

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.02.015

百地枣合剂对抑郁症模型大鼠海马组织中 β -catenin 蛋白及 GSK-3 β mRNA 表达的影响

翟晨旭¹, 钱占红^{2*}, 张明锐², 季晓君², 任常胜²

1. 内蒙古自治区人民医院, 内蒙古自治区呼和浩特市赛罕区昭乌达路 20 号, 010020; 2. 内蒙古医科大学中医学院

摘要 目的 探讨百地枣合剂治疗抑郁症的可能作用机制。方法 60 只 Wistar 大鼠随机分为空白组、模型组、盐酸氟西汀组和百地枣合剂高、中、低剂量组, 每组 10 只。除空白组外其余各组大鼠采用慢性应激性刺激结合孤养 29 天建立抑郁症大鼠模型。实验第 8 天开始, 百地枣合剂低、中、高剂量组分别给予浓度为 0.7、1.4、2.8 g/ml 百地枣合剂, 盐酸氟西汀组给予浓度为 0.36 mg/ml 盐酸氟西汀混悬液, 模型组和空白组给予生理盐水, 各组按照 1 ml/100 g 体重灌胃, 连续灌胃 21 天。分别于实验第 0、7、29 天各组大鼠进行旷场试验、糖水偏好实验, 观察大鼠水平运动距离、站立次数, 计算糖水偏好率; 采用尼氏染色观察大鼠海马组织病理, 并检测海马组织中糖原合成酶激酶 3 β (GSK-3 β) mRNA 和 β -连环蛋白 (β -catenin) 表达。结果 实验第 29 天, 与空白组比较, 模型组大鼠水平运动距离、站立次数降低, 糖水偏好率下降, 海马组织 β -catenin 蛋白表达降低、GSK-3 β mRNA 表达升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 盐酸氟西汀组和百地枣合剂高剂量组大鼠水平运动距离、站立次数增加, 糖水偏好率上升, 海马组织 β -catenin 蛋白表达升高, GSK-3 β mRNA 降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。百地枣合剂高剂量组大鼠糖水偏好率、海马组织 β -catenin 蛋白表达较百地枣合剂中、低剂量组升高 ($P < 0.01$)。结论 百地枣合剂可改善抑郁大鼠行为, 其机制可能与减少海马中 GSK-3 β mRNA、增加 β -catenin 表达有关, 且以高剂量效果最佳。

关键词 百地枣合剂; 抑郁症; 糖水偏好率; 糖原合成酶激酶 3 β ; β -连环蛋白

世界卫生组织统计显示, 预计到 2020 年抑郁症将成为仅次于心血管疾病的全球第二位医疗难题^[1]。酸枣仁汤、百合地黄汤均出自《金匱要略》, 既往研究显示, 酸枣仁汤^[2]和百合地黄^[3]汤均有一定的抗抑郁作用。我们临床采用百地枣合剂即酸枣仁汤与百合地黄汤的合方来治疗抑郁症, 具有补心肝肾之阴、开郁结之虚热的功效。近年研究^[4]发现, 成年人抑郁症发病与神经元可塑性密切相关, 成年哺乳动物的脑内终生伴随着神经再生。经典的磷脂酰肌醇 3 激酶/糖原合成酶激酶 3 β (PI3K/GSK-3 β) 通路在神经细胞分化、凋亡和炎症反应中起重要作用, 而炎症反应是多种神经系统疾病的分子基础^[5], 其调节功能异常, 将导致许多神经系统疾病的发生^[6]。另有研究^[7-8]显示, 通过敲除 GSK-3 β 的杂合子基因、给予选择性 GSK-3 β

抑制剂, 动物表现出抗抑郁的效果, 如果使 GSK-3 β 过度表达, 动物表现为抑郁样行为。本研究观察百地枣合剂对抑郁大鼠行为的干预作用及对脑海马中 GSK-3 β 蛋白、 β -连环蛋白 (β -catenin) mRNA 表达的影响, 并与经典抗抑郁药盐酸氟西汀进行对照, 探讨其可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

清洁级雄性 Wistar 大鼠 60 只, 7 周龄, 体重 (180 $\pm$ 20) g, 由内蒙古医科大学动物实验中心提供, 实验动物合格证号: SCXK (蒙) 2015-0001, 饲养于内蒙古医科大学动物实验中心。

1.2 药物

百地枣合剂组成: 酸枣仁 30 g, 茯苓 15 g, 知母 15 g, 川芎 15 g, 炙甘草 9 g, 百合 30 g, 生地黄 30 g, 购于内蒙古自治区人民医院中药房, 批号: 170101。按照常规方法煎煮制成水煎剂, 分别浓缩至 0.7、1.4、2.8 g/ml, 放置于 4℃ 冰箱保存备用。

基金项目: 国家中医药管理局第四批全国中医(临床、基础)优秀人才培养项目; 内蒙古自治区自然科学基金(2016MS0818)

* 通讯作者: 784121659@qq.com, 18647376964

盐酸氟西汀粉剂 梯希爱(上海)化成工业发展有限公司, 货号: 56296-78-7]。

1.3 主要试剂及仪器

Trizol 试剂(货号: 15596026, Ambion 公司); β -catenin 抗体(货号: ab6302, Abcam 公司); GAPDH 抗体(货号: 10494-1-AP, Proteintech 公司); YBR Green PCR 试剂盒(货号: KM4101, KAPA Biosystems 公司); 逆转录试剂盒(货号: 639505, TAKARA 公司); RNase I(货号: AM2295, Fermentas 公司); 蛋白质标记物(货号: 26634, Thermo 公司); 十二烷基硫酸钠(SDS, 货号: 151-21-3)、TEMED(货号: 110-48-9)、过硫酸铵(货号: A6761), Sigma 公司; PVDF 转移膜(货号: IPVH00010)、化学发光试剂(货号: WBKLS0010), Millipore 公司; EDTA(货号: 0322-100G)、Tween-20(货号: P-4379), Amresco 公司; DEPC 处理水(货号: PAB180005)、RIPA 细胞裂解液(货号: PAB180006)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型, 货号: PAB180007)、PBS 磷酸盐缓冲液(货号: PAB180003)、尼氏染色液(焦油紫法, 货号: PAB180022), Bioswamp 公司; 水合氯醛(货号: 180920, 上海展云化工有限公司)。

生理药理实验多用仪(北京众实迪创科技发展有限公司, YSD-4G 型); TM-Vision 行为学实验系统(成都泰盟软件有限公司, 型号: OFT-100); PCR 仪(Bio-Rad 公司, 型号: T100-Thermal Cycler); 全自动化学发光分析仪(上海天能公司, 型号: Tanon-5200); 正置光学显微镜(日本尼康公司, Eclipse CI 型)。

1.4 动物模型复制

抑郁症模型参照慢性不可预知性应激结合隔离孤养^[8]的方法: 大鼠每笼 1 只实施孤养, 实验 29 天中每天按照单纯随机抽样方法实施 1 种慢性应激且连续两天刺激不可相同, 刺激包括禁水 24 h, 禁食 24 h, 4 ~ 10 °C 冰水浴 5 min, 40 ~ 44 °C 热水浴 5 min, 通宵照明(19:00 至次日 7:00), 束缚固定 3 h, 夹尾 3 min, 自制电机箱足底电击 10 s(电压 30V, 频率 0.5), 倾斜鼠笼 24 h。每个刺激应用 3 或 4 遍。

1.5 分组及给药方法

60 只大鼠依据体质量采用随机数字表法分为空白组、模型组、盐酸氟西汀组和百地枣合剂高、中、低剂量组, 每组 10 只。除空白组外, 其余各

组造模第 8 天开始连续灌胃 21 天。按人与大鼠体表面积折算^[9]百地枣合剂的临床等效剂量为剂量 1.4 g/ml, 高、低剂量分别为 2.8、0.7 g/ml, 盐酸氟西汀组给予浓度为 0.36 mg/ml 盐酸氟西汀混悬液灌胃, 模型组和空白组给予生理盐水灌胃, 各组按照 1 ml/100 g 体重给予相应溶液灌胃。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 大鼠行为学实验 旷场试验^[10]可反映大鼠认知能力、探究行为、自发活动能力, 是检测焦虑及抑郁样行为的经典实验。于实验的第 0、7、29 天进行行为学测试, 采用边长为 50 cm 正方形实验暗箱, 使用 TM-Vision 行为学实验系统记录 300 s, 记录间隔 3 s, 系统自动记录大鼠水平运动距离、垂直站立次数。

1.6.2 糖水偏好实验 糖水偏好实验^[11]是检测动物抑郁样行为的经典实验, 可反映出动物是否有兴趣缺失、自我奖赏度降低。于实验前 4 天训练动物适应含糖的饮水。于实验第 0、7、29 天, 大鼠先禁食禁水 10 h, 然后给每个鼠笼放置 2 个水瓶, 分别装有 150 ml 1% 的蔗糖溶液和 150 ml 纯水, 记录大鼠在 1 h 内糖水消耗量、纯水消耗量, 计算糖水偏好率。糖水偏好率 = 糖水消耗量/总液体消耗量 $\times 100\%$ 。

1.6.3 海马组织中 β -catenin 蛋白表达 采用 Western Blot 法检测。实验第 29 天大鼠行为学测试后, 每组采用随机数字表法选取 8 只大鼠, 快速断头取海马组织, -80 °C 冰箱贮存。蛋白提取、定量, β -catenin 稀释比例 1:4000, GAPDH 稀释比例 1:5000, 制备 SDS-PAGE 胶, 上样及电泳, 湿转膜, 封闭膜及孵育抗体, 显色, 结果用灰度值表示。

1.6.4 海马组织中 GSK-3 β mRNA 表达 采用 Real-Time PCR 法检测, 提取总 RNA; 合 cDNA 第一条链; 消除总 RNA 中的 DNA; 消除总 RNA 中的 DNaseI; 反转录产物合成, 置于 -20 °C 保存备用。将制备好的 cDNA 进行 PCR 扩增。PCR 引物由南京金斯瑞生物科技有限公司合成。引物序列: GSK3 β : 上游 TGAAGATGAAGAATGGAA, 下游 CAGAGTTGACATAGTAGG, 扩增片段 200 bp; GAPDH: 上游 CAAGTTCAACGGCAGACAG, 下游 CCAGTAGACTCCACGACAT, 扩增片段 138 bp。结果以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法表示。

1.6.5 海马组织尼氏染色 每组剩余 2 只大鼠进行海马组织尼氏染色。10% 水合氯醛 1 ml/100 g 腹腔注射麻醉大鼠, 经左心室灌注, 取出大脑, 4%

PBS 中 12 h 固定, 制作石蜡切片、脱蜡, 焦油紫中浸染, 蒸馏水冲洗, 尼氏分化, 无水乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封固, 正置光学显微镜镜检。尼氏体染成紫色, 神经元呈淡紫色, 细胞核呈紫蓝色, 胶质细胞呈淡紫色。

1.7 统计学方法

运用 SPSS 19.0 软件进行统计分析, 计量数据符合正态分布以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析, 组间多重比较行 LSD 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠不同时间旷场试验结果比较

表 1 示, 第 0 天, 各组大鼠水平运动距离差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。第 7 天, 与空白组比较, 其余各组大鼠水平运动距离明显缩短 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。第 29 天, 与空白组比较, 其余各组大鼠水平运动距离明显缩短 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 盐酸氟西汀组和百地枣合剂高剂量组大鼠水平运动距离明显增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 盐酸氟西汀组与百地枣合剂高、中、低剂量组组间两两比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 百地枣合剂高剂量组大鼠水平运动距离高于百地枣合剂低、中剂量组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 2 示, 第 0 天, 各组大鼠站立次数差异无统

计学意义 ($P > 0.05$)。第 7 天, 与空白组比较, 其余各组大鼠站立次数均减少 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。第 29 天, 与空白组比较, 除百地枣合剂高剂量组外, 其余各组大鼠站立次数减少 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 百地枣合剂高剂量组大鼠站立次数增加 ($P < 0.01$); 盐酸氟西汀组与百地枣合剂高、中、低剂量组组间两两比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 百地枣合剂高剂量组大鼠站立次数多于百地枣合剂低、中剂量组 ($P < 0.05$)。

2.2 各组大鼠不同时间糖水偏好率比较

表 3 示, 第 0 天, 各组大鼠糖水偏好率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。第 7 天, 与空白组比较, 其余各组大鼠糖水偏好率均有明显下降 ($P < 0.05$)。第 29 天, 与空白组比较, 模型组及百地枣合剂中、低剂量组大鼠糖水偏好率下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 盐酸氟西汀组和百地枣合剂高、中剂量组大鼠糖水偏好率明显上升 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 百地枣合剂高剂量组与盐酸氟西汀组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 百地枣合剂高剂量组大鼠糖水偏好率较百地枣合剂中、低剂量组升高 ($P < 0.01$)。

2.3 各组大鼠海马组织 β -catenin 蛋白、GSK-3 β mRNA 表达比较

表 4 示, 与空白组比较, 模型组、盐酸氟西汀组和百地枣合剂中、低剂量组大鼠海马组织

表 1 各组大鼠不同时间旷场试验水平运动距离比较 (cm , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	第 0 天	第 7 天	第 29 天
空白组	10	24698.01 $\pm$ 4384.76	17110.54 $\pm$ 3470.99	12252.54 $\pm$ 3755.81
模型组	10	22924.58 $\pm$ 3863.09	12784.00 $\pm$ 2848.11*	6848.50 $\pm$ 2386.46**
盐酸氟西汀组	10	24995.53 $\pm$ 3485.85	12612.97 $\pm$ 3208.58**	9958.68 $\pm$ 2613.87* Δ
百地枣合剂高剂量组	10	22116.96 $\pm$ 4047.34	12194.26 $\pm$ 3933.32**	11504.43 $\pm$ 4543.51* Δ Δ
百地枣合剂中剂量组	10	23208.54 $\pm$ 3678.60	11340.06 $\pm$ 4260.56**	8415.80 $\pm$ 3002.75* Δ
百地枣合剂低剂量组	10	23054.00 $\pm$ 3510.73	11669.52 $\pm$ 4180.68**	6992.55 $\pm$ 3487.05** Δ

注: 与空白组同时间比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组同时间比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta \Delta P < 0.01$; 与百地枣合剂高剂量组同时间比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta \Delta P < 0.01$

表 2 各组大鼠不同时间站立次数比较 (次, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	第 0 天	第 7 天	第 29 天
空白组	10	34.00 $\pm$ 9.37	17.90 $\pm$ 8.70	13.20 $\pm$ 7.52
模型组	10	32.70 $\pm$ 6.72	11.90 $\pm$ 6.72*	5.20 $\pm$ 3.19**
盐酸氟西汀组	10	35.00 $\pm$ 6.39	12.30 $\pm$ 6.18*	10.10 $\pm$ 4.18*
百地枣合剂高剂量组	10	32.50 $\pm$ 9.02	12.70 $\pm$ 5.74*	12.60 $\pm$ 6.60 Δ
百地枣合剂中剂量组	10	33.60 $\pm$ 5.13	10.00 $\pm$ 5.14*	6.80 $\pm$ 5.39* Δ
百地枣合剂低剂量组	10	33.90 $\pm$ 6.06	9.90 $\pm$ 6.61**	6.80 $\pm$ 4.69* Δ

注: 与空白组同时间比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组同时间比较, $\Delta P < 0.01$; 与百地枣合剂高剂量组同时间比较, $\Delta P < 0.05$

表 3 各组大鼠不同时间糖水偏好率比较 (%, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	第 0 天	第 7 天	第 29 天
空白组	10	79.77 ± 8.06	80.64 ± 5.28	78.81 ± 4.77
模型组	10	79.60 ± 5.61	72.62 ± 8.28*	52.38 ± 6.71**
盐酸氟西汀组	10	79.02 ± 6.77	72.12 ± 10.10*	77.01 ± 6.66 $\Delta\Delta$
百地枣合剂高剂量组	10	79.33 ± 8.80	71.02 ± 8.76*	78.34 ± 7.44 $\Delta\Delta$
百地枣合剂中剂量组	10	80.42 ± 9.18	71.11 ± 8.54*	60.86 ± 5.82** $\Delta\Delta$
百地枣合剂低剂量组	10	80.41 ± 10.02	72.80 ± 8.01*	57.39 ± 10.99** $\Delta\Delta$

注: 与空白组同时时间比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组同时时间比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与百地枣合剂高剂量组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$

表 4 各组大鼠海马组织 β -catenin 蛋白、GSK-3 β mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	β -catenin 蛋白 (灰度值)	GSK-3 β mRNA ($2^{-\Delta\Delta CT}$)
空白组	8	3606.13 ± 159.96	1
模型组	8	1131.25 ± 97.29**	342.57 ± 164.44**
盐酸氟西汀组	8	2878.50 ± 78.29** $\Delta\Delta$	8.90 ± 2.81 Δ
百地枣合剂高剂量组	8	3636.13 ± 46.82 Δ	1.84 ± 1.18 Δ
百地枣合剂中剂量组	8	2739.00 ± 73.61** $\Delta\Delta$ ##	17.02 ± 7.85 Δ #
百地枣合剂低剂量组	8	2488.63 ± 83.94** $\Delta\Delta$ ##	77.41 ± 31.89** $\Delta\Delta$ #

注: β -catenin, β -连环蛋白; GSK-3 β , 糖原合成酶激酶 3 β ; 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与百地枣合剂高剂量组比较, $\Delta P < 0.01$; 与盐酸氟西汀组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

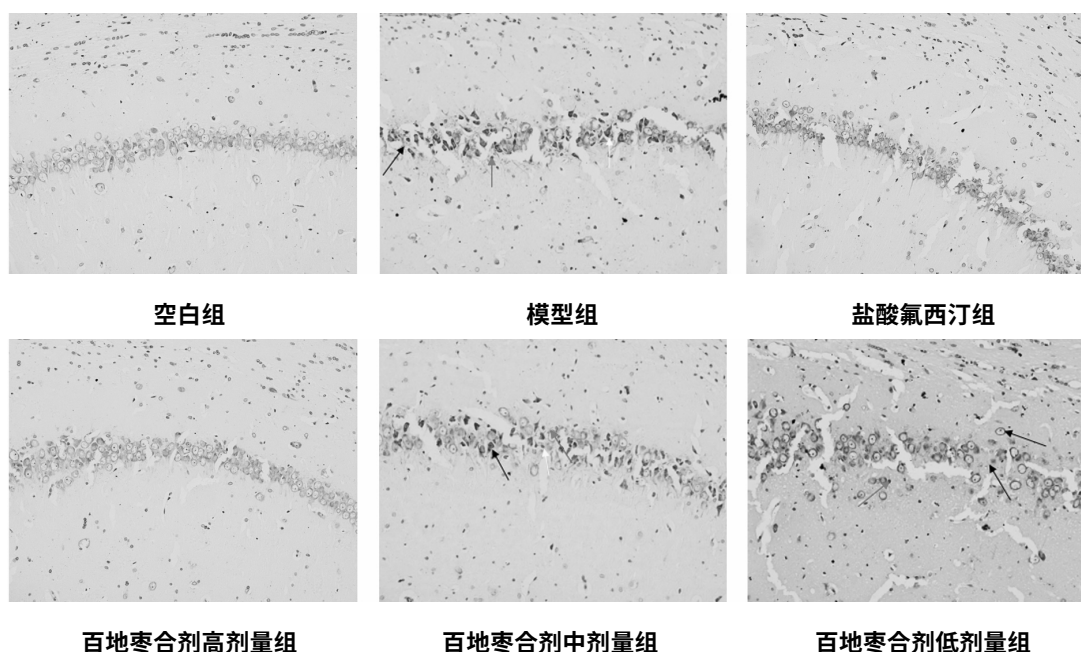


图 1 各组大鼠海马尼氏染色病理图 (×200)

β -catenin 蛋白降低 ($P < 0.01$), 模型组和百地枣合剂低剂量组大鼠海马组织 GSK-3 β mRNA 表达升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较, 盐酸氟西汀组和百地枣合剂各剂量组大鼠海马组织 β -catenin 蛋白表达升高, GSK-3 β mRNA 表达降低 ($P < 0.01$)。与百地枣合剂高剂量组比较, 合百地枣合剂低、中剂量组和盐酸氟西汀组大鼠海马组织 β -catenin 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。百地枣合剂低、中剂量组 β -catenin 蛋白低于盐酸氟西汀组 ($P <$

0.01)。百地枣合剂低、中剂量组 GSK-3 β mRNA 表达高于盐酸氟西汀组, 百地枣合剂低剂量组 GSK-3 β mRNA 表达高于百地枣合剂高剂量组 ($P < 0.01$)。

2.4 各组大鼠海马尼氏染色结果

图 1 示, 空白组海马区神经元排列整齐, 尼氏体无明显减少, 无明显坏死, 固缩深染, 整体结构基本正常。模型组海马区神经元排列紊乱, 数量明显减少, 胶质细胞数量增多 (如箭头所示), 部分神经元固缩深染, 尼氏体模糊不清, 并可见纤维缠

结。盐酸氟西汀组海马区神经元排列整齐,尼氏体无明显减少,无明显坏死,固缩深染,整体结构基本正常。百地枣合剂高剂量组海马区神经元排列整齐,尼氏体无明显减少,无明显坏死,固缩深染,整体结构基本正常。百地枣合剂中剂量组海马区部分神经元固缩深染,尼氏小体模糊不清,胶质细胞数量增多(如箭头所示),可见部分正常神经元细胞,胞浆可见尼氏体。百地枣合剂低剂量组海马区神经元排列紊乱,数量明显减少,部分神经元尼氏体减少(如箭头所示),胶质细胞数量增多。

3 讨论

抑郁症属于中医学“郁证”范畴,多由肝郁气结、心气不足、情志不畅所致。现代人长期生活工作压力大、精神紧张,起居无常,暗耗五脏气血,伤心肾之阴;饮食无节、忧思气结,可伤脾胃;身心过劳,情绪压抑又伤肺与肝。故抑郁治疗需先从心入手,兼补他脏。百地枣合剂方中重用酸枣仁可补心血养心神,百合与生地黄又可济肺肝肾之亏,全方可补心肝肺之阴血而安心神、开郁结。氟西汀为强效选择性 5 羟色氨(5-HT)再摄取抑制剂,是临床常用抗抑郁药物,故本研究选为西药对照药物,但其长期服用会使患者出现焦虑、失眠、性欲减退、恶心等不适症状^[3]。我们采用中药干预抑郁症,旨在能提高患者依从性,为临床治疗抑郁症提供依据。本研究结果显示,实验第 7、29 天抑郁症模型大鼠在旷场试验中水平运动距离和站立次数均明显减少,糖水偏好实验中糖水偏好率亦降低,说明模型组大鼠认知能力、探究行为、自发活动能力降低,表现为典型抑郁症状。与模型组比较,实验第 29 天盐酸氟西汀组和百地枣合剂高剂量组大鼠旷场试验中水平运动距离和站立次数均增加,糖水偏好率亦升高,提示盐酸氟西汀和高剂量百地枣合剂均可较好地改善大鼠抑郁行为,而中、低剂量的百地枣合剂改善效果不明显。

有实验研究^[14]证明,实施应激刺激后动物部分脑区 Wnt 信号通路发生功能紊乱,β-catenin 表达及活性降低,动物则表现出抑郁样的行为。抑郁症自杀患者的大脑皮层 GSK-3β 活性也明显升高^[15]。增加 5-HT 或激活 5-HT 受体可以通过激活 PI3K/AKT/GSK-3β 信号通路,使 β-catenin 稳定存在从而达到治疗抑郁症的效果^[16]。本研究结果显示,模型组大鼠海马组织中 GSK-3β mRNA 明显升高,β-catenin 蛋白表达明显降低,而各剂量百地

枣合剂与盐酸氟西汀皆可增加 β-catenin 蛋白表达,减少 GSK-3β mRNA 表达。在增加 β-catenin 蛋白表达方面,百地枣合剂高剂量组效果优于盐酸氟西汀及百地枣合剂低、中剂量组。结合尼氏染色病理结果显示,百地枣合剂高剂量组和盐酸氟西汀组均可较好地保护神经元,而百地枣合剂中、低剂量组保护作用相对较弱,说明高剂量的百地枣合剂效果更佳。本实验每组大鼠数量相对较少,对指标选取较少,以后仍需相继对其他指标进行研究,以完善百地枣合剂改善抑郁症的可能作用机制。

参考文献

- [1] 谢鸿宇,吴毅. 抑郁症治疗的新进展: 海马齿状回颗粒细胞下层内源性神经再生 [J]. 中国康复医学杂志, 2011, 26(1): 86-89.
- [2] 夏寒星. 酸枣仁汤抗抑郁实验研究 [J]. 浙江中医药大学学报, 2010, 34(1): 52-53.
- [3] 赵嫣虹,范慧淇,唐朝. 百合地黄汤治疗抑郁研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2016, 12(15): 79-81.
- [4] KLEMPIN F, KEMPERMANN G. Adult hippocampal neurogenesis and aging [J]. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci, 2007, 257(5): 271-280.
- [5] WANG H, BROWN J, MARTIN M. Glycogen synthase kinase 3: a point of convergence for the host inflammatory response [J]. Cytokine, 2011, 53(2): 130-140.
- [6] 唐倩倩,郭小云,刘迪,等. GSK-3β 参与神经精神疾病的研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2014, 30(9): 1193-1196.
- [7] ZHANG K, SONG X, XU Y, et al. Continuous GSK-3β overexpression in the hippocampal dentate gyrus induces prodepressant-like effects and increases sensitivity to chronic mild stress in mice [J]. J Affect Disord, 2013, 146(1): 45-52.
- [8] PRICKAERTS J, MOECHARS D, CRYNS K, et al. Transgenic mice overexpressing glycogen synthase kinase 3β: a putative model of hyperactivity and mania [J]. J Neurosci, 2006, 26(35): 9022-9029.
- [9] 马妮,陈林庆,蔺兴遥,等. 慢性应激抑郁症大鼠模型的复制与评价 [J]. 甘肃中医学院学报, 2010, 27(6): 7-10.
- [10] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 1103.
- [11] 杨晓春,李云鹏,卞艳芳,等. 大鼠旷场实验指标检测及参考值的探讨 [J]. 毒理学杂志, 2010, 24(3): 224-225.
- [12] THOMPSON WG. The road to Rome [J]. Gastroenterology, 2006, 130(5): 1552-1556.
- [13] 张英,崔向丽,杨萍,等. SSRI 和 SNRI 类抗抑郁药的不

不良反应 [1]. 中国药物警戒, 2010, 7(9): 554-556.

[4] KAREGE F, PERROUD N, BURKHARDT S, et al. Protein levels of β -catenin and activation state of glycogen synthase kinase-3 β in major depression. A study with postmortem prefrontal cortex [J]. J Affect Disord, 2012, 136(1/2): 185-188.

[5] KAREGE F, PERROUD N, BURKHARDT S, et al. Alteration in kinase activity but not in protein levels of pro-

tein kinase B and glycogen synthase kinase-3 β in ventral prefrontal cortex of depressed suicide victims [J]. Biol Psychiatry, 2007, 61(2): 240-245.

[6] WILKINSON MB, DIAS C, MAGIDA J, et al. A novel role of the WNT-dishevelled-GSK3 β signaling cascade in the mouse nucleus accumbens in a social defeat model of depression [J]. J Neurosci, 2011, 31(25): 9084-9092.

Effects of *Baidizao Mixture* (百地枣合剂) on β -catenin Protein and GSK-3 β mRNA Expression in Hippocampus of Depression Model Rats

ZHAI Chenxu¹, QIAN Zhanhong², ZHANG Mingrui², JI Xiaojun², REN Changsheng²

1. People's Hospital of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot, 010020; 2. College of Traditional Chinese Medicine, Inner Mongolia Medical University

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of *Baidizao Mixture* (百地枣合剂) in treating depression. **Methods** A total of 60 Wistar rats were randomly divided into a blank group, a model group, a fluoxetine hydrochloride group and a *Baidizao Mixture* high, medium and low dose groups, with 10 rats in each group. Except the blank group, rats were treated with chronic stress stimulation and orphanage for 29 days to establish a depression rat model. Beginning on the 8th day of the experiment, the low, medium and high doses of *Baidizao Mixture* were given *Baidizao Mixture* at a concentration of 0.7, 1.4, and 2.8 g/ml respectively, and the fluoxetine hydrochloride group was given a concentration of 0.36 mg/ml fluoxetine hydrochloride suspension. The model group and the blank group were given normal saline, and all groups were given intragastric administration with 1 ml/100 g body weight for 21 consecutive days. On the baseline, 7th, and 29th day of the experiment, rats in all groups were subjected to an open field test and a sugar water preference test. The horizontal movement distance and standing times of the rats were observed. The sugar water preference rate was calculated. The Nissl stain was used to observe the hippocampal histopathology of the rats. Glycogen synthase kinase 3 β (GSK-3 β) mRNA and β -catenin expression in hippocampus were detected. **Results** On the 29th day of the experiment, compared with the blank group, the horizontal movement distance and the number of standing of rats in the model group decreased, the sugar water preference rate decreased, the β -catenin protein expression in the hippocampus tissue decreased, and GSK-3 β mRNA expression increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); Compared with the model group, the rats in the fluoxetine hydrochloride group and the *Baidizao Mixture* high dose group increased horizontal movement distance and standing times, increased sugar water preference, increased β -catenin protein expression in hippocampus, and reduced GSK-3 β mRNA ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The sugar and water consumption rate and β -catenin protein expression in hippocampus of the high dose *Baidizao Mixture* group were increased than those in the medium-dose and low-dose *Baidizao Mixture* group ($P < 0.01$). **Conclusion** *Baidizao Mixture* can improve the behavior of depressive rats. The mechanism may be related to reducing GSK-3 β mRNA and increasing β -catenin expression in hippocampus, and the high dose group showed the best result.

Keywords *Baidizao Mixture* (百地枣合剂); depression; sugar water preference rate; glycogen synthase kinase 3 β ; β -catenin

(收稿日期: 2019-03-30; 修回日期: 2019-06-17)

编辑: 邓 媛