

柴郁温胆汤及其拆方对抑郁大鼠血清 ACTH、COR 及海马 cAMP 的影响

周志华¹ 周海虹² 陆 汎² 韩咏竹¹ 胡纪源¹ 王 训¹

1. 安徽中医学院神经病学研究所 合肥 230061 2. 厦门大学医学院中医系

摘要: [目的] 探讨柴郁温胆汤及其拆方对抑郁大鼠血清 ACTH、COR 和海马 cAMP 的影响。[方法] 健康雄性 SD 大鼠 84 只, 随机分为正常组、模型组、柴郁温胆汤组、化痰组、调气血组、养心脾组、马普替林组。参照 Katz 刺激方法制备慢性轻度不可预见性应激(CUMS)抑郁模型。采用放射免疫法测血清 ACTH、COR 和大鼠海马 cAMP 含量。[结果] 与正常组相比, 模型组大鼠血清 ACTH 和 COR 水平明显升高、海马 cAMP 含量明显降低。同模型组相比, 柴郁温胆汤组及调气血组能明显降低 ACTH 浓度 ($P < 0.05$); 柴郁温胆汤组、化痰组和调气血组均能显著降低 COR 浓度 ($P < 0.01$); 柴郁温胆汤组、化痰组和马普替林组均能够显著提升大鼠海马 cAMP 的含量 ($P < 0.01$)。[结论] 慢性轻度不可预见性应激可以导致大鼠血清 ACTH 和 COR 水平升高; 海马 cAMP 含量下降, 柴郁温胆汤可以逆转这种改变, 其中以调气血和化痰药作用为主, 其机制可能与其参与调节 HPA 轴功能和细胞内信号传导有关。

关键词: 柴郁温胆汤; 组分; 抑郁症; HPA 轴; ACTH; COR; cAMP

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1005-5509(2010)01-0058-03

Effects of the Traditional Chinese Drug Chaiyuwendantang (CYWDT) and Its Component on the Plasm Levels of ACTH, COR and cAMP in Hippocampus of Depressed Mode Zhou Zhihua¹, Zhou Haihong², Lun Fan², et al 1. Institute of Neurology; Anhui College of TCM, Hefei (230061), China; 2. Medical College of Xiamen University

Abstract: [Objective] To explore the effects of the traditional Chinese drugs Chaiyuwendantang (CYWDT) and its component on the plasm levels of ACTH, COR and cAMP in hippocampus of depressed mode. [Methods] Eighty-four male rats were divided into seven groups: control group, depressed model group, group of CYWDT, group of HuaTan, group of TiaoQiXue, group of YangXinPi, group of maprotiline equally and made up models in chronic unpredictable mild stress (CUMS). The plasm levels of ACTH, COR and the level of cAMP in hippocampus were detected by radioimmunoassay. [Results] We found that the plasm levels of ACTH, COR were significantly increase and cAMP in hippocampus was significantly decreased in depression model of rat. CYWDT and TiaoQiXue could significantly decreased the level of ACTH ($P < 0.05$); CYWDT, HuaTan and TiaoQiXue could significantly decreased the level of COR ($P < 0.01$). CYWDT, HuaTan and TiaoQiXue could significantly increase the level of cAMP in hippocampus. [Conclusion] Chronic unpredictable mild stress can increase the plasm levels of ACTH, COR and the level of cAMP in hippocampus of depression rats. CYWDT could reverse all the changes. The mechanism maybe relatd to regulate hypothalamic-pituitary-adrenal axis and signal transmission in cell.

Key words: Chaiyuwendantang; component; depression; hypothalamic-pituitary-adrenal axis; adrenocorticotrophic hormone; cortisol; cyclic adenosine monophosphate

抑郁症 (depression) 是最常见的心境障碍, 严重威胁人类的身心健康。我们在前期研究中证实柴郁温胆汤对脑单胺类神经递质代谢紊乱具有良好的调节作用, 且可明显增加大鼠海马部位 PKA 表达^[1]。本实验拟观察柴郁温胆汤及其拆方对抑郁大鼠血清 ACTH、COR 和海马 cAMP 的影响。并与四环类抗抑郁药马普替林相对照, 现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 实验动物: 健康 Sprague-Dawley (SD) 雄性大鼠 84 只, 体重 (180 ± 20) g, 由南京医科大学实验动物中心提供 (许可证号: SCXK(苏) 2002-0031)。所有大鼠均用普通饲料喂养两周后开始造模。(2) 实验药品: 柴郁温胆汤组 (柴胡、郁金、半夏、陈皮、竹茹、枳实、人参、茯苓、炙甘草) 浓度为 1.84g

生药量/ml。化痰组 (半夏、陈皮、竹茹) 浓度为 0.64g 生药量/ml。调气血组 (柴胡、郁金、枳实) 浓度为 0.6g 生药量/ml。养心脾组 (人参、茯苓、炙甘草、大枣) 浓度为 0.5g 生药量/ml。以上药物的煎制和浓缩均手工操作, 所用煎药器具为陶瓷制品以保证药物在煎制过程中的稳定性。浓缩后的药物中每种单味药的浓度在整方和拆方中均相同, 以保证各组实验结果的可比性。盐酸马普替林 (北京诺华制药有限公司生产, 国药准字 H19991047) 用去离子双蒸水配制成 1mg/ml 药物混悬液。(3) 主要实验试剂和仪器 促肾上腺皮质激素 (adrenocorticotrophic hormone ACTH) 放射免疫分析试剂盒 (北京北方生物技术研究所)、皮质醇 (cortisol COR) 放射免疫分析试剂盒 (北京华英室温技术研究所)、环磷酸腺苷 (cyclic a-

基金项目: 厦门市卫生局医学科资助项目 (No: WSK0535)

Fund project: Item supported by Medical Sci - research of Xiamen Municipal Health Bureau (No: WSK0535)

denosine monophosphate cAMP)放射免疫分析试剂盒(上海中医药大学核医学试验室)。仪器:GC-911-放射免疫计数器(科大创新股份有限公司中佳分公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及给药 选取 Open-field 评分相近的大鼠 84 只,随机分为正常组、模型组、柴郁温胆汤组、化痰组、调气血组、养心脾组、马普替林组,每组 12 只。各治疗组在应激的第 2 天开始均按提取液(浓缩后)1ml/100g 灌胃给药;模型组和正常组给予等量生理盐水。每天上午 8 时给药 1 次,持续至实验的第 23 天。

1.2.2 模型制备 正常组每笼饲养 6 只,正常摄水饮食,不给任何刺激。其余各组,每只均单笼饲养,并接受 21 天各种不同的应激刺激,参照 Katz 方法^[2],每天随机给予一种刺激。使大鼠不能预料刺激的发生,以避免产生适应。

1.2.3 行为学测定 Open-field 法测定行为 所用自制敞箱规格为高 40cm、直径 80cm 的内空圆柱桶,周壁为黑色,地面用黑线划分为面积相等的 25 块。以动物四肢完全进入一个分区作为一个水平活动(crossing)得分、以双前肢完全抬离地面至放下作为一次垂直活动(rearing)得分、以及观察大鼠的理毛(修饰)次数和大便颗粒数。每只动物仅进行一次测

定,每次观察 3min。

1.2.4 糖水消耗实验 在实验第 22 天所有实验大鼠均单笼饲养并禁食和禁水,只给 1%蔗糖溶液 150ml,计算大鼠 24h 饮用 1%蔗糖溶液量。

1.2.5 大鼠血清 ACTH 和 COR 测定 用 10%水合氯醛(0.36ml/100g)给大鼠腹腔注射,麻醉后开腹,腹主动脉抽取血液 5ml,待测 ACTH 和 COR。按试剂盒方法要求分离血清,采用 125I 标记放免法测定。

1.2.6 大鼠海马 cAMP 含量测定 按大鼠脑立体定向图谱(包新民等编著,人民卫生出版社,1991 年)定位,冰上分离大鼠一侧海马,装于冻存管并立即投入液氮中,待固化后称重,放入 -86℃ 冰箱保存待测。检测时海马置于 pH4.75 的醋酸缓冲液中匀浆,加入无水乙醇沉淀蛋白,离心取上清液。采用 125I 标记放免法测定 cAMP 含量。

1.3 统计学方法 所有数据均以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。用 SPSS11.5 统计软件对两组间均数进行两独立样本 *t* 检验和 *F* 检验。

2 结果

各组大鼠行为学变化,见表 1。各组大鼠糖水消耗量变化,见表 2。各组大鼠血清 ACTH 和 COR 及海马 cAMP 含量的变化,见表 3。

表 1 柴郁温胆汤及其组分对大鼠行为学评分的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	水平得分		垂直得分		修饰次数		大便颗粒数	
		d1	d21	d1	d21	d1	d21	d1	d21
正常组	10	62.9 ± 12.6	63.7 ± 15.8	12.0 ± 4.7	12.7 ± 5.9	4.6 ± 1.8	6.3 ± 1.7	3.5 ± 1.4	4.7 ± 2.5
模型组	10	61.1 ± 17.5	48.4 ± 13.1	12.9 ± 6.3	7.2 ± 3.1	4.3 ± 3.7	3.5 ± 1.6	3.7 ± 2.9	2.5 ± 1.4
柴郁汤组	10	60.2 ± 10.2	66.3 ± 8.7	12.5 ± 6.7	14.6 ± 6.9	4.0 ± 3.2	6.1 ± 2.0	3.1 ± 1.4	5.1 ± 2.4
化痰组	10	60.2 ± 10.8	63.5 ± 12.3	12.8 ± 4.3	11.8 ± 5.4	4.4 ± 1.6	5.8 ± 2.2	3.7 ± 1.8	3.7 ± 1.7
调气血组	10	65.2 ± 12.0	56.9 ± 11.5	12.4 ± 3.0	12.3 ± 4.9	4.3 ± 1.0	3.2 ± 1.6	3.4 ± 1.6	4.9 ± 2.1
养心脾组	10	63.5 ± 12.4	52.1 ± 12.9	12.7 ± 3.5	8.6 ± 4.1	4.5 ± 1.5	2.8 ± 1.9	3.3 ± 2.0	4.5 ± 3.0
马普替林	10	63.8 ± 14.3	66.2 ± 23.0	12.5 ± 5.7	13.9 ± 7.9	4.8 ± 1.9	6.2 ± 2.7	3.4 ± 1.9	4.2 ± 2.2

与正常组比较 $P < 0.05$, $P < 0.01$;与模型组比较 $P < 0.05$, $P < 0.01$

表 2 柴郁温胆汤及其组分对大鼠糖水消耗量的影响($\bar{x} \pm s$)。

组别	n	糖水消耗量(ml/24h)
正常组	10	54.0 ± 3.0
模型组	10	44.6 ± 1.8
柴郁温胆汤组	10	52.8 ± 5.8
化痰组	10	48.4 ± 3.8
调气血	10	47.1 ± 3.2
养心脾组	10	48.8 ± 3.2
马普替林组	10	50.3 ± 4.3

与正常组比较 $P < 0.05$, $P < 0.01$;与模型组比较 $P < 0.05$, $P < 0.01$

表 3 柴郁温胆汤及其组分对大鼠血清 ACTH、COR 和海马 cAMP 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ACTH(pg/ml)	COR(ng/ml)	cAMP(pmol/ml)
正常组	6	10.3 ± 3.1	11.3 ± 4.2	0.76 ± 0.11
模型组	6	17.5 ± 2.5	20.2 ± 3.6	0.48 ± 0.10
柴郁温胆汤	6	9.3 ± 1.7	11.4 ± 2.4	0.82 ± 0.08
化痰组	6	15.8 ± 5.3	10.5 ± 3.0	0.69 ± 0.11
调气血组	6	12.4 ± 2.9	10.2 ± 3.9	0.49 ± 0.10
养心脾组	6	18.8 ± 4.1	21.8 ± 5.6	0.49 ± 0.05
马普替林	6	10.7 ± 3.2	14.9 ± 3.7	0.73 ± 0.15

与正常组比较 $P < 0.05$, $P < 0.01$;与模型组比较 $P < 0.05$, $P < 0.01$

3 讨论

(下转第 61 页)

周志华,等:柴郁温胆汤及其组分对抑郁大鼠血清 ACTH、COR 及海马 cAMP 的影响

组均能延长呕吐潜伏期 ($P < 0.05$), 半夏厚朴汤高剂量组、阳性组能降低呕吐次数 ($P < 0.05$), 见表 1。在对胃肠激素影响方面, 半夏厚朴汤高剂量组、阳性对照组、空白组中 EGF 含量均显著高于模型组 ($P < 0.01$), 半夏厚朴汤高低剂量组、空白组、阳性组外周血中 Gas 的含量均低于模型组 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 1 半夏厚朴汤对顺铂所致家兔呕吐的

组别	n	止呕作用($\bar{x} \pm s$)	
		呕吐潜伏期(min)	呕吐次数(次/4h)
空白组	6	—	0
模型组	6	12.2 ± 4.60	16.6 ± 7.16
低剂量组	6	24.4 ± 9.91 [*]	9.4 ± 3.65
高剂量组	6	22.6 ± 5.57 [*]	9 ± 2.64 [*]
阳性组	6	34.6 ± 11.55 [*]	8.8 ± 2.39 [*]

与模型组相比, * $P < 0.05$

表 2 半夏厚朴汤对化疗呕吐家兔外周血中 EGF、Gas 的影响($\bar{x} \pm s, \text{ng/ml}$)

组别	n	EGF	Gas
空白组	6	1309.39 ± 70.27 ^{**}	5.32 ± 0.18 [*]
模型组	6	2479.97 ± 448.60	8.40 ± 2.62
低剂量组	6	1836.49 ± 898.75	5.54 ± 0.28 [*]
高剂量组	6	1292.32 ± 49.79 ^{**}	5.32 ± 0.21 [*]

与模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3 讨论

实验结果表明, 与模型组相比, 半夏厚朴汤能有效地延长顺铂对家兔呕吐的潜伏时间, 明显降低家兔在一定时间内呕吐次数, 从药效学肯定了半夏

(上接第 59 页)

对于抑郁大鼠的行为学观察多采用经典的 Open-field 法, 目前比较肯定的观察指标是大鼠的水平运动得分和垂直运动得分。本试验观察了大鼠的修饰次数以及大便颗粒数。其中水平得分代表动物的活动度; 垂直得分代表动物对新鲜事物的好奇程度和对外界环境的探究兴趣^[2]。修饰次数代表了动物对周围环境和自身的关注程度, 大便颗粒数反应了 CUMS 抑郁模型大鼠是否有便秘的抑郁症常见并发症。结果显示复方柴郁温胆汤能够显著提升抑郁模型大鼠的水平得分、垂直得分、修饰次数和大便颗粒数。相对于马普替林, 更是显示了少或无马普替林的抗胆碱能副作用—便秘。

本实验研究观察到模型组大鼠血清 ACTH 和 COR 浓度较正常组显著增高, 与上述文献报道一致, 这也进一步证实模型组大鼠存在 HPA 轴功能亢进。柴郁温胆汤组和调气血组能够逆转 ACTH 的升高; 柴郁温胆汤组、化痰组和调气血组能逆转大鼠

厚朴汤对抗呕吐的有效性。从实验中也发现, 半夏厚朴汤高剂量组的止呕效果明显优于低剂量组, 说明中药疗效与其剂量之间的关系密切, 但与阳性对照组(恩丹西酮)没有明显差别。

胃泌素(GAS)由 G 细胞分泌, 能促进胃酸和胃蛋白酶分泌。以往研究表明, 大多数细胞毒性药物均可刺激胃肠道黏膜, 引起黏膜损伤, 导致胃肠黏膜释中的嗜铬细胞释放大量的 5-HT, 与 5-HT₃ 受体结合产生神经冲动由迷走传入神经传入呕吐中枢导致呕吐^[3]。因此, 若能有效地减少胃泌素的分泌, 促进胃肠排空, 保护胃黏膜, 减少局部炎症充血溃疡, 控制胃肠黏膜对 5-HT 的释放, 将会有效地控制化疗产生的呕吐。实验中发现, 半夏厚朴汤能升高家兔血清中 EGF 的含量, 降低胃泌素的含量, 说明半夏厚朴汤能有效地防治化疗呕吐, 可能与其能有效的抑制胃肠分泌胃酸, 加快胃肠排空, 增加黏膜血流, 保护胃肠黏膜微血管有关。

参考文献:

- [1] 张再康, 白建乐, 韩晓, 等. 连苏止呕胶囊对化疗呕吐家兔胃肠激素和神经递质的影响[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(5): 585.
- [2] 冯泳. 小半夏加茯苓颗粒对化疗呕吐家兔胃动素的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(1): 175-177.
- [3] 林干鹤子. 抗癌药物毒副反应的对策[J]. 日本医学介绍, 2001, 22: 491.

(收稿日期 2009-11-05)

COR 水平的增高; 马普替林组能够同时逆转 ACTH 和 COR 的升高。说明柴郁温胆汤具有调节 HPA 轴功能紊乱的作用, 强度与马普替林相似, 其中起主要作用的是化痰和调气血组分。

cAMP 是细胞内第二信使, 可介导多种细胞内激素、神经递质及其他信号分子的作用。本试验研究表明, 模型组大鼠海马 cAMP 含量较正常组明显降低。柴郁温胆汤组、化痰组、马普替林组均能够逆转这种改变, 提示柴郁温胆汤参与了细胞信号通路的调节, 其中起主要作用的是化痰药, 可能为其抗抑郁机理之一。

参考文献:

- [1] 周海虹, 陆汎, 陈艳玲, 等. 方剂学现代研究[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 25.
- [2] Gregus A, Wintink AJ, Davis AC, et al. Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats[J]. Behav Brain Res, 2005, 156(1): 105-114.

(收稿日期 2008-01-20)