

酸枣仁皂苷A对抑郁小鼠行为及突触可塑性相关蛋白的作用

李会涛, 李剑男, 张桐, 贡济宇*
(长春中医药大学药学院, 吉林长春 130117)

摘要: 该文探究了酸枣仁皂苷 A (Jujuboside A, JuA) 对抑郁模型小鼠行为及神经突触可塑性相关蛋白表达的作用。通过悬尾实验、强迫游泳实验、旷场实验、Morris 水迷宫实验评价小鼠的抑郁状态, 免疫组织化学染色法检测小鼠海马组织中脑源性神经营养因子 (Brain Derived Neurotrophic Factor, BDNF) 的表达水平, Western blot 实验检测小鼠海马组织酪氨酸激酶受体 B (Tyrosine Kinase Receptor B, TrkB)、cAMP 反应元件结合蛋白 (cAMP Responsive Element Binding, CREB)、突触后密度蛋白 95 (Postsynaptic Density Protein 95, PSD95)、自噬效应蛋白 Beclin1 (Autophagy Effector Protein Beclin1, Beclin1) 的表达水平。结果表明, JuA 显著改善抑郁模型小鼠的抑郁状态。同时, JuA 作用后海马组织 BDNF、TrkB、CREB、PSD95、Beclin1 的表达水平较模型组分别上调了 190.23%、137.24%、76.29%、169.32%、82.53%。综上所述, JuA 对抑郁模型小鼠具有显著的抗抑郁作用, 并能明上调 BDNF、TrkB、CREB、PSD95、Beclin1 等神经突触可塑性相关蛋白的表达。实验结果为 JuA 在抑郁临床治疗方面的应用提供理论依据, 并为探究抑郁症药物治疗靶点提供参考。

关键词: 酸枣仁皂苷 A; 抑郁小鼠; 抗抑郁作用; 神经突触可塑性

文章编号: 1673-9078(2024)02-36-43

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.2.0294

Effects of Jujuboside A on Behavior and Synaptic Plasticity-related Proteins in Depressed Mice

LI Huitao, LI Jiannan, ZHANG Tong, GONG Jiyu *

(School of Pharmaceutical Sciences, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

Abstract: The effects of Jujuboside A (JuA) on the behavior and synaptic plasticity-related proteins in mouse models of depression were investigated. The depressive state of the mice was assessed through the tail suspension test (TST), forced swimming test (FST), open field test (OFT), and Morris water maze (MWM) test. Additionally, the expression levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the hippocampus were determined using immunohistochemistry. Western blotting was then employed to assess the expression levels of tyrosine kinase receptor B (TrkB), cAMP responsive element binding (CREB), postsynaptic density protein 95 (PSD95), and autophagy effector protein Beclin1 (Beclin1). The results demonstrated that JuA significantly improved the depressive status in the mouse models. Furthermore, compared to the model group, the treatment group exhibited a substantial

引文格式:

李会涛,李剑男,张桐,等.酸枣仁皂苷A对抑郁小鼠行为及突触可塑性相关蛋白的作用[J].现代食品科技,2024,40(2):36-43.

LI Huitao, LI Jiannan, ZHANG Tong, et al. Effects of jujuboside a on behavior and synaptic plasticity-related proteins in depressed mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(2): 36-43.

收稿日期: 2023-03-11

基金项目: 国家中医药管理局中药标准化项目 (ZYBZH-Y-JL-25)

作者简介: 李会涛 (1992-), 男, 博士, 研究方向: 酸枣仁成分及抗抑郁作用, E-mail: 1058682069@qq.com

通讯作者: 贡济宇 (1960-), 女, 硕士, 教授, 研究方向: 中药成分分析及活性, E-mail: gjy0431@126.com

increase in the expression levels of BDNF (190.23%), TrkB (137.24%), CREB (76.29%), PSD95 (169.32%), and Beclin1 (82.53%) in the hippocampus post-JuA treatment. In summary, JuA exhibited substantial antidepressant effects on mice models of depression, significantly up-regulating the expression levels of hippocampal synaptic plasticity-related proteins, including BDNF, TrkB, CREB, PSD95, and Beclin1. This study establishes a theoretical foundation for the potential clinical application of JuA in treating depression. Additionally, it provides references for exploring therapeutic targets in pharmacy for depression.

Key words: Jujuboside A; depressed mice; antidepressant effect; synaptic plasticity

抑郁症是一类以显著而持久的心情低落为主要临床特征的心境障碍，多伴有不同程度的认知或行为改变，重度抑郁症患者甚至出现自残、自杀现象，严重影响患者的工作和生活^[1]。据不完全统计，目前全球约有 3.5 亿抑郁症患者，且抑郁症的发病率逐年升高^[2]。《人民日报》发布的《2022 年中国抑郁症蓝皮书》显示我国抑郁症患者总数的 30% 为 18 岁以下青少年，其中 50% 的抑郁症患者为在校学生，教育部已明确规定将抑郁症纳入学生健康体检内容中。抑郁症的主要临床表现包括注意力不集中、思维迟钝、学习记忆能力下降、精神情感障碍，甚至产生饮食睡眠障碍、行动能力受损、自残自杀倾向等^[3]。WHO 预计到 2030 年抑郁症将成为威胁人类健康的主要疾病之一^[4]。

目前学术界讨论的抑郁症发病机制主要包括神经递质假说、神经突触可塑性假说等。神经活动的基本方式是信号传导，神经信号传导依赖突触的相互连接。神经突触可塑性是指细胞突触的数量、形态结构、连接强度等在神经活动中具有可调节性，其对神经系统功能发挥和损伤修复，特别是对应激反应中脑内神经细胞适应外界刺激至关重要。研究发现，抑郁症的发生可能与神经突触可塑性变化相关，如抑郁症患者内侧前额叶皮质和海马的锥体神经元体积缩小或丢失；抑郁动物模型出现神经元萎缩、突触数量减少、内侧前额叶皮质及海马区神经突触的长度和分支数量降低等^[5]。表明神经突触可塑性可能是抑郁症发生发展和临床治疗的重要影响因素之一，应用药物干预等提高神经突触可塑性，对于抑郁症治疗药物和治疗策略的开发具有重要意义。

中药治疗情志类疾病具有靶点多、副作用小等优势，在抑郁症及其伴发症的治疗方面具有广阔的应用前景。酸枣仁为鼠李科植物酸枣 (*Ziziphus jujuba* Mill. Var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H.F.Chou) 的干燥成熟种子，是一味常用的药食两用的中药材，具有养心补肝，宁心安神之功效，临床常用于治疗虚烦不眠、焦虑、抑郁等^[6,7]。现代研究表明，酸枣

仁含有三萜皂苷类、黄酮类、生物碱类以及脂肪酸类等多种活性成分，具有镇静催眠、抗焦虑抑郁，以及抗心律失常、抗炎等多种药理作用^[8]。酸枣仁皂苷是酸枣仁的主要活性成分之一，其含量高，结构复杂，药理作用广泛，结构主要属于达玛烷型三萜皂苷^[9]。目前，对酸枣仁皂苷类成分的研究较为深入，已从中鉴定出包括酸枣仁皂苷 A (JuA)、酸枣仁皂苷 B (Jujuboside B) 等在内的十余种单体皂苷^[10,11]。JuA ($C_{58}H_{94}O_{26}$ ，结构式如图 1 所示) 是酸枣仁皂苷中发现较早研究较为深入的单体成分之一。学术界对酸枣仁药理作用的研究多集中在复方及其活性部位，如酸枣仁汤、酸枣仁合欢汤，酸枣仁总皂苷、总黄酮、总生物碱等，有关单体成分 JuA 的抗抑郁作用及机制研究尚不充分。本文通过慢性皮下注射皮质酮 (Corticosterone, CORT) 建立抑郁小鼠模型，同时灌胃给予 JuA 溶液进行干预，利用行为学实验考察 JuA 对抑郁模型小鼠的抗抑郁作用，并探究 JuA 对神经突触可塑性相关蛋白 BDNF、TrkB、CREB、PSD95、Beclin1 表达的影响，进而丰富酸枣仁在抑郁症治疗中的理论依据。

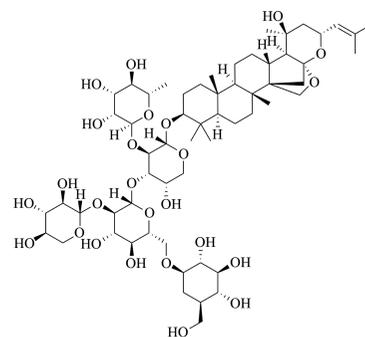


图 1 酸枣仁皂苷 A 的结构式

Fig.1 The structural formula of Jujuboside A

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药物

JuA (纯度 $\geq 97\%$ ，批号: Z18M11X113209)、

CORT (纯度 $\geq 98\%$, 批号: J24J11E116591) 购于上海源叶生物科技有限公司; 盐酸氟西汀 (批号: PV1015CCNP), 礼来苏州制药有限公司。

1.1.2 动物

雄性 C57BL/6 小鼠, 体质量 18~22 g, 购于长春市亿斯实验动物有限责任公司, 许可证号: SCXK (吉)-2020-0002。室温 (22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 湿度 $55\%\pm 10\%$, 自然采光, 给予充足食水, 适应性饲养 1 周后随机分组进行实验。本实验经长春中医药大学伦理委员会批准, 批准号: 2022657, 动物实验操作符合“4R”原则及动物实验相关规定。

1.1.3 试剂

浆蛋白提取试剂盒 (批号: 20201109), 北京索莱宝科技有限公司; 兔源 BDNF (批号: 28205-1-AP)、TrkB (批号: 13129-1-AP)、CREB 单克隆抗体 (批号: 12208-1-AP), 均购于武汉三鹰生物技术有限公司; BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (批号: 090120201214)、兔源 PSD95 单克隆抗体 (批号: AF1096)、兔源 Beclin1 多克隆抗体 (批号: AF5123)、辣根过氧化物酶 (HRP) 标记羊抗兔二抗 (批号: A0208)、SDS-PAGE 凝胶快速配制试剂盒 (批号: 052920201229)、超敏 ECL 化学发光试剂盒 (批号: 082020201230), 均购于上海碧云天生物技术有限公司。

1.1.4 仪器

OFT-100 小鼠开场活动实验视频分析系统、MT-200 Morris 水迷宫视频跟踪分析系统, 成都泰盟科技有限公司; 万分之一天平, 梅特勒托利多仪器有限公司; 台式高速低温离心机, 湖南湘仪实验仪器开发有限公司; 酶标仪、Mini-PROTEAN 垂直电泳槽、Trans-Blot 转印槽, 美国 BIO-RAD 公司; 化学发光凝胶成像仪, 美国 Aplegrn 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及造模给药

小鼠适应性饲养 7 d 后随机分成对照组、模型组、JuA 低剂量组 (10 mg/kg)、JuA 高剂量组 (30 mg/kg)、阳性药组 (盐酸氟西汀 20 mg/kg), 每组 8 只。实验期间, 除对照组外其余各组小鼠连续 28 d 皮下注射 CORT (40 mg/kg) 溶液致慢性抑郁。同时, JuA 低、高剂量组分别灌胃给予对应浓度的 JuA 溶液, 阳性药组给予盐酸氟西汀溶液, 对

照组、模型组给予等剂量生理盐水。

1.2.2 悬尾实验

将小鼠从距尾尖 1 cm 处用透明胶带固定倒悬, 头部距地面约 20 cm, 四周用挡板围定与周围环境隔离并保持安静。每只小鼠观察 5 min, 记录后 4 min 内小鼠放弃挣扎, 身体垂悬不扭动的时间, 即静止时间。

1.2.3 强迫游泳实验

将小鼠放入高 30 cm, 直径 15 cm 的透明圆柱形水桶中游泳 5 min, 桶内事先注入深约 20 cm, 温度 (23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 的清水。记录小鼠后 4 min 内四肢不划水, 静止漂浮于水面的时间, 即静止时间。

1.2.4 旷场实验

将小鼠放于底部长 50 cm, 宽 50 cm 的敞口箱的中央区域, 视频分析系统自动记录 5 min 内小鼠的活动轨迹和数据。实验时保持环境安静, 两只小鼠实验之间用体积分数 75% 酒精擦拭箱底, 清除排泄物及气味以免干扰实验结果。

1.2.5 Morris 水迷宫实验

水迷宫为直径 150 cm, 高 50 cm 的圆形水池, 分为四个象限, 水下逃逸平台随机设置在其中一个象限。实验时向水池内注入温度为 (23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 的清水 (用适量二氧化钛粉末染成奶白色) 至没过逃逸平台 1 cm 左右, 水池正上方为视频采集装置。造模给药 28 d 后将各组小鼠依次在 4 个象限内头朝池壁放入水池中, 记录小鼠在 90 s 内找到水下逃逸平台所用时间, 记为潜伏期, 并让小鼠在平台上停留 10 s; 若 90 s 内小鼠未找到水下逃逸平台则人为引导小鼠至平台停留 10 s, 并记录潜伏期为 90 s。每天训练 2 次, 连续训练 4 d, 使小鼠对平台位置形成空间记忆。训练结束后, 进行空间探索实验, 即撤掉水下逃逸平台, 依次将小鼠从原平台所在象限的对侧象限头朝池壁放入水池, 记录 90 s 内小鼠第一次穿越原平台所在位置的时间 (潜伏期), 以及穿越原平台位置的次数和穿越目标象限的次数。

1.2.6 免疫组化实验

水迷宫实验结束 2 h 后处死小鼠, 每组随机取 4 只于冰上取海马组织并用质量分数为 4% 的多聚甲醛灌注固定。石蜡切片经脱蜡水化、封闭、抗原修复后用 BDNF 抗体稀释液孵育, 4°C 环境下孵育过夜后加入二抗, 37°C 孵育 1 h。再经 DBA 显色、

苏木素染色、脱水、封片后在显微镜下观察并拍照,采用 Image-pro Plus 6.0 图像分析软件计算 BDNF 表达的平均光密度。

1.2.7 Western blot实验

小鼠处死后于冰上迅速取海马组织,冻存于 -80°C 超低温冰箱中备用。取冻存的小鼠海马组织,加入适量含质量分数 1% PMSF 的浆蛋白提取试剂,冰浴环境下匀浆,离心取上清。采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白后按 1:4 加入上样缓冲液,煮沸 10 min 即得蛋白样本。采用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 法,经上样、电泳、转膜、封闭、抗体孵育、化学发光成像等步骤分析目的蛋白表达情况。

1.3 数据分析

采用 GraphPad Prism 5 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组样本间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA),组间两两比较采用 LSD-t 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 JuA对抑郁模型小鼠悬尾实验和强迫游泳实验中静止时间的影响

与对照组相比,模型组小鼠静止时间显著增加 ($P<0.001$)。与模型组相比,JuA 低、高剂量组及阳性药组小鼠静止时间显著减少 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$ 或 $P<0.001$),结果见表 1。造模剂 CORT 是一种由肾上腺皮质分泌的甾体类激素,其对海马神经元的发育、分化及生理功能的发挥有着直接影响。在应激或衰老等情况下,血浆皮质酮水平升高,可导致海马组织形态异常或功能受损。研究表明,长期皮下注射 CORT 是一个可靠的制备慢性应激抑郁动物模型的方法^[12,13]。悬尾实验和强迫游泳实验是经

典的动物行为学实验,两项实验中的静止时间长短可反映模型动物的抑郁状态,静止时间越短表明其抑郁程度越轻^[14]。本实验中,模型组小鼠较对照组小鼠静止时间显著增加,表明利用 CORT 长期注射成功制备了抑郁小鼠模型,同时,JuA 低、高剂量组小鼠静止时间均显著减少表明 JuA 显著改善了模型小鼠的抑郁状态。

表 1 JuA对抑郁模型小鼠悬尾实验和强迫游泳实验中静止时间的影响

Table 1 Effects of JuA on immobility time in TST and FST of depression model mice ($n=8, \bar{x}\pm s$)

组别	悬尾实验 静止时间/s	强迫游泳实验 静止时间/s
对照组	42.63 ± 9.23	89.13 ± 8.01
模型组	$143.13 \pm 9.17^{***}$	$160.50 \pm 19.42^{***}$
JuA 低剂量组	$121.75 \pm 13.82^{##}$	$135.63 \pm 12.25^{#}$
JuA 高剂量组	$75.25 \pm 10.95^{###}$	$131.88 \pm 10.40^{##}$
阳性药组	$67.38 \pm 10.09^{###}$	$133.86 \pm 10.86^{##}$

注:与对照组相比,*** $P<0.001$;与模型组相比,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$,^{###} $P<0.001$ 。下表同。

2.2 JuA对抑郁模型小鼠旷场实验中行为的影响

与对照组相比,模型组小鼠的静止时间显著增加,运动总距离和中央区域运动时间显著减少 ($P<0.001$)。与模型组相比,JuA 低、高剂量组及阳性药组小鼠静止时间显著减少,运动总距离和中央区域运动时间显著增加 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$ 或 $P<0.001$),结果见图 2、表 2。旷场实验主要考察小鼠的自主活动情况,进而反映其抑郁状态,单位时间内小鼠的静止时间越短、运动总距离越长、中央区域运动时间越长代表小鼠的抑郁程度越轻^[15]。在本实验中,JuA 显著缩短了模型小鼠的静止时间,增加了其运动总距离和中央区域运动时间,表明 JuA 显著改善了 CORT 诱导的模型小鼠的抑郁状态。

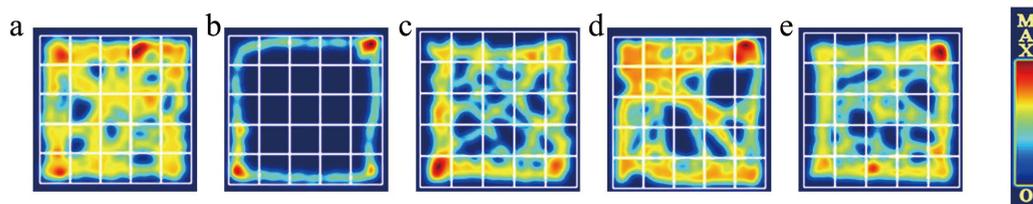


图 2 小鼠旷场实验热图

Fig.2 Thermal imaging of mice trajectory in OFT

注:(a) 对照组;(b) 模型组;(c) JuA 低;(d) JuA 高;(e) 阳性药组。

表 2 JuA对抑郁模型小鼠旷场实验中行为的影响

组别	静止时间/s	运动总距离/cm	中央区域运动时间/s
对照组	104.38 ± 9.60	2 224.50 ± 172.68	44.63 ± 7.74
模型组	164.50 ± 13.44 ^{***}	1 105.13 ± 139.73 ^{***}	11.50 ± 2.96 ^{***}
JuA 低剂量组	148.13 ± 6.94 [#]	1 375.63 ± 138.58 [#]	25.25 ± 4.76 ^{##}
JuA 高剂量组	145.13 ± 8.84 ^{##}	1 777.38 ± 122.00 ^{###}	33.75 ± 6.48 ^{###}
阳性药组	130.38 ± 10.99 ^{###}	1 684.25 ± 143.19 ^{###}	37.25 ± 5.91 ^{###}

表 3 JuA对抑郁模型小鼠Morris水迷宫实验中行为的影响

组别	潜伏期/s	运动速度/(cm/s)	穿越平台次数	穿越目标象限次数
对照组	17.75 ± 3.93	13.70 ± 1.66	2.63 ± 0.70	7.50 ± 1.80
模型组	82.75 ± 9.01 ^{***}	6.00 ± 1.21 ^{***}	0.63 ± 0.70 ^{***}	2.13 ± 1.27 ^{***}
JuA 低剂量组	38.50 ± 6.48 ^{###}	9.00 ± 1.86 [#]	1.75 ± 0.66	4.88 ± 0.78 ^{##}
JuA 高剂量组	28.13 ± 6.95 ^{###}	10.00 ± 2.28 ^{##}	2.38 ± 0.86 ^{##}	6.38 ± 0.99 ^{###}
阳性药组	24.13 ± 4.14 ^{###}	11.30 ± 1.50 ^{###}	3.25 ± 0.97 ^{###}	6.50 ± 1.00 ^{###}

2.3 JuA对抑郁模型小鼠Morris水迷宫实验中行为的影响

与对照组相比,模型组小鼠潜伏期显著延长,运动速度、穿越平台次数、穿越目标象限次数显著减少 ($P<0.001$)。与模型组相比,除 JuA 低剂量组小鼠穿越平台次数差异无统计学意义外, JuA 低、高剂量组及阳性药组小鼠潜伏期显著缩短,运动速度、穿越平台次数、穿越目标象限次数显著增加 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$ 或 $P<0.001$),结果见图 3、表 3。

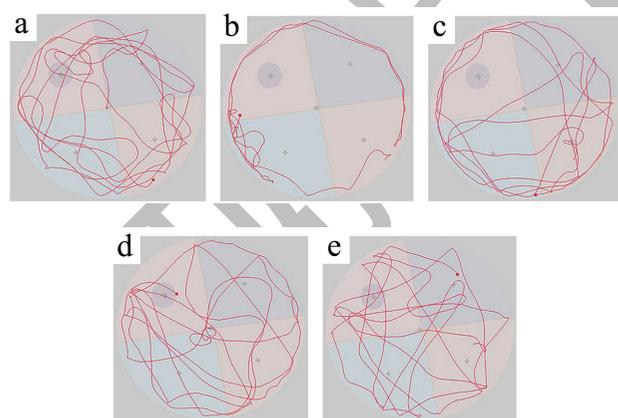


图 3 小鼠 Morris 水迷宫实验运动轨迹图

Fig.3 Movement trajectory of mice in MWM

注: (a) 对照组; (b) 模型组; (c) JuA 低; (d) JuA 高; (e) 阳性药组。

抑郁症常伴随学习和记忆功能障碍,通过考察模型小鼠的学习和记忆能力也能反映其抑郁状态。Morris 水迷宫实验通过反复训练使小鼠形成获得性

记忆,然后撤去逃逸平台后通过考察其潜伏期(第一次穿过原平台位置的时间)、穿越原平台位置次数、穿越目标象限次数等反映各组小鼠的空间记忆能力,进而间接反映其抑郁状态。小鼠模型潜伏期越短、单位时间内穿越平台和目标象限的次数越多,则其学习记忆能力越好,抑郁程度越轻^[16]。本实验中, JuA 显著缩短模型小鼠的潜伏期,并显著增加其穿越原平台位置和目标象限的次数,即 Morris 水迷宫实验结果表明 JuA 显著改善了 CORT 诱导的模型小鼠的抑郁状态。

2.4 JuA对抑郁模型小鼠海马组织BDNF蛋白表达的影响

与对照组相比,模型组小鼠海马组织 BDNF 蛋白表达水平显著下降 ($P<0.001$)。与模型组相比, JuA 低、高剂量组及阳性药组小鼠海马组织 BDNF 表达水平显著升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$ 或 $P<0.001$),其中 JuA 高剂量组的 BDNF 上调最为显著(上调了 190.23%),结果见图 4。神经突触是神经元之间相互连接的“中介”,是神经信号传导的物质基础。神经突触可塑性是指突触的形态结构可随神经元的活动而发生改变,其被认为是信号传导、学习认知、记忆形成等的必要条件^[17]。研究发现,脑源性神经营养因子(BDNF)是一种具有神经营养作用的分泌型碱性蛋白,其主要在中枢神经系统内表达,具有营养神经,促进神经发生和神经细胞存活、分化,增加突触可塑性等作用^[18]。学术界对

BDNF 与抑郁症之间的联系研究较为深入, 通过考察脑卒中后抑郁动物模型、产后抑郁模型、慢性不可预知温和刺激模型等发现, 抑郁模型血清或海马组织中 BDNF 水平均有不同程度下降, 抗抑郁药物干预后 BDNF 水平显著上升^[19-21]。本实验结果表明, JuA 显著提高了模型小鼠海马组织中 BDNF 的表达水平, 结合行为学实验结果提示 JuA 具有较为显著的抗抑郁作用。

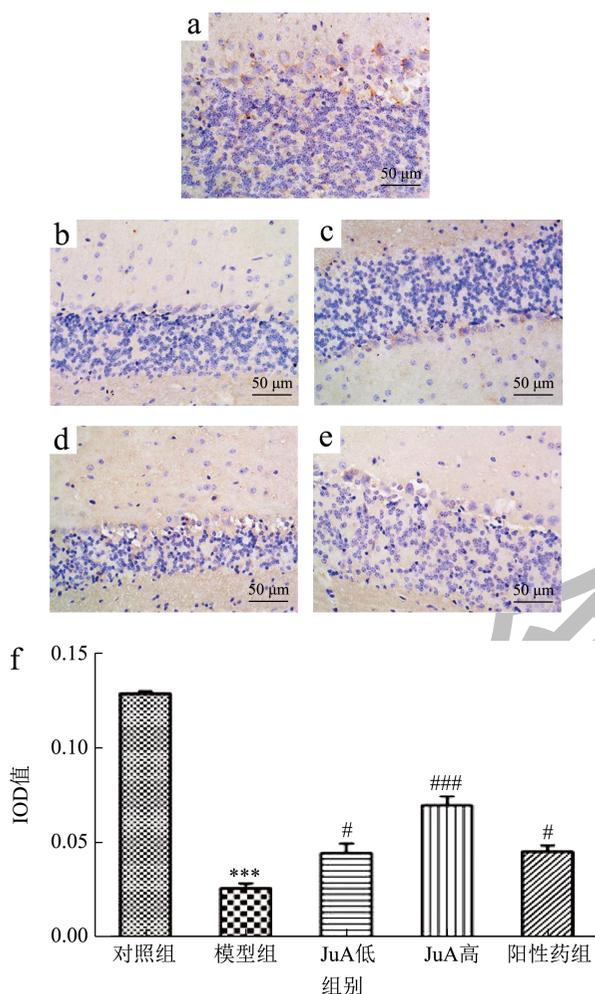


图4 JuA对抑郁模型小鼠海马组织BDNF蛋白表达的影响
Fig.4 Effects of JuA on BDNF protein expression in hippocampus of depression model mice (IHC, ×200)

注: 与对照组相比, *** $P < 0.001$; 与模型组相比, # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$ 。下图同。(a) 对照组;(b) 模型组;(c) JuA低;(d) JuA高;(e) 阳性药物;(f) 各组 IOD 值。

2.5 JuA对抑郁模型小鼠海马组织TrkB、CREB、PSD95、Beclin1蛋白表达影响

与对照组相比, 模型组小鼠海马组织 TrkB、CREB、PSD95、Beclin1 蛋白表达水平显著下降 ($P < 0.001$)。与模型组相比, JuA 低、高剂量组

及阳性药组小鼠海马组织 TrkB、CREB 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 其中 JuA 高剂量组 TrkB、CREB 蛋白表达水平分别上调 137.24%、76.29%; 此外, JuA 高剂量组小鼠海马组织 PSD95、Beclin1 表达水平显著升高, 分别上调了 169.32%、82.53% ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$); JuA 低剂量组及阳性药组小鼠海马组织 PSD95、Beclin1 蛋白表达水平差异无统计学意义, 结果见图 5。

现有研究发现, 酪氨酸激酶受体 B (TrkB) 是 BDNF 的特异性受体, 二者结合后在神经细胞生存、突触生长分化、突触可塑性等方面发挥重要作用^[22]。环磷腺苷效应元件结合蛋白 (CREB) 是核转录因子家族中的一员, 具有促进神经细胞存活、分化及突触发生的作用, BDNF 通过诱导 CREB 的表达发挥神经保护作用, 对于维持神经突触可塑性具有重要意义^[23]。突触后致密蛋白 95 (PSD95) 是突触后膜上重要的支架蛋白, 具有维持突触连接状态、集中信号、参与受体信号传导、调节突触可塑性等重要作用, 是中枢神经系统突触可塑性的标志蛋白之一^[24]。此外, 研究表明神经自噬与突触可塑性密切相关, 提高脑内自噬水平有助于清除神经细胞内受损的细胞器或未成功折叠的蛋白分子, 有利于突触后特定蛋白的更新, 增加突触可塑性。自噬关键调控蛋白 Beclin1 是哺乳动物体内首个被发现的调控自噬的标志蛋白, 通过诱导自噬促进细胞代谢和稳态, 进而维持神经突触可塑性^[25,26]。本实验中, 模型组小鼠在行为学实验中表现出明显的抑郁状态, 且其海马组织 BDNF、TrkB、CREB、PSD95 及 Beclin1 蛋白表达水平较对照组显著下降, 灌胃给予高浓度 JuA 溶液干预的小鼠抑郁状态显著改善, 且上述蛋白的表达水平均显著升高, 表明 CORT 显著影响了模型小鼠的突触可塑性相关蛋白的正常表达, JuA 可能通过回调上述神经突触可塑性相关蛋白的表达改善模型小鼠的抑郁状态。有趣的是, 在本实验中阳性药物盐酸氟西汀虽然对抑郁模型小鼠的抑郁状态有明显改善, 但其对 PSD95、Beclin1 蛋白表达的促进作用无统计学意义 ($P > 0.05$), 这可能与盐酸氟西汀主要通过抑制神经突触间隙 5-HT 的再摄取而起到抗抑郁作用相关^[27]。本实验通过检测突触可塑性相关蛋白的表达, 间接反映 JuA 对模型小鼠神经突触可塑性的可能影响, 初步探究了 JuA 与突触可塑性相关的抗抑郁机制。

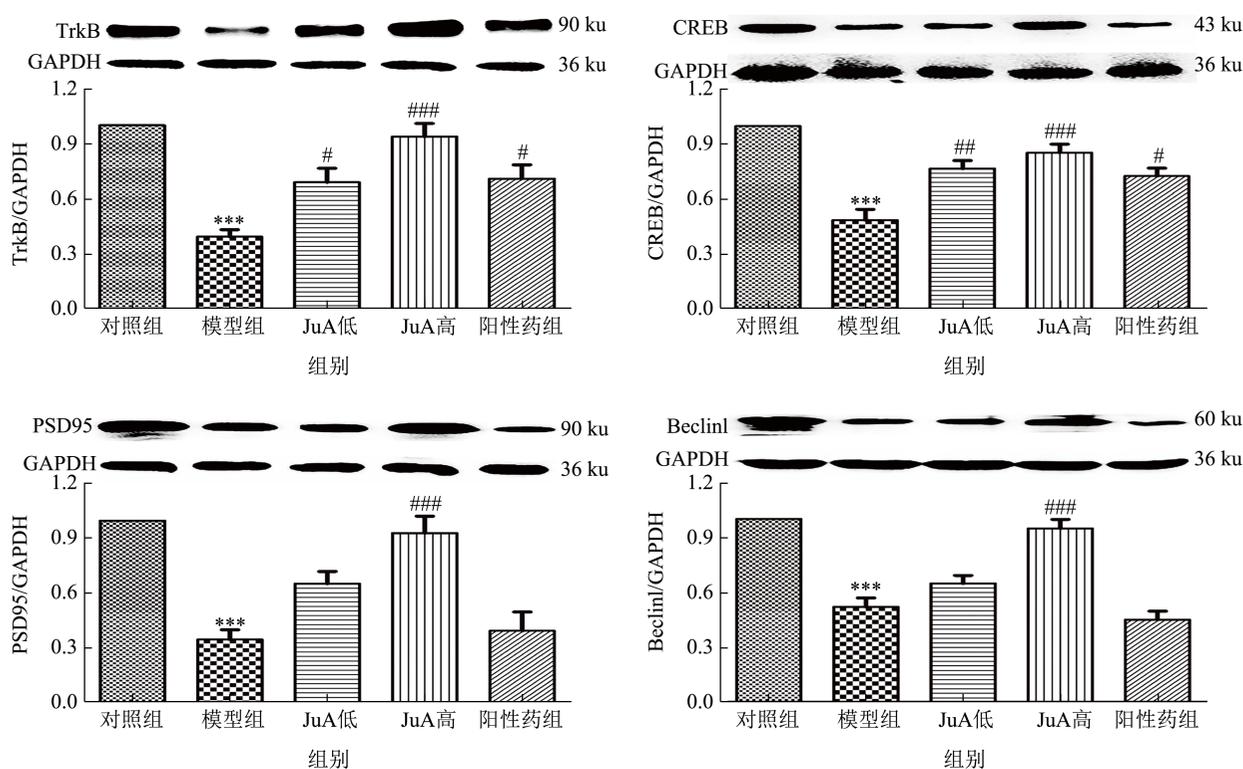


图5 JuA对抑郁模型小鼠海马组织 TrkB、CREB、PSD95、Beclin1 蛋白表达的影响

Fig.5 Effects of JuA on TrkB, CREB, PSD95, Beclin1 protein expression in hippocampus of depression model mice ($n=8$, $\bar{x}\pm s$)

3 结论

本文通过行为学实验研究发现 JuA 能显著改善 CORT 诱导的抑郁模型小鼠的抑郁状态, 并显著提高神经突触可塑性相关蛋白的表达水平。综上所述, JuA 对抑郁模型小鼠具有显著的抗抑郁作用, 其作用机制可能与上调 BDNF、TrkB、CREB、PSD95 及 Beclin1 等突触可塑性相关蛋白的表达, 进而提高神经突触可塑性有关。本实验为酸枣仁在抑郁症治疗方面的进一步开发利用提供了一定的理论依据。

参考文献

- [1] 嵇威, 盛桂华, 陈炫宏, 等. 黑果腺肋花楸多酚对抑郁症小鼠肠道菌群及大脑BDNF水平作用机理的探讨[J]. 现代食品科技, 2022, 38(6): 46-54.
- [2] CHAN C K, TIAN F, PIMENTEL M D, et al. Depression in multiple sclerosis across the adult lifespan [J]. *Mult Scler*, 2021, 27(11): 1771-1780.
- [3] TANG C, HU J. HDAC1-mediated microRNA-124-5p regulates NPY to affect learning and memory abilities in rats with depression [J]. *Nanoscale Res Lett*, 2021, 16(1): 28.
- [4] CHEN G, GUO X. Neurobiology of Chinese herbal medicine on major depressive disorder [J]. *Int Rev Neurobiol*, 2017, 135: 77-95.
- [5] DUMAN R S, AGHAJANIAN G K. Synaptic dysfunction

in depression: potential therapeutic targets [J]. *Science*, 2012, 338(6103): 68-72.

- [6] 张明远, 许二平, 尚立芝, 等. 酸枣仁汤及其组分治疗抑郁症的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(6): 48-54.
- [7] 江莺. 酸枣仁饮片炮制、质量分析和临床应用的研究[J]. 中医药管理杂志, 2022, 30(3): 23-25.
- [8] ZHANG Y, QIAO L, SONG M, et al. HPLC-ESI-MS/MS analysis of the water-soluble extract from *Zizyphi spinosae* semen and its ameliorating effect of learning and memory performance in mice [J]. *Pharmacogn Mag*, 2014, 10(40): 509-516.
- [9] 韩鹏, 李冀, 胡晓阳, 等. 酸枣仁的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 中医药学报, 2021, 49(2): 110-114.
- [10] OTSUKA H, AKIYAMA T, KAWAI K, et al. The structure of jujubosides A and B, the saponins isolated from the seeds of *Zizyphus jujuba* [J]. *Phytochemistry*, 1978, 17(8): 1349-1352.
- [11] 王建忠, 杨劲松. 酸枣仁中三萜皂苷的分离和结构研究[J]. 有机化学, 2008, 1: 69-72.
- [12] BURKE S J, BATDORF H M, HUANG T Y, et al. One week of continuous corticosterone exposure impairs hepatic metabolic flexibility, promotes islet beta-cell proliferation, and reduces physical activity in male C57BL/6 J mice [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2019, 195: 105468.
- [13] 张绘宇, 赵玉男, 王中立. 长期注射皮质酮致慢性应激抑郁小鼠海马星形胶质细胞和突触结构可塑性的变化[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2016, 25(1): 13-18.

- [14] 黄梦娇,乔旺,汪颖姣,等. β -细辛醚对抑郁模型小鼠的快速抗抑郁作用[J].现代食品科技,2020,36(1):16-21.
- [15] SHEN Y, GUAN S, GE H, et al. Effects of palmatine on rats with comorbidity of diabetic neuropathic pain and depression [J]. Brain Res Bull, 2018, 139: 56-66.
- [16] XU F, HE B, XIAO F, et al. Neuroprotective effects of spinosin on recovery of learning and memory in a mouse model of alzheimer's disease [J]. Biomolecules & Therapeutics, 2019, 27(1): 71-77.
- [17] STYR B, SLUTSKY I. Imbalance between firing homeostasis and synaptic plasticity drives early-phase Alzheimer's disease [J]. Nat Neurosci, 2018, 21(4): 463-473.
- [18] 王硕,李伟,王浩,等.基于BDNF/TrkB介导的海马突触可塑性研究补肝散对衰老大鼠学习记忆功能的影响[J].北京中医药大学学报,2021,44(4):323-331.
- [19] 袁志鹰,李哲,林美好,等.百合鸡子汤通过BDNF/TrkB介导的PI3K/Akt/mTOR信号通路对CUMS大鼠抗抑郁的影响[J].中成药,2021,43(3):778-782.
- [20] 吴志鹏,王永盛,王萃莉,等.活血解郁汤结合氟西汀对卒中后抑郁血清脑源性神经营养因子的影响[J].中华中医药学刊,2021,39(2):185-188.
- [21] 夏宝妹,陈畅,唐娟娟,等.越鞠甘麦大枣汤对产后抑郁小鼠前额叶BDNF-TrkB通路的影响[J].南京中医药大学学报,2020,36(2):211-214.
- [22] 甘世明,金戈.BDNF信号通路调节学习记忆的研究进展[J].中国老年学杂志, 2019,39(13):3325-3330.
- [23] ESVALD E E, TUVIKENE J, SIRP A, et al. CREB family transcription factors are major mediators of BDNF transcriptional autoregulation in cortical neurons [J]. J Neurosci, 2020, 40(7): 1405-1426.
- [24] 王晓燕,侯爱生,宋玉祥,等.小鼠学习记忆能力及海马区突触功能相关蛋白BDNF、PSD95、GluA1的增龄性变化[J].解放军医学院学报,2020,41(8):808-812.
- [25] 张汉斌,潘越,汪洋,等.突触可塑性中自噬的功能和分子机制[J].生命科学,2020,32(7):731-737.
- [26] 郝莉,徐玉英,郭春霞,等.Becn1在银杏酮酯改善衰老大鼠学习记忆中的作用[J].上海中医药大学学报,2018,32(5):45-49.
- [27] 孟霜,冯振宇,马小娟,等.温阳解郁颗粒对抑郁模型大鼠行为学和血清中单胺类神经递质水平的影响[J].中国药房,2019,30(23):3226-3231.