

- [13] Lee D H, Park M H, Hwang C J, et al. CCR5 deficiency increased susceptibility to lipopolysaccharide-induced acute renal injury[J]. *Arch Toxicol*, 2016, 90(5): 1151-1162.
- [14] Lebeau C, Arlt V M, Schmeiser H H, et al. Aristolochic acid impedes endocytosis and induces DNA adducts in proximal tubule cells[J]. *Kidney Int*, 2001, 60(4): 1332-1342.
- [15] 羊红玉, 谭云, 李璐, 等. 马兜铃酸经由上调 mGST3 致肾近端小管上皮细胞炎症介质 Cys-LTs 生成[C] //中国毒理学会第五次全国学术大会论文集. 贵阳: 中国毒理学会, 2009: 33.
- [16] 杨召聪, 陆茵, 顾亚琴, 等. 马兜铃酸 I 对大鼠体内 PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B 通路的影响[J]. *南京中医药大学学报*, 2015, 31(3): 250-253.
- [17] 金珂, 李彤, 郑雪花, 等. 马兜铃酸-I 致 Beagle 犬肝损伤激活 IL-6/STAT3 炎症通路[C] // 中国毒理学会第六届全国毒理学大会论文摘要. 广州: 中国毒理学会, 广东省疾病预防控制中心, 2013: 289.
- [18] Sawle P, Foresti R, Mann B E, et al. Carbon monoxide-releasing molecules (CO-RMs) attenuate the inflammatory response elicited by lipopolysaccharide in RAW264.7 murine macrophages[J]. *Br J Pharmacol*, 2005, 145(6): 800-810.
- [19] O'Dea E, Hoffmann A. NF- $\kappa$ B signaling[J]. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2009, 1(1): 107-115.
- [20] 柳亦松, 唐昭山, 刘兆颖, 等. 血根碱对大鼠结肠炎及炎症通路中相关因子的影响[J]. *中国现代中药*, 2017, 19(10): 1391-1396.

## 基于肠道菌-神经递质-脑轴探讨柴胡加龙骨牡蛎汤对大鼠抑郁症的改善作用

王亚楠<sup>1,2</sup>, 孙宏<sup>2</sup>, 王秀珍<sup>2</sup>, 梁国英<sup>3</sup>, 蔡国锋<sup>2</sup>, 刘凯<sup>2</sup>, 裴思颖<sup>2</sup>, 张金朋<sup>1,2\*</sup>

(1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江中医药大学附属第二医院, 黑龙江 哈尔滨 150001; 3. 黑龙江中医药大学附属第一医院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:** 目的 基于肠道菌-神经递质-脑轴探讨柴胡加龙骨牡蛎汤对大鼠抑郁症的改善作用。方法 将大鼠随机分为正常组、模型组、西药组(盐酸氟西汀 2.06 mg/kg)和中药低、中、高剂量组(柴胡加龙骨牡蛎汤颗粒剂 2.89、5.78、11.56 g/kg)。除正常组外,其他各组大鼠采用慢性不可预见性温和应激(CUMS)建立抑郁模型,持续刺激 49 d,第 29 天开始灌胃给予相应剂量药物。造模、给药结束后,评估大鼠抑郁症相关行为学表现,ELISA 法检测大鼠海马组织神经递质 5-羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NE)、乙酰胆碱(Ach)水平。采用 16S rRNA 测序对大鼠粪便菌群结构、组成进行全面表征分析。结果 与模型组比较,中药各剂量组大鼠强迫游泳不动时间减少( $P < 0.05$ ),水平运动总距离、中央区进入次数、中央区停留时间增加( $P < 0.05$ ),海马组织神经递质 5-HT、NE、Ach 水平升高( $P < 0.05$ ),肠道菌群  $\alpha$  多样性降低( $P < 0.05$ ),菌群结构向正常组回调,益生菌乳酸杆菌丰度增加( $P < 0.05$ ),有害菌大肠埃希氏菌丰度减少( $P < 0.05$ )。肠道菌群与多种行为学指标和神经递质呈一定相关性。结论 柴胡加龙骨牡蛎汤可调节肠道菌群,增加乳酸杆菌丰度,减少大肠埃希氏菌,调节抑郁症大鼠脑组织神经递质水平,改善抑郁症状。肠道菌群及其相关的神经递质可能是柴胡加龙骨牡蛎汤治疗抑郁的重要机制。

**关键词:** 柴胡加龙骨牡蛎汤; 抑郁症; 肠脑轴; 肠道菌群; 神经递质

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)10-3446-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.10.050

抑郁症是现代一种普遍的、危及生命的、高度复发的精神疾病,主要表现为快感缺乏、情绪抑郁,导致抑郁患者的复发率、死亡率和自杀率较高<sup>[1-2]</sup>,可能成为世界范围内残疾的主要来源<sup>[3]</sup>。目前抑郁症的机制研究主要

集中在神经递质减少、下丘脑-垂体-肾上腺轴改变和免疫系统异常等方面<sup>[4-5]</sup>。新的证据表明肠道菌群不仅影响胃肠功能,还可通过微生物-肠道-脑轴调节中枢神经系统的生理功能和行为<sup>[6-9]</sup>。研究者通过 16S rRNA 基因测序方法发

收稿日期: 2023-06-07

基金项目: 全国中医临床特色技术传承骨干人才培养项目(国中医药人教函[2019]36号); 黑龙江省中医药经典普及化专项课题(ZYW2022-028, ZYW2022-029); 黑龙江省中医药科研项目(ZHY2022-163); 黑龙江省博士后科研启动基金项目(LBH-Q20184); 孙申田青年人才基金项目(2021KY-10)

作者简介: 王亚楠(1989—),女,硕士,主治医师,从事中西医结合防治心脑血管疾病研究。E-mail: wangyamunan1989@126.com

\*通信作者: 张金朋(1987—),男,博士生,主治医师,从事针灸康复防治神经系统疾病研究。E-mail: zhangjinpeng198706@126.com

现重度抑郁症 (MDD) 患者显示出肠道微生物群组成的剧烈改变<sup>[10-11]</sup>, 即与健康对照组比较, 抑郁受试者的拟杆菌门、变形杆菌门和放线菌门水平增加, 厚壁菌门数量减少。以上结果表明肠道菌群与抑郁症之间存在一定联系。探究肠道菌群在抑郁状态下对大脑功能的影响对于开发治疗抑郁症的药物具有重要意义。

柴胡加龙骨牡蛎汤记载于张仲景《伤寒论》, 其有和解少阳、镇惊安神之功, 目前临床常用其治疗抑郁症<sup>[12]</sup>。因此, 本研究应用慢性不可预见性温和应激 (CUMS) 法制备抑郁大鼠模型, 采用肠道微生物测序和脑组织神经递质定量结合的方式, 探讨柴胡加龙骨牡蛎汤通过作用于肠道菌群调控神经递质对抑郁症的作用机制。

## 1 材料

1.1 动物 80只SPF级SD雄性大鼠, 8周龄, 体质量(200±20)g, 由黑龙江中医药大学动物实验中心提供 [实验动物生产许可证号SCXK(黑)2019-001], 饲养于黑龙江中医药大学实验动物中心屏障系统内, 环境温度(24±2)℃, 相对湿度50%~70%, 12h/12h昼夜交替照明, 定时定点换水并添加饲料, 每天更换垫料。本实验经黑龙江中医药大学伦理委员会审批(伦理号HZYLLBA201903)。

1.2 仪器 DK-98-II型恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司); SP131010-33Q型涡旋振荡器(美国Barnstead公司); ABI GeneAmp®9700型PCR仪(美国Applied Biosystems公司); EP5417R型高速台式离心机(德国Eppendorf公司); RT-6100型酶标仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司); SA215型旷场装置(江苏赛昂斯生物科技有限公司)。

1.3 试剂与药物 柴胡加龙骨牡蛎汤中药颗粒剂[组方药材柴胡12g、黄芩9g、龙骨15g、牡蛎15g、党参9g、桂枝9g、茯苓15g、半夏9g、大黄9g、珍珠母(代铅丹)15g、生姜9g、大枣10g, 北京康仁堂药业有限公司]。盐酸氟西汀胶囊(法国礼来公司, 批号9492AA)。大鼠五羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NE)、乙酰胆碱(Ach)ELISA试剂盒(江苏酶免实业有限公司, 货号MM-71127R2、MM-0556R2、MM-0517R2); E. Z. N. A.® soil DNA kit(美国BioTek公司); AxyPrep DNA Gel Extraction Kit(美国Axygen公司); Quantus™ Fluorometer [普洛麦格(北京)生物技术有限公司]。

## 2 方法

2.1 分组、造模与给药 大鼠随机分为正常组、模型组、西药组和中药低、中、高剂量组, 于屏障系统适应性饲养1周后, 除正常组外其余各组大鼠采用慢性不可预见性温和应激(CUMS)法制备抑郁模型<sup>[13-14]</sup>, 刺激方法包括禁水(24h)、夹尾(距尾根1cm, 持续3min)、冷水游泳(4℃, 持续5min)、束缚(3h)、热刺激(45℃, 持续5min)、禁食(24h)、昼夜颠倒(白天给予黑暗环境, 夜晚给予光照)、潮湿垫料(24h), 每天随机选择2种不同刺激方法, 在相邻2d不重复使用, 持续49d。于刺激第29

天各组开始灌胃给药, 给药剂量按照大鼠与人剂量折算系数计算得出, 每天1次, 中药低、中、高剂量组分别给予柴胡加龙骨牡蛎汤颗粒剂2.89、5.78、11.56g/kg(相当于成人每日服药量的1、2、5倍), 西药组给予盐酸氟西汀2.06mg/kg, 正常组和模型组给予等体积生理盐水。

2.2 行为学评估 分别于实验的第28天(造模第28天, 未给药第0天)、49天(给药第21天)2个时间点进行旷场实验、强迫游泳实验, 评估各组大鼠造模情况、给药后药效。

2.2.1 旷场实验 在安静、光线稳定的环境中, 将大鼠放入长、宽各100cm, 高为40cm的黑色立方体敞箱中, 将敞箱底部划分为25个大小相等正方形格子, 以中间9个格子为中央区, 周围16个格子为周围区, 轻轻将大鼠放入最中间的格子, 视频记录分析5min内在敞箱中的水平运动总距离、垂直运动次数、中央停留区时间。

2.2.2 强迫游泳实验 在安静、光线稳定的环境中, 将各组大鼠轻轻置于直径40cm、高62cm的圆形透明水桶中, 水深约为30cm, 水温22~25℃, 保证大鼠头部露出水面时后肢无法触及水桶底部, 计时6min, 视频记录在后4min内的不动时间。实验期间, 及时清理大鼠粪便并更换清水, 结束后擦干水分。

2.3 取材 行为学实验结束后, 每组收集5份大鼠粪便, 每份取3~5粒, 置于冻存管中, 暂存于液氮中, 用于16S rRNA基因测序。收集粪便后, 以3%戊巴比妥钠麻醉大鼠, 冰上开颅取全脑, 仔细分离海马组织后称定质量, 随后置于-80℃冰箱中保存。

2.4 ELISA法检测海马组织神经递质水平 按照试剂盒说明书制备5-HT、NE、Ach梯度溶液, 检测海马组织三者水平。

2.5 16S rRNA测序 通过Illumina公司的Miseq PE300平台进行测序, 使用5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3'和5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'序列对16S rRNA基因V3-V4可变区进行PCR扩增, 每个样本重复3次。以NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit进行建库, 原始测序序列质控和拼接过程使用fastp软件、FLASH软件分析。根据97%的相似度对序列进行OTU聚类并剔除嵌合体, 基于得到的OTU序列进行后续的微生物组学分析。

2.6 统计学分析 通过SPSS 22.0软件进行处理, 数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示, 多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

3.1 大鼠一般情况 正常组大鼠饮食、饮水正常, 活动自如, 反应灵敏, 排便正常, 体型偏胖, 健康状况良好; 模型组大鼠饮食、饮水、排便量减少, 大便干燥, 精神状态较差, 体型瘦弱; 与模型组比较, 中药各剂量组、西药组大鼠饮食、饮水、精神状态、体质量好转, 排便量、大便状态恢复。

3.2 柴胡加龙骨牡蛎汤对大鼠行为学的影响

3.2.1 旷场实验 造模第28天,如表1所示,与正常组比较,模型组大鼠水平运动总距离、中央区进入次数、中央区停留时间减少 ( $P<0.05$ );模型组、各给药组水平运动总距离、中央区进入次数、中央区停留时间无显著差异 ( $P>0.05$ ),表明造模成功。

表1 造模第28天各组大鼠旷场实验结果 ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

| 组别     | 水平运动<br>总距离/m | 中央区进入<br>次数/次 | 中央区停留<br>时间/s |
|--------|---------------|---------------|---------------|
| 正常组    | 24.40±1.71    | 19.4±1.14     | 50.62±1.56    |
| 模型组    | 8.94±1.77*    | 4.8±0.84*     | 9.30±0.73*    |
| 中药低剂量组 | 8.94±0.17     | 4.8±1.30      | 9.31±0.44     |
| 中药中剂量组 | 8.71±0.46     | 4.6±1.34      | 9.24±0.42     |
| 中药高剂量组 | 9.07±1.26     | 4.2±0.83      | 9.50±1.38     |
| 西药组    | 9.31±1.27     | 4.4±0.89      | 9.46±1.55     |

注:与正常组比较,\* $P<0.05$ 。

给药第21天,如表2所示,与正常组比较,模型组大鼠水平运动总距离、中央区进入次数、中央区停留时间减少 ( $P<0.05$ );与模型组比较,各给药组大鼠水平运动总距离、中央区进入次数、中央区停留时间增加 ( $P<0.05$ );与西药组比较,中药高剂量组大鼠水平运动总距离、中央区进入次数、中央区停留时间无明显变化 ( $P>0.05$ ),而中药低、中剂量组大鼠水平运动总距离、中央区进入次数、中央区停留时间减少 ( $P<0.05$ )。

表2 给药第21天各组大鼠旷场实验结果 ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

| 组别     | 水平运动总<br>距离/m           | 中央区进入<br>次数/次          | 中央区停留<br>时间/s           |
|--------|-------------------------|------------------------|-------------------------|
| 正常组    | 29.59±1.08              | 19.6±1.14              | 50.99±1.75              |
| 模型组    | 13.03±1.79*             | 4.6±0.89*              | 5.68±1.05*              |
| 中药低剂量组 | 15.85±0.76 <sup>#</sup> | 8.8±0.84 <sup>#</sup>  | 18.48±1.32 <sup>#</sup> |
| 中药中剂量组 | 18.67±0.63 <sup>#</sup> | 11.6±0.89 <sup>#</sup> | 28.69±1.08 <sup>#</sup> |
| 中药高剂量组 | 23.38±1.99 <sup>#</sup> | 15.2±1.64 <sup>#</sup> | 39.46±1.46 <sup>#</sup> |
| 西药组    | 27.29±1.94 <sup>#</sup> | 16.6±1.82 <sup>#</sup> | 40.19±1.39 <sup>#</sup> |

注:与正常组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与西药组比较,<sup>§</sup> $P<0.05$ 。

3.2.2 强迫游泳实验 如表3所示,造模第28天,与正常组比较,模型组大鼠强迫游泳不动时间增加 ( $P<0.05$ )。给药第21天,与正常组比较,模型组大鼠强迫游泳不动时间增加 ( $P<0.05$ );与模型组比较,各给药组大鼠强迫游泳不动时间减少 ( $P<0.05$ );中药各剂量组大鼠强迫游泳不动时间多于西药组 ( $P<0.05$ )。

表3 各组大鼠强迫游泳不动时间比较 ( $s, \bar{x}\pm s, n=8$ )

| 组别     | 造模第28天      | 给药第21天                  |
|--------|-------------|-------------------------|
| 正常组    | 42.29±1.61  | 40.42±2.01              |
| 模型组    | 79.09±1.92* | 108.51±2.92*            |
| 中药低剂量组 | 78.97±2.58  | 85.99±2.32 <sup>#</sup> |
| 中药中剂量组 | 79.30±3.15  | 76.43±2.47 <sup>#</sup> |
| 中药高剂量组 | 78.61±2.29  | 53.84±2.25 <sup>#</sup> |
| 西药组    | 78.84±3.13  | 48.59±1.31 <sup>#</sup> |

注:与正常组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与西药组比较,<sup>§</sup> $P<0.05$ 。

3.3 柴胡加龙骨牡蛎汤对大鼠海马组织神经递质水平的影响

如表4所示,与正常组比较,模型组大鼠海马组织5-HT、NE、Ach水平降低 ( $P<0.05$ );与模型组比较,各给药组大鼠海马组织5-HT、NE、Ach水平升高 ( $P<0.05$ );与西药组比较,中药高剂量组大鼠海马组织NE、Ach水平无明显变化 ( $P>0.05$ ),各剂量组大鼠海马5-HT水平降低 ( $P<0.05$ )。

表4 各组大鼠海马组织神经递质水平比较 ( $\mu\text{g}/\text{mg}, \bar{x}\pm s, n=8$ )

| 组别     | 5-HT                    | NE                      | Ach                     |
|--------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 正常组    | 0.45±0.006              | 0.17±0.011              | 0.42±0.006              |
| 模型组    | 0.22±0.007*             | 0.08±0.004*             | 0.26±0.009*             |
| 中药低剂量组 | 0.29±0.006 <sup>#</sup> | 0.10±0.004 <sup>#</sup> | 0.29±0.006 <sup>#</sup> |
| 中药中剂量组 | 0.34±0.008 <sup>#</sup> | 0.12±0.004 <sup>#</sup> | 0.32±0.005 <sup>#</sup> |
| 中药高剂量组 | 0.39±0.004 <sup>#</sup> | 0.14±0.007 <sup>#</sup> | 0.35±0.007 <sup>#</sup> |
| 西药组    | 0.44±0.009 <sup>#</sup> | 0.15±0.003 <sup>#</sup> | 0.37±0.009 <sup>#</sup> |

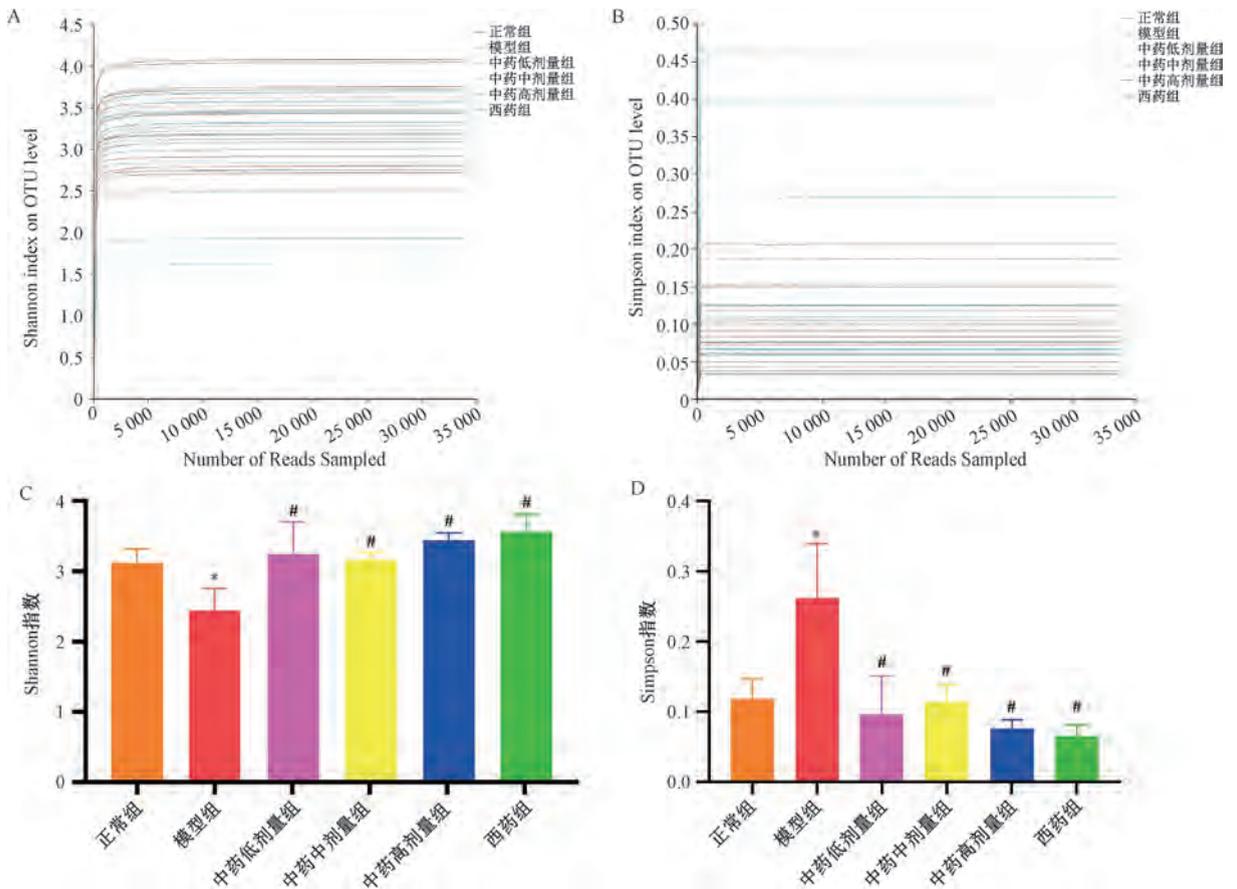
注:与正常组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与西药组比较,<sup>§</sup> $P<0.05$ 。

3.4 柴胡加龙骨牡蛎汤对大鼠肠道菌群的影响

3.4.1 肠道菌群物种多样性分析 如图1A~1B所示,Shannon、Simpson的稀释性曲线均已趋向平缓,表明所有样本群落丰富度、多样性、覆盖度、均匀度良好,测序数据量足够大,可充分反映各组大鼠粪便样本中绝大部分的肠道微生物多样性信息,能用于后续微生物组学分析。如图1C~1D所示,与正常组比较,模型组Shannon指数降低 ( $P<0.05$ ),Simpson指数升高 ( $P<0.05$ ),表明CUMS诱导抑郁症造模使大鼠肠道菌群的物种丰富度、多样性升高;与模型组比较,各给药组Shannon指数升高 ( $P<0.05$ ),Simpson指数降低 ( $P<0.05$ ),表明中药和西药均可降低CUMS诱导抑郁症模型大鼠的肠道菌群多样性。

3.4.2 肠道菌群结构分析 采用基于OTU的主成分分析(PCA,图2A)、weighted UniFrac主坐标分析(PCoA,图2B)、非度量多维尺度分析(NMDS,图2C)评估各组微生物群落之间的差异。由此可知,各组样本内部均能够聚类,表明肠道菌群趋于一致;正常组和模型组菌群结构组成存在差异 ( $P<0.05$ ),表明CUMS诱导抑郁症模型大鼠肠道菌群结构发生紊乱;中药组和西药组肠道菌群结构偏离模型组,并趋向正常组,表明中药和西药可使抑郁症大鼠的肠道菌群结构向正常状态回调。

3.4.3 不同分类水平物种组成分析 如图3A所示,在门水平上,与正常组比较,模型组大鼠粪便样本中拟杆菌门(Bacteroidetes)、变形菌门(Proteobacteria)相对丰度升高,厚壁菌门(Firmicutes)相对丰度降低;与模型组比较,中药组可升高厚壁菌门丰度,降低拟杆菌门和变形菌门丰度。如图3B所示,在纲水平上,与正常组比较,模型组大鼠粪便样本中梭菌纲(Clostridia)、杆菌纲(Bacilli)丰度降低,拟杆菌纲(Bacteroidia)、丙型变形菌纲(Gammaproteobacteria)丰度升高;与模型组比较,中药组可升高梭菌纲和杆菌纲相对丰度,降低拟杆菌纲、丙型变形菌纲相对丰度。结果表明,各组间肠道菌群组成有着高



注：A 为 Shannon 稀释性曲线，B 为 Simpson 稀释性曲线，C 为 Shannon 指数结果，D 为 Simpson 指数结果。与正常组比较，\*  $P < 0.05$ ；与模型组比较，#  $P < 0.05$ 。

图 1 各组大鼠肠道菌群  $\alpha$  多样性分析 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

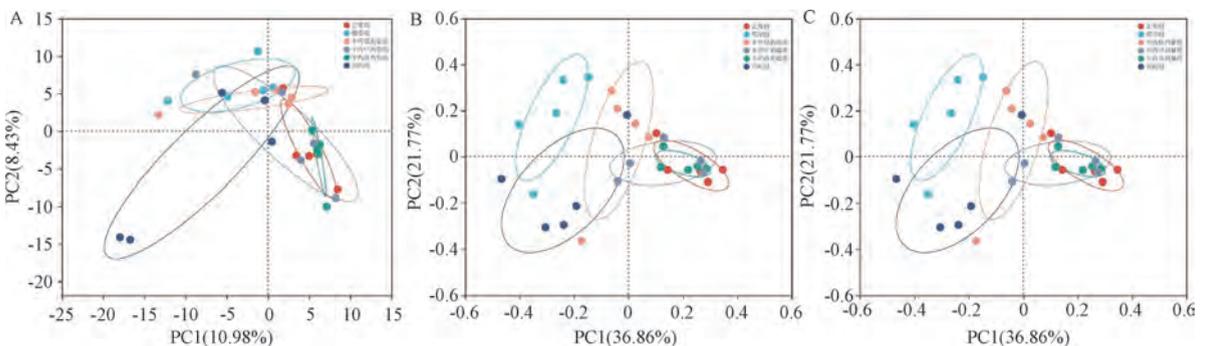


图 2 各组大鼠肠道菌群  $\beta$  多样性分析 ( $n = 5$ )

度的特异性，CUMS 诱导抑郁症大鼠的肠道菌群中有益菌丰度减少，有害菌丰度增加，而柴胡加龙骨牡蛎汤给药可增加抑郁症大鼠肠道菌群中益生菌丰度。

3.4.4 关键差异菌属分析 多个分组间比较采用线性判别效应量分析 (LEfSe)，结果见图 4A。各组中富集的差异菌属用不同颜色表示，根据线性判别分析值 (LDA score) 大于 2、组间非参数因子秩和检验筛选差异菌属，见图 4B。如表 5 所示，与正常组比较，模型组大肠杆菌-埃希氏菌、拟杆菌丰度升高 ( $P < 0.05$ )；与模型组比较，各给药组大肠杆菌-埃希氏菌、拟杆菌丰度降低 ( $P < 0.05$ )，表明中药

和西药均具有减少 CUMS 诱导抑郁症大鼠肠道内有害菌的作用。值得注意的是，与正常组比较，模型组乳酸杆菌 (*g\_Lactobacillus*) 丰度降低 ( $P < 0.05$ )；与模型组比较，中药各剂量组乳酸杆菌丰度升高 ( $P < 0.05$ )，表明中药可特异性地升高肠道中有益菌丰度。

3.4.5 肠道菌群调节脑功能的作用分析 如图 5 所示，肠道菌属 *g\_Escherichia-Shigella*、*g\_Bacteroides*、*g\_Coriobacteriaceae*、*UCG-002*、*g\_UBA1819*、*g\_Anaerostipes*、*g\_Enterococcus* 与大鼠强迫游泳实验不动时间呈正相关 ( $P < 0.05$ )，与旷场实验水平运动总距离、中央区进入次数、中央区停留时间及 5-

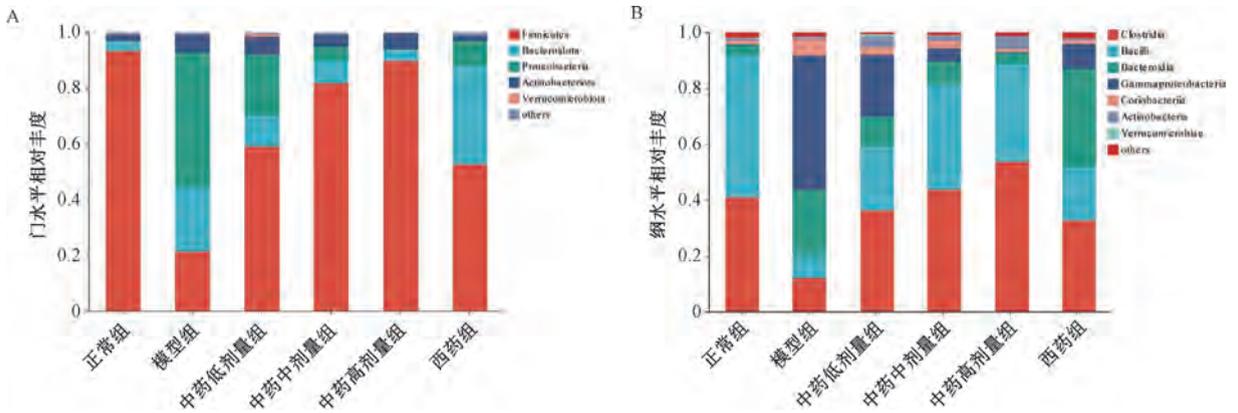


图3 各组大鼠肠道菌群在门水平 (A)、纲水平 (B) 上的组成

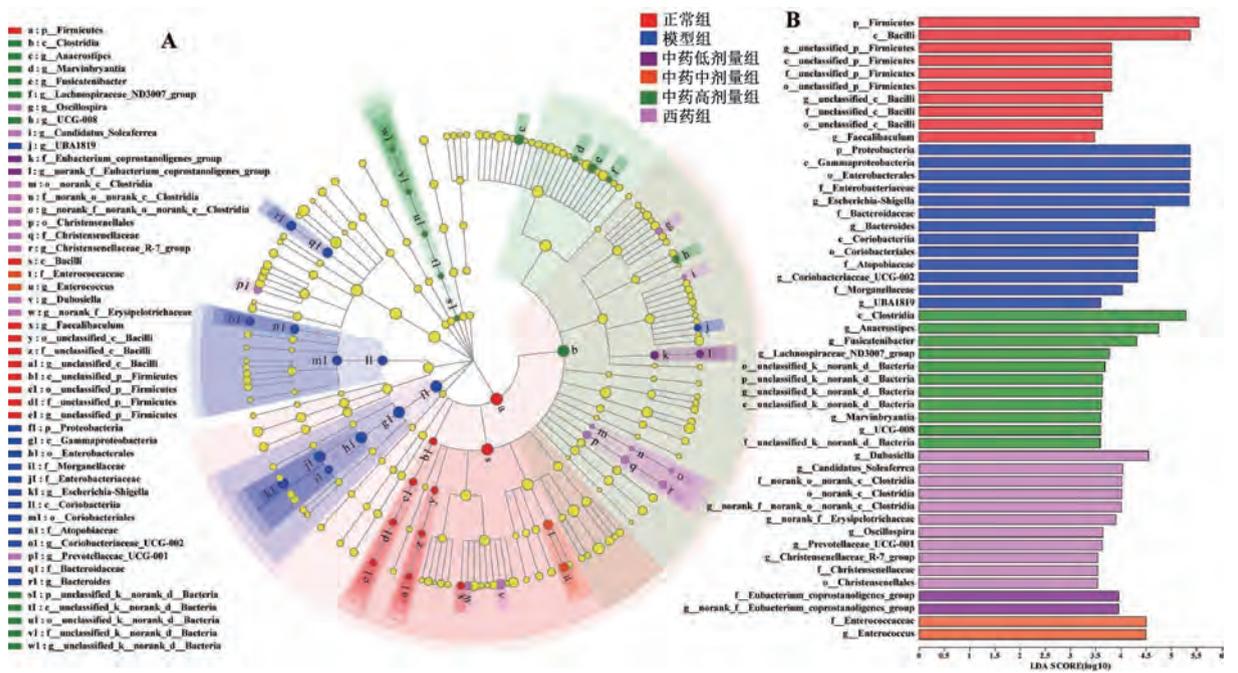


图4 各组肠道微生物群差异菌属 LEfSe 分析

表5 各组大鼠肠道中细菌相对丰度比较 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

| 菌属                                    | 正常组               | 模型组               | 中药低剂量组            | 中药中剂量组            | 中药高剂量组            | 西药组              |
|---------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| <i>g_Escherichia-Shigella</i>         | 32.0±52.99        | 15 326.8±967.10*  | 7 388.8±508.50#   | 1 219.0±1 474.41# | 62.8±111.88#      | 2 984.0±3 898.59 |
| <i>g_Bacteroides</i>                  | 48.4±61.54        | 3 430.8±3 952.47* | 1 129.4±164.56#   | 838.0±1 781.34#   | 169.2±154.02#     | 1 064.8±1 127.40 |
| <i>g_Coriobacteriaceae_UCG-002</i>    | 7.8±7.29          | 1 434.8±1 661.91* | 291.6±229.03#     | 102.2±115.01#     | 76.2±38.86#       | 189.6±334.90     |
| <i>g_UBA1819</i>                      | 2.2±1.79          | 163.0±179.14*     | 122.8±215.14#     | 15.6±13.74#       | 13.2±22.01#       | 54.6±29.48       |
| <i>g_Fusicatenibacter</i>             | 327.2±538.78      | 5.2±10.03*        | 0.6±1.34#         | 23.2±31.01#       | 1 516.8±1 329.75# | 12.6±13.56       |
| <i>g_Lachnospiraceae_ND3007_group</i> | 12.2±15.30        | 0.00±0.00*        | 0.8±1.79#         | 15.8±34.77#       | 35.6±70.18#       | 0.2±0.45         |
| <i>g_Lactobacillus</i>                | 11 684.6±9 145.49 | 569.0±883.43*     | 3 472.8±4 724.47# | 6 426.4±6 197.74# | 8 390.8±5 156.44# | 1 373.6±1 443.13 |
| <i>g_Marvinbryantia</i>               | 25.2±35.91        | 1.0±1.22*         | 30.2±31.54#       | 24.2±34.36#       | 45.4±43.51#       | 4.8±8.56         |
| <i>g_UCG-008</i>                      | 151.6±273.99      | 0.0±0.00*         | 2.0±3.94#         | 73.0±142.94#      | 199.4±261.87#     | 153.8±164.91#    |
| <i>g_Enterococcus</i>                 | 9.2±10.85         | 439.8±162.85*     | 389.0±442.24#     | 2 141.0±4 760.59# | 4.4±6.54#         | 19.6±15.18#      |

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

HT、NE、Ach 水平呈负相关 ( $P < 0.05$ ) ; *g\_Fusicatenibacter* , *g\_Lachnospiraceae\_ND3007\_group* , *g\_Lactobacillus* , *g\_Marvinbryantia* , *g\_UCG-008* 与大鼠强迫游泳实验不动时间呈负相关 ( $P < 0.05$ ) , 与旷场实验水平运动总距离、中央区进入次

数、中央区停留时间及 5-HT、NE、Ach 水平呈正相关 ( $P < 0.05$ ) 。结果表明, 多种肠道菌属与柴胡加龙骨牡蛎汤药效有关联, 抑郁症大鼠多种抑郁样症状受到肠道中有害菌和益生菌的共同调节。

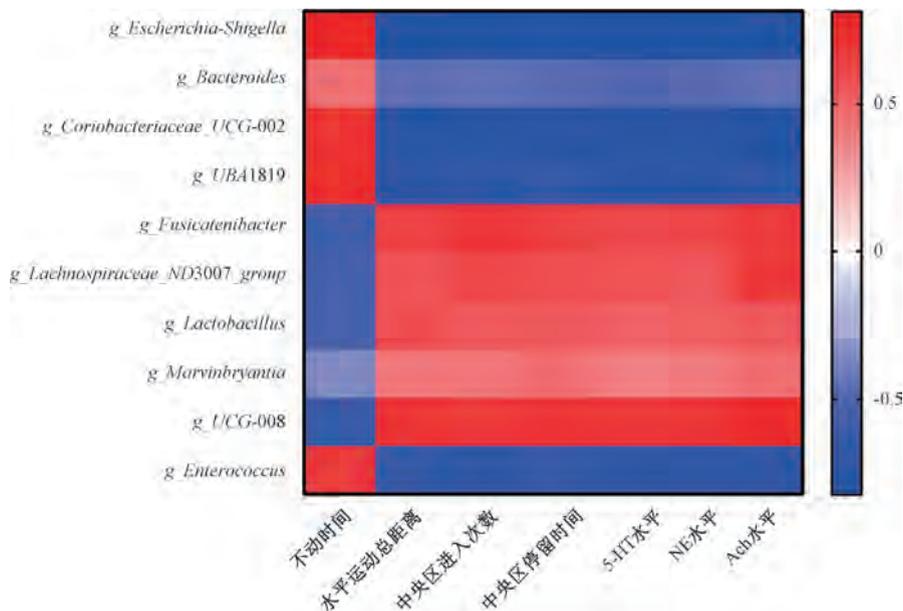


图5 肠道细菌与行为学和生理生化指标的相关性分析 (n=25)

#### 4 讨论

本研究采用 16S rRNA 基因测序方法,探索柴胡加龙骨牡蛎汤对 CUMS 诱导的抑郁症大鼠肠道微生物群和粪便代谢表型的影响。结果表明,各组大鼠肠道微生物群落中各个层级的丰度存在差异;同时,在 CUMS 造模后,宿主神经递质也受到干扰,表明抑郁症不仅改变了肠道菌群,还影响了宿主神经递质代谢,最终导致宿主抑郁样行为。柴胡加龙骨牡蛎汤干预可调节肠道菌群,增加抑郁症大鼠肠道菌群中益生菌丰度,表明肠道菌群的改变可能调节宿主代谢影响脑内神经递质,进而改善抑郁。

研究者最近利用 16S rRNA 基因测序发现,抑郁症会影响重度抑郁症患者微生物群的稳定性<sup>[15]</sup>,与健康对照组比较,抑郁症患者拟杆菌门、变形菌门和放线菌门丰度增加,而厚壁菌门丰度减少。本研究发现,模型组大鼠拟杆菌门丰度升高和厚壁菌门丰度降低;而柴胡加龙骨牡蛎汤给药可增加抑郁症大鼠肠道中有益菌群厚壁菌门、梭菌纲、杆菌纲、乳酸杆菌和瘤胃球菌丰度,降低有害菌拟杆菌门丰度。

饮食可作为调节抑郁症的重要干预方式<sup>[16]</sup>。饮食进入人体消化系统,代谢产生的神经递质可通过肠脑轴作用于宿主大脑<sup>[17]</sup>,肠道微生物群和脑组织神经递质代谢的变化可能是消化系统受损的直接后果,研究发现与肠道菌群有关的血清素代谢、色氨酸代谢、 $\gamma$ -氨基丁酸代谢对宿主的脑功能有重要作用<sup>[18-20]</sup>。本研究发现,柴胡加龙骨牡蛎汤可通过调节肠道菌群影响抑郁症大鼠海马组织 5-HT、NE、Ach 水平,表明肠道菌-神经递质-脑轴是柴胡加龙骨牡蛎汤治疗抑郁症的重要机制。多种肠道益生菌和有害菌与大鼠的行为学指标密切相关。此外,本研究发现 CUMS 造模的大鼠排便不畅通,但未进行量化分析。本研究结果表明,肠道微生物群是柴胡加龙骨牡蛎汤发挥治疗抑郁效果的重

要作用靶点,调节肠道菌群的组成和功能有助于抑郁患者的临床治疗。

综上所述,柴胡加龙骨牡蛎汤对 CUMS 诱导的大鼠抑郁症具有改善作用,可调节其相关的肠道菌群紊乱,改变宿主脑组织代谢稳态。探究肠脑轴与疾病的关系有助于开发基于菌群的疾病诊断、预防和治疗工具。

#### 参考文献:

- [1] Paykel E S. Depression: major problem for public health [J]. *Epidemiol Psychiatr Soc*, 2006, 15(1): 4-10.
- [2] 何强,王康程,杨楹,等.青少年抑郁症患者非自杀性自伤行为与功能及其相关因素[J]. *中国心理卫生杂志*, 2023, 37(1): 41-46.
- [3] Nemeroff C B. Stress, menopause and vulnerability for psychiatric illness [J]. *Expert Rev Neurother*, 2007, 7(11 Suppl): S11-S13.
- [4] 纪菊英,陈琪,徐乐平,等.伴发糖尿病的抑郁症患者下丘脑-垂体-肾上腺轴功能的对照研究[J]. *中国健康心理学杂志*, 2010, 18(11): 1313-1315.
- [5] 万里,许良银,管国富.长病程糖尿病合并抑郁症患者相关代谢指标控制水平的性别差异[J]. *现代医药卫生*, 2010, 26(23): 3566-3567.
- [6] Zheng P, Zeng B, Zhou C, et al. Gut microbiome remodeling induces depressive-like behaviors through a pathway mediated by the host's metabolism [J]. *Mol Psychiatry*, 2016, 21(6): 786-796.
- [7] Evrensel A, Ceylan M E. The gut-brain axis: the missing link in depression [J]. *Clin Psychopharmacol Neurosci*, 2015, 13(3): 239-244.
- [8] Foster J A, McVey Neufeld K A. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression [J]. *Trends Neurosci*, 2013, 36(5): 305-312.

- [ 9 ] Luna R A, Foster J A. Gut brain axis; diet microbiota interactions and implications for modulation of anxiety and depression[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2015, 32: 35-41.
- [ 10 ] Naseribafrouei A, Hestad K, Avershina E, et al. Correlation between the human fecal microbiota and depression [ J ]. *Neurogastroenterol Motil*, 2014, 26(8): 1155-1162.
- [ 11 ] Jiang H, Ling Z, Zhang Y, et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder[J]. *Brain Behav Immun*, 2015, 48: 186-194.
- [ 12 ] 李 萱, 贾丽丽. 柴胡加龙骨牡蛎汤加减治疗抑郁症疗效观察[J]. *中国实用医药*, 2022, 17(12): 22-25.
- [ 13 ] 王一旭, 李媛媛, 张碧涛, 等. 逍遥散对慢性不可预知温和应激大鼠下丘脑弓状核 JAK/STAT 通路变化的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(21): 21-27.
- [ 14 ] 赵迪克, 牛 君, 杜志欣, 等. 基于 cAMP/PKA/CREB/BDNF 信号通路探讨柴胡加龙骨牡蛎汤抗抑郁的作用机制 [ J ]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(3): 17-25.
- [ 15 ] Yu M, Jia H M, Zhou C, et al. Variations in gut microbiota and fecal metabolic phenotype associated with depression by 16S rRNA gene sequencing and LC/MS-based metabolomics [ J ]. *J Pharm Biom Anal*, 2017, 138: 231-239.
- [ 16 ] Lassale C, Batty G D, Baghdadli A, et al. Healthy dietary indices and risk of depressive outcomes; a systematic review and meta-analysis of observational studies [ J ]. *Mol Psychiatry*, 2019, 24(7): 965-986.
- [ 17 ] Soto M, Herzog C, Pacheco J A, et al. Gut microbiota modulate neurobehavior through changes in brain insulin sensitivity and metabolism[J]. *Mol Psychiatry*, 2018, 23(12): 2287-2301.
- [ 18 ] Strandwitz P, Kim K H, Terekhova D, et al. GABA-modulating bacteria of the human gut microbiota[J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(3): 396-403.
- [ 19 ] Ruhé H G, Mason N S, Schene A H. Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans; a meta-analysis of monoamine depletion studies [ J ]. *Mol Psychiatry*, 2007, 12(4): 331-359.
- [ 20 ] Jameson K G, Hsiao E Y. Linking the gut microbiota to a brain neurotransmitter [ J ]. *Trends Neurosci*, 2018, 41(7): 413-414.

## 紫草素对白癜风小鼠黑素细胞功能的影响

王 解, 彭子辉\*, 王润和, 李进先, 李 刚

[ 襄阳市中心医院 (湖北文理学院附属医院) 皮肤科, 湖北 襄阳 441003 ]

**摘要:** 目的 探讨紫草素对白癜风小鼠黑素细胞功能的影响。方法 小鼠随机分为对照组、模型组、白癜风胶囊组 (504 mg/kg) 和紫草素低、中、高剂量组 (20、40、80 mg/kg), 除对照组外其余各组小鼠涂抹 2.5% 氢醌软膏 60 d 构建白癜风模型, 各组灌胃给药 21 d。观察毛发脱色情况, 进行毛发脱色评分, HE 染色观察小鼠皮肤病理组织学, 计数黑色素毛囊及基底层黑素细胞数, ELISA 法检测小鼠血清  $\alpha$ -黑色素细胞刺激素 ( $\alpha$ -MSH)、TYR、IL-23、IL-17 水平, 流式细胞术检测外周血 Th17 细胞比例, RT-PqCR 法检测小鼠皮肤组织 IL-23、IL-17 mRNA 表达。结果 对照组小鼠皮肤组织表皮无增生, 含有大量黑色素毛囊及基底层黑素细胞。与对照组比较, 模型组小鼠皮肤组织表皮增生, 涂药部位和非涂药部位毛发脱色评分、血清 IL-23 及 IL-17 水平、外周血 Th17 细胞比例、皮肤组织 IL-23 及 IL-17 mRNA 表达升高 ( $P < 0.05$ ), 黑色素毛囊及基底层黑素细胞数、血清  $\alpha$ -MSH 及 TYR 水平降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 紫草素各剂量组小鼠皮肤组织表皮增生减轻, 涂药部位和非涂药部位毛发脱色评分、血清 IL-23 及 IL-17 水平、外周血 Th17 细胞比例、皮肤组织 IL-23 及 IL-17 mRNA 表达降低 ( $P < 0.05$ ), 黑色素毛囊及基底层黑素细胞数、血清  $\alpha$ -MSH 及 TYR 水平升高 ( $P < 0.05$ ), 并呈剂量依赖性; 紫草素高剂量组与白癜风胶囊组作用相当。结论 紫草素可下调 IL-23/Th17 通路, 抑制 Th17 细胞分化, 抑制炎症反应, 减轻黑素细胞功能损伤, 改善白癜风小鼠症状。

**关键词:** 紫草素; 白癜风; IL-23/Th17 通路; 黑素细胞功能

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2023)10-3452-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.10.051

收稿日期: 2022-05-16

作者简介: 王 解 (1985—), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向为色素性疾病。Tel: 13476445959, E-mail: wiimiv@163.com

\* 通信作者: 彭子辉 (1972—), 男, 副主任医师, 研究方向为风湿免疫性皮肤病。Tel: 1377417852, E-mail: 734668734@qq.com