

实验研究

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2016.21.015

舒郁胶囊对抑郁症大鼠胃肠组织 5-HTR1A-cAMP-CREB 信号通路的影响

王晓龙¹, 乔明琦^{*}, 高杰¹, 孙鹏¹, 魏盛¹, 薄蔷², 王美艳¹, 张媛媛¹

(1. 山东中医药大学, 山东省济南市长清区大学科技园大学路 4655 号, 250355; 2. 山东省淄博市张店区中医院)

摘要 目的 探讨舒郁胶囊抗抑郁的作用靶点及相关机制。方法 50 只 Wistar 大鼠随机分为正常组、模型组、舒郁胶囊组、氟西汀组、WAY-100635 组, 每组 10 只, 采用 28 天慢性温和应激制备抑郁症大鼠模型, 造模期间舒郁胶囊组给予舒郁胶囊 0.51 g/(kg·d)、氟西汀组给予氟西汀胶囊 2×10^{-3} g/(kg·d)、WAY-100635 组给予 WAY-100635 0.2×10^{-3} g/(kg·d), 正常组与模型组给予等量生理盐水灌胃。造模与干预前后分别记录各组大鼠体重, 并观察各组大鼠旷场实验总分与糖水偏好系数。造模后各组选择 6 只大鼠采用蛋白质印迹法检测胃、肠组织中的 5 羟色胺 1A 受体 (5-HTR1A) 蛋白表达水平, 环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (CREB) 磷酸化水平; 采用 ELISA 法检测环磷酸腺苷 (cAMP) 含量变化。结果 与正常组比较, 模型组大鼠体重、旷场实验总分、糖水偏好系数均显著下降 ($P < 0.01$), 而舒郁胶囊组与氟西汀组各指标均较正常组显著改善 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与正常组比较, 模型组大鼠胃、肠组织中 5-HTR1A 蛋白相对表达量显著升高, cAMP 含量和 CREB 磷酸化水平显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。舒郁胶囊和 WAY-100635 可显著性降低大鼠胃、肠组织中 5-HTR1A 蛋白相对表达量, 升高 cAMP 含量及 CREB 磷酸化水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 氟西汀可使大鼠胃、肠组织中 cAMP 含量及胃组织中 CREB 磷酸化水平显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 舒郁胶囊可通过下调胃、肠组织中 5-HTR1A 蛋白表达, 上调其下游信号通路中 cAMP 含量、CREB 磷酸化水平发挥抗抑郁作用。

关键词 抑郁症; 舒郁胶囊; 5-HT1A 受体; 信号通路

5 羟色胺 1A 受体 (5-hydroxy tryptamine 1A receptor, 5-HTR1A) 在抑郁症病因及抗抑郁药物的作用机制研究中至关重要, 其主要分布于脑额叶皮层、海马等中枢边缘系统, 在胃肠黏膜上皮、肌间神经丛、平滑肌细胞等也有分布, 参与多种胃肠运动及情绪活动的调节^[1-2]。目前对 5-HTR1A 的研究多集中在中枢神经系统, 外周效应器官鲜有报道。舒郁胶囊是已故全国名老中医张珍玉教授治疗抑郁症的经验方, 具有疏肝解郁, 调畅情志的作用。本实验将大鼠胃、肠组织中 5-HTR1A 作为研究对象, 从外周器官角度多方面寻找抑郁症发病的相关环节及舒郁胶囊治疗该病的作用靶点。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性健康 Wistar 大鼠, 5 周龄, 体重 110 ~ 130 g, 55 只。由北京维通利华实验动物有限公司提供, 实验动物许可证号: SCXK (京) 2012-0001。

1.2 药物

舒郁胶囊 (由柴胡、白芍、香附、甘草组成。新药临床研究批件号 2008L11169, 由青海海川创新生物天然药物研究中心制备); 盐酸氟西汀胶囊 (礼来苏州制药有限公司, 批号 J20080016); 5-HTR1A 拮抗剂 WAY-100635 (英国 abcam 公司, 批号: ab120550)。

1.3 试剂

5-HTR1A 受体抗体 (英国 abcam 公司, 批号:

基金项目: 国家自然科学基金 (81072721)

* 通讯作者: qmingqi@163.com

ab44635), β -action (美国 sigma 公司, 批号: A1978), 兔环磷腺苷效应元件结合蛋白 [CREB (48H2), 美国 cell signaling 公司, 批号: #9197], 磷酸化 CREB (p-CREB Ser133, 美国 cell signaling 公司, 批号: #9191); 辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG (济南远达晶美生物科技有限公司, 批号: SB200), 辣根过氧化物酶标记羊抗鼠 IgG (美国 santa cruz 公司, 批号: SC-2005)。环磷酸腺苷 (cAMP) ELISA 试剂盒 (上海西塘生物科技有限公司, 批号: F15181), BCA 蛋白试剂盒 (碧云天生物技术有限公司, 批号: P0010), BeyoECL Plus (碧云天生物技术有限公司, 批号: P0018), β -巯基乙醇 (美国 Sigma 公司, 批号: M7154), 实验用缓冲液 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 及 NaCl 均购于天津登科化学试剂有限公司。

1.4 仪器

自制旷场箱 (100 cm $\times$ 100 cm $\times$ 50 cm), 电子天平 (上海梅特勒-托利多仪器有限公司, 型号 JB/T5374-1991); 频闪光仪 (新元达舞台灯光厂, 型号 SP-75)。蛋白印迹转移装置 (美国伯乐公司, 型号 SDS-PAGE); 台式高速冷冻离心机 (上海生美生化仪器设备工程有限公司, 型号 CT15RT); 振荡培育箱 (广东医疗器械厂, 型号 LRH-250-2); X-光片夹 (8 $\times$ 10 英寸, 广东粤华医疗器械厂有限公司); 酶标仪 (瑞士 Tecan 公司, 型号 A-5082); 匀浆器 (RotaPrep 公司, 型号 MLYS01)。

2 方法

2.1 造模与给药

整个实验周期 Wistar 大鼠饲养于昼夜颠倒、光线及温度控制房间内, 温度 (21 $\pm$ 2) $^{\circ}\text{C}$, 暗淡灯光 (<28ux) 光照自 9:00 至 21:00。应激操作开始前, 根据旷场实验^[9]与糖水偏好实验^[10]数据, 筛选得分相近大鼠进入实验。将筛选出的大鼠 50 只, 随机分为正常组 (不给予任何刺激, 给予与药物组等量的生理盐水)、模型组 (造模同时给予与药物组等量的生理盐水)、舒郁胶囊组 [造模同时给予舒郁胶囊, 0.51 g/(kg $\cdot$ d), 相当于人临床 8 倍剂量]、氟西汀组 [造模同时给予氟西汀胶囊, 给药剂量为 2×10^{-3} g/(kg $\cdot$ d), 相当于人临床 6 倍剂量]、WAY-100635 组 [造模同时给予 WAY-100635, 生理盐水溶解, 剂量为 0.2×10^{-3} g/(kg $\cdot$ d)]。按 1 ml/100 g 配制药液。采用 28 天慢性温和应激^[9]制备抑郁症模型, 造模期间 WAY-100635 组

腹腔注射给药, 其余各组分别灌胃给药。

2.2 观察指标与方法

2.2.1 体重 造模与干预前后分别记录各组大鼠体重。

2.2.2 旷场实验^[9] 旷场实验箱是一个开放的方形木制盒 (100 cm $\times$ 100 cm $\times$ 50 cm), 侧壁与底面成黑色, 底面划分为面积均等的 25 个方格。大鼠在实验前在测定房间中适应 10 min 以上, 室内红暗光。测试时操作者握住大鼠尾根部 1/3 处, 小心放入旷场正中格, 用摄像系统记录动物 3 min 内的行为变化。水平得分: 大鼠穿越底面方格总数记为水平活动得分 (以大鼠前后爪均进入底面方格为准记分); 垂直得分: 大鼠两前爪腾空或攀附墙壁直立次数为垂直活动得分; 旷场实验总分: 水平得分 + 垂直得分。造模与干预前后分别记录各组大鼠旷场实验总分。

2.2.3 糖水偏好实验^[10] 在实验前大鼠需禁食禁水 12 h, 然后放入两瓶预先称重溶液, 一瓶为 0.01% 蔗糖水溶液, 一瓶则为蒸馏水, 每瓶 100 ml; 大鼠 1 h 内在蔗糖水和蒸馏水之间自由选择, 为避免大鼠喜好饮一侧水, 两个瓶子位置 30 min 倒换一次; 糖水和蒸馏水消耗通过称量瓶子质量测得; 糖水偏好系数以消耗糖水占整个液体消耗百分比表示。

2.2.4 Western-blot 法检测 5-HTR1A、p-CREB 蛋白相对表达 造模 28 天后, 每组大鼠选择行为学检测最稳定的大鼠各 6 只, 断头处死, 迅速于冰上摘取脏器组织胃、肠 (回盲部), 用生理盐水清洗, 称量, 装入 EP 管中, 放入 -70 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存。称量胃或肠组织重量, 放置于冰上, 组织匀浆 (1 mg 组织加入 5 μl 裂解液, 1 ml 裂解液加入 10 μl 苯甲基磺酰氟) 后, 放置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的离心机内, 12000 r/min, 5 min, 取上清液分装于 1.5 ml 的 EP 管内, 其中部分蛋白上清液加入 β -巯基乙醇, 沸水中煮 5 min 使蛋白变性, -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存。BCA 法测定样品蛋白含量。

每组以 45 μg 上样, 经 SDS-PAGE 电泳分离后, 湿法转移至 NC 膜上, 5% 脱脂奶粉的 TBST 溶液室温封闭, 用封闭液稀释后的一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 各抗体稀释比例为 5-HTR1A (1 : 100)、CREB (1 : 800)、p-CREB (1 : 800)、 β -actin (1 : 2000), 洗膜后再用二抗室温孵育 1 h, ECL 化学发光试剂检测信号, 显影于 X 射线光片, 扫描光片并进行图像分析 (Image J 1.46, National

Institutes of Health)。以 5-HTR1A 与 β -actin 的灰度比值作为 5-HTR1A 蛋白的相对表达量; 以 P-CREB 与 CREB 的灰度比值作为 CREB 磷酸化水平的评价指标。

2.2.5 ELISA 法检测 cAMP 含量 各组蛋白样品按照大鼠 cAMP ELISA 试剂盒说明进行。

2.3 统计学方法

采用 GraphPad Prism 5 软件进行统计分析, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 进行 one-way ANOVA 分析, 组间两两比较采用 Bonferroni 法, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠体重比较

表 1 示, 实验前各组大鼠体重差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与正常组比较, 28 天后模型组大鼠体重显著下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 28 天后舒郁胶囊组、氟西汀组及 WAY-100635 组大鼠体重均显著升高 ($P < 0.01$)。舒郁胶囊组与氟西汀组之间大鼠体重差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3.2 各组大鼠糖水偏好系数比较

表 1 示, 28 天后, 模型组大鼠糖水偏好系数较正常组显著降低 ($P < 0.01$); 舒郁胶囊组、氟西汀组大鼠糖水偏好系数较模型组大鼠均显著升高 ($P < 0.01$); WAY-100635 组与模型组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。舒郁胶囊组与氟西汀组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

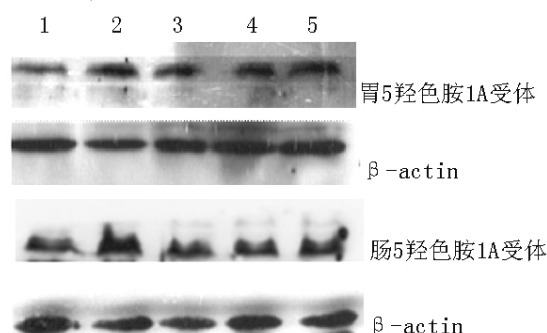
3.3 各组大鼠旷场实验总分比较

表 1 示, 28 天后, 模型组大鼠旷场实验总分较正常组显著降低 ($P < 0.01$); 舒郁胶囊组及氟西汀组旷场实验总分较模型组显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), WAY-100635 组与模型组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。舒郁胶囊组与氟西汀

组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3.4 各组大鼠胃、肠组织中 5-HTR1A 蛋白相对表达量比较

表 2 示, 与正常组比较, 模型组大鼠胃、肠组织中 5-HTR1A 蛋白相对量表达显著升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 舒郁胶囊组与 WAY-100635 组大鼠胃、肠组织中 5-HTR1A 蛋白相对量表达显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与 WAY-100635 组比较, 舒郁胶囊组大鼠胃、肠组织中 5-HTR1A 蛋白量相对量表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。图 1 示, 5-HTR1A 蛋白表达电泳图。



注: 1, 正常组; 2, 模型组; 3, 氟西汀组;

4, 舒郁胶囊组; 5, WAY-100635 组

图 1 各组大鼠胃、肠组织 5-HTR1A/ β -actin 蛋白电泳图

3.5 各组大鼠胃、肠组织中 CREB 磷酸化水平比较

表 2 示, 与正常组比较, 模型组大鼠胃、肠组织中 CREB 磷酸化水平显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。氟西汀组、舒郁胶囊组、WAY-100635 组胃组织 CREB 磷酸化水平均较模型组显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 氟西汀组 CREB 磷酸化水平显著性低于 WAY-100635 组 ($P < 0.05$); 舒郁胶囊组与 WAY-100635 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与模型组比较, 氟西汀组大鼠肠组织

表 1 各组大鼠实验前后体重、糖水偏好系数、旷场实验总分比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	鼠数	体重 (g)	糖水偏好系数	旷场实验总分 (分)
正常组	实验前	10	121.15 $\pm$ 12.69	0.81 $\pm$ 0.06	89.17 $\pm$ 14.65
	28 天后	10	260.48 $\pm$ 10.52	0.83 $\pm$ 0.05	76.10 $\pm$ 33.21
模型组	实验前	10	124.73 $\pm$ 8.06	0.82 $\pm$ 0.08	93.75 $\pm$ 15.23
	28 天后	10	231.34 $\pm$ 19.92*	0.60 $\pm$ 0.11*	43.13 $\pm$ 17.33*
舒郁胶囊组	实验前	10	123.27 $\pm$ 12.41	0.78 $\pm$ 0.09	85.72 $\pm$ 14.53
	28 天后	10	255.06 $\pm$ 10.66##	0.83 $\pm$ 0.08##	80.67 $\pm$ 21.75##
氟西汀组	实验前	10	127.66 $\pm$ 9.52	0.80 $\pm$ 0.13	89.83 $\pm$ 13.43
	28 天后	10	251.39 $\pm$ 13.24##	0.79 $\pm$ 0.11##	69.38 $\pm$ 34.53#
WAY-100635 组	实验前	10	125.43 $\pm$ 5.94	0.86 $\pm$ 0.04	90.38 $\pm$ 25.61
	28 天后	10	248.28 $\pm$ 12.97##	0.70 $\pm$ 0.17	52.70 $\pm$ 19.74

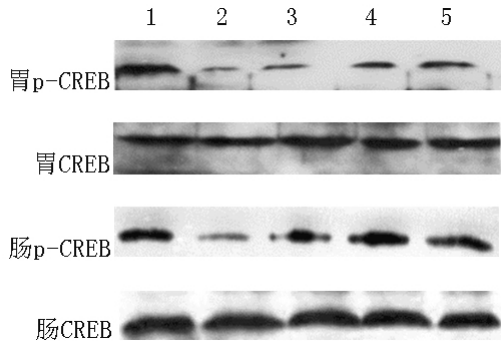
注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

表 2 各组大鼠胃、肠 5-HT_{1A} 蛋白表达、CREB 磷酸化及 cAMP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	胃			肠		
		5-HT _{1A} 蛋白表达	CREB 磷酸化水平	cAMP (pmol/ml)	5-HT _{1A} 蛋白表达	CREB 磷酸化水平	cAMP (pmol/ml)
正常组	6	0.57 ± 0.11	0.90 ± 0.16	4261.38 ± 477.44	1.25 ± 0.27	0.72 ± 0.16	1931.32 ± 174.04
模型组	6	0.82 ± 0.10 [*]	0.34 ± 0.19 ^{**}	2347.23 ± 265.19 ^{**}	1.90 ± 0.26 [*]	0.27 ± 0.13 [*]	356.95 ± 195.10 ^{**}
氟西汀组	6	0.76 ± 0.19	0.66 ± 0.19 ^{*△}	3707.66 ± 459.75 [#]	1.71 ± 0.20	0.63 ± 0.27	585.69 ± 50.67 ^{##}
舒郁胶囊组	6	0.55 ± 0.17 [#]	0.81 ± 0.12 ^{##}	3503.70 ± 188.35 [#]	1.11 ± 0.41 ^{##}	0.83 ± 0.17 ^{##}	755.56 ± 60.36 ^{##}
WAY-400635 组	6	0.50 ± 0.09 ^{##}	1.02 ± 0.11 ^{##}	3181.12 ± 621.75 [#]	1.22 ± 0.49 [#]	0.81 ± 0.25 ^{##}	1586.22 ± 81.64 ^{##}

注: 5-HT_{1A}, 5 羟色胺 1A 受体; CREB, 兔环磷酸腺苷反应元件结合蛋白; cAMP, 环磷酸腺苷; 与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与 WAY-400635 组比较, △ $P < 0.05$

CREB 磷酸化水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 舒郁胶囊组和 WAY-400635 组肠组织中 CREB 磷酸化水平较模型组显著升高 ($P < 0.01$)。图 2 为以 CREB 作为内参的 p-CREB 蛋白表达电泳图。



注: 1, 正常组; 2, 模型组; 3, 氟西汀组; 4, 舒郁胶囊组; 5, WAY-400635 组; CREB, 兔环磷酸腺苷反应元件结合蛋白; p-CREB, 磷酸化兔环磷酸腺苷反应元件结合蛋白

图 2 各组大鼠胃、肠组织 p-CREB/CREB 蛋白电泳图

表 2 示, 与正常组比较, 模型组胃、肠组织中 cAMP 含量显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 舒郁胶囊组、氟西汀组、WAY-400635 组大鼠胃、肠组织中 cAMP 含量均显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各给药组之间比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

4 讨论

本次研究采用慢性温和应激结合束缚法制备抑郁症模型, 通过造模前后大鼠的体重变化、糖水偏好及旷场实验等行为学方法进行模型评价。经 28 天慢性应激后, 模型组大鼠体重、糖水偏好系数及旷场总得分均显著降低 ($P < 0.01$)。宏观行为观察到模型组大鼠精神状态不活跃, 毛发蓬乱, 目光呆滞, 对外界刺激不敏感, 这些与抑郁症患者具有的精神运动迟滞、兴趣丧失、快感缺乏的特征有很大的相似性。给予舒郁胶囊及氟西汀治疗对大鼠的

抑郁行为起到了良好的纠正作用, WAY-400635 组仅体重降低有改善, 糖水偏好系数及旷场总得分较模型组大鼠均无变化。行为学观察结果显示, 舒郁胶囊体现了较好的抗抑郁作用, 其作用效果与氟西汀相一致。

5 羟色胺 (5-HT) 是重要的情绪性行为的调节因子之一, 体内 5-HT 的失调可导致 5-HT 神经功能系统发生紊乱, 进而引发抑郁症或其他情感障碍性疾病^[8]。此外, 抑郁症患者长期过度的情绪紧张可导致脑-肠轴功能异常, 使胃肠道 5-HT 分泌增多, 引起肠道蠕动、分泌增加, 这是抑郁症患者出现腹胀、腹泻、食欲不振等胃肠功能性躯体症状的重要原因^[9]。5-HT_{1A} 是 5-HT 受体众多亚型中的一类, 广泛分布于外周和中枢神经系统中, 参与调控情绪、睡眠、疼痛、体温、胃肠道运动和分泌功能等多种生命活动^[8-9]。5-HT_{1A} 是抑制性 G-蛋白耦联受体, 可抑制细胞膜内的腺苷环化酶活性, 减少第二信使 cAMP 的生成^[10]。CREB 可在不同的信号通路激酶作用下磷酸化激活产生转录活性^[11]。大量研究认为, 脑内 5-HT_{1A} 的异常表达、CREB 磷酸化水平与抑郁症具有相关性^[12-13], 但对 5-HT_{1A} 的研究多集中在中枢神经系统, 外周效应器官鲜有报道。本实验蛋白免疫印迹结果显示, 模型大鼠的胃、肠组织与正常组相比, 5-HT_{1A} 蛋白相对表达量均显著增高 ($P < 0.05$), 5-HT_{1A} 介导的下游信号蛋白 cAMP 含量 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) 及 CREB 磷酸化水平均显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.001$), 表明大鼠胃、肠组织中 5-HT_{1A} 的异常高表达, cAMP 含量及 CREB 磷酸化水平的降低同样与抑郁症密切相关。

中药有效成分丰富, 中药复方治疗抑郁症可通过多环节、多靶点发挥作用, 各个环节又可相协同, 共同参与抑郁症的治疗。本研究从外周器官角度研究舒郁胶囊抗抑郁的相关环节及作用靶点,

Western blot 结果显示, 舒郁胶囊可纠正抑郁模型大鼠胃、肠组织中 5-HT_{1A} 蛋白表达异常升高的状态, 同时对大鼠胃、肠组织中 cAMP 含量及 CREB 磷酸化水平均有显著的调节作用, 提示舒郁胶囊对大鼠胃、肠 5-HT_{1A} 及其下游信号通路 cAMP-CREB 产生了干扰。本次研究结果还显示, 氟西汀对大鼠胃、肠组织中 cAMP 含量起到了调节作用, 较模型组相比 cAMP 含量均显著升高, 对 CREB 的磷酸化水平只在大鼠胃组织中有所影响, 而对 CMS 引起的大鼠胃、肠组织中 5-HT_{1A} 蛋白异常高表达状态没有显著的纠正作用, 分析其原因为氟西汀为当前国际上公认的抗抑郁药物, 属于选择性 5-HT 再摄取抑制剂, 其作用机制主要是通过抑制神经突触细胞对神经递质 5-HT 的再吸收以增加细胞外可以和突触后受体结合的 5-HT 水平, 对 5-HT_{1A} 可能没有结合力。从行为学实验结果可看出, 舒郁胶囊与氟西汀具有同样客观的抗抑郁效果, 然而两者的作用机制有所差异, 其靶蛋白的调节限度也有差异, 这也与中药复方多靶点治疗的系统化优势有一定关系。

综上所述, 本实验从外周器官角度对舒郁胶囊的抗抑郁作用靶点进行研究, 认为舒郁胶囊可下调大鼠胃、肠组织中 5-HT_{1A} 蛋白表达水平, 上调其下游信号通路中 cAMP 含量及 CREB 磷酸化水平发挥抗抑郁作用。

参考文献

- [1] KUO DC, TRAN M, SHAH AA, et al. Depression and the suicidal patient [J]. Emerg Med Clin North Am, 2015, 33(4): 765-778.
- [2] CHILMONCZYK Z, BOJARSKI AJ, PILC A, et al. Functional selectivity and antidepressant activity of serotonin 1A receptor ligands [J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(8): 18474-18506.
- [3] CHEN GH, WANG YJ, ZHANG LQ, et al. Age and sex-related disturbance in a battery of sensorimotor and cognitive tasks in Kunming mice [J]. Physiol Behav, 2004, 83(3): 531-541.

Physiol Behav, 2004, 83(3): 531-541.

- [4] ABELAIRA HM, RÉUS GZ, QUEVEDO J. Animal models as tools to study the pathophysiology of depression [J]. Rev Bras Psiquiatr, 2013, 35(2): 112-120.
- [5] WILLNER P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS [J]. Neuropsychobiology, 2005, 52(2): 90-110.
- [6] PITTENGER C, DUMAN RS. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms [J]. Neuropsychopharmacology, 2008, 33(1): 88-109.
- [7] DOBREK L, THOR PJ. Pathophysiological concepts of functional dyspepsia and irritable bowel syndrome future pharmacotherapy [J]. Acta Pol Pharm, 2009, 66(5): 447-460.
- [8] NAUMENKO VS, POPOVA NK, LACIVITA E, et al. Interplay between serotonin 5-HT_{1A} and 5-HT₇ receptors in depressive disorders [J]. CNS Neurosci Ther, 2014, 20(7): 582-590.
- [9] ALBERT PR. Transcriptional regulation of the 5-HT_{1A} receptor: implications for mental illness [J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2012, 367(1601): 2402-2415.
- [10] LEE JS, JANG DJ, LEE N, et al. Induction of neuronal vascular endothelial growth factor expression by cAMP in the dentate gyrus of the hippocampus is required for antidepressant-like behaviors [J]. J Neurosci, 2009, 29(26): 8493-8505.
- [11] TSUJI M, MIYAGAWA K, TAKEDA H, et al. Epigenetic regulation of resistance to emotional stress: possible involvement of 5-HT_{1A} receptor-mediated histone acetylation [J]. J Pharmacol Sci, 2014, 125(4): 347-354.
- [12] PLATTNER F, HAYASHI K, HERNÁNDEZ A, et al. The role of ventral striatal cAMP signaling in stress-induced behaviors [J]. Nat Neurosci, 2015, 18(8): 1094-1100.
- [13] KIM MH, LEEM YH. Chronic exercise improves repeated restraint stress-induced anxiety and depression through 5HT_{1A} receptor and cAMP signaling in hippocampus [J]. J Exerc Nutrition Biochem, 2014, 18(1): 97-104.

Effect of Shuyu Capsule (舒郁胶囊) on 5-HT_{1A}-cAMP-CREB Signal Pathway in Gastric and Intestinal Tissue in Depression Mice

WANG Xiaolong¹, QIAO Mingqi¹, GAO Jie¹, SUN Peng¹, WEI Sheng¹, BO Qiang², WANG Meiyuan¹, ZHANG Yuanyuan¹

(1. Shandong University of Chinese Medicine, Jinan, 250355; 2. Chinese Medicine Hospital of Zhangdian District, Zibo City, Shandong Province)

ABSTRACT Objective To study the antidepressant functional target of *Shuyu Capsule* (舒郁胶囊) and its related mechanism. **Methods** Fifty Wistar rats were randomly divided into normal group, model group, *Shuyu Capsule* group, fluoxetine group and WAY-100635 group, 10 in each. Depression model was made by 28-day chronic mild stress. During the modeling period, the *Shuyu Capsule* group was given *Shuyu Capsule* 0.51 g/(kg·d), with the flu-

oxetine group giving Fluoxetine Capsule $2 \times 10^{-3} \text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, WAY-100635 group giving WAY-100635 $0.2 \times 10^{-3} \text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, and equivalent normal saline was given to normal and model group. Body weight, open field test total score and the sucrose preference coefficient in each group were recorded before and after modeling and interventions. After modeling, 6 rats in each group were picked to measure the expression of 5-hydroxytryptamine 1A receptor (5-HT_{1A}) and the phosphorylation level of cAMP response element binding (CREB) in gastric and intestinal tissue by western blot, and the cyclic adenosine monophosphate (cAMP) was detected by ELISA. **Results** Compared with normal group, the body weight, open field test total score and sucrose preference coefficient in model group decreased significantly ($P < 0.01$), meanwhile these indicators in Shuyu Capsule group and fluoxetine group were higher significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with normal group, much more 5-HT_{1A} in gastric and intestinal tissue was expressed in model group, and much less cAMP and CREB phosphorylation was expressed ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Shuyu Capsule and WAY-100635 could remarkably lower the relative expression of 5-HT_{1A} in murine gastric and intestinal tissue and improve cAMP and CREB phosphorylation ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Fluoxetine can upregulate the cAMP in murine gastric and intestinal tissue and enhance CREB phosphorylation in murine gastric tissue ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** Shuyu Capsule seems to perform the antidepressant function by down-regulating the expression of 5-HT_{1A} in gastric and intestinal tissue as well as up-regulating cAMP and CREB phosphorylation in its downstream signaling pathway.

Keywords depression; Shuyu Capsule (舒郁胶囊); 5-HT_{1A} receptor; signaling pathway

(收稿日期: 2015-12-31; 修回日期: 2016-02-24)

编辑: 焦爽

(上接第 1857 页)

Clinical Observation on 48 Cases of Peptic Ulcer of Spleen and Stomach Deficiency Type Caused by Helicobacter Pylori Infection Treated by Xiangsha Liujunzi Decoction (香砂六君子汤) Combined with Quadruple Therapy

LI Shuhong¹, LIU Huayi², TANG Yanping¹

(1. Nankai Hospital, Tianjin, 300100; 2. Tianjin Academy of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital)

ABSTRACT Objective To observe clinical efficacy and safety treated by Xiangsha Liujunzi Decoction (香砂六君子汤) combined with quadruple therapy in patients with peptic ulcer of spleen and stomach deficiency type caused by helicobacter pylori (Hp) infection. **Methods** Randomly divided 96 patients with peptic ulcer into control group and treatment group, with 48 cases each. The control group was treated by western medicine standard quadruple therapy: bismuth potassium citrate capsules, 220 mg each time, 2 times per day; omeprazole enteric-coated capsules, 20 mg each time, 1 time per day; amoxicillin capsules, 1.0 g each time, 2 times per day; clarithromycin sustained release tablets 500 mg each time, 2 times per day, all of the above drugs were taken orally, 14 days later, stop using other drugs except omeprazole enteric-coated capsules continued to take 4 weeks. In addition to the intervention for the control group, the treatment group was also given Xiangsha Liujunzi Decoction, with one dose per day for 6 weeks. After the treatment, the researchers evaluated the healing quality of the ulcers, monitored the Hp eradication rate and epidermal growth factor (EGF) in two groups, calculated the Chinese medicine syndrome score, and observed the clinical curative effect, as well as the adverse reaction. **Results** The total effective rate in the treatment group and the control group were respectively 95.8% and 89.6%. There was no statistical differences between the two groups ($P > 0.05$). The eradication rate of Hp in the treatment group was 91.7%, significantly higher than that in the control group (77.1%) ($P < 0.05$). The maturity of regenerative mucosa in treatment group was better than that in control group ($P < 0.05$). After treatment, scores of stomach pain, bloating, anorexia, fatigue of both groups were significantly lower than those before treatment ($P < 0.05$). There was no statistical difference in the incidence of adverse reactions between groups ($P > 0.05$). **Conclusion** The efficacy of Xiangsha Liujunzi Decoction combined with quadruple therapy in the treatment of peptic ulcer of spleen and stomach deficiency type caused by Hp infection is equivalent to simple quadruple therapy, can improve the Hp eradication rate, improve clinical symptoms, the security is good.

Keywords peptic ulcer; Xiangsha Liujunzi Decoction (香砂六君子汤); quadruple therapy; Helicobacter pylori; spleen and stomach weakness

(收稿日期: 2015-12-09; 修回日期: 2016-07-28)

编辑: 王利芬