

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.04.016

颞脑解郁复方对卒中后抑郁大鼠海马神经发生及 Notch 信号通路的影响

田会玲¹, 李小黎[✉], 唐启盛¹, 赵瑞珍¹, 张雯¹, 高誉珊², 李庆盟¹, 孙新月¹, 梁子钰¹

(1. 北京中医药大学第三附属医院, 北京市朝阳区安外小关街 51 号; 100029; 2. 北京中医药大学中医学院)

[摘要] **目的** 探讨颞脑解郁复方治疗卒中后抑郁的可能作用机制。 **方法** 将 216 只 SD 大鼠随机分为空白组、假手术组、卒中组、卒中后抑郁组、西药组和中药组各 36 只 (每组 2、4、8 周各 12 只)。空白组不干预, 假手术组不插入线栓, 卒中组仅行大脑中动脉阻塞术, 卒中后抑郁组、西药组、中药组在卒中后 1 周应用慢性束缚应激复合单笼饲养的方法制备卒中后抑郁大鼠模型。自脑卒中造模开始, 西药组给予盐酸氟西汀胶囊 2.33 mg/(kg·d) 灌胃, 中药组给予颞脑解郁复方 9.92 g/(kg·d) 灌胃, 其余各组大鼠灌胃 3 ml 蒸馏水, 均每日 1 次。分别于卒中后 2、4、8 周, 采用实时定量 PCR 技术检测大鼠左侧海马 Notch 通路上受体 Notch1、转录因子 Hes1 基因表达水平; 采用免疫组织化学法检测海马齿状回神经元核抗原 (NeuN)、胶质原纤维酸性蛋白 (GFAP) 表达水平。 **结果** 在 2、4、8 周时, 卒中后抑郁组较空白组大鼠海马齿状回 NeuN 蛋白降低, GFAP 蛋白升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 2、4 周时中药组和西药组 NeuN 蛋白较卒中后抑郁组升高, 2、4、8 周时 GFAP 蛋白降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。在 2 周时, 各组大鼠海马齿状回区 Notch1、Hes1 基因表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 4 周时中药组大鼠海马齿状回区 Notch1、Hes1 基因表达较卒中后抑郁组升高 ($P < 0.01$); 8 周时卒中后抑郁组大鼠 Notch1、Hes1 基因表达与中药组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。 **结论** 颞脑解郁复方可能通过上调 Notch 信号通路上 Notch1、Hes1 基因表达, 增加海马齿状回神经元数量, 降低星形胶质细胞数量, 从而治疗脑卒中后抑郁。

[关键词] 卒中后抑郁; 颞脑解郁复方; 神经发生; Notch 信号通路

卒中后抑郁 (post-stroke depression, PSD) 是卒中后常见并发症, 发病率约为卒中患者的 30% 左右, 严重影响患者肢体功能恢复, 增加死亡率^[1]。研究表明, 成人海马齿状回存在神经发生, 神经发生障碍是抑郁症、脑卒中等疾病的潜在因素^[2-4]。抗抑郁药物应用于脑卒中发生后, 可促进神经发生^[5]。因此神经发生障碍可能是 PSD 的发病机制及药物治疗的作用靶点之一, 而 Notch 信号通路对于神经发生具有重要调控作用^[6]。颞脑解郁复方是课题组治疗肾虚肝郁型 PSD 的中药复方, 具有益肾舒肝、活血化瘀功效, 对患者肢体活动不利的恢复及抑郁症状的改善具有显著疗效^[7]。前期研究已证实颞脑解郁复方对 PSD 大鼠海马区神

经细胞具有保护作用^[8], 本研究通过观察 PSD 大鼠海马齿状回神经发生后 Notch 信号通路上相关分子的动态变化进一步探讨颞脑解郁复方的可能作用机制。

1 材料及方法

1.1 动物

SPF 级健康雄性 SD 大鼠 216 只, 2 月龄, 体重 (300 ± 10) g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 实验动物合格证号: SCXK (京) 2012-0001。实验过程中大鼠自由摄食和饮水, 光照节律 12L/12D (6:00 ~ 18:00 光照), 室温 (20 ± 2) °C, 相对湿度为 50% ~ 60%。

1.2 药品

颞脑解郁复方组成: 刺五加 30 g, 醋五味子 15 g, 郁金 10 g, 炒栀子 10 g, 丹参 15 g, 川芎 15 g, 由北京中医药大学第三附属医院药剂科制备成生药浓度 0.62 g/ml 的溶液, 4 °C 保存。盐酸氟西

基金项目: 国家自然科学基金 (81673030); 北京市自然科学基金 (7142100); 北京中医药大学 2017 年度基本科研业务费项目 (2017-JYB-XS-421)

* 通讯作者: tigerlx2002@163.com, 13521039619

基金项目: (61673030) 国家自然科学基金 (81673030); 北京市自然科学基金 (7142100); 北京中医药大学 2017 年度基本科研业务费项目 (2017-JYB-XS-421)

汀胶囊 (Pa-theon France 公司生产, 礼来苏州制药有限公司分包装, 批号: 0943A), 临用时溶于蒸馏水, 浓度为 0.233 g/L。

1.3 主要试剂及仪器

兔抗神经元核抗原 (NeuN) 单克隆抗体 (美国 Abcam 公司, 货号: ab177487); 兔抗胶质原纤维酸性蛋白 (GFAP) 多克隆抗体 (美国 Proteintech 公司, 货号: 16825-1-AP); 免疫组化试剂盒 (福州迈新生物技术有限公司, 货号: KIT-9706); Trizol 总 RNA 提取试剂 (北京天根生化科技有限公司, 货号: DP405-02); PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (大连 TaKaRa 公司, 货号: RR047B); DL2000 DNA Marker (大连 TaKaRa 公司, 货号: 3427Q)。

石蜡切片机 (德国 Thermo 公司, 型号: FINESSE325); 生物组织摊片机 (金华市益迪医疗设备有限公司, 型号: YD-A); 自动化智能型正置研究级显微镜 (日本奥林巴斯公司, 型号: BX53); 紫外分光光度计 (美国 ThermoFisher scientific 公司, 型号: NANODROP 2000); 实时荧光定量 PCR 仪 (美国 Applied Biosystems 公司, 型号: ABI7500); 凝胶成像系统 (中国上海天能科技有限公司, 型号: Tanon 1600)。

1.4 动物分组及造模方法

216 只 SD 大鼠适应性饲养 1 周后采用随机数字表法分为空白组、假手术组、卒中组、卒中后抑郁组、西药组、中药组, 每组各 36 只。空白组不干预, 假手术组不插入线栓, 卒中组仅进行卒中模型建立, 卒中后抑郁组、西药组和中药组均在卒中模型建立后 1 周开始进行卒中后抑郁模型制备。采用线栓法^[9]制备脑卒中模型, 于缺血 2 h 后进行再灌注。卒中模型成功标准: 大鼠于缺血再灌注 2 h 后出现对侧前肢倦曲或行走转圈或行走向对侧倾倒体征则纳入, 无此体征或于缺血后再灌注 2 h 后仍不清醒者弃去。待脑卒中大鼠造模成功后 1 周, 将群养的卒中后抑郁组、西药组、中药组大鼠分开单笼饲养至实验结束。孤养同时, 每日 10:00~16:00 期间任取时间, 将大鼠限制在特制的 T 型束缚台 (自制: 底座长 20 cm、宽 10 cm、厚 2.8 cm, 上端束缚台长 22 cm, 最宽处 6.6 cm, 前端有固定头部的小架和适合四肢放置的凹槽, 上端束缚台有 3 条可调的软带, 两宽一窄, 分别在头颈部、胸腰、腰背固定) 上给予 2 h 的行为限制, 连续 1 周, 建立抑郁模型^[10]。

1.5 给药方式及途径

按照成人用量 7 倍计算西药组给予盐酸氟西汀胶囊 2.33 mg/(kg·d) 灌胃, 依据前期研究^[8]确定中药组给予颐脑解郁复方 9.92 g/(kg·d) 灌胃。自脑卒中造模开始至实验结束, 西药组和中药组大鼠每日灌胃 1 次, 其余组每日灌胃 3 ml 蒸馏水 1 次。

1.6 观察指标及方法

每组于卒中后 2、4、8 周各时间点各取材 12 只, 大鼠予 1% 戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 腹腔注射麻醉, 每组采用随机数字表法取 6 只大鼠的左侧海马做实时定量 PCR 样品制备, 置于 -20℃ 冰箱保存; 各组剩余大鼠经多聚甲醛溶液灌注后取全脑, 放入 4% 多聚甲醛固定 1 周。

1.6.1 海马齿状回 NeuN、GFAP 蛋白表达 采用免疫组织化学法检测, 将多聚甲醛灌注、固定的大鼠全脑修块, 石蜡包埋, 做冠状面切片。应用 ABC 法: 切片脱蜡水化; 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液热修复抗原 10 min; 双氧水室温 10 min; 5% 正常羊血清封闭 37℃ 10 min; 一抗 NeuN (浓度 1:1500) 或 GFAP (浓度 1:2000), 4℃ 过夜孵育; 生物素化二抗一滴室温 10 min; DAB 显色; 苏木素复染; 脱水、透明、封片。每个标本于海马齿状回颗粒细胞区随机选取 1~2 个视野采用高倍镜 (×400) 观察并拍摄照片, 应用 Image-Pro-Plus6.0 软件 (美国 MEDLA CYBER-NETICS 公司) 对图片进行处理, 根据蛋白表达情况, 计算图片单位面积阳性细胞平均光密度 (IOD/Area) 或个数 (Count/Area)。

1.6.2 海马 Notch 通路上受体 Notch1、转录因子 Hes1 基因表达 采用实时定量 PCR 法检测, 称取各组大鼠左侧海马湿重, 以 20 倍体积的 Trizol 匀浆。Trizol 提取法提取总 RNA, 用紫外分光光度计测定 RNA 浓度, 按 20 μl 体系, 行逆转录反应。引物由北京 Invitrogen 公司合成, Notch1 上游: 5'-TGGATGCCGCTGACCTACG-3', 下游: 5'-CACCCCTGATAGATGAAGTCGGAGAT-3'; Hes1 上游: 5'-TTGAGCCAACTGAAAACACTGATT-3', 下游: 5'-GTGCTTCACTGTCATTTCCAGAAT-3'; GAPDH 上游: 5'-CCTTCCGTGTTCTACCCC-3', 下游: 5'-CCAGGATGCCCTTTAGTG-3'。用相对定量 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法^[11] 分析结果。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析, 以均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组均服从正态分布, 若方差不齐, 组间差异采用单因素方差分析, 若方差不

齐, 采用 Welch 法分析, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠不同时间海马齿状回 NeuN、GFAP 蛋白表达比较

表 1 示, 卒中组和卒中后抑郁组 2、4、8 周时大鼠海马齿状回 NeuN 蛋白表达较空白组和假手术组均降低, 西药组在 4、8 周时 NeuN 蛋白表达亦较空白组和假手术组均降低, 而中药组仅在 8 周时 NeuN 蛋白表达较空白组和假手术组降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。卒中后抑郁组在 4 周时 NeuN 蛋白表达低于卒中组 ($P < 0.05$)。西药组和中药组在 2、4 周时 NeuN 蛋白表达较卒中后抑郁组升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 西药组在 2 周时 NeuN 蛋白表达高于卒中组, 中药组在 2、4 周时 NeuN 蛋白表达亦高于卒中组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。卒中组、卒中后抑郁组、西药组和中药组在 8 周时各组间两两比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。中药组与西药组在 2、4、8 周时 NeuN 蛋白表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 示, 卒中组和卒中后抑郁组 2、4、8 周时大鼠海马齿状回 GFAP 蛋白表达较空白组升高, 卒中组在 2 周时 GFAP 蛋白表达高于假手术组, 卒中后抑郁组在 2、4、8 周时 GFAP 蛋白表达高于假手术组, 且卒中后抑郁组在 4 周时 GFAP 蛋白表达高于卒中组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。西药组和中药

组在 2、4、8 周时 GFAP 蛋白表达较卒中后抑郁组降低 ($P < 0.01$)。西药组在 2、4 周时 GFAP 蛋白表达低于卒中组, 中药组在 2、8 周时 GFAP 蛋白表达亦低于卒中组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。中药组与西药组在 2、4、8 周时 GFAP 的表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠海马 Notch1、Hes1 基因表达比较

表 3 示, 2 周时各组大鼠海马 Notch1 基因表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。4 周时卒中组、西药组和中药组 Notch1 基因表达均较空白组和假手术组升高, 卒中后抑郁组 Notch1 基因表达低于同时间卒中组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 中药组和西药组 Notch1 基因表达高于同时间卒中后抑郁组 ($P < 0.01$)。8 周时空白组、假手术组和卒中组 Notch1 基因表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 卒中后抑郁组、中药组和西药组 Notch1 基因表达高于空白组、卒中组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 中药组 Notch1 基因表达高于假手术组 ($P < 0.05$)。中药组和西药组各时间点 Notch1 基因表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 4 示, 2 周时各组大鼠海马 Hes1 基因表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。4 周时卒中组和卒中后抑郁组 Hes1 基因表达较空白组降低, 中药组 Hes1 基因表达明显高于假手术组、卒中组、卒中后抑郁组、西药组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。8

表 1 各组大鼠不同时间海马齿状回 NeuN 蛋白表达比较 (IOD/Area, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	2 周	4 周	8 周
空白组	6	0.4221 $\pm$ 0.0147	0.3657 $\pm$ 0.0402	0.4912 $\pm$ 0.0272
假手术组	6	0.4151 $\pm$ 0.0642	0.3652 $\pm$ 0.0387	0.4544 $\pm$ 0.0387
卒中组	6	0.3448 $\pm$ 0.0128 ^{**$\Delta\Delta$}	0.3238 $\pm$ 0.0076 ^{**$\Delta\Delta$}	0.3348 $\pm$ 0.0631 ^{**$\Delta\Delta$}
卒中后抑郁组	6	0.3120 $\pm$ 0.0108 ^{**$\Delta\Delta$}	0.2952 $\pm$ 0.0076 ^{**$\Delta\Delta\Delta$}	0.3347 $\pm$ 0.0176 ^{**$\Delta\Delta$}
西药组	6	0.3981 $\pm$ 0.0305 ^{▲$\Delta\Delta$}	0.3320 $\pm$ 0.0081 ^{*Δ}	0.3477 $\pm$ 0.0133 ^{**$\Delta\Delta$}
中药组	6	0.4166 $\pm$ 0.0084 ^{▲$\Delta\Delta\Delta$}	0.3427 $\pm$ 0.0087 ^{▲$\Delta\Delta$}	0.3717 $\pm$ 0.0097 ^{**$\Delta\Delta$}

注: NeuN, 神经元核抗原; 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与假手术组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与卒中组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$; 与卒中后抑郁组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

表 2 各组大鼠不同时间海马齿状回 GFAP 蛋白表达比较 (Count/Area, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	2 周	4 周	8 周
空白组	6	0.0231 $\pm$ 0.0033	0.0216 $\pm$ 0.0026	0.0212 $\pm$ 0.0019
假手术组	6	0.0247 $\pm$ 0.0018	0.0219 $\pm$ 0.0033	0.0216 $\pm$ 0.0017
卒中组	6	0.0302 $\pm$ 0.0048 ^{**$\Delta\Delta$}	0.0246 $\pm$ 0.0022 [*]	0.0246 $\pm$ 0.0025 [*]
卒中后抑郁组	6	0.0305 $\pm$ 0.0050 ^{**$\Delta\Delta$}	0.0288 $\pm$ 0.0021 ^{**$\Delta\Delta\Delta$}	0.0263 $\pm$ 0.0024 ^{**$\Delta\Delta$}
西药组	6	0.0234 $\pm$ 0.0004 ^{▲Δ}	0.0214 $\pm$ 0.0025 ^{▲Δ}	0.0218 $\pm$ 0.0042 [#]
中药组	6	0.0226 $\pm$ 0.0021 ^{▲$\Delta\Delta$}	0.0218 $\pm$ 0.0042 ^{▲Δ}	0.0212 $\pm$ 0.0013 ^{▲Δ}

注: GFAP, 胶质原纤维酸性蛋白; 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与假手术组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与卒中组比较, ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$; 与卒中后抑郁组比较, # $P < 0.01$

表 3 各组大鼠不同时间海马 Notch1 基因表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	2 周	4 周	8 周
空白组	6	0.827 ± 0.112	0.513 ± 0.080	0.797 ± 0.082
假手术组	6	0.746 ± 0.052	0.521 ± 0.126	0.876 ± 0.168
卒中组	6	0.859 ± 0.191	0.837 ± 0.140 ** $\Delta\Delta$	0.792 ± 0.359
卒中后抑郁组	6	0.861 ± 0.281	0.549 ± 0.099 $\Delta\Delta$	1.072 ± 0.281 * Δ
西药组	6	0.821 ± 0.162	0.842 ± 0.108 * $\Delta\Delta$ #	1.087 ± 0.099 * Δ
中药组	6	0.802 ± 0.138	0.935 ± 0.202 ** $\Delta\Delta$ #	1.148 ± 0.141 ** $\Delta\Delta$

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与假手术组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与卒中组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与卒中后抑郁组比较, # $P < 0.01$

表 4 各组大鼠不同时间海马 Hes1 基因表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	2 周	4 周	8 周
空白组	6	0.881 ± 0.086	1.019 ± 0.200	0.773 ± 0.110
假手术组	6	0.848 ± 0.074	0.882 ± 0.221	0.996 ± 0.202
卒中组	6	0.870 ± 0.225	0.788 ± 0.100*	0.875 ± 0.124
卒中后抑郁组	6	0.915 ± 0.274	0.770 ± 0.147*	1.196 ± 0.278 ** Δ
西药组	6	0.873 ± 0.118	0.862 ± 0.146	1.035 ± 0.165*
中药组	6	0.880 ± 0.107	1.100 ± 0.097 $\Delta\Delta$ #**	1.171 ± 0.220 ** Δ

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与假手术组比较, $\Delta P < 0.05$; 与卒中组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与卒中后抑郁组比较, # $P < 0.01$; 与西药组比较, ** $P < 0.05$

周时卒中后抑郁组、西药组和中药组 Hes1 基因表达高于空白组, 卒中后抑郁组和中药组 Hes1 基因表达高于卒中组 ($P < 0.05$)。中药组与西药组在各时间点 Hes1 基因表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

我们认为, 肾虚髓海失充, 元神失养是脑卒中发生的主要因素, 而后情志不遂, 肝气失调, 痰瘀互结, 则发生 PSD。其病位在肝肾二脏, 肾虚为基础, 又兼气、痰、瘀阻滞。因此, 课题组以补肾填精、舒肝活血为治则。颐脑解郁复方具有益肾舒肝、活血化瘀、颐脑醒神的功效, 前期研究行为学测试发现, 经颐脑解郁复方干预后, PSD 大鼠肢体功能有所恢复, 抑郁症状明显减轻^[8]。

NeuN 蛋白是成熟神经元特异性标记物^[12], GFAP 蛋白是星形胶质细胞活化标志物^[13], 过度活化的星形胶质细胞被认为是继发情感障碍的重要因素^[14-15]。本研究发现, PSD 大鼠海马齿状回 NeuN 蛋白减少, 而 GFAP 蛋白增多, 经颐脑解郁复方干预后, PSD 大鼠海马齿状回 NeuN 蛋白增多, GFAP 蛋白减少, 与王少华等^[16]研究结果一致。颐脑解郁复方对 PSD 大鼠海马齿状回神经发生的干预是一个动态过程, 在 2 周、4 周时, 颐脑解郁复方增加 PSD 大鼠海马齿状回 NeuN 蛋白, 同时抑制 GFAP 蛋白; 随着病程的迁延, 8 周时中药组 PSD 大鼠海马 NeuN 蛋白与卒中后抑郁组无统计学差

异, 而 GFAP 蛋白仍降低, 说明此阶段颐脑解郁复方抑制星形胶质细胞的过度活化。

Notch 信号通路是一条进化中高度保守的信号转导通路, 在神经发生过程中具有重要调节作用。Notch1 是该通路上 Notch 受体之一, 维持着神经发生的稳态, Hes1 是 Notch 信号通路重要的靶基因之一, 尤其在抑制神经发生、促进神经干细胞向胶质细胞分化中具有重要地位^[17]。有研究认为, Notch 信号通路的激活将促进神经元死亡及胶质细胞活化, 抑制神经突增长^[18]。然而, 也有学者认为 Notch 信号通路的激活可促进神经突增长, 在受损后神经元自我修复中占有重要地位^[19]。本研究结果显示, 在 2 周时, 各组大鼠海马齿状回区 Notch1、Hes1 基因表达差异不明显; 4 周时, 卒中后抑郁组大鼠 Notch1 表达低于卒中组, Hes1 基因表达低于空白组, 经颐脑解郁复方干预后, PSD 大鼠海马齿状回区 Notch1、Hes1 基因表达明显升高; 8 周时, 卒中后抑郁组大鼠 Notch1、Hes1 基因表达明显高于空白组和卒中组, 而经盐酸氟西汀胶囊或颐脑解郁复方干预后大鼠 Notch1、Hes1 基因表达差异无统计学意义。因此, 我们认为颐脑解郁复方通过上调 Notch 信号通路上受体 Notch1 基因、Hes1 基因表达, 增加海马齿状回区神经元的数量, 减少星形胶质细胞的数量, 是其治疗 PSD 的可能作用机制之一, 且最佳作用时段是 4 周。

参考文献

- [1] MATTIAS V, JOHANNA M, CHRISTA L, et al. The influence of early depressive symptoms, social support and decreasing self-efficacy on depression 6 months post-stroke [J]. J Aff Dis, 2016, 20(6) : 252-255.
- [2] JUN H, HUSSAINI SMQ, RIGBY MJ, et al. Functional role of adult hippocampal neurogenesis as a therapeutic strategy for mental disorders [J]. Neural Plast, 2012, 29(10) : 1-20.
- [3] OUCHI Y, BANNO Y, SHIMIZU Y, et al. Reduced adult hippocampal neurogenesis and working memory deficits in the Dgcr8-deficient mouse model of 22q11.2 deletion-associated schizophrenia can be rescued by IGF2 [J]. Neurosci, 2013, 33(22) : 9408-9419.
- [4] TAUPIN P. Adult neurogenesis pharmacology in neurological diseases and disorders [J]. Expert Rev Neurother, 2008, 8(2) : 311-320.
- [5] APPLE DM, FONSECA RS, KOKOVAY E. The role of adult neurogenesis in psychiatric and cognitive disorders [J]. Brain Res, 2017, 1655: 270-276. doi: 10.1016/j.brainres.2016.01.023.
- [6] ABLES JL, DE CAROLIS NA, JOHNSON MA, et al. Notch1 is required for maintenance of the reservoir of adult hippocampal stem cells [J]. J Neurosci, 2010, 30(31) : 10484-10492.
- [7] 袁怀彬. 颞脑解郁方治疗抑郁症肾虚肝郁型的临床疗效观察 [J]. 光明中医, 2015, 30(8) : 1673-1674.
- [8] 田会玲, 李小黎, 唐启盛, 等. 颞脑解郁复方对卒中后抑郁大鼠行为学及海马 CA1 区病理损伤的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2017, 24(7) : 49-53.
- [9] 王倩, 由凤秋, 熊婧, 等. 卒中后抑郁啮齿类动物模型的建立与评价研究进展 [J]. 中国康复医学杂志, 2014, 29(12) : 1196-1199.
- [10] 陈家旭, 李伟, 赵歆, 等. 三种中药复方对慢性束缚应激大鼠皮层和海马 BDNF、TrkB 的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2007, 23(7) : 1296-1300.
- [11] LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD. Analysis of relative gene expression data using Real-Time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. Methods, 2001, 25(4) : 402-408.
- [12] 王新红, 段丽, 曹荣, 等. 神经元核抗原在大鼠中枢神经系统神经元的不同表达 [J]. 解剖学报, 2008, 39(3) : 381-385.
- [13] VOS PE, JACOBS B, ANDNDRIESSEN TM, et al. The GFAP and SIOOB are biomarkers of traumatic brain injury: an observational cohort study [J]. Urology, 2010, 75(20) : 1786-1793.
- [14] 王文岚, 常耀明, 李金声, 等. CO 中毒迟发性脑病大鼠脑内星形胶质细胞和少突胶质细胞的表达及高压氧治疗对其表达的影响 [J]. 中国急救医学, 2007, 27(7) : 615-617.
- [15] CHENG MY, WANG EH, WOODSON WJ, et al. Optogenetic neuronal stimulation promotes functional recovery after stroke [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(35) : 12913-12918.
- [16] 王少华, 张志珺, 郭怡菁, 等. 脑卒中后抑郁大鼠海马原位增殖的新生细胞存活和分化状态 [J]. 中华神经科杂志, 2008, 41(9) : 614-617.
- [17] CHENG YC, HUANG YC, YEY TH, et al. Deltex1 is inhibited by the Notch-Hairy/E(Spl) signaling pathway and induces neuronal and glial differentiation [J]. Neural Dev, 2015, 10(28) : 1-15.
- [18] BRANDT MD, MAASS A, KEMPERMANN G, et al. Physical exercise increases Notch activity, proliferation and cell cycle exit of type-3 progenitor cells in adult hippocampal neurogenesis [J]. Eur J Neurosci, 2010, 32(10) : 1256-1264.
- [19] ANDROUTSELLIS TA, LEKER RR, SOLDNER F, et al. Notch signaling regulates stem cell numbers in vitro and in vivo [J]. Nature, 2006, 442(7104) : 823-826.

Effect of *Yinao Xieyu Compound* (颞脑解郁复方) on Hippocampal Neurogenesis and Notch Signaling Pathway in Post-stroke Depression Rats

TIAN Huiling¹, LI Xiaoli¹, TANG Qisheng¹, ZHAO Ruizhen¹, ZHANG Wen¹, GAO Yushan², LI Qingmeng¹, SUN Xinyue¹, LIANG Ziyu¹

(1. Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029; 2. School of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To explore the potential mechanism of *Yinao Xieyu Compound* (颞脑解郁复方, YJC) in treating post-stroke depression. **Methods** A total of 216 Sprague Dawley rats were randomized into blank group,

sham operation group, stroke group, post-stroke depression group, Western medicine (WM) group and Chinese medicine (CM) group, with 36 rats in each group (12 rats respectively in the 2nd, 4th and 8th week). The blank group was not intervened, the sham operation group was not given middle cerebral artery occlusion (MCAO), the stroke group was given MCAO alone, while chronic restraint stress combined single-cage feeding was used to build post-

stroke depression rat model one week after stroke in the post-stroke depression group, WM group and CM group. From the beginning of the modeling, WM group was given 2.33 mg/(kg · d) of fluoxetine hydrochloride capsule orally, CM group was given 9.92 g/(kg · d) of YJC orally, while other groups were given 3 ml of distilled water by gavage. All interventions were given once a day. At the 2nd, 4th and 8th weeks after stroke, real-time quantitative PCR was used to detect the expressions of Notch1 and Hes1 genes in the left hippocampus, and immunohistochemistry was used to detect the expressions of nuclear antigen (NeuN) and glial fibrillary acidic protein (GFAP). **Results** At the 2nd, 4th and 8th weeks, NeuN protein in the post-stroke depression group was lower, while GFAP protein higher than those in the blank group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); at the 2nd and 4th weeks, NeuN protein in CM group and WM group were higher, while GFAP lower at the 2nd, 4th and 8th weeks than that in post-stroke depression group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). At the 2nd week, there was no significant difference in the expression of Notch1 and Hes1 genes in hippocampal dentate gyrus among each group ($P > 0.05$). At the 4th week, the expressions of Notch1 and Hes1 genes in hippocampal dentate gyrus of rats in CM group was higher than those in post-stroke depression group ($P < 0.01$). There were no significant differences in the expressions of Notch1 and Hes1 between CM group and post-stroke depression group at the 8th week ($P > 0.05$). **Conclusion** YJC may treat post-stroke depression by up-regulating the Notch1 and Hes1 gene expressions in the Notch signaling pathway, increasing the number of neurons in the dentate gyrus and decreasing the number of astrocytes in the hippocampus.

Keywords post-stroke depression; *Yinao Xieyu Compound* (颐脑解郁复方); neurogenesis; Notch signaling pathway
(收稿日期: 2017-09-13; 修回日期: 2017-11-07)

[编辑: 邓媛]

(上接第 324 页)

Effect of *Jiedu Quyu Ziyin Decoction* (解毒祛瘀滋阴方) on MeCP2 Signaling Pathway of CD4⁺ T Cells in MRL/lpr Lupus Mice

LI Rongqun, LIU Wenhong, HOU Xiaoli, YE Ming, JI Lina

(School of Preclinical Medicine, Zhejiang University of Chinese Medicine, Hangzhou, 310053)

ABSTRACT **Objective** To explore the potential mechanism of *Jiedu Quyu Ziyin Decoction* (解毒祛瘀滋阴方, JQZD) in treating systemic lupus erythematosus. **Methods** Thirty MRL/lpr lupus mice were randomized into Chinese medicine (CM) group, Western medicine (WM) group and the model group, with 10 mice in each group, and the other 10 C57BL/6 mice were set as the control group. CM group was given 0.5 g/ml of JQZD by gavage, WM group was given 0.5 mg/ml of prednisone acetate tablets suspension by gavage, while the model group and the control group were given distilled water orally. All interventions were given 0.01 ml/g once a day, for 12 weeks. After the intervention, General statuses of fur, activity and superficial lymph nodes of mice were observed. Serum levels of IL-4 and IFN- γ were detected. The pathological changes of kidney were observed with HE staining. The expression levels of MeCP2 mRNA and protein in CD4⁺ T cells in mice spleen were detected. **Results** Compared with those in the model group, the pathological changes of kidney significantly improved, the serum levels of IL-4 and IFN- γ decreased, and the expressions of MeCP2 mRNA and protein significantly increased in CM group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The expressions of MeCP2 protein and mRNA in CM group were significantly higher than that in WM group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** JQZD may inhibit systemic lupus erythematosus through the activation of MeCP2 signaling pathway.

Keywords systemic lupus erythematosus; *Jiedu Quyu Ziyin Decoction* (解毒祛瘀滋阴方); T cell; methyl binding protein 2

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net
(收稿日期: 2017-07-21; 修回日期: 2017-11-17)

[编辑: 邓媛]