动物测试时给予1瓶1%糖水溶液和1瓶纯水,大鼠自由饮水12h后将两个瓶子取出,称质量,计算前后大鼠糖水消耗量、纯水消耗量、总液体消耗量以及糖水偏爱度。实验进行过程中保持环境安静。

糖水消耗量=实验前糖水重量-实验结束糖水后糖水重量。

纯水消耗量=实验前纯水重量-实验结束后纯水重量。

总液体消耗量=纯水消耗量+糖水消耗量。

糖水偏爱度=糖水消耗量/总液体消耗量 $\times$ 100%。

**2.4 旷场实验** 给药结束后,进行旷场实验,旷场实验开始之前1h,将大鼠放置到测试房间内适应1h。实验开始后捏住大鼠尾巴小心放入箱体中央,大鼠适应10s后开始用摄像系统全程记录大鼠进入箱体内3min自主活动情况,以大鼠身体超过50%进入其他方格记作水平运动得1分,大鼠双前肢离开箱子底部记作直立次数得1分,以水平运动得分和直立次数得分总和记作大鼠旷场运动评分,每只鼠测试完成后彻底打扫实验箱体,去除大鼠排泄物及异味,测试过程中保证测试环境安静。

**2.5 海马组织神经递质测定** 给药结束后,首先将大鼠麻醉,腹主动脉取血收集大鼠血液样本,4℃环境下3500rpm离心10min收集大鼠血清后将其置于-80℃冰箱保存待测;然后处死大鼠,小心分离大鼠海马组织,称质量后按每10mg组织加90 $\mu$ L PBS的量加入对应体积的预冷PBS,置于冰上研磨制作组织匀浆,研磨结束后4℃条件下3500r/min离心10min,收集上清至干净微型离心(EP)管中,根据酶联免疫吸附实验(ELISA)检测试剂盒步骤检测组织匀浆中NE、DA、5-HT含量,神经递质水平以ng/g脑组织质量表示。

**2.6 血清NPY、SP、SS含量测定** 取上述冻存各组大鼠血清样本,然后根据放免试剂盒检测说明书步骤血清中NPY、SP、SS含量。

**2.7 大鼠皮质ERK1/2-CREB-BDNF信号通路检测** 给药结束后,收集大鼠皮质组织,提取组织蛋白,通过BCA蛋白定量法检测蛋白浓度,每组取20 $\mu$ g蛋白进行SDS-PAGE电泳分离:浓缩胶80V电泳40min,分离胶120V电泳50min将蛋白按分子量大小分离;随后进行湿转,将蛋白转移至PVDF膜上;脱脂奶粉封闭2h;TBST洗膜后,加入ERK1/2、p-ERK、p-CREB、BDNF及 $\beta$ -actin一抗抗体(抗体稀释比1:1000)孵育,4℃孵育过夜;洗膜;加入HRP标记的山羊抗兔二抗抗体(1:5000);最后利用ECL化学发光试剂显色,检测各个蛋白含量,以 $\beta$ -actin为内参对照。

**2.8 统计学处理方法** 本实验中所有实验数据均

利用 SPSS 18.0 和 GraphPadPrism 8 软件进行处理、分析和作图,数据均以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。多组间两两比较采用单因素方差检验。 $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 大鼠行为学检测** 给药结束后,各组大鼠进行糖水偏爱度检测和旷场实验。实验结果显示,与正常组相比,模型组大鼠糖水偏爱度和旷场运动评分均显著降低( $P<0.001$ );与模型组相比,阳性对照组及四逆散低、中、高剂量组大鼠糖水偏爱度和旷场运动评分均显著增加( $P<0.001$ );与阳性对照组相比,四逆散低、中、高剂量组糖水偏爱度和旷场运动评分均显著降低( $P<0.05$ ),见表 1。

表 1 大鼠行为学检测( $\bar{x}\pm s$ )

组别	动物数	糖水偏爱度(%)	旷场运动评分(分)
正常组	20	85.47±10.54	96.14±11.89
模型组	20	46.51± 6.72***	31.67± 5.81***
阳性对照组	20	85.02± 9.42 <sup>###</sup>	86.74± 9.33 <sup>###</sup>
四逆散低剂量组	20	59.25± 9.11 <sup>***###△△△</sup>	59.79± 6.13 <sup>***###△△△</sup>
四逆散中剂量组	20	63.32± 7.21 <sup>***###△△△</sup>	75.22± 3.66 <sup>***###△△△</sup>
四逆散高剂量组	20	75.56±11.43 <sup>***###△△</sup>	81.32±10.36 <sup>***###△</sup>

注:与正常组相比,\*\*\* $P<0.001$ ;与模型组相比,<sup>###</sup> $P<0.001$ ;与阳性对照组相比,<sup>△</sup> $P<0.05$ ,<sup>△△</sup> $P<0.01$ ,<sup>△△△</sup> $P<0.001$ 。

**3.2 大鼠海马组织神经递质含量测定** 给药结束后,收集大鼠海马组织,检测海马组织中 NE、DA 和 5-HT 含量。实验结果显示,与正常组相比,模型组大鼠海马组织中 NE、DA 和 5-HT 均显著下调( $P<0.001$ );与模型组相比,阳性对照组及四逆散低、中、高剂量组大鼠海马组织中 NE、DA 和 5-HT 均显著上调( $P<0.001$ );与阳性对照组相比,四逆散低、中剂量组大鼠 NE 和 5-HT 及低、中、高剂量组大鼠 DA 含量均较低( $P<0.01$ ),高剂量组大鼠海马组织中 NE 和 5-HT 含量较阳性对照组无明显差异( $P>0.05$ ),见表 2。

表 2 大鼠海马组织神经递质含量( $\bar{x}\pm s$ ) ng/g

组别	动物数	NE	DA	5-HT
正常组	20	431.67±36.82	153.46±20.37	36.27±5.16
模型组	20	279.23±31.36***	39.83±13.26***	11.98±3.27***
阳性对照组	20	416.28±40.15 <sup>###</sup>	146.25±20.03 <sup>###</sup>	30.22±4.13 <sup>###</sup>
四逆散低剂量组	20	347.58±28.44 <sup>***###△△△</sup>	84.28±15.79 <sup>***###△△△</sup>	19.34±3.59 <sup>***###△△△</sup>
四逆散中剂量组	20	376.44±34.33 <sup>***###△△△</sup>	113.47±13.56 <sup>***###△△△</sup>	22.58±3.47 <sup>***###△△△</sup>
四逆散高剂量组	20	407.39±33.17 <sup>###</sup>	132.15±14.91 <sup>***###△</sup>	28.69±5.23 <sup>***###</sup>

注:与正常组相比,\* $P<0.05$ ,\*\*\* $P<0.001$ ;与模型组相比,<sup>###</sup> $P<0.001$ ;与阳性对照组相比,<sup>△</sup> $P<0.01$ ,<sup>△△</sup> $P<0.001$ 。

**3.3 大鼠血清 NPY、SP、SS 含量测定** 给药结束后,收集大鼠血清样本,检测大鼠血清中 NPY、SP、SS 含量。实验结果显示,与正常组相比,模型组大鼠血清中 NPY 和 SS 含量均显著降低( $P$ 均 $<0.001$ ),SP 含量显著增加( $P$ 均 $<0.001$ );与模型组相比,阳性对照组及四逆散低、中、高剂量组大鼠血清中 NPY 和 SS 含量均显著增加( $P$ 均 $<0.001$ ),SP 含量均显著降低( $P$ 均 $<0.001$ );与阳性对照组相比,四逆散低、中剂量组大鼠血清 NPY 含量无明显差异( $P>0.05$ ),高剂量组大鼠血清中 NPY 含量显著增加( $P<0.001$ );四逆散低、中、高剂量组大鼠血清 SP 较阳性对照组均显著升高( $P$ 均 $<0.01$ );四逆散低剂量组大鼠 SS 含量较阳性对照组显著降低( $P<0.001$ ),中、高剂量组大鼠 SS 含量较阳性对照组无明显差异( $P>0.05$ ),见表 3。

表 3 大鼠血清 NPY、SP、SS 含量( $\bar{x}\pm s$ ) pg/mL

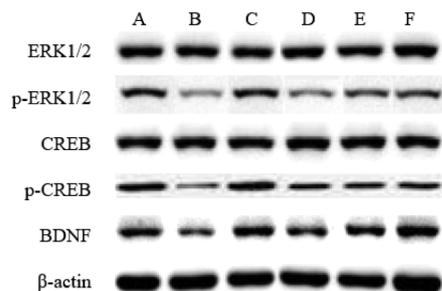
组别	动物数	NPY	SP	SS
正常组	20	163.19±21.37	71.24±8.67	207.53±28.64
模型组	20	87.33±10.74***	126.41±15.23***	86.54±10.43***
阳性对照组	20	111.32±13.14 <sup>###</sup>	80.46±9.33 <sup>###</sup>	160.17±15.45 <sup>###</sup>
四逆散低剂量组	20	109.76±13.65 <sup>###</sup>	105.48±9.58 <sup>###△△△</sup>	137.26±19.17 <sup>###△△△</sup>
四逆散中剂量组	20	115.65±13.02 <sup>###</sup>	96.72±10.02 <sup>###△△△</sup>	150.58±19.26 <sup>###</sup>
四逆散高剂量组	20	139.87±18.46 <sup>###△△△</sup>	89.39±8.75 <sup>###△</sup>	169.37±23.79 <sup>###</sup>

注:与正常组相比,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P<0.001$ ;与模型组相比,<sup>###</sup> $P<0.001$ ;与阳性对照组相比,<sup>△</sup> $P<0.01$ ,<sup>△△</sup> $P<0.001$ 。

**3.4 大鼠皮质 ERK1/2-CREB-BDNF 信号通路检测** 实验结束后,收集大鼠皮质,检测皮质组织中 ERK1/2-CREB-BDNF 信号关键蛋白表达情况。实验结果显示,与正常组相比,模型组大鼠皮质中 p-ERK1/2、p-CREB、BDNF 表达量均显著下调( $P<0.001$ );与模型组相比,阳性对照组及四逆散低、中、高剂量组大鼠皮质中 p-ERK1/2、p-CREB、BDNF 表达量均显著上调( $P<0.01$ );与阳性对照组相比,四逆散低、中剂量组大鼠脑组织中 p-ERK1/2 及 p-CREB 表达量较低( $P<0.05$ ),四逆散低剂量组 BDNF 表达量与阳性对照组无显著差异( $P>0.05$ );四逆散高剂量组大鼠脑组织中 p-ERK1/2 及 p-CREB 表达量与阳性对照组无显著性差异( $P>0.05$ ),BDNF 表达量显著高于阳性对照组( $P<0.05$ ),见图 1,表 4。

### 4 讨论

抑郁症是目前发病率较高的情感性精神障碍疾病,该病具体发病机制尚不明确,西医治疗效果



注: A.正常组; B.模型组; C.阳性对照组; D.四逆散低剂量组; E.四逆散中剂量组; F.四逆散高剂量组。

图 1 大鼠皮质 ERK1/2-CREB-BDNF 信号通路关键蛋白检测

表 4 大鼠皮质 ERK1/2-CREB-BDNF 信号通路关键蛋白检测( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数	(p-ERK1/2)/ (ERK1/2)	p-CREB/CREB	BDNF/β-actin
正常组	20	0.37±0.06	0.41±0.11	0.36±0.04
模型组	20	0.11±0.03***	0.12±0.05***	0.17±0.02***
阳性对照组	20	0.31±0.07***	0.43±0.13***	0.34±0.04***
四逆散低剂量组	20	0.21±0.04*** <sup>△△</sup>	0.27±0.03*** <sup>△△△</sup>	0.26±0.03*** <sup>△△△</sup>
四逆散中剂量组	20	0.25±0.04*** <sup>△</sup>	0.30±0.04*** <sup>△△△</sup>	0.33±0.07***
四逆散高剂量组	20	0.28±0.06*** <sup>△</sup>	0.37±0.04***	0.41±0.12*** <sup>△</sup>

注: 与正常组相比, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ; 与模型组相比, \*\*\* $P < 0.01$ , \*\*\*\* $P < 0.001$ ; 与阳性对照组相比,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ,  $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ 。

较为一般,且伴随较多不良反应<sup>[11]</sup>。在传统中医理论体系中认为抑郁症的病因是七情所伤,而肝气郁结则直接引发抑郁症,因此疏肝解郁是目前中医治疗抑郁症的主要出发点<sup>[12]</sup>。四逆散由柴胡、芍药、甘草、枳实 4 味中药材配伍组成,其中君药柴胡入肝、胆经,疏肝解郁、清轻升散,臣药芍药养血敛阴以柔肝,佐药枳实泄热破结、理气解郁,使药甘草益脾和中,四药相合,共奏疏肝理脾、透邪解郁之效,临床上被广泛应用于抑郁症及肝胆、脾胃失调等多种疾病的治疗<sup>[13]</sup>。四逆散对抑郁症的治疗虽在临床上取得较好的效果,但该方具体的作用机制尚未阐明。因此本研究建立大鼠抑郁症模型,探究四逆散治疗抑郁症作用机制。

抑郁症患者临床表现主要包括自主活动减少、情感缺失、体质量下降等,糖水消耗实验和旷场实验是用来评价实验动物抑郁状态最常用的行为学检测方法,糖水偏爱度是目前评价大鼠抑郁最重要的公认的指标之一,糖水偏爱度降低显示大鼠快感反应缺失;旷场运动评分是评价大鼠心理状态和情绪的经典方法,大鼠活动次数降低,提示大鼠对新

环境的好奇度减低<sup>[14-15]</sup>。本研究利用糖水消耗实验和旷场实验评价给药后各组大鼠抑郁情况,实验结果显示,与正常组相比,模型组大鼠糖水偏爱度和旷场运动评分均显著降低,提示大鼠处于抑郁状态;给予大鼠不同剂量四逆散治疗后,其糖水偏爱度和旷场运动评分均显著增加,且高剂量四逆散治疗效果较好,提示大鼠抑郁症显著改善。

抑郁症患者情绪抑郁与神经系统信号转导异常密切相关,在近几年的研究中单胺类神经递质 5-HT、DA、NE 在抑郁症中的重要性逐渐显露<sup>[16]</sup>。葛明广<sup>[17]</sup>的研究中发现抑郁症患者体内 5-HT、DA、NE 含量显著降低。李明等<sup>[18]</sup>研究也显示四逆散可显著提高抑郁症模型大鼠脑组织中神经递质 5-HT、DA、NE 含量,且 5-HT、DA、NE 含量降低的水平与抑郁的程度高度相关。本研究中发现,抑郁症模型组大鼠海马组织中 5-HT、DA、NE 含量均显著下调,给予不同剂量四逆散治疗后大鼠海马组织中 5-HT、DA、NE 含量均显著上调,且四逆散高剂量组对 5-HT 和 NE 的上调能力与阳性对照氟西汀的作用无明显差异,提示高剂量四逆散具有较好的抗抑郁作用,和与上述文献报道类似。

抑郁症的发病机制虽尚不明确,但可以确定的是神经肽在该过程中扮演着重要角色,但关于神经肽 SS、SP 及 NPY 与抑郁症相关性的研究不多,NPY 是广泛分布于脑组织中的一种神经多肽,在调节行为应激和情感中发挥重要作用,海马内 NPY 能减轻机体对过度应激刺激造成的损伤;SS 属于神经系统内广泛存在的递质,可促进 5-HT 和 DA 的释放、活化海马中突出功能,继而影响记忆力;SP 可与情绪相关的神经递质通路发生交叉反应,参与人认知和情感的调节<sup>[19]</sup>。冯劫等<sup>[20]</sup>研究发现四逆散可通过下调血清 SS、SP 及 NPY 水平发挥抗抑郁作用。本研究中发现,模型组大鼠血清中 NPY 和 SS 含量显著降低,SP 含量显著增加;给予低、中、高剂量四逆散治疗后大鼠血清中 NPY、SS 含量均呈现不同程度上调,同时 SP 呈不同程度下调,且高剂量四逆散对 NPY 的上调作用更加明显,低、中剂量四逆散对 NPY 的上调作用及中、高剂量的四逆散对 SS 的上调作用与阳性药氟西汀作用无明显差异,与冯等研究具有一定差异,提示四逆散可能通过调节血清神经肽含量平衡改善抑郁症,但其对 SS、SP 及 NPY 的具体调节作用尚不清楚。

ERK1/2 属于哺乳动物细胞中丝裂原活化蛋白

激酶通路中的重要一员,被磷酸化激活后进入细胞核并通过磷酸化作用激活 CREB, 发挥调节细胞功能的作用,在抑郁症患者海马组织和前额叶皮质中可检测到 ERK1/2 磷酸化显著降低<sup>[21]</sup>。海马组织中 ERK1/2-CREB 信号通路与抑郁症患者快感缺乏密切相关,也是介导 BDNF 发挥功能的重要途径,已有研究报道,提高大鼠脑组织中 ERK1/2-CREB-BDNF 通路关键蛋白表达和磷酸化作用,能显著改善大鼠抑郁行为<sup>[22]</sup>,且 Cao 等<sup>[23]</sup>研究发现四逆散可通过 BDNF/PKA/CREB 通路改善大鼠抑郁。本研究中发现,四逆散可显著上调大鼠脑皮质中 ERK1/2、CREB 磷酸化水平,促进 BDNF 表达,发挥保护和促进损伤神经元细胞修复作用,改善大鼠抑郁症状,且高剂量四逆散对 BDNF 的上调作用较氟西汀明显。

综上所述,四逆散可通过上调海马组织神经递质 NE、DA、5-HT 含量;提高血清中神经肽 NPY、SS 水平,并下调神经肽 SP 水平;促进 ERK1/2-CREB-BDNF 通路关键蛋白磷酸化,上调通路活性,进而发挥改善大鼠抑郁样行为的作用。

#### 参考文献:

[1] HAMMEN C. Risk factors for depression: An autobiographical review[J]. Annual Review of Clinical Psychology, 2018, 14(2): 1-28.

[2] ROTENSTEIN L S, RAMOS M A, TORRE M, et al. Prevalence of depression, depressive symptoms, and suicidal ideation among medical students: a systematic review and meta-analysis[J]. JAMA, 2016, 316(21): 2214-2236.

[3] MÉNARD C, HODES G E, RUSSO S J. Pathogenesis of depression: insights from human and rodent studies[J]. Neuroscience, 2016, 321(13): 138-162.

[4] GAYNES B. Assessing the risk factors for difficult-to-treat depression and treatment-resistant depression [J]. The Journal of Clinical Psychiatry, 2016, 77(Suppl 1): 4-8.

[5] MAYER S E, LOPEZ-DURAN N L, SEN S, et al. Chronic stress, hair cortisol and depression: A prospective and longitudinal study of medical internship[J]. Psychoneuroendocrinology, 2018, 92(7): 57-65.

[6] MACQUEEN G, SANTAGUIDA P, KESHAVARZ H, et al. Systematic review of clinical practice guidelines for failed antidepressant treatment response in major depressive disorder, dysthymia, and subthreshold depression in adults[J]. Canadian Journal of Psychiatry Revue Canadienne De Psychiatrie, 2017, 62(1): 11-23.

[7] GARAY R P, ZARATE C A, CHARPEAUD T, et al. Investigational drugs in recent clinical trials for treatment-resis-

tant depression[J]. Expert Review of Neurotherapeutics, 2017, 17(6): 593-609.

[8] HIDALGO-MAZZEI D, BERK M, CIPRIANI A, et al. Treatment-resistant and multi-therapy-resistant criteria for bipolar depression: Consensus definition[J]. The British Journal of Psychiatry: the Journal of Mental Science, 2019, 214(1): 27-35.

[9] HAO Y Z, GE H X, SUN M Y, et al. Selecting an appropriate animal model of depression[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(19): 4827.

[10] 胡海燕,徐志伟,敖海清,等.四逆散影响慢性应激抑郁模型大鼠行为学研究[J].中华中医药杂志, 2016, 31(1): 271-274.

HU H Y, XU Z W, AO H Q, et al. Effects of Sini Powder on the behavior of rat depression model induced by chronic stress[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2016, 31(1): 271-274.

[11] SABELLA D. Antidepressant medications[J]. The American Journal of Nursing, 2018, 118(9): 52-59.

[12] 程勋树,高明周,林文达,等.抑郁症中医治则“疏肝解郁”与“温阳开郁”的异同点[J].世界中医药, 2021, 16(1): 117-120.

CHENG X S, GAO M Z, LIN W D, et al. Exploration of the similarities and differences between “soothing liver and relieving depression” and “warming Yang and opening depression” in the treatment of depression by traditional Chinese medicine[J]. World Chinese Medicine, 2021, 16(1): 117-120.

[13] 黄桃园,肖根发,黄汉超,等.蔡妙珊教授临床运用四逆散经验总结[J].按摩与康复医学, 2021, 12(3): 27-29.

HUANG T Y, XIAO G F, HUANG H C, et al. Professor CAI Miaoshan's experience in clinical application of sinisan[J]. Chinese Manipulation and Rehabilitation Medicine, 2021, 12(3): 27-29.

[14] WANG S, MAO S P, YAO B Z, et al. Effects of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation on depression- and anxiety-like behaviors in epileptic rats[J]. Journal of Integrative Neuroscience, 2019, 18(3): 237-243.

[15] YUE N, HUANG H J, ZHU X C, et al. Activation of P2X7 receptor and NLRP3 inflammasome assembly in hippocampal glial cells mediates chronic stress-induced depressive-like behaviors [J]. Journal of Neuroinflammation, 2017, 14(1): 102.

[16] LIU S H, GUO R J, LIU F, et al. Gut microbiota regulates depression-like behavior in rats through the neuroendocrine-immune-mitochondrial pathway[J]. Neuropsychiatric Disease and Treatment, 2020, 16: 859-869.

- [17] 葛明广.5-HT、NE、DA联合检测对抑郁症患者的应用意义[J].中外女性健康研究,2019,15(9):3-4.  
GE M G. Clinical significance of combined detection of 5-HT, NE and DA in patients with depression[J]. Women's Health Research, 2019, 15(9):3-4.
- [18] 李明,徐向东.四逆散对慢性应激抑郁模型大鼠行为学及神经递质的影响[J].长春中医药大学学报,2014,30(4):579-582.  
LI M, XU X D. Effect of Sini Powder on behavior and neurotransmitter of rat with chronic stress-induced depression[J]. Journal of Changchun University of Traditional Chinese Medicine, 2014, 30(4):579-582.
- [19] ZITNIK G A. Control of arousal through neuropeptide afferents of the locus coeruleus[J]. Brain Research, 2016, 16(41):338-350.
- [20] 冯劫.四逆散对抑郁模型大鼠血浆 NPY、SP、SS 含量的影响[J].浙江中医杂志,2011,46(8):566-567.  
FENG J. Effect of Sini Powder on the contents of NPY, SP and SS in plasma of depression model rats[J]. Zhejiang Journal of Traditional Chinese Medicine, 2011, 46(8):566-567.
- [21] HAQUE M N, BHUIYAN M M H, MOON I S. Stigmasterol activates Cdc42-Arp2 and Erk1/2-Creb pathways to enrich glutamatergic synapses in cultures of brain neurons[J]. Nutrition Research, 2018, 56(7):71-78.
- [22] WANG J, JIA Y W, LI G D, et al. The dopamine receptor D3 regulates lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice[J]. The International Journal of Neuropsychopharmacology, 2018, 21(5):448-460.
- [23] CAO K R, SHEN C K, YUAN Y M, et al. Sini San ameliorates the depression-like behavior of rats that experienced maternal separation through 5-HT1A receptor/CREB/BDNF pathway[J]. Frontiers in Psychiatry, 2019, 10(3):160.

(收稿日期:2022-11-20)

### Study on the therapeutic effect and mechanism of Sini San on depression rats

FANG Zubing<sup>1</sup>, YU Xuedan<sup>1</sup>, HU Hongtao<sup>2</sup>, DONG Hanning<sup>1</sup>

(1. Department of Psychological Rehabilitation, Wuhan Hankou Hospital, Wuhan 430012, China; 2. Department of Psychological Rehabilitation, Shenzhen Kangning Hospital, Shenzhen 518020, China)

**Abstract:** **[Objective]** To investigate the effects of Sini San on behavior, central neurotransmitter and ERK1/2 creb-BDNF signaling pathway in depressed rats. **[Methods]** The experimental rats were randomly divided into normal group, model group, positive control group, Sini San low-dose group, Sini San medium-dose group and Sini San high-dose group, with 20 rats in each group. After administration, sugar water consumption experiment and open field experiment were carried out. Elisa kit was used to detect dopamine (DA), norepinephrine (NE) and 5-hydroxytryptamine (5-HT) in hippocampus of rats. The contents of neuropeptide Y (NPY), substance P (SP) and somatostatin (SS) in serum were detected by radioimmunoassay kit. Western blot was used to detect the expression of key proteins in erK1/2-CREB-BDNF signaling pathway in the cortex. **[Results]** Compared with normal group, sugar water preference and open field movement score in model group were significantly decreased ( $P < 0.001$ ); the contents of DA, NE and 5-HT in hippocampus were significantly down-regulated ( $P < 0.001$ ); NPY and SS in serum were significantly down-regulated ( $P < 0.001$ ); SP was significantly up-regulated ( $P < 0.001$ ). The phosphorylation levels of ERK1/2 and CREB proteins and the expression of BDNF protein were significantly down-regulated in cortex ( $P < 0.001$ ). Compared with model group, sugar water preference and open field motion score in Sini San administration group were significantly up-regulated ( $P < 0.001$ ); DA, NE and 5-HT contents in hippocampus were significantly up-regulated (All  $P < 0.001$ ), NPY and SS in serum were significantly up-regulated ( $P < 0.001$ ), SP was significantly down-regulated (All  $P < 0.001$ ). The phosphorylation levels of ERK1/2 and CREB protein and the expression of BDNF protein in cortex were significantly increased ( $P < 0.01$ ). **[Conclusion]** Sini San can up-regulate the neurotransmitter content in hippocampus, regulate the level of serum neuropeptide, promote phosphorylation and activation of ERK1/2-CREB-BDNF signaling pathway, and play the function of improving depression-like behavior in rats.

**Keywords:** Depression; Sini San; Neurotransmitter; ERK1/2-CREB-BDNF signal path