

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2025.05.014

“疏肝调神”针刺对脂多糖诱导抑郁模型小鼠 海马 TLR4/NF- κ B 通路的影响

吴炳鑫¹, 周易¹, 韩思博¹, 黄熙畅¹, 马俊业², 宁百乐³, 王舫泽³, 符文彬³✉

1. 广州中医药大学第二临床医学院, 广东省广州市白云区机场路 12 号, 510006; 2. 广州中医药大学第七临床医学院; 3. 广州中医药大学第二附属医院

[摘要] **目的** 探究“疏肝调神”针刺改善抑郁障碍的可能作用机制。**方法** 将 18 只 C57BL/6J 小鼠随机分为空白组、模型组和针刺组, 每组 6 只。针刺组和模型组通过腹腔注射脂多糖 (LPS) 诱导抑郁模型, 空白组小鼠予腹腔注射等量生理盐水, 每日 1 次, 持续 7 天。造模的同时针刺组在造模第 1 天予“疏肝调神”针刺干预, 每日 1 次, 持续 14 天; 空白组及模型组只捆绑不针刺。采用糖水偏好实验检测各组小鼠的糖水偏好率, 采用旷场实验检测各组小鼠的中心停留时间以及活动总路程, 采用强迫游泳实验检测各组小鼠的不动时间。采用 HE 染色观察各组小鼠海马形态变化。采用 ELISA 法检测各组小鼠海马组织中白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的含量。采用 Western Blot 法检测各组小鼠海马组织中 TOLL 样受体 4 (TLR4)、核因子 κ B (NF- κ B) 蛋白水平。**结果** 与空白组比较, 模型组糖水偏好率显著降低, 中心停留时间显著减少, 活动总路程显著缩短, 强迫游泳不动时间, 海马组织 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 含量, TLR4 及 NF- κ B 蛋白水平显著增加 ($P < 0.01$), 海马神经细胞边界不清, 排列疏松, 少量神经细胞出现核皱缩深染; 与模型组比较, 针刺组糖水偏好率显著升高, 中心停留时间显著增加, 活动总路程显著延长, 强迫游泳不动时间, 海马组织 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 含量, TLR4 及 NF- κ B 蛋白水平显著减少 ($P < 0.01$), 海马神经细胞较模型组排列紧密, 核皱缩深染情况减少。**结论** “疏肝调神”针刺可显著改善抑郁样行为, 其机制可能与抑制海马 TLR4/NF- κ B 信号通路, 减轻炎症反应有关。

[关键词] 抑郁障碍; 针刺; TOLL 样受体 4; 核因子 κ B; 炎症; 疏肝调神

抑郁障碍作为一种高发病率、高复发率但低治愈率的精神疾病, 主要表现为情绪低落、兴趣缺乏、精力下降, 常伴有自残甚至自杀行为^[1]。我国抑郁障碍终身患病率为 6.8%, 总患病人数超过 9000 万, 已成为继心脑血管疾病和癌症之后另一个对人类健康构成严重威胁的疾病^[2]。目前抑郁障碍的发病机制尚未明确, 抗抑郁药物起效延迟, 容易出现恶心呕吐、腹泻及体重增加等多种副作用, 降低了患者依从性, 严重影响患者的生活质量^[3]。海马体是情绪调节的高级中心, 与抑郁障碍密切相关^[4]。在药物作用或应激条件下, 海马体炎症系统

过度激活, 促炎细胞因子释放增加, 破坏神经递质合成和信号转导通路, 破坏中枢神经系统, 从而诱导抑郁和加重抑郁障碍^[5]。TOLL 样受体 4 (TLR4)/核因子 κ B (NF- κ B) 通路是炎症反应的重要通路, 在药物作用或应激条件下被激活, 释放促进炎症细胞因子如白细胞介素 6 (IL-6)、白细胞介素 1 β (IL-1 β) 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α), 参与抑郁障碍的发生^[6]。

针刺是治疗抑郁障碍常用方法^[7]。本团队在系统整理古代医籍经验的基础上, 结合现代中医临床名家对“神”的理论阐述, 并经过多年的临床实践, 提出以“百会”“印堂”“合谷”“太冲”为核心组穴的“疏肝调神”针刺方案^[8], 并通过多项临床研究证实其能有效改善抑郁障碍患者临床症状,

基金项目: 国家自然科学基金项目 (U23A20507, 82074522, 81804199); 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2024A1515010291)

✉ 通讯作者: fuwenbin@139.com

且安全性高、无明显不良反应^[9-11]，但其机制尚未明确。因此，本研究采用脂多糖（LPS）诱导的抑郁小鼠模型，观察“疏肝调神”针刺对抑郁模型小鼠抑郁样行为和海马TLR4/NF- κ B通路的影响，探讨其可能机制，以丰富针刺抗抑郁的临床证据。本研究经广州中医药大学实验动物伦理委员会批准（批准号：20240621003）。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级雄性C57BL/6J小鼠18只，6~7周龄，体重16~18 g，购自广东至远生物医药科技有限公司，实验动物生产许可证号：SCXK（粤）2021-0057。饲养于华南针灸研究中心，采用标准鼠笼，每笼6只小鼠，湿度40%~70%，光照/黑暗时间12 h，自由活动、进食、进水。

1.2 主要试剂与仪器

水合氯醛（货号：302170），天津大茂化学试剂厂；LPS（货号：L2880）、蔗糖（货号：L2880），美国Sigma-Aldrich公司；苏木素-伊红染液（货号：C0105S）、BCA蛋白浓度测定试剂盒（货号：P0012），上海碧云天生物技术有限公司；无水乙醇（货号：10009218）、二甲苯（货号：10023418）、盐酸（货号：10011028）、氨水（货号：XW011336216024）、中性树胶（货号：10004160），中国医药集团有限公司；小鼠IL-6（货号：MM-0163M1）、IL-1 β （货号：MM-0040M1）、TNF- α （货号：MM-0132M1）测试盒，江苏酶免实业有限公司；TLR4抗体（货号：AB2208），英国Abcam公司；NF- κ B抗体（货号：AF6387），美国Affinity Biosciences公司；HRP标记的山羊抗兔（货号：4050-05）、兔抗鼠二抗（货号：6170-05），美国Southern Biotech公司。

旷场实验视频分析系统（型号：JLBehv-LAM）、强迫游泳实验视频分析系统（型号：JLBehv-FSM-4），上海吉量软件科技有限公司；一次性无菌针灸针（0.18 mm $\times$ 13 mm），苏州华佗医疗器械有限公司；正置光学显微镜（型号：Nikon Eclipse CI）、成像系统（型号：Nikon DS-U3），日本尼康公司；垂直电泳槽（型号：VE180）、转移电泳槽（型号：VE186），上海天能科技有限公司；电泳仪（型号：BG-Power 600i），北京百晶生物技术有限公司；酶标仪（序列号：3530910449），上海赛默飞世尔仪器有限公司；高速冷冻离心机（型号：5804R），德国艾本德公司。

1.3 分组、造模及干预

自适应1周后，将18只小鼠采用随机数字表法分为空白组、模型组及针刺组，每组6只。模型组及针刺组小鼠参照文献[12]建立抑郁模型，将LPS按0.5 mg/（kg $\cdot$ d）在0.1 ml生理盐水中稀释后进行腹腔注射，空白组小鼠予腹腔注射等量生理盐水，每天1次，持续7天。造模结束后模型小鼠糖水偏好率、中心停留时间和活动总路程较正常小鼠显著减少，小鼠强迫游泳不动时间显著增加，差异具有统计学意义，即判定为造模成功^[13]。

针刺组在造模第1天LPS腹腔注射后1 h针刺“百会”“印堂”及双侧“合谷”“太冲”，穴位定位参照《实验针灸学》^[14]，“百会”及“印堂”采用平刺，“合谷”及“太冲”采用直刺，进针深度为2 mm，每次留针20 min，每日1次，连续14天。空白组和模型组只捆绑不针刺，每次20 min，每日1次，连续14天。

1.4 观察指标及方法

1.4.1 小鼠抑郁样行为检测 糖水偏好实验：各组小鼠在完成干预后进行糖水偏好实验。所有小鼠在测试开始前单独关在笼子里并同时给200 ml蔗糖溶液和200 ml纯净水24 h，瓶子每隔12 h更换一次位置避免侧边偏好。24 h后将蔗糖溶液和纯净水更换为100 ml 1%蔗糖溶液和100 ml纯净水，24 h后计算纯净水耗水量和蔗糖溶液消耗量，糖水偏好率（%）=蔗糖溶液消耗量/（蔗糖溶液消耗量+纯净水消耗量）。

旷场实验：在完成糖水偏好实验后，于测试开始前将小鼠放在实验室适应30 min。将小鼠放在旷场箱（50 cm $\times$ 50 cm $\times$ 50 cm）的中心，记录并计算5 min内小鼠的中心停留时间和活动总路程。每次测试之间用75%酒精彻底消毒并待其完全挥发。

强迫游泳实验：在完成旷场实验24 h后，于测试开始前将小鼠放在实验室适应30 min。将小鼠放入装有2/3水的圆柱玻璃缸[高25 cm，直径10 cm，水温（24 $\pm$ 10） $^{\circ}$ C]，用强迫游泳实验视频分析系统拍摄小鼠6 min内行为，观察并记录后5 min内小鼠的不动时间。

1.4.2 HE染色法观察小鼠海马组织形态 完成行为学实验后，每组采取随机数字表法取3只小鼠，用3%水合氯醛（10 ml/kg）腹腔注射麻醉后断头处死，取左脑进行梯度脱水、包埋、切片（厚度4 μ m），烤片后脱蜡脱水，进行HE染色、脱水透明和中性树胶封片，在光学显微镜下观察小鼠海马组织形态。

1.4.3 ELISA 法检测海马组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 含量 完成行为学实验后,将每组剩余 3 只小鼠麻醉后断头处死后取右脑,并与 HE 染色实验中各组剩余的 3 个右脑一起迅速于冰上钝性分离海马组织,置于-80℃冰箱中保存,检测时将海马组织称重,每 10 mg 海马组织中加入 90 μ l 预冷的缓冲 PBS 溶液,匀浆后 4℃、2000 r/min,离心 20 min (离心半径 8 cm),取上清液,严格按照 ELISA 试剂盒的说明书进行操作,分别检测小鼠海马组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 LPS 含量。

1.4.4 Western Blot 法测定海马组织 TLR4、NF- κ B 蛋白水平 钝性分离 ELISA 实验中每组剩余的 3 只小鼠的左脑海马组织,称重剪碎后使用 RIPA 裂解液进行裂解,离心半径 8 cm,4℃、14 000 r/min,离心 10 min 后取上清液,以 BCA 法测定蛋白浓度,将剩余样品加缓冲液后进行沸水水浴 5 min 使蛋白变性,SDS-PAGE 电泳分离蛋白并转移至 PVDF 膜,5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h,加入一抗 TLR4 (1:1000) 和 NF- κ B (1:1000) 4℃条件下孵育过夜后洗膜,加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG (1:5000) 和兔抗鼠 (1:5000) 二抗室温避光孵育 3 h,洗膜后将膜浸入发光液室温孵育 3 h 后进行显影。使用 Image J 1.5.3 软件分析各条带的灰度值,以目的蛋白与内参的条带灰度值的比值为目的蛋白的相对表达量。

1.5 统计学方法

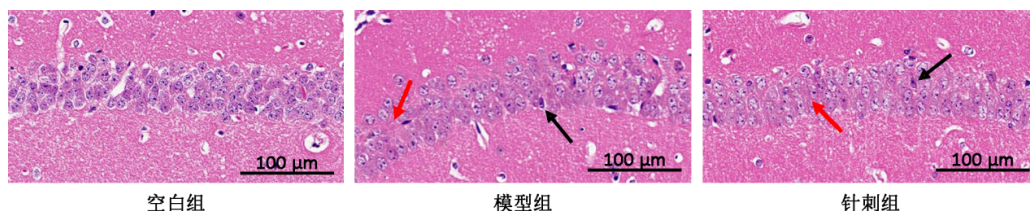
使用 SPSS 25.0 及 Graphpad Prism9.5 软件进行

表 1 各组小鼠糖水偏好率、中心停留时间、活动总路程、强迫游泳不动时间比较

Table 1 Comparison of sucrose preference rate, center stay time, total travel distance, immobility time in the forced swim test of mice in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	糖水偏好率/%	中心停留时间/s	活动总路程/cm	不动时间/s
空白组	6	91.73 $\pm$ 4.21	61.50 $\pm$ 6.19	91.73 $\pm$ 4.21	64.39 $\pm$ 7.62
模型组	6	54.30 $\pm$ 11.22 ^{a)}	3.67 $\pm$ 0.77 ^{a)}	54.30 $\pm$ 11.22 ^{a)}	187.95 $\pm$ 8.00 ^{a)}
针刺组	6	76.40 $\pm$ 6.78 ^{b)}	18.56 $\pm$ 1.10 ^{b)}	76.40 $\pm$ 6.78 ^{b)}	106.40 $\pm$ 9.70 ^{b)}

注: a) 与空白组比较, $P<0.01$; b) 与模型组比较, $P<0.01$ 。



注: 红色箭头表示海马神经细胞边界不清, 排列疏松; 黑色箭头表示海马神经细胞核皱缩深染。

图 1 各组小鼠海马组织病理形态 (HE 染色, $\times 200$)

Figure 1 Comparison of pathological morphology of hippocampus of mice in each group (HE staining, $\times 200$)

分析和绘图, 各组计量数据均符合正态分布, 以均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 方差齐者多组间比较采用单因素方差分析, 组间多重比较采用 LSD 检验, 方差不齐时则采用 GamesHowell 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠抑郁样行为指标比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组糖水偏好率显著降低, 中心停留时间显著减少, 活动总路程显著缩短, 强迫游泳不动时间显著延长 ($P<0.01$); 与模型组比较, 针刺组糖水偏好率显著升高, 中心停留时间显著增加, 活动总路程显著延长, 强迫游泳不动时间显著缩短 ($P<0.01$)。

2.2 各组小鼠海马组织病理学情况

图 1 示, 空白组小鼠海马层次分明, 神经细胞排列紧密, 细胞结构正常; 模型组小鼠海马神经细胞边界不清, 排列疏松, 少量神经细胞出现核皱缩深染; 针刺组小鼠海马神经细胞较模型组排列紧密, 核皱缩深染情况减少。

2.3 各组小鼠海马组织 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量及 TLR4、NF- κ B 蛋白水平比较

表 2 示, 与空白组比较, 模型组海马组织 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 含量显著增加 ($P<0.01$); 与模型组比较, 针刺组海马组织 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 含量显著减少 ($P<0.01$)。表 3 示, 与空白组比较, 模型组海马组织 TLR4 及 NF- κ B 蛋白水平显著升高 ($P<0.01$), 与模型组比较, 针刺组海马组织 TLR4 及

NF-κB 蛋白水平显著降低 ($P<0.01$)。各组小鼠海马组织 TLR4 和 NF-κB 蛋白电泳情况见图 2。

表 2 各组小鼠海马组织 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 水平比较
Table 2 Comparison of levels of IL-1β, IL-6 and TNF-α in the hippocampus of mice in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	IL-1β/ng·ml ⁻¹	IL-6/pg·ml ⁻¹	TNF-α/ng·ml ⁻¹
空白组	6	39.10±5.76	210.62±72.53	489.67±75.44
模型组	6	116.57±2.79 ^{a)}	781.32±73.53 ^{a)}	1060.29±171.72 ^{a)}
针刺组	6	99.15±3.03 ^{b)}	553.75±112.29 ^{b)}	756.56±87.23 ^{b)}

注：IL-1β，白细胞介素 1β；IL-6，白细胞介素 6；TNF-α，肿瘤坏死因子 α。

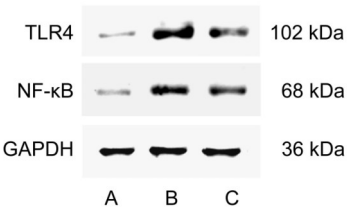
a) 与空白组比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组比较， $P<0.01$ 。

表 3 各组小鼠海马组织 TLR4、NF-κB 蛋白相对表达量比较
Table 3 Comparison of TLR4 and NF-κB protein expression in the hippocampus of mice in each group (/GAPDH, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	TLR4	NF-κB
空白组	3	0.15±0.03	0.28±0.05
模型组	3	1.40±0.04 ^{a)}	1.47±0.02 ^{a)}
针刺组	3	0.76±0.09 ^{b)}	1.16±0.05 ^{b)}

注：TLR4，TOLL 样受体 4；NF-κB，核因子-κB。

a) 与空白组比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组比较， $P<0.01$ 。



注：A，空白组；B，模型组；C，针刺组；TLR4，TOLL 样受体 4；NF-κB，核因子-κB。

图 2 各组小鼠海马组织 TLR4、NF-κB 蛋白电泳图
Figure 2 Protein electrophoresis of TLR4 and NF-κB in the hippocampus of mice in each group

3 讨论

抑郁障碍属中医学“郁证”范畴，是指以情绪抑郁、思绪不宁、悲忧善哭、胸胁胀痛、咽中如有异物梗塞为主要临床表现的一类病症^[15]，其病机总属肝失疏泄、脑神不调。《素问·灵兰秘典论篇》言：“肝者，将军之官，谋虑出焉”，言明肝对人的思维及谋略起重要作用；《医碄》中提出：“百病皆生于郁，郁而不舒，则皆肝木之病矣”，强调郁为百病之源，肝郁为诸郁之主。肝气调畅，气血调和，则脑清神聪；肝失疏泄，气机失调，气血运行受阻，五脏六腑失调，则脑神不能内守，发为郁证，当治以疏肝调神。“疏肝调神”针刺以百会、印堂、合谷、太冲为主穴^[16]。《灵枢·海论》言：

“脑为髓之海，其输上在于其盖”，“其盖”指百会穴，此穴为脑髓之要穴，具有填精补髓，开窍醒神之功。《采艾编》言：“三阳五会，五之为言百也”，意为百脉于此交会。百会归属督脉，督脉入络脑，脑为元神之府，故调治脑神取穴于督脉。印堂善醒神开窍、疏理气机，二穴配合有醒脑开窍、填补髓海之功。肝经与督脉会通于巅顶，太冲为足厥阴肝经原穴，既与督脉交感，又可疏肝解郁，气为血帅，血为气母，故调畅气机同时佐以益血调血，选穴手阳明大肠经原穴合谷穴，二者合称“四关穴”，可使调达肝气、调理脏腑气血。

糖水偏好实验、旷场实验及强迫游泳实验用于评价小鼠的抑郁样行为。快感缺乏是抑郁障碍的关键特征之一，糖水偏好实验目前被认为是评估小鼠快感缺乏最可靠的方法^[17]；强迫游泳实验通过测量保持静止不动的时间反映小鼠丧失逃脱意愿的情况；旷场实验通过测量小鼠的自主活动水平反映小鼠抑郁状态^[18]。在本研究中，模型组小鼠糖水偏好率、中心停留时间和活动总路程较空白组显著减少，强迫游泳不动时间较空白组显著增加，提示小鼠出现抑郁样行为，小鼠造模成功。经“疏肝调神”针刺干预后，小鼠糖水偏好率升高，中心停留时间及活动总路程增加，强迫游泳不动时间缩短，说明“疏肝调神”针刺具有改善抑郁小鼠快感，降低自主活动减少以及绝望情绪的作用。

海马是负责机体学习、记忆的关键脑区，在炎症状态下，海马体积缩小，神经元细胞受损、减少，是抑郁障碍发生和发展的重要原因^[19]。本研究结果显示，模型组小鼠海马神经细胞边界不清，排列疏松，少量神经细胞出现核皱缩深染，表示模型组小鼠海马体出现损伤，经“疏肝调神”针刺干预后，抑郁小鼠上述情况有所改善，说明“疏肝调神”针刺具有良好的抗海马损伤的效果。

TLR4/NF-κB 信号通路的激活是导致抑郁障碍的重要机制之一^[20]。研究发现，抑郁障碍患者以及抑郁小鼠模型 TLR4/NF-κB 信号通路激活，伴随促炎细胞因子 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 水平升高^[21-22]。本研究结果显示，模型组小鼠海马 TLR4 及 NF-κB 蛋白水平及炎症因子 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 水平升高，说明模型组海马 TLR4/NF-κB 信号通路激活；经“疏肝调神”针刺干预后，海马组织 TLR4 及 NF-κB 蛋白水平及 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 水平降低，说明“疏肝调神”针刺可抑制海马 TLR4/NF-κB 信号通路，降低海马炎症水平。

综上所述,“疏肝调神”针刺对 LPS 诱导的抑郁小鼠具有改善海马损伤和炎症反应的作用,其改善 LPS 诱导的抑郁样行为的机制可能与抑制海马 TLR4/NF- κ B 通路,进而抑制炎症因子,从而改善海马损伤有关。本研究在实验设计和实施过程中也存在一些局限性。首先,未设置假针刺对照组,这在一定程度上限制了对针刺操作本身潜在影响的排除,难以完全证实针刺效应的特异性;其次,样本量相对较小,可能影响了研究结果的统计效力和外推性,导致部分结论的可靠性受到一定限制。此外,本研究在检测指标的选择上较为有限,未能全面涵盖与该通路相互作用的其他信号通路和生物学过程,这可能使对“疏肝调神”针刺作用机制的阐释不够深入和全面。本研究仅初步探讨了“疏肝调神”针刺治疗抑郁障碍的作用机制,同时 TLR4/NF- κ B 通路也参与调控其他生物学过程,有待后续研究中对该通路进行阻断验证,并通过蛋白组学、转录组学及代谢组学等进一步明确“疏肝调神”针刺的作用靶点。

参考文献

- [1]CHAUDHURY D, LIU H, HAN MH. Neuronal correlates of depression [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2015, 72 (24): 4825-4848.
- [2]LU J, XU X, HUANG Y, et al. Prevalence of depressive disorders and treatment in China: a cross-sectional epidemiological study [J]. *Lancet Psychiatry*, 2021, 8 (11): 981-990.
- [3]GARTLEHNER G, HANSEN RA, MORGAN LC, et al. Second-generation antidepressants in the pharmacologic treatment of adult depression: an update of the 2007 comparative effectiveness review [M]. Rockville: Agency for Healthcare Research and Quality (US), 2011: 93-130.
- [4]IDUNKOVA A, LACINOVA L, DUBIEL-HOPANOVA L. Stress, depression, and hippocampus: from biochemistry to electrophysiology [J]. *Gen Physiol Biophys*, 2023, 42(2):107-122.
- [5]陈霄, 严隽陶, 尹露, 等. 丰富环境对抑郁大鼠行为学及海马 CA1 区脑源性神经营养因子、酪氨酸激酶受体 B 蛋白表达的影响 [J]. *中国康复医学杂志*, 2022, 37 (1): 21-26.
- [6]EBRAHIM SZ, BADRIPOUR A, HADDADI NS, et al. Allergic rhinitis in BALB/c mice is associated with behavioral and hippocampus changes and neuroinflammation via the TLR4/ NF- κ B signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 108: 108725. doi: 10.1016/j.intimp. 2022. 108725.
- [7]QASEEM A, BARRY MJ, KANSAGARA D, et al. Non-pharmacologic versus pharmacologic treatment of adult patients with major depressive disorder: a clinical practice guideline from the American college of physicians [J]. *Ann Intern Med*, 2016, 164(5): 350-359.
- [8]吴倩, 王舫泽, 林德晖, 等. 岭南疏肝调神针灸技术治疗抑郁障碍的理论与实践 [J]. *四川师范大学学报(自然科学版)*, 2024, 47(6):753-761.
- [9]FAN L, FU W, CHEN Z, et al. Curative effect of acupuncture on quality of life in patient with depression: a clinical randomized single-blind placebo-controlled study [J]. *J Tradit Chin Med*, 2016, 36(2): 151-159.
- [10]FU W, FAN L, ZHU X, et al. Depressive neurosis treated by acupuncture for regulating the liver: a report of 176 cases [J]. *J Tradit Chin Med*, 2009, 29(2): 83-86.
- [11]WEN X, WU Q, LIU J, et al. Randomized single-blind multicenter trial comparing the effects of standard and augmented acupuncture protocols on sleep quality and depressive symptoms in patients with depression [J]. *Psychol Health Med*, 2018, 23(4): 375-390.
- [12]YIRMIYA R. Endotoxin produces a depressive-like episode in rats [J]. *Brain Res*, 1996, 711(1/2): 163-174.
- [13]王金辉, 张勇, 董伟韬, 等. 小鼠抑郁症模型的构建与评估 [J]. *实验动物科学*, 2024, 41(4): 75-79.
- [14]唐勇. 实验针灸学 [M]. 3 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2021:143-146.
- [15]中国中西医结合学会神经科专业委员会. 抑郁症中西医结合诊疗专家共识 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2020, 40(2): 141-148.
- [16]符文彬, 宁百乐, 吴倩, 等. 岭南疏肝调神针灸技术的传承创新与研究应用 [J]. *广州中医药大学学报*, 2024, 41(10): 2740-2745.
- [17]WILLNER P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation [J]. *Psychopharmacology*, 1997, 134 (4): 319-329.
- [18]XU J, ZHENG B, MA Y, et al. PI3K-AKT-mTOR signaling pathway regulates autophagy of hippocampal neurons in diabetic rats with chronic unpredictable mild stress [J]. *Behav Brain Res*, 2023, 452: 114558. doi: 10.1016/j.bbr. 2023. 114558.
- [19]GREEN HF, NOLAN YM. Inflammation and the developing brain: consequences for hippocampal neurogenesis and behavior [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2014, 40: 20-34. doi:10.1016/j.neubiorev. 2014. 01. 004.
- [20]WANG C, SUN H, SONG Y, et al. Pterostilbene attenu-

- ates inflammation in rat heart subjected to ischemia-reperfusion; role of TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(2): 1737-1746.
- [21] DU Y, YAN T, WU B, et al. Research on the mechanism of antidepressive effect of Suanzaoren Decoction through TLR4/MyD88/NF- κ B pathway and Wnt/beta-catenin pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319 (Pt 1) : 117190.
- [22] SHAO S, JIA R, ZHAO L, et al. Xiao-Chai-Hu-Tang ameliorates tumor growth in cancer comorbid depressive symptoms via modulating gut microbiota-mediated TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway [J]. Phytomedicine, 2021, 88: 153606. doi: 10.1016/j.phymed. 2021. 153606.

Effect of Acupuncture with the Method of Soothing the Liver and Regulating the Mind on the TLR4/NF- κ B Pathway in the Hippocampus of Lipopolysaccharide-Induced Depression Model Mice

WU Bingxin¹, ZHOU Yi¹, HAN Sibo¹, HUANG Xichang¹, MA Junye², NING Baile³, WANG Shanze³, FU Wenbin³

1. The Second Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, 510006; 2. The Seventh Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine; 3. The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To explore the potential mechanism of acupuncture with the method of soothing the liver and regulating the mind in improving depressive disorder. **Methods** Eighteen C57BL/6J mice were randomly divided into blank group, model group, and acupuncture group, with 6 mice in each group. The model group and the acupuncture group were subjected to depression induction by intraperitoneal injection of lipopolysaccharide (LPS), while the blank group received an equal volume of normal saline once daily for seven consecutive days. Concurrently, the acupuncture group received "soothing the liver and regulating the mind" acupuncture intervention starting from the first day of modeling, once daily for 14 days; whereas the blank group and the model group were only restrained without acupuncture. The sucrose preference test was used to assess sucrose preference rate, the open-field test to measure center stay time and total travel distance, and the forced swim test to evaluate immobility time. Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to observe hippocampal morphological changes. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect levels of interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in hippocampal tissue. Western blot analysis was conducted to examine the protein expression levels of Toll-like receptor 4 (TLR4) and nuclear factor- κ B (NF- κ B) in the hippocampus. **Results** Compared to the blank group, the model group showed a significant reduction in sucrose preference rate, center stay time, and total travel distance, along with a significant increase in immobility time in the forced swim test, hippocampal IL-1 β , IL-6, and TNF- α levels, as well as TLR4 and NF- κ B protein expression ($P < 0.01$), and the histological examination revealed blurred hippocampal neuronal boundaries, loose arrangement, and some neurons exhibiting nuclear pyknosis and deep staining. Compared to the model group, the acupuncture group demonstrated a significant increase in sucrose preference rate, center stay time, and total travel distance, along with a significant reduction in immobility time in the forced swim test, hippocampal IL-1 β , IL-6, and TNF- α levels, and TLR4 and NF- κ B protein expression ($P < 0.01$), and the histological analysis showed that hippocampal neurons in the acupuncture group were more tightly arranged, with reduced nuclear pyknosis and deep staining. **Conclusion** Acupuncture with the "soothing the liver and regulating the mind" method can significantly improve depression-like behavior, potentially by inhibiting the hippocampal TLR4/NF- κ B signaling pathway and alleviating inflammatory responses.

Keywords depressive disorder; acupuncture; Toll-like receptor 4; nuclear factor- κ B; inflammation; soothing the liver and regulating the mind

(收稿日期: 2024-10-22; 修回日期: 2024-12-30)

[编辑: 王利芬]