

# 植物乳杆菌 ER135 对利血平诱导抑郁小鼠的改善作用

毕云枫<sup>1</sup>, 李璐<sup>1</sup>, 赵玉娟<sup>2</sup>, 赵子健<sup>2</sup>, 杨舸<sup>2</sup>, 王超<sup>2</sup>, 段翠翠<sup>2</sup>, 李盛钰<sup>2</sup>

(1. 吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林长春 130118)

(2. 吉林省农业科学院农产品加工研究所, 吉林长春 130033)

**摘要:** 为了研究植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) ER135 对利血平诱导抑郁小鼠的改善作用, 选择 6 周龄雄性 ICR 小鼠, 连续 21 d 灌胃植物乳杆菌 ER135 菌悬液 ( $2.0 \times 10^{10}$  cfu/mL), 第 22 d 小鼠腹腔注射利血平 (4 mg/kg) 构建抑郁模型, 通过小鼠行为学观察, 血清和脑组织生化指标检测及海马组织蛋白表达变化, 评价植物乳杆菌 ER135 对抑郁模型小鼠的改善作用。结果表明, 饲喂植物乳杆菌 ER135 显著改善小鼠体温降低、眼睑下垂和运动能力下降等症状。与模型组相比, 脑组织中 5-羟色胺、多巴胺、去甲肾上腺素等神经递质的浓度分别提高了 2.06 ng/L、1.42 pg/L、10.12 ng/L。降低血清炎症因子水平, 肿瘤坏死因子以及白介素  $1\beta$  分别降低了 9.40 ng/L 和 10.63 ng/L, 同时还降低了氧化应激水平, 与模型组相比差异显著 ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ )。海马组织 Western-blot 结果显示植物乳杆菌 ER135 明显增加抑郁小鼠海马组织神经营养通路中 cAMP、CREB、BDNF 等关键蛋白的表达。综上所述植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*) ER135 具有缓解利血平诱导抑郁的作用。

**关键词:** 乳酸菌; 植物乳杆菌; 抗抑郁; 情绪调节; 氧化应激; 脑神经营养通路

文章编号: 1673-9078(2019)010-6-11

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.10.002

## Effect of *Lactobacillus plantarum* ER135 on the Improvement of Depression Induced by Reserpine in Mice

BI Yun-feng<sup>1</sup>, LI Lu<sup>1</sup>, ZHAO Yu-juan<sup>2</sup>, ZHAO Zi-jian<sup>2</sup>, YANG Ge<sup>2</sup>, WANG Chao<sup>2</sup>, DUAN Cui-cui<sup>2</sup>, LI Sheng-yu<sup>2</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

(2. Institute of Agro-food Technology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

**Abstract:** The improvement effect of *Lactobacillus plantarum* ER135 on depression induced by reserpine in mice was investigated. Male ICR mice ( $n=40$ , 6-week) were administered with *L. plantarum* ER135 strain suspension ( $2.0 \times 10^{10}$  cfu/mL) by gavage for continuous 21 days, then all mice were injected with reserpine (4 mg/kg) at 22th day to establish depression model. The improvement effect of *L. plantarum* ER135 on the mice was evaluated by observing the changes of behavioristics phenomena of mice, detecting serum and tissue biochemical indicator as well as relevant protein expression changes in hippocampal tissue. Compared with the control group, after administration of *L. plantarum* ER135, the symptoms of hypothermia, blepharoptosis and decreased motor ability of these mice were significantly improved. Compared with the model group, the concentration of 5-hydroxytryptamine, dopamine and norepinephrine in brain tissue increased by 2.06 ng/L, 1.42 pg/L and 10.12 ng/L, respectively. The level of serum inflammatory factors decreased. Tumor necrosis factor and interleukin-1 beta decreased by 9.40 ng/L and 10.63 ng/L, respectively. It also reduced the level of oxidative stress ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ). Western-blot results showed that *L. plantarum* ER135 significantly could incuce an increases of the expression of cAMP, CREB, BDNF and other key proteins in the hippocampal neurotrophic pathway of depressed mice. *L. plantarum* ER135 can relieve depression of mice induced by reserpine.

**Key words:** lactic acid bacteria; *Lactobacillus plantarum*; antidepressant; emotional regulation; oxidative stress; neurotrophic pathways of the brain

收稿日期: 2019-05-10

基金项目: 吉林省农业科技创新工程重大项目(CXGC2017ZD011); 国家现代农业(奶牛)产业技术体系建设专项项目(CARS-36); 长春市产学研协同创新示范项目建设专项项目(16CX20)

作者简介: 毕云枫(1976-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品酶学与保健食品

通讯作者: 李盛钰(1977-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 发酵食品及功能性益生菌

抑郁症是现代生活中发展速度最快的一种常见的情感性精神障碍,已经成为全球困扰人类生活水平和造成社会经济负担的重要疾病。许多治疗策略已被用于治疗这种疾病,包括药物但长时间服用会产生依赖性,并伴有多种副作用<sup>[1,2]</sup>。

益生菌(Probiotics)是指摄入适当的量对宿主健康有促进作用的活菌制剂,主要指乳杆菌和双歧杆菌<sup>[3]</sup>。益生菌具有预防和治疗腹泻、炎症性肠病、糖尿病和便秘等多方面的功能作用<sup>[4]</sup>。2005年<sup>[5]</sup>首次提出益生菌可以作为治疗严重抑郁症的辅助疗法,后续研究不断揭示益生菌改善情绪、抗焦虑、减少应激反应和抑郁等作用。例如,实验性地升高下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA)反应和抑郁反应可以通过给大鼠注射一种婴儿双乳杆菌来逆转<sup>[6]</sup>。动物实验结果表明,使用益生菌可诱导血浆色氨酸水平升高,额叶皮质和皮质多巴胺代谢物的血清素浓度降低,从而改善抑郁症状<sup>[7]</sup>。服用鼠李糖乳杆菌28d的大鼠抑郁评分下降<sup>[8]</sup>。临床研究数据表明,双盲安慰剂对照随机平行研究中,健康志愿者服用了30d瑞士乳杆菌(*Lactobacillus helveticus*) R0052和长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*) R0175的混合益生菌后心理压力水平明显下降<sup>[9]</sup>。益生菌抗抑郁可能与调节肠道菌群平衡,降低炎症细胞因子的表达,抗氧化应激和改善胃肠功能有关,但其机制尚不清楚<sup>[10]</sup>。

本研究以初步筛选获得的一株具有情绪调节作用的植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) ER135为研究对象,以利血平诱导小鼠抑郁为模型,通过行为学、血清和脑组织生化指标、以及海马组织神经营养通路相关蛋白表达的变化来评价植物乳杆菌 ER135 的抗抑郁作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株及培养方法

本试验所采用的植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*) ER135由本课题组自长白山区传统发酵酸菜中自主分离获得的一株新菌株。菌株-80℃冻存,使用前接种于MRS液体培养基,连续传代活化后,按1%接种于MRS液体培养基中,37℃静置培养16h,离心(6000 r/min, 4℃, 10 min)弃上清,菌泥用灭菌生理盐水洗涤2次,离心(6000 r/min, 4℃, 10 min),调整菌液浓度为 $2.0 \times 10^{10}$  cfu/mL, 4℃冰箱保存备用。

### 1.2 试剂及检测试剂盒

利血平注射液(1 mg/mL), 广东邦民制药厂有限

公司; 盐酸氟西汀胶囊, 苏州中化药品工业有限公司; 小鼠5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、多巴胺(Dopamine, DA)、去甲肾上腺素(Noradrenaline, NE)、一氧化氮(Nitric Oxide, NO)、超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)酶联免疫分析(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)。

试剂盒, 上海江莱生物科技有限公司; 小鼠肿瘤坏死因子(Tumour necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素1 $\beta$ (Interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) ELISA MAX<sup>TM</sup> Deluxe, 美国 biolegend 公司; RIPA (Radio Immunoprecipitation Assay) 蛋白提取试剂盒、BCA 蛋白定量试剂盒, 北京鼎国昌盛生物技术有限公司; GAPDH 抗体、兔抗 BDNF 单克隆抗体、兔抗 CREB 单克隆抗体、兔抗 cAMP 单克隆抗体, 英国 Abcam 公司; 山羊抗兔二抗, 北京中杉金桥生物技术有限公司。

### 1.3 主要仪器设备

高压蒸汽灭菌锅, 日本 Sanyo 公司; 紫外可见分光光度计(Cary300), 美国 Varian 公司; ELx800 型全自动酶标仪, 美国 BioTek 公司; Sorvall Evolution RC 型高速冷冻离心机, 美国 Thermo 公司; 全膜终端过滤独立送风净化笼具, 苏州新区枫桥净化设备厂; 化学发光成像系统(ChemiScope 5600), 上海勤翔科学仪器有限公司; Bio-rad 电泳和转印系统, 美国伯乐公司。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 模型构建及实验方案

采用 Antkiewicz-Michaluk<sup>[11]</sup>等方法构建小鼠抑郁模型。雄性 ICR 小鼠, 6 周龄, 体重 18~22 g 购买自长春市亿斯实验动物技术有限公司。随机分为 4 组, 每组 10 只, ER135 组连续 21 d 灌胃 0.2 mL 植物乳杆菌 ER135 菌悬液( $2.0 \times 10^{10}$  cfu/mL)阳性组灌胃盐酸氟西汀溶液(10 mg/kg), 对照组和模型组灌胃等量生理盐水, 第 22 d 除对照组外各实验组小鼠腹腔注射利血平(4 mg/kg), 构建抑郁模型。

#### 1.4.2 行为学观察

小鼠的行为学观察参照杨钧等<sup>[12]</sup>方法进行, 具体过程如下。

眼睑下垂评分, 各组小鼠利血平注射 1 h 后分别置于架子上观察 15 s, 通过小鼠眼睑下垂的程度来进行评分(0~4 分), 0 分, 眼睑未关闭; 1 分, 眼睑关闭 1/4; 2 分, 眼睑关闭 1/2; 3 分, 眼睑关闭 3/4; 4 分, 眼睑全部关闭。运动能力测定, 利血平注射 2 h

后, 各组小鼠分别放在圆形白纸中央并观察 15 s, 记录停留在白纸上小鼠的数量。体温测定, 利血平注射 4 h 后, 将肛温计插入小鼠肛门约 0.5 cm 处, 记录小鼠的体温。

### 1.4.3 生化指标检测

行为学观察结束后, 眼球取血, 离心 (3000 r/min, 4 °C, 10 min) 收集血清于 -80 °C 冻存。参照 ELISA 试剂盒说明书测定小鼠血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  以及 NO 的含量。脱颈处死小鼠, 在无菌的条件下打开脑颅, 于冰上分离海马组织, 一部分保存在 -80 °C 冰箱中用于 Western blot 检测, 另一部分利用 50 mM Tris-HCl (pH=7.4) 制备脑组织匀浆液, 离心 (5000 r/min, 4 °C, 10 min) 收集上清于 -80 °C 冰箱保存。参照 ELISA 试剂盒说明书测定小鼠脑组织上清中 5-HT、NE、DA、SOD、MDA 等含量。

### 1.4.4 Western blot 蛋白质印迹法

脑海马组织在含蛋白酶抑制剂的裂解液中匀浆, 离心 (5000 r/min, 4 °C, 10 min) 收集上清, BCA 蛋白浓度测定试剂盒检测蛋白浓度。Western blot 操作步骤如下<sup>[13]</sup>: 蛋白样品经 10% SDS-PAGE 电泳后将样品从 SDS-PAGE 凝胶转移至硝酸纤维素 (PVDF) 膜, 在 3% BSA 的封闭液中封闭 1 h; 将封闭后的 PVDF 膜放入抗体稀释液中 (cAMP 1:20000、CREB 1:1000、BDNF 1:2500), 4 °C 轻摇过夜。杂交一抗后的 PVDF 膜放入 TBST 中清洗后加入辣根标记的二抗稀释液中, 37 °C 轻摇孵育 1 h 后使用 TBST 清洗。使用化学发光成像系统曝光, 图像和数据用 clinx 软件处理分析。

### 1.4.5 数据统计分析

实验数据处理采用 SPSS 21.0 统计分析, 结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 各实验组间数据采用方差比较分析。以  $p$  值表示统计学差异,  $p < 0.05$  为差异显著,  $p < 0.01$  为差异极显著。

## 2 结果与讨论

### 2.1 行为学变化

小鼠腹腔注射利血平造模成功后, 小鼠出现体温迅速降低、眼睑下垂、运动能力下降等症状。而灌胃植物乳杆菌 ER135 后, 体温从 31.9 °C 上升到了 33.1 °C, 眼睑下垂评分从 3.19 分下降到 2.01 分, 运动能力也明显提高, 从 12.71% 提高到 43.47%, 以上数据表明植物乳杆菌 ER135 可以明显改善小鼠行为学变化, 具体结果如表 1 所示。

表 1 植物乳杆菌 ER135 对利血平诱导抑郁模型小鼠行为的影响

Table 1 Effect of *L. plantarum* ER135 on the behavior of reserpine-induced depression model mice

组别	体温/°C	眼睑下垂/分	出圈率/%
对照	36.92±0.37**	0.00±0.00**	100.00±0.00**
模型	31.96±0.61###	3.19±0.36###	12.71±0.45###
盐酸氟西汀	33.81±0.66*#	1.91±0.27*#	54.64±0.99***###
ER135	33.13±0.68*#	2.01±0.23*#	43.47±0.88***###

注: \*与模型组比较, 差异显著 ( $p < 0.05$ ), \*\*与模型组比较, 差异极显著 ( $p < 0.01$ )。#与对照组比较, 差异显著 ( $p < 0.05$ ), ###与空白组比较, 差异极显著 ( $p < 0.01$ )。

### 2.2 脑组织神经递质的变化

有研究证明, 抑郁后的动物脑组织中的神经递质 5-HT、DA、NE 的含量会相应的下降<sup>[14]</sup>, 经利血平诱导后的小鼠灌胃植物乳杆菌 ER135, 小鼠脑组织中神经递质的含量有所增加, 5-HT 的含量增加由 21.03 ng/L 增加到 23.09 ng/L, DA 的含量由 6.13 pg/L 增加到 7.55 pg/L, NE 的含量由 16.46 ng/L 增加到 26.58 ng/L, 与模型组相比均具有差异显著 ( $p < 0.05$ ), 具体结果见表 2 所示。这与邓海峰等人的研究结果经过毛蕊花糖苷治疗后, 单胺类递质 5-HT、DA 和 NE 水平均明显提高<sup>[15]</sup>, 表明可能通过提高脑内单胺类递质水平改善抑郁样行为的结果相一致。

表 2 植物乳杆菌 ER135 对利血平诱导抑郁模型小鼠脑组织中神经递质的影响

Table 2 Effect of *L. plantarum* ER135 on neurotransmitters in brain tissue of reserpine-induced depression model mice

组别	5-HT/(ng/mL)	DA/(pg/mL)	NE/(ng/mL)
对照	23.86±0.69*	7.66±0.51*	26.51±7.50*
模型	21.03±1.15#	6.13±0.01#	16.46±0.03#
盐酸氟西汀	25.39±0.84**	7.75±1.69*	23.15±0.56
ER135	23.09±1.79*	7.55±1.15*	26.58±5.97*

注: \*与模型组比较, 差异显著 ( $p < 0.05$ ), \*\*与模型组比较, 差异极显著 ( $p < 0.01$ )。#与对照组比较, 差异显著 ( $p < 0.05$ ), ###与空白组比较, 差异极显著 ( $p < 0.01$ )。

### 2.3 血清炎症因子水平

大脑中枢神经损伤会导致免疫细胞激活, 免疫细胞表达水平可直接刺激炎症因子分泌<sup>[16,17]</sup>, 导致抑郁症发生, 炎症在抑郁症的发病机制中起着关键作用<sup>[18]</sup>。本研究结果表明, 益生菌植物乳杆菌 ER135 干预后, 能够降低抑郁模型小鼠血清中 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  的浓度, TNF- $\alpha$  的含量从 124.51 ng/L 降到 115.11 ng/L、

IL-1 $\beta$ 的含量从 270.41 ng/L 降到 259.78 ng/L、NO 的含量也有所下降,说明植物乳杆菌 ER135 降低了脑组织中促炎因子的分泌。这与先前发表的描述乳酸杆菌和双乳杆菌抗炎活性的研究一致<sup>[19]</sup>。细胞因子和免疫细胞与血脑屏障的完整性密切相关,因为它们可以通过诱导损伤和血脑屏障内皮的渗漏来增强血脑屏障的通透性。这可能导致抑郁发作或加重抑郁症状<sup>[20]</sup>。以上数据表明灌胃植物乳杆菌 ER135 能明显缓解利血平诱导的小鼠炎症反应。提示植物乳杆菌 ER135 抗抑郁引起的炎症可能与免疫内稳态的显著变化和免疫反应中的显著适应性有关<sup>[21]</sup>。

表3 植物乳杆菌 ER135 对利血平诱导抑郁模型小鼠血清中炎症因子的影响

Table 3 Effect of *L. plantarum* ER135 on inflammatory cytokines in serum of reserpine-induced depression model mice

组别	TNF- $\alpha$ (ng/L)	IL 1- $\beta$ (ng/L)	NO( $\mu$ mol/L)
对照	104.13 $\pm$ 6.21**	248.38 $\pm$ 16.75*	4.22 $\pm$ 0.11**
模型	124.51 $\pm$ 9.80###	270.41 $\pm$ 17.90#	4.79 $\pm$ 0.16###
盐酸氟西汀	111.30 $\pm$ 7.03**	247.78 $\pm$ 12.47*	4.24 $\pm$ 0.09**
ER135	115.11 $\pm$ 5.49*#	259.78 $\pm$ 18.32	4.66 $\pm$ 0.37###

注: \*与模型组比较, 差异显著( $p < 0.05$ ), \*\*与模型组比较, 差异极显著( $p < 0.01$ )。#与对照组比较, 差异显著( $p < 0.05$ ), ##与空白组比较, 差异极显著( $p < 0.01$ )。

## 2.4 脑组织中氧化应激水平

氧化应激参与了抑郁的发病过程, 抑郁后超氧化物歧化酶水平下降, 丙二醛水平上升。检测小鼠脑组织氧化应激水平结果如图 1 所示。经植物乳杆菌 ER135 干预后, SOD 从 0.33 ng/L 上升到了 0.47 ng/L, MDA 从 0.5 ng/L 下降到了 0.24 ng/L, 治疗效果与盐酸氟西汀组相当, 与模型组相比差异极显著( $p < 0.01$ ), 说明植物乳杆菌 ER135 可以有效的调节抑郁小鼠的氧化应激, 具有良好的抗氧化作用。这与 Bajpai A 等人研究的 SOD 增加、MDA 减少有助于精神症状的改善<sup>[22]</sup>结果相一致。氧化应激被认为是引发抑郁症的主要分子机制<sup>[23]</sup>, 抗氧化剂的使用已被证明可以减弱应激诱导的焦虑和抑郁的急性激活<sup>[24]</sup>。此外, 已知饮食干预会影响抗氧化防御系统, 膳食抗氧化植物化学物质的生物利用度可能与肠道菌群的组成密切相关<sup>[25]</sup>。这些研究表明, 氧化应激和肠道菌群在抑郁症的病因中起着关键作用, 因此, 抗氧化应激可能为预防和治理抑郁症提供一个新的方向。

由以上结果可以推测, 抑郁模型小鼠经植物乳杆菌 ER135 干预后, 菌株 ER135 通过改善大脑中的神

经递质浓度, 保护动物脑组织中神经元的完整性, 同时可以降低血液中的炎症因子以及调节脑组织中氧化应激水平, 从而对利血平诱导的抑郁损伤具有一定的保护作用。

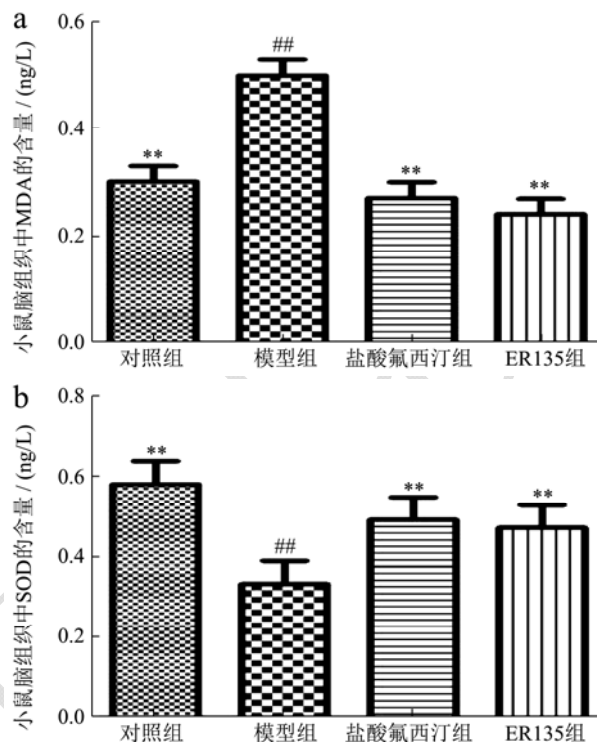
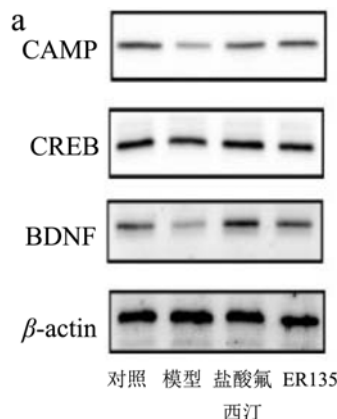


图1 植物乳杆菌 ER135 对利血平诱导抑郁模型小鼠脑组织中 SOD、MDA 的影响

Fig.1 Effect of *L. plantarum* ER135 on SOD and MDA in brain tissue of mice with reserpine-induced depression

注: a: 小鼠脑组织中MDA的含量, b: 小鼠脑组织中SOD的含量, \*与模型组比较, 差异显著( $p < 0.05$ ), \*\*与模型组比较, 差异极显著( $p < 0.01$ )。#与对照组比较, 差异显著( $p < 0.05$ ), ##与空白组比较, 差异极显著( $p < 0.01$ )。

## 2.5 海马组织神经营养通路中相关蛋白的表达



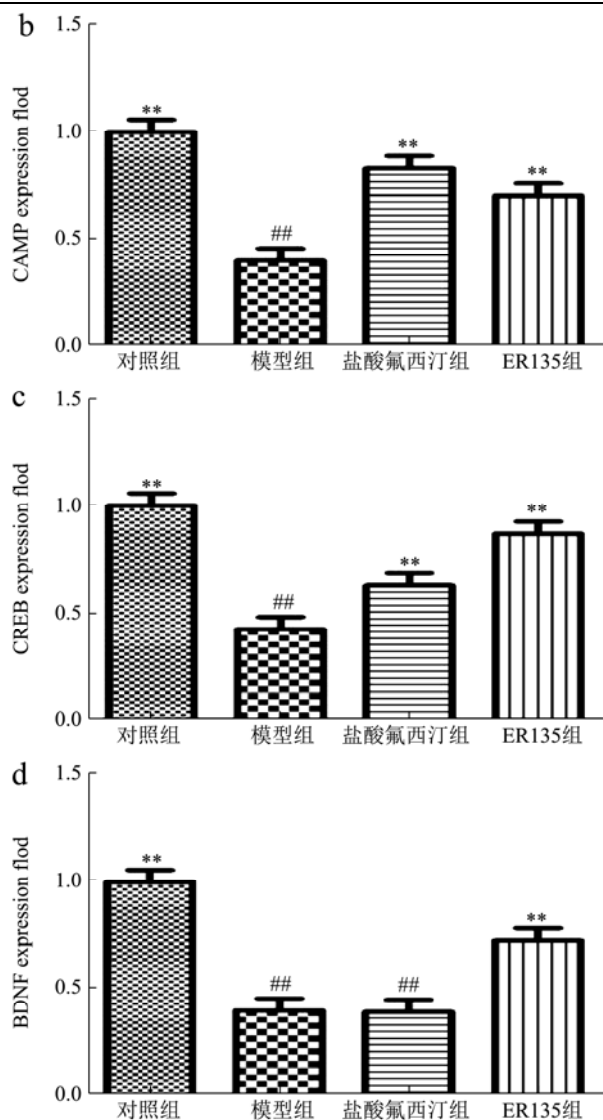


图2 植物乳杆菌ER135对利血平诱导抑郁模型小鼠海马组织脑神经营养通路蛋白表达的影响

Fig.2 Effect of *L. plantarum* ER135 on protein expression of cerebral neurotrophic pathway in hippocampus of reserpine-induced depression model mice

注: \*与模型组比较, 差异显著( $p < 0.05$ ), \*\*与模型组比较, 差异极显著( $p < 0.01$ ). #与对照组比较, 差异显著( $p < 0.05$ ), ##与空白组比较, 差异极显著( $p < 0.01$ ).

BDNF 是抑郁症治疗中至关重要的神经营养因子, 能够促进细胞迁移和突出再生、调节人体的神经元活性。近年来, 多项基础及临床研究表明脑源性神经营养因子(BDNF)可能通过调节神经系统的可塑性来发挥抗抑郁的作用<sup>[26]</sup>, 因此越来越多的学者开始研究 BDNF 上游细胞信号通路 cAMP-CREB-BDNF。本研究利用 Western blot 检测小鼠海马组织中 cAMP、CREB 以及 BDNF 的蛋白表达量, 结果如图 2 所示, 灌胃植物乳杆菌 ER135 后, 小鼠海马中蛋白 cAMP 含量上升、促进 CREB 和 BDNF 的进一步表达, 3 种

蛋白的表达量与模型组相比均差异极显著 ( $p < 0.01$ )。余汇等人利用蛋白免疫印迹法表明沃替西汀可以促进 CREB 和 BDNF 的蛋白表达来改善抑郁行为, ( $p < 0.01$ )<sup>[27]</sup>, 这与本实验的研究结果相一致。cAMP 通过激活蛋白激酶 A (PKA) 进一步使它的下游靶标 CREB 在 133 位上的丝氨酸发生磷酸化, CREB 作为核转录因子通过结合核蛋白来调节下游靶基因 BDNF 的转录, 从而促进了 BDNF 的表达。肠道菌群的变化可以对海马源性神经营养因子 BDNF 产生影响<sup>[28]</sup>, 而 BDNF 及其受体又可以在抑郁症和抗抑郁药物作用中的发挥作用<sup>[29]</sup>。进而推测植物乳杆菌 ER135 可能是由于改变肠道菌群后提高了小鼠机体的神经营养通路中相关蛋白表达量从而发挥抗抑郁的功效。

### 3 结论

综上所述, 植物乳杆菌 ER135 干预可以上调抑郁小鼠脑组织中神经递质 5-HT、NE、DA 的浓度, 降低炎症因子水平以及调节氧化应激水平, 上调神经营养通路中相关蛋白的表达, 改善由利血平所诱导的抑郁。上述结果提示植物乳杆菌 ER135 在修复抑郁所造成的脑损伤的研究中具有广阔的应用前景。

### 参考文献

- [1] González-Blanch C, Hernández-de-Hita F, Muñoz-Navarro R, et al. The association between different domains of quality of life and symptoms in primary care patients with emotional disorders [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 11180-11190
- [2] Osma J, Suso-Ribera C, García-Palacios A, et al. Efficacy of the unified protocol for the treatment of emotional disorders in the Spanish public mental health system using a group format: Study protocol for a multicenter, randomized, non-inferiority controlled trial [J]. Health & Quality of Life Outcomes, 2018, 16(1): 46-46
- [3] Guslandi M. Probiotics (Br J Surg 2001; 88: 161-2) [J]. British Journal of Surgery, 2001, 88(7): 1018-1027
- [4] Lopetuso L, Graziani C, Guarino A, et al. Gelatin tannate and tyndallized probiotics: a novel approach for treatment of diarrhea [J]. European Review for Medical & Pharmacological Sciences, 2017, 21(4): 873-883
- [5] Logan A C, Katzman M. Major depressive disorder: Probiotics may be an adjuvant therapy [J]. Medical Hypotheses, 2005, 64(3): 533-538
- [6] Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, et al. Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression [J]. Neuroscience, 2010, 170(4):

- 1179-1188
- [7] Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, et al. The probiotic *Bifidobacteria infantis*: An assessment of potential antidepressant properties in the rat [J]. Journal of Psychiatric Research, 2009, 43(2): 164-174
- [8] Drouault-Holowacz S, Bieuvelet S, Burckel A, et al. A double blind randomized controlled trial of a probiotic combination in 100 patients with irritable bowel syndrome [J]. Gastroentérologie Clinique Et Biologique, 2008, 32(2): 147-152
- [9] Messaoudi M, Lalonde R, Violle N, et al. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects [J]. British Journal of Nutrition, 2011, 105(5): 755-764
- [10] 王文建, 郑跃杰. 肠道菌群与中枢神经系统相互作用及相关疾病[J]. 中国微生态学杂志, 2016, 28(2):240-245  
WANG Wen-jian, ZHENG Yue-jie. Interaction between intestinal flora and central nervous system and related diseases [J]. Chinese Journal of Microecology, 2016, 28(2): 240-245
- [11] Antkiewicz-Michaluk L, Wąsik A, Możdżeń E, et al. Antidepressant-like effect of tetrahydroisoquinoline amines in the animal model of depressive disorder induced by repeated administration of a low dose of reserpine: Behavioral and neurochemical studies in the rat [J]. Neurotoxicity Research, 2014, 26(1): 85-98
- [12] 杨钧,张艺芳,何爱武,等.倒卵叶五加抗抑郁作用实验研究[J].现代中医药,2013,33(3):93-95  
YANG Jun, ZHANG Yi-fang, HE Ai-wu, et al. Experimental study on the antidepressant effect of *Acanthopanax obovatus* [J]. Modern Chinese Medicine, 2013, 33(3): 93-95
- [13] Cuicui Duan, Yujuan Zhao, Cheng Huang, et al. Hepatoprotective effects of *Lactobacillus plantarum* on LPS/D-GalN-induced acute liver injury in mice [J]. Journal of Functional Foods, 2018, 43(5): 146-153
- [14] 封倩,冯来会,杨新年.加味酸枣仁汤对慢性应激抑郁模型大鼠脑组织单胺类神经递质 NE、DA 及 5-HT 影响的实验研究[J].中医学报,2012,27(5):581-582  
FENG Qian, FENG Lai-hui, YANG Xin-nian. Experimental study on the effects of Jiawei suanzaoren decoction on brain monoamine neurotransmitters NE, DA and 5-HT in rats with chronic stress depression [J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2012, 27 (5): 581-582
- [15] 邓海峰,孙缦利,吴琼,等.毛蕊花糖苷通过调控 BDNF-TrkB 信号通路改善 CUMS 大鼠的抑郁样行为[J].中国病理生理杂志,2018(9):1633-1637  
DENG Hai-feng, SUN Man-li, WU Qiong, et al. Mulberry glycoside improves depression-like behavior in CUMS rats by regulating bdnf-trkb signaling pathway [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2018 (9): 1633-1637
- [16] Yang Y L, Liu L, Wang Y, et al. The prevalence of depression and anxiety among Chinese adults with cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. BMC Cancer, 2013, 13(1): 393-407
- [17] Cheng Y, Pardo M, Armini RS, et al. Stress-induced neuroinflammation is mediated by GSK3-dependent TLR4 signaling that promotes susceptibility to depression-like behavior [J]. Brain Behavior & Immunity, 2016, 53(3): 207-222
- [18] Pfau M L, Ménard C, Russo S J. Inflammatory mediators in mood disorders: therapeutic opportunities [J]. Annual Review of Pharmacology, 2018, 58(1): 411-428
- [19] Tanabe S, Suzuki T, Wasano Y, et al. Anti-inflammatory and intestinal barrier-protective activities of commensal *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* in thoroughbreds: role of probiotics in diarrhea prevention in neonatal thoroughbreds [J]. Journal of Equine Science, 2014, 25(2): 37-43
- [20] Lichtblau N, Schmidt F M, Schumann R, et al. Cytokines as biomarkers in depressive disorder: Current standing and prospects [J]. International Review of Psychiatry, 2013, 25(5): 592-603
- [21] Consonni A, Cordiglieri C, Rinaldi E, et al. Administration of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains modulates experimental myasthenia gravis and experimental encephalomyelitis in Lewis rats [J]. Oncotarget, 2018, 9(32): 22269-22287
- [22] Bajpai A, Verma A K, Srivastava M, et al. Oxidative stress and major depression [J]. Journal of Clinical and Diagnostic Research, 2014, 8(12): 4-7
- [23] Slyepchenko A, Maes M, Jacka F N, et al. Gut microbiota, bacterial translocation, and interactions with diet: Pathophysiological links between major depressive disorder and non-communicable medical comorbidities [J]. Psychother Psychosom, 2017, 8(6): 31-46
- [24] Samad N, Saleem A. Administration of *Allium cepa* L. bulb attenuates stress-produced anxiety and depression and improves memory in male mice [J]. Metabolic Brain Disease, 2017, 33(1): 271-281