

实验研究

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.21.014

耳甲电针对抑郁症模型大鼠前额叶皮质 NLRP3、NF- κ B、IL-1 β 蛋白表达的影响

刘玥婷¹, 王朝阳¹, 王瑜², 张悦², 国笑², 陈昕力¹, 陈丹¹, 赵沛涵¹, 荣培晶^{2*}

1. 北京中医药大学针灸推拿学院, 北京市朝阳区北三环东路 11 号, 100029; 2. 中国中医科学院针灸研究所

摘要 目的 探讨耳甲电针抗抑郁的可能作用机制。方法 24 只 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、耳甲电针组、耳缘电针组, 每组 6 只。空白组大鼠正常饲养, 其余各组大鼠采用连续 35 天慢性不可预知性温和应激方法结合孤养制备抑郁症大鼠模型。造模 14 天后, 耳甲电针组每日于应激前 1h 在大鼠双侧耳甲腔部进行电针干预; 耳缘电针组在大鼠双侧耳缘部进行电针干预, 两组均每次干预 30 min, 持续 21 天。空白组与模型组无干预。记录造模前、造模 14 天、干预 21 天各组大鼠体质量、糖水消耗量、旷场实验行为。采用 Western blot 法检测干预 21 天后各组大鼠前额叶皮质核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3)、核转录因子 κ B (NF- κ B)、白细胞介素 1 β (IL-1 β) 蛋白表达。结果 与空白组比较, 造模 14 天与干预 21 天模型组大鼠体质量、糖水偏好指数、旷场实验水平穿越格数与垂直站立次数显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 干预 21 天, 耳甲电针组大鼠体质量显著增加 ($P < 0.05$); 耳甲电针组及耳缘电针组大鼠糖水偏好指数、旷场实验水平穿越格数与站立次数显著增加 ($P < 0.01$), 其中耳甲电针组大鼠糖水偏好指数改善优于耳缘电针 ($P < 0.05$)。与空白组比较, 模型组大鼠前额叶皮质 NF- κ B、NLRP3、IL-1 β 蛋白表达均显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 耳甲电针组前额叶皮质 NF- κ B 水平显著降低, 耳甲电针组与耳缘电针组前额叶皮质 NLRP3、IL-1 β 蛋白表达均亦显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 耳甲电针可改善大鼠抑郁样行为, 其机制可能与降低前额叶皮质 NF- κ B 水平和 NLRP3 炎症小体激活, 进而减少 IL-1 β 分泌, 从而缓解炎症反应引起的脑损伤有关。

关键词 抑郁症; 电针; 耳甲; 炎症反应; 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3; 核转录因子 κ B; 白细胞介素 1 β

抑郁症是一种常见的精神疾病, 以持续的情绪低落、悲伤, 丧失兴趣为特征。据世界卫生组织 2017 年报告, 全世界已有超过 3 亿患者受抑郁症困扰^[1]。研究^[2]表明, 抑郁症的发病与免疫功能紊乱, 特别是慢性炎症密切相关。炎症小体的激活是先天免疫中引发炎症的主要途径, 其中核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体由 NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白 (ASC) 及半胱天冬酶 1 (Caspase-1) 组成, NLRP3 炎症小体的激活最终会导致白细胞介素 1 β (IL-1 β) 等促炎因子的大量释放^[3]。另有研究^[4-5]发现, 核转录因子 κ B

(NF- κ B) /NLRP3/IL-1 β 信号通路参与包括抑郁症在内的多种神经系统疾病的发生。

迷走神经刺激疗法 (vagus nerve stimulation, VNS) 于 2005 年被美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准用于治疗难治性抑郁症, 但因手术风险致其使用受限。耳支是迷走神经在体表的唯一分支, 其分布区耳甲与中医理论中治疗抑郁症的耳穴 (心、肾等) 重合^[6]。耳甲电针是 VNS 与耳针的结合, 通过电刺激耳甲腔和外耳道的耳迷走神经末梢, 可显著缓解轻中度抑郁症患者抑郁症状^[7]。动物实验显示, 耳甲电刺激可显著提高慢性不可预知性温和应激 (CUMS) 大鼠旷场实验得分, 减少强迫游泳不动时间^[8-9]。综合前期研究, 耳甲电针治疗抑郁症与改变脑默认网络、改善下丘脑-垂体-

基金项目: 国家自然科学基金 (81803872); 国家重点研发计划 (2018YFC1705800)

* 通讯作者: drrongpj@163.com

肾上腺皮质 (HPA) 轴功能有关, 对免疫炎症反应的调控可能是其潜在机制^[1]。本研究观察耳甲电针对抑郁症模型大鼠前额叶皮质 NF- κ B、NLRP3、IL-1 β 水平的影响, 探讨其治疗抑郁症的可能机制。实验方案获得中国中医科学院针灸研究所动物伦理委员会批准, 批准号: 中科针伦 (D2019-02-11-1)。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级健康雄性成年 SD 大鼠 24 只, 体质量 180 ~ 200 g, 由斯贝福 (北京) 实验动物科技有限公司提供, 实验动物许可证号: SCXK (京) 2016-0002。饲养于中国中医科学院针灸研究所动物房, 室温 20 ~ 25 °C, 湿度 (55 ± 2) %。

1.2 主要试剂及仪器

戊巴比妥钠 (货号: P3761), 美国 Sigma 公司; 蛋白提取试剂盒 (货号: GPP1814)、SDS-PAGE 凝胶配置试剂盒 (货号: GPP1816), 北京基谱生物科技有限公司; 预染蛋白 Marker (货号: 26616), Thermo Fisher 公司; 兔多克隆抗 NF- κ B p65 (货号: ab16502)、兔多克隆抗 NLRP3 (货号: ab21418)、兔多克隆抗 IL-1 β (货号: ab9787)、 β -actin (货号: ab6276), 均为美国 Abcam 公司产品。

低温冷冻离心机 (型号: Freso, Thermo Fisher 公司); 电动匀浆器 (型号: T10 + S5N, 德国 IKA 公司); 电泳仪 (型号: PP-1150, 北京凯元信瑞仪器有限公司); 韩式穴位神经刺激仪 (型号: HANS-200A, 南京济生医疗科技有限公司)。

1.3 分组及造模方法

采用随机数字表法将 24 只大鼠分为空白组、模型组、耳甲电针组、耳缘电针组, 每组 6 只。除空白组外其余各组大鼠采用 CUMS 结合孤养^[2]并改进制备抑郁大鼠模型: 刺激方法包括潮湿垫料 (24 h)、昼夜颠倒 (12/12 h)、束缚 (2 h)、夹尾 (3 min)、冷水游泳 (4 °C, 5 min)、禁食 (24 h)、禁水 (24 h)。以上应激刺激每日 1 种, 随机安排在 35 天内。

1.4 干预方法

正常组: 正常饲养, 不造模, 不干预。模型组: 适应性饲养 7 天后, 造模 35 天。耳甲电针组: 适应性饲养 7 天后, 造模 35 天, 造模第 15 天开始加入耳甲电针干预, 每日 1 次, 持续 21 天。耳缘电针组: 适应性饲养 7 天后, 造模 35 天, 造模第 15 天

开始加入耳缘电针干预, 每日 1 次, 持续 21 天。

电针方法: 2% 异氟烷吸入麻醉大鼠, 采用韩式穴位神经刺激仪连接正负圆形自吸附导电磁铁, 无创固定于大鼠双侧耳甲/耳缘部, 疏密波, 强度 2 mA, 频率 2/15 Hz, 每次刺激 30 min。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 体质量与行为学指标 分别于造模前和造模 14 天、干预 21 天时进行旷场实验^[3]、糖水偏好实验 (糖水偏好指数 = 糖水消耗量/总液体消耗量)^[2-3], 并记录大鼠体质量变化。

1.5.2 大鼠前额叶皮质 NLRP3、NF- κ B、IL-1 β 蛋白表达 采用 Western blot 法检测, 实验结束后, 大鼠 1% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉, 冰上取前额叶皮质。称重, 按照 1 : 10 (g/ml) 的比例加入蛋白提取试剂后将组织剪成细小碎片。将组织置于 EP 管放入 0 °C 冰水混合物中匀浆, 电动匀浆器转速为 15000 r/min, 每次 10 s, 反复匀浆 3 次。冰上孵育 30 min, 使细胞充分裂解, 离心机 13000 r/min, 4 °C 离心 10 min, 离心半径 6 cm, 取上清液 BCA 法检测蛋白浓度。分别配制 10% NLRP3、12% NF- κ B p65、15% IL-1 β 的分离胶和 5% 浓缩胶, 确定上样量为每孔 50 μ g。凝胶电泳后转至 PVDF 膜。加入一抗: 兔抗 NF- κ B p65 (1 : 1000)、兔抗 NLRP3 (1 : 500)、兔抗 IL-1 β (1 : 500) 4 °C 孵育过夜。TBST 洗膜后加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG (1 : 5000) 和羊抗小鼠 IgG (1 : 5000), 室温轻摇 50 min。洗膜后将 PVDF 膜浸泡于 ECL 显色液中 1 min, 暗室中曝光、显影并定影。以 β -actin 为内参蛋白, 条带灰度值采用 Bio-Rad 公司的 Quantity One v4.6.2 软件进行读取。以目标蛋白与 β -actin 的比值作为目标蛋白的相对表达量。

1.6 统计学方法

采用 SAS 8.0 软件进行数据统计分析, 数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。经正态性检验后, 多组间比较采用单因素方差分析, 方差齐时组间两两比较采用 LSD 检验; 方差不齐时使用 Kruskal-Wallis 秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠不同时间体质量比较

表 1 示, 造模前, 各组大鼠体质量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与空白组同时间比较, 模型组大鼠造模 14 天、干预 21 天体质量均显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组同时间比较, 干预 21 天耳

甲电针组大鼠体质量明显增加 ($P < 0.05$), 耳缘电针组大鼠体质量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。造模 14 天、干预 21 天耳甲电针组与耳缘电针组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠不同时间体质量比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	鼠数	造模前	造模 14 d	干预 21 d
空白组	6	201.50 ± 4.97	269.56 ± 6.92	365.54 ± 4.24
模型组	6	203.25 ± 6.54	254.09 ± 4.62*	307.98 ± 8.54*
耳甲电针组	6	202.03 ± 5.83	250.24 ± 4.28*	324.05 ± 8.20 [△]
耳缘电针组	6	202.11 ± 7.41	252.79 ± 7.19*	315.07 ± 9.81

注: 与空白组同时间比较, * $P < 0.01$; 与模型组同时间比较, $\Delta P < 0.05$

2.2 各组大鼠不同时间糖水偏好指数比较

表 2 示, 造模前各组大鼠糖水偏好指数差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。造模 14 天与干预 21 天, 模型组大鼠糖水偏好指数均较空白组显著降低 ($P < 0.01$)。干预 21 天, 耳甲电针组与耳缘电针组糖水偏好指数均较模型组显著升高 ($P < 0.01$), 且耳甲电针组改善优于耳缘电针组 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠不同时间糖水偏好指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	鼠数	造模前	造模 14 d	干预 21 d
空白组	6	0.76 ± 0.09	0.66 ± 0.12	0.72 ± 0.06
模型组	6	0.75 ± 0.10	0.42 ± 0.09*	0.31 ± 0.06*
耳甲电针组	6	0.78 ± 0.08	0.42 ± 0.06*	0.60 ± 0.07 [△]
耳缘电针组	6	0.77 ± 0.10	0.44 ± 0.05*	0.49 ± 0.10 [△]

注: 与空白组同时间比较, * $P < 0.01$; 与模型组同时间比较, $\Delta P < 0.01$; 与耳缘电针组同时间比较, $\#P < 0.05$

2.3 各组大鼠不同时间旷场实验结果比较

表 3 示, 造模前各组大鼠水平穿越格数和垂直站立次数差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。造模 14 天与干预 21 天, 与空白组同时间比较, 模型组水平穿越格数与垂直站立次数均显著降低 ($P < 0.01$)。干预 21 天, 与模型组同时间比较, 耳甲电针组与耳缘电针组的水平穿越格数与垂直站立次数均显著增加 ($P < 0.01$); 耳甲电针组与耳缘电针组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.4 各组大鼠干预 21 天前额叶皮质 NLRP3、NF- κ B、IL-1 β 蛋白表达比较

表 4 示, 与空白组比较, 模型组前额叶皮质 NLRP3、NF- κ B、IL-1 β 表达显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 耳甲电针组 NF- κ B 表达明显降低 ($P < 0.05$), 耳缘电针组 NF- κ B 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 耳甲电针组与耳缘电针组 NLRP3、IL-1 β 蛋白表达均较模型组显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 耳甲电针组与耳缘电针组各指

标比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各组大鼠前额叶皮质 NLRP3、NF- κ B、IL-1 β 蛋白电泳图见图 1。

表 3 各组大鼠不同时间旷场实验水平穿越格数与垂直站立次数比较 ($\bar{x} \pm s$)

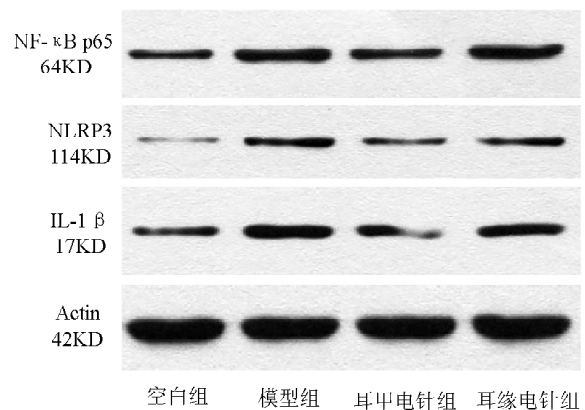
分组	时间	鼠数	水平穿越格数 (个)	垂直站立次数 (次)
空白组	造模前	6	72.67 ± 4.76	16.83 ± 1.47
	造模 14 d	6	67.67 ± 4.68	15.83 ± 1.47
	干预 21 d	6	66.67 ± 9.27	14.83 ± 1.94
模型组	造模前	6	73.83 ± 5.85	17.00 ± 2.61
	造模 14 d	6	30.33 ± 5.54*	6.50 ± 1.05*
	干预 21 d	6	14.33 ± 2.58*	2.83 ± 1.33*
耳甲电针组	造模前	6	74.83 ± 10.53	17.33 ± 2.80
	造模 14 d	6	28.33 ± 8.94*	5.83 ± 1.47*
	干预 21 d	6	48.17 ± 6.91 [△]	8.33 ± 2.66 [△]
耳缘电针组	造模前	6	71.67 ± 7.12	16.50 ± 2.17
	造模 14 d	6	28.17 ± 7.31*	5.16 ± 2.04*
	干预 21 d	6	40.50 ± 12.44 [△]	7.83 ± 3.66 [△]

注: 与空白组同时间比较, * $P < 0.01$; 与模型组同时间比较, $\Delta P < 0.01$

表 4 各组大鼠干预 21 天前额叶皮质 NLRP3、NF- κ B、IL-1 β 蛋白表达比较 (β -actin, $\bar{x} \pm s$)

分组	鼠数	NF- κ B	NLRP3	IL-1 β
空白组	6	0.15 ± 0.08	0.07 ± 0.05	0.13 ± 0.05
模型组	6	0.39 ± 0.07*	0.36 ± 0.11*	0.45 ± 0.08*
耳甲电针组	6	0.25 ± 0.11 [△]	0.18 ± 0.09 ^{△△}	0.23 ± 0.07 ^{△△}
耳缘电针组	6	0.30 ± 0.10	0.23 ± 0.10 [△]	0.29 ± 0.07 ^{△△}

注: NF- κ B, 核转录因子 κ B; NLRP3, 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3; IL-1 β , 白细胞介素 1 β ; 与空白组同时间比较, * $P < 0.01$; 与模型组同时间比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$



注: NF- κ B p65, 核因子 κ B p65; NLRP3, 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3; IL-1 β , 白细胞介素 1 β

图 1 各组大鼠干预 21 天前额叶皮质 NF- κ B p65、NLRP3、IL-1 β 蛋白电泳图

3 讨论

尽管目前抑郁症的发病机制尚不明确, 但大量

研究显示炎症与抑郁症有着密切的关系^[4]。特别是 NLRP3 炎症小体,被认为在抑郁症发病中起到了将心理应激转化为炎症反应的关键作用^[5]。临床研究^[6]显示,未经治疗的抑郁症患者血中 NLRP3 和 IL-1 β mRNA 表达比健康人和经过治疗的抑郁症患者明显增多。动物实验^[7]结果显示,敲除 NLRP3 基因的小鼠接受 CUMS 刺激后,并未出现抑郁样行为,基因的敲除同样阻止了 NF- κ B 活化以及血清和海马中 IL-1 β 水平的升高。此外,另有研究^[8]表明,降低大鼠脑内 NF- κ B/NLRP3/IL-1 β 通路的表达,可以有效改善大鼠抑郁行为,在抑郁症治疗中发挥着重要作用。

经典的 NLRP3 炎症小体激活需要 2 个信号,信号 1 通过 Toll 样受体介导,激活 NF- κ B,上调 NLRP3 和 pro IL-1 β 的转录;信号 2 由大量损伤相关分子模式 (DAMP) 或病原体相关分子模式 (PAMP) 刺激介导,启动由 NLRP3、ASC 和 pro Caspase-1 组成的炎症小体的组装,Caspase-1 将 pro IL-1 β 剪切成成熟体释放,引发炎症反应^[9]。NF- κ B 是 NLRP3 炎症小体组装的启动信号,与抑郁症关系密切。NF- κ B 通过与其抑制因子 I κ B 结合而稳定存在于细胞质中,包括应激在内的各种刺激信号导致 I κ B 激酶复合物 IKK 激活,降解 I κ B 并触发 NF- κ B 转移到细胞核启动转录^[10]。NF- κ B 抑制剂可以阻断 CUMS 诱导的大鼠抑郁行为^[11],将脂多糖 (LPS) 刺激的巨噬细胞与 NF- κ B 抑制剂孵育,可阻止 NLRP3 小体的组装^[12]。

前额叶皮质是抑郁症发病中的关键区域,越来越多的证据表明,前额叶皮质神经元的异常活动与抑郁症状有关^[13]。IL-1 β mRNA 水平的增加,被认为指向抑郁行为和神经可塑性受损^[14]。IL-1 β 的过度表达可以通过减少五羟色胺生成、激活 HPA 轴、介导前额叶皮质神经元突触可塑性调节等机制诱导大鼠抑郁样行为的发生^[14-24]。

本研究采用 CUMS 结合孤养建立抑郁症大鼠模型,体质量反映各组大鼠的食欲与生长状况,糖水偏好实验反映大鼠的快感缺乏程度,旷场实验评价动物在陌生环境中的探索和自主活动。结果显示,模型组大鼠体质量增长幅度、糖水偏好指数、旷场实验活动均较正常组明显降低,表现出抑郁样行为,而耳甲电针可以显著改善抑郁样行为。造模可上调大鼠前额叶皮质 NLRP3、NF- κ B 和 IL-1 β 蛋白表达,而耳甲电针组大鼠前额叶皮质中 NLRP3、NF- κ B、IL-1 β 蛋白表达量显著降低,同时伴有抑

郁样行为的改善,提示脑内炎症水平的变化影响着大鼠行为学的改变,也表明前额叶皮质 NF- κ B/NLRP3/IL-1 β 信号通路可能参与了耳甲电针抗抑郁效应。另外实验中耳缘电针也改善了大鼠糖水偏好指数、旷场实验表现,降低了大鼠前额叶 NLRP3、IL-1 β 表达,但程度不如耳甲电针组,可能与大鼠耳部面积较小,同时迷走神经耳支在耳部分布范围相对较广,耳缘电针组电针贴片部分接触到迷走神经有关。

综上,耳甲电针可改善抑郁症模型大鼠抑郁样行为,其可能与抑制前额叶皮质 NF- κ B 激活和 NLRP3 炎症小体组装,进而减少 IL-1 β 分泌,从而抑制中枢神经系统炎症有关。

参考文献

- [1] World Health Organization. Depression and other common mental disorders: global health estimates [EB/OL]. (2017-02-01) [2020-05-30]. <http://www.who.int/iris/handle/10665/254610>.
- [2] BERK M, ILLIAMS LJ, JACKA FN, et al. So depression is an inflammatory disease, but where does the inflammation come from [J]. BMC Med, 2013, 11: 200. doi: 10.1186/1741-7015-11-200.
- [3] ELLEY N, JELTEMA D, DUAN Y, et al. The NLRP3 inflammasome: an overview of mechanisms of activation and regulation [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(13): 3328-3352.
- [4] YAN S, XUAN Z, YANG M, et al. CSB6B prevents β -amyloid-associated neuro inflammation and cognitive impairments via inhibiting NF- κ B and NLRP3 in microglia cells [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 81: 106263. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106263.
- [5] 董渊, 李晓恒, 侯琳, 等. 先天免疫受体介导的神经炎症在神经系统疾病中的作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2017, 31(11): 1075-1083.
- [6] 孟欣, 廖若夷, 余艳兰, 等. 耳穴疗法干预卒中后抑郁临床研究文献分析 [J]. 北京中医药, 2019, 38(10): 983-987.
- [7] TU Y, FANG J, CAO J, et al. A distinct biomarker of continuous transcutaneous vagus nerve stimulation treatment in major depressive disorder [J]. Brain Stimul, 2018, 11(3): 501-508.
- [8] LIU RP, FANG JL, RONG PJ, et al. Effects of electroacupuncture at auricular concha region on the depressive status of unpredictable chronic mild stress rat models [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013; 789674. doi: 10.1155/2013/789674.

- [9] LI S, ZHAI X, RONG P, et al. Transcutaneous Auricular vagus nerve stimulation triggers melatonin secretion and is antidepressive in Zucker diabetic fatty rats [J]. PLoS One, 2014, 9 (10): e111100. doi: 10. 1371/journal. pone. 0111100.
- [10] KONG J, FANG J, PARK J, et al. Treating depression with transcutaneous auricular vagus nerve stimulation: state of the art and future perspectives [J]. Front Psychiatry, 2018, 9: 20. doi: 10. 3389/fpsyt. 2018. 00020.
- [11] 李少源, 荣培晶, 高国建, 等. 耳甲电针对抑郁模型大鼠海马 Raf/ERK/RSK/CREB 信号通路的影响 [J]. 针刺研究, 2019, 44 (8): 554-559.
- [12] WANG Y, JIANG H, MENG H, et al. Genome-wide transcriptome analysis of hippocampus in rats indicated that TLR/NLR signaling pathway was involved in the pathogenesis of depressive disorder induced by chronic restraint stress [J]. Brain Res Bull, 2017, 134: 195-204. doi: 10. 1016/j. brainresbull. 2017. 07. 021.
- [13] BENELLI A, FILAFERRO M, BERTOLINI A, et al. Influence of S-adenosyl-L-methionine on chronic mild stress-induced anhedonia in castrated rats [J]. Br J Pharmacol, 1999, 127: 645-654. doi: 10. 1038/sj. bjp. 0702589.
- [14] KOHLER O, KROGH J, MORS O, et al. Inflammation in depression and the potential for anti-inflammatory treatment [J]. Curr Neuropharmacol, 2016, 14 (7): 732-742.
- [15] KAUFMANN FN, COSTA AP, GHISLENI G, et al. NLRP3 inflammasome-driven pathways in depression: clinical and preclinical findings [J]. Brain Behav Immun, 2017, 64: 367-383. doi: 10. 1016/j. bbi. 2017. 03. 002.
- [16] ELISABET AG, MIGUEL MD, CASAS-BARQUERO N, et al. NLRP3 inflammasome is activated in mononuclear blood cells from patients with major depressive disorder [J]. Brain Behav Immun, 2013, 36 (1): 111-117.
- [17] SU WJ, ZHANG Y, CHEN Y, et al. NLRP3 gene knockout blocks NF- κ B and MAPK signaling pathway in CUMS-induced depression mouse model [J]. Behav Brain Res, 2017, 322: 1-8. doi: 10. 1016/j. bbr. 2017. 01. 018.
- [18] PAN Y, CHEN XY, ZHANG QY, et al. Microglial NLRP3 inflammasome activation mediates IL-1 β -related inflammation in prefrontal cortex of depressive rats [J]. Brain Behav Immun, 2014, 41: 90 - 100. doi: 10. 1016/j. bbi. 2014. 04. 007.
- [19] ZHANG Q, LENARDO MJ, BALTIMORE D. 30 years of NF- κ B: a blossoming of relevance to human pathobiology [J]. Cell, 2017, 168 (1-2): 37-57.
- [20] KOO JW, RUSSO SJ, FERGUSON D, et al. Nuclear factor- κ B is a critical mediator of stress-impaired neurogenesis and depressive behavior [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107 (6): 2669-2674.
- [21] BAUERNFEIND FG, HORVATH G, STUTZ A, et al. Cutting edge: NF- κ B activating pattern recognition and cytokine receptors license NLRP3 inflammasome activation by regulating NLRP3 expression [J]. J Immunol, 2009, 183 (2): 787-791.
- [22] ZHOU XT, BAO WD, LIU D, et al. Targeting the neuronal activity of prefrontal cortex: new directions for the therapy of depression [J]. Curr Neuropharmacol, 2020, 18 (4): 332-346.
- [23] FAN C, SONG Q, WANG P, et al. Curcumin protects against chronic stress-induced dysregulation of neuroplasticity and depression-like behaviors via suppressing IL-1 β pathway in rats [J]. Neuroscience, 2018, 392: 92-106. doi: 10. 1016/j. neuroscience. 2018. 09. 028.
- [24] 樊翠琴. IL-1 β 介导的神经突触可塑性调节在抑郁症发病中的作用及机制研究 [D]. 济南: 山东大学, 2018.
- [25] 周湘乐, 肖碧跃, 王海兰, 等. 百合地黄汤对抑郁模型大鼠炎症因子 IL-1 β 及神经递质 5-HT 水平变化的影响 [J]. 中医药导报, 2018, 24 (16): 30-33.
- [26] GADEK-MICHALSKA A, TADEUSZ J, RACHWALSKA P, et al. Brain nitric oxide synthases in the interleukin-1 β -induced activation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis [J]. Pharmacol Rep, 2012, 64 (6): 1455-1465.

Effects of Auricular Concha Electroacupuncture on the Expression of NLRP3, NF- κ B, IL-1 β Protein in Prefrontal Cortex of Depression Model Rats

LIU Yueting¹, WANG Zhaoyang¹, WANG Yu², ZHANG Yue², GUO Xiao², CHEN Xinli¹, CHEN Dan¹, ZHAO Peihan¹, RONG Peijing²

1. School of Acupuncture, Moxibustion and Tuina, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029; 2. Institute of Acupuncture and Moxibustion, China Academy of Chinese Medical Sciences

ABSTRACT **Objective** To explore possible mechanism of auricular electroacupuncture on depression. **Methods**

A total of 24 Sprague Dawley (SD) rats were randomized into a blank group, a model group, an auricular concha electroacupuncture (CEA) group and an auricular-rim electroacupuncture (ARE) group with 6 rats in each group.

The rats in the blank group were fed normally, and the depression model was induced by chronic unpredictable mild stress method combined with solitary condition for continuous 35 days. CEA group received electro-acupuncture intervention in the cavities of bilateral ear concha 1 hour before stress every day; ARE group received electro-acupuncture intervention in rat bilateral ear rim, each for 30 min in both groups, lasting 21 d. There was no intervention for the blank group and the model group. Body weight, sucrose consumption and open-field test behavior of each group were recorded before modeling, on the 14th day of modeling and on the 21st day of intervention. The expression levels of rat prefrontal cortex nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3), nuclear transcription factor κ B (NF- κ B), and interleukin 1 β (IL-1 β) in each group was detected by Western blot method after 21 days intervention. **Results** Compared with the blank group, the body weight, sucrose consumption and horizontal crossing grid and vertical stand times of open-field test behavior were significantly decreased in the model group after modeling 14 days and intervention 21 days ($P < 0.01$). Compared with the model group, after the intervention for 21 days, the body weight of the rats in the CEA group was significantly increased ($P < 0.05$); sugar water preference index, horizontal crossing grid number and standing times in open field experiment were significantly increased in both intervention groups ($P < 0.01$). Among them, the improvement of water preference index of CEA group was better than that of ARE group ($P < 0.05$). Compared with the blank group, the expressions of NF- κ B, NLRP3 and IL-1 β in the prefrontal cortex of the model group were significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the prefrontal cortex NF- κ B p65 level in the CEA group was significantly lower ($P < 0.01$); the expressions of NLRP3 and IL-1 β in the prefrontal cortex of both groups were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** Electroacupuncture at auricular concha is able to improve depressive behavior in rats. The mechanism may be related to reducing the level of NF- κ B in the prefrontal cortex and activation of NLRP3 inflammasomes, reducing IL-1 β secretion, alleviating brain damage caused by inflammatory reactions.

Keywords depression; electroacupuncture; auricular concha; inflammatory reaction; nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3; nuclear transcription factor κ B; interleukin 1 β

(收稿日期: 2020-02-24; 修回日期: 2020-06-05)

编辑: 焦爽

《中医杂志》(英文版) 欢迎投稿

Journal of Traditional Chinese Medicine 【《中医杂志》(英文版)】(ISSN 0255-2922, CN 11-2167/R, 双月刊)

由中华中医药学会与中国中医科学院联合主办, 是我国中医药界具有权威的中医药英文科技期刊, 现发行和交换 90 多个国家和地区。

《中医杂志》(英文版) 自 1981 年创刊以来一直坚持正确的办刊宗旨, 国际影响力不断提升。2010 年入选 SCI-E (《科学引文索引》扩刊版), 2011 年获得中国中医科学院自主选题项目资助, 2013 年获得“中国科技期刊国际影响力提升计划”资助, 自 2012 年起连续被评为“中国最具国际影响力学术期刊”。本刊先后被国际知名文献数据库 MEDLINE、《化学文摘》(CA)、《医学文摘》(EM) 等收录, 是 MEDLINE 收录的第一份中国出版的中医药期刊, 是 SCI 收录的 30 余种全科医学和替代医学期刊中唯一的中国传统医学综合性学术期刊。

《中医杂志》(英文版) 主要栏目包括循证研究、理论研究、基础研究、临床观察、中药研究、文献研究, 思路与方法、综述等。内容以报道中医药基础、临床研究成果和科研前沿进展为主, 覆盖中医药学科各个领域。欢迎广大专家学者积极投稿。作者可直接登录本刊网站 <http://www.journaltcm.com> 投稿。

联系邮箱: jtcmen@126.com。电话: 010-64089190。

本社地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 邮政编码: 100700。