

本文引文格式:李赛,宋侨,姜雪,等.基于脑-肠轴理论探讨柴胡皂苷 A 对抑郁样小鼠模型改善作用的研究[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):61-64.

【论著与临床报道】

基于脑-肠轴理论探讨柴胡皂苷 A 对抑郁样小鼠模型改善作用的研究

李赛¹, 宋侨¹, 姜雪¹, 陆夏枫¹, 彭诗倩¹, 张敬芳¹, 许迪², 左湘¹

(1. 长沙医学院临床学院, 湖南 长沙 410219;

2. 湘潭大学外语学院, 湖南 湘潭 411105)

摘要:目的 本文基于脑-肠轴理论探讨柴胡皂苷 A (Saikosaponin A, SSA) 对脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 诱导的抑郁相关表型小鼠的改善的药理作用及相关机制。方法 将 C57BL/6 雄性小鼠随机分成 4 个组, 即空白对照组 (生理盐水)、模型组 (生理盐水+LPS)、柴胡皂苷 A 组 (柴胡皂苷 A+LPS)、氟西汀组 (氟西汀+LPS)。用脂多糖 (LPS) 诱发小鼠抑郁模型; 用强迫游泳实验、悬尾实验、蔗糖偏好实验评价小鼠的抑郁样行为; 采用 ELISA 检测 SSA 和 LPS 处理小鼠血清内皮质酮 (CORT) 和下丘脑促性腺激素 (CRH) 的表达水平; 用 HE 染色法, 对海马区进行观察。结果 模型组小鼠在强迫游动不动时间、悬尾静止时间、蔗糖偏好等方面与空白对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.001$); HE 染色可见凋亡细胞数量增多、排列无序、形态不规则; 5-HT 水平降低 ($P < 0.001$), CORT 升高 ($P < 0.001$), CRH 升高 ($P < 0.001$); 柴胡皂苷 A 组小鼠经柴胡皂苷 A 干预后与模型组比较, 其悬尾静止时间明显缩短 ($P < 0.001$); HE 组织学观察发现, 组织结构较为规整, 凋亡较少, 但有较多的正常细胞存在; 5-HT 水平在小鼠中升高 ($P < 0.001$), CORT 和 CRH 水平显著降低 ($P < 0.001$)。结论 柴胡皂苷 A 通过脑-肠轴抑制下丘脑-垂体-肾上腺轴缓解小鼠的抑郁样行为。

关键词:柴胡皂苷 A; 脑肠轴; 抑郁症; 脂多糖

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2025)01-0061-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.010

Study on the improvement effect of Saikosaponin A on depression-like mouse model based on the brain-gut axis theory

LI Sai¹, SONG Qiao¹, JIANG Xue¹, LU Xiaofeng¹, PENG Shiqian¹,
ZHANG Jingfang¹, XU Di², ZUO Xiang¹

(1. School of Clinical Medicine, Changsha Medical University, Changsha 410219, Hunan, China;

2. School of Foreign Studies, Xiangtan University, Xiangtan 411105, Hunan, China)

Abstract: **Objective** To investigate the pharmacological effects and underlying mechanisms of Saikosaponin A (SSA) on lipopolysaccharide (LPS)-induced depression-related phenotypes in mice based on the brain-gut axis theory. **Methods** Male C57BL/6 mice were randomly divided into four groups: blank control group (saline), model group (saline+LPS), SSA group (SSA+LPS), and fluoxetine group (fluoxetine+LPS). A mouse depression model was induced by LPS. Depression-like behaviors were assessed using the forced swim test, tail suspension test, and sucrose preference test. ELISA was used to detect the expression levels of corticosterone (CORT) in the serum and corticotropin-releasing hormone (CRH) in the hypothalamus of mice treated with SSA and LPS. The hippocampus was observed by HE staining. **Results** There were statistically

基金项目:湖南省大学生创新创业训练计划项目(湘教通[2023]237号-4074)

第一作者:李赛,大学生, E-mail:LS16717325977@163.com

通讯作者:左湘,硕士,主治医师,研究方向:神经精神等疾病, E-mail:952313276@qq.com

significant differences in the immobility time during the forced swimming, the static time during the tail suspension, and the sucrose preference of the mice between the model group and the blank control group ($P < 0.001$). HE staining showed an increased number of apoptotic cells, disordered arrangement, and irregular morphology; the 5-HT level decreased ($P < 0.001$), the CORT level increased ($P < 0.001$), and the CRH level increased ($P < 0.001$). After the intervention of SSA in the mice of the SSA group, compared with the model group, the static time during the tail suspension was significantly shortened ($P < 0.001$). HE histological observation found that the tissue structure was relatively regular, with fewer apoptotic cells, and there were more normal cells; the 5-HT level in the mice increased ($P < 0.001$), and the levels of CORT and CRH decreased significantly ($P < 0.001$). **Conclusion** SSA alleviates depression-like behaviors in mice by inhibiting the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis through the brain-gut axis.

Key words: Saikosaponin A; brain-gut axis; depression disorder; lipopolysaccharide

抑郁是一种常见的高复发率的心理疾病,其复发的危险程度随发病时间的延长而增高。临床往往表现为患者出现心境低落、快感缺乏、睡眠困难、外出活动减少等^[1]。目前抑郁症的病因研究主要集中在单胺神经递质减少、下丘脑-垂体-肾上腺(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴改变等^[2]。已有研究证实^[3],肠道菌群不仅影响胃肠功能,还被称为人体“第二大脑”,对中枢神经系统起着至关重要的调控。肠道菌群是 HPA 轴活化的关键因素,HPA 轴活化也可影响肠道菌群结构,增加肠道通透性调节肠道运动及黏液生成,实现双向调节^[4]。探究“微生物-肠-脑”轴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。

柴胡皂苷 A(Saikosaponin A, SSA)是柴胡中分离出来的在体内外皆具有生物活性的成分之一,SSA 对于炎症疾病、肿瘤、免疫系统疾病、神经系统疾病、病毒感染性疾病等皆具有药理活性^[5]。已有研究^[6]显示,SSA 可上调抑郁症大鼠大脑中单胺类神经递质的含量,减少神经元凋亡,从而产生抗抑郁效应。本实验通过 SSA 药物干预观察脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)诱导抑郁相关表型小鼠改善,探讨柴胡皂苷 A 通过脑-肠轴调控 HPA 轴缓解小鼠的抑郁样行为。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 由长沙市天勤生物技术有限公司供应的 24 只 SPF 级健康雄性 C57BL/6 小鼠体重为 (20 ± 3) g, 6~7 周龄,动物许可证:SCXK(湘)2022-0011,动物伦理号:2023046。室温在 $21 \sim 24$ °C,相对湿度 $50\% \sim 60\%$,保持 12 h 明暗循环。

1.1.2 试剂与仪器 柴胡皂苷 A(批号 nkI-00012221 104)购于成都钠钬锂物技术有限公司;脂多糖购于上海麦克林生物化学技术有限公司;柴胡皂苷 A 溶解在 0.9% 生理盐水(8 mg/mL)中;脂多糖溶解在 0.9% 生理盐水中(0.1 mg/mL);RIPA 断裂缓冲剂(上海碧云天生物技术有限公司); 0.01 M 磷酸缓冲剂(pH 7.4,

MPBS); 4% 的聚甲氧基;低温保存液(在 0.01 MPBS 中溶解 30% 乙二醇);ELISA 试剂盒购于安徽乐奥生物技术有限公司(批号:230720);酶标仪(Labsystems 公司);洗板机(Thermmo Labsystems 公司);离心机(湖南湘仪实验仪器有限公司);电动匀浆机(上海弗鲁克科技发展有限公司)。

1.2 分组

1.2.1 动物分组 小鼠适应喂养 7 d 后,将其随机分为 4 组($n = 6$):空白对照组(生理盐水)、模型组(生理盐水+LPS)、柴胡皂苷 A 组(柴胡皂苷 A+LPS)、氟西汀组(氟西汀+LPS)。

1.2.2 给药及造模 小鼠随机分为 4 组($n = 6$):空白组对照组、模型组、氟西汀组、柴胡皂苷 A 组(干预药品均溶解于生理盐水中。每隔 24 h 灌胃 1 次(1 次/天),空白组对照组和模型组生理盐水灌胃,氟西汀组灌胃 25 mg/kg 盐酸氟西汀,柴胡皂苷 A 组灌胃 30 mg/kg 柴胡皂苷 A,连续灌胃 12 d。这一药剂量及方式参考已有研究^[6],实验过程中未观察到动物死亡及健康状况受影响等现象。灌胃后 12 d,以 LPS 腹腔注射法制作小鼠模型,每组均给予 0.83 mg/kg LPS^[7],连续 2 d(1 次/日);对照组给予相同剂量的生理盐水;在末次 LPS 注入 12 h 后,通过动物行为学检测,评估小鼠的抑郁症状。

1.3 实验方法

1.3.1 行为学实验 实验于末次注射 LPS 12 h 后进行。每一次试验之前,将小鼠放置 30 min 适应环境。行为学实验结束 24 h 后,处死小鼠,采取眼球取血,保留小鼠海马体,并于 -80 °C 储存,备用。

1.3.2 强迫游泳实验 这是一种具有代表性的试验,常用来评价动物的抑郁症状行为。将小鼠放置于水深 (10 ± 1) cm,水温 (25 ± 1) °C 的烧杯中,使小鼠的脚不会与烧杯底部接触。秒表计时 6 min,取后 4 min 内小鼠静止不动时间。每一次试验结束后,更换新水,以免先前小鼠遗留的气味信号对试验结果产生干扰。

1.3.3 悬尾实验 本课题组前期研究发现,C57BL/6

小鼠存在大量尾部爬行现象,因此,本课题组研制了一种能阻止其向尾部爬行的阻爬器。试验时,小鼠的头离地 15 cm,用秒表对实验动物在 6 min 内的行为学进行了记录,取后 4 min 后的静止不动进行统计。

1.3.4 蔗糖偏好实验 在实验正式开始前,先对所有小鼠进行蔗糖适应性培训 1 h,每笼中放置 2 个 500 mL 的水瓶,其中一瓶为 2% 的蔗糖水,每 0.5 h 更换水瓶位置避免小鼠位置偏好。在试验前和试验结束后,将瓶子的重量进行统计,得出对蔗糖的偏好 = 蔗糖溶液消耗 / (蔗糖溶液消耗 + 纯水消耗) × 100%。

1.3.5 HE 染色 行为学试验结束后,麻醉后断颈处死小鼠,开颅取出脑组织,用固定液固定 48 h 以上。梯度酒精脱水,苏木精染色 6 min,纯净水冲洗干净,分化液分化 30 s,纯净水返蓝 10 min;伊红染色 2 min,纯净水冲洗 10 min,乙醇脱水,二甲苯透明,封片。透明后,石蜡包埋连续冠状切片,片厚约 4 μm,通过光学显微镜观察病理形态。

1.3.6 ELISA 法 收集小鼠外周血,选择 EDTA 或柠檬酸钠作为抗凝剂,混合 10~20 min 后,离心 20

min(3 500 r/min),吸取上层血清,保存于 -20 °C 冰箱待测。检测血清中 5-羟色胺(5-HT)、皮质酮(CORT)、下丘脑促性腺激素释放激素(CRH)水平。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠血清 5-HT、CORT、CRH 含量对比结果 模型组小鼠血清内 5-HT 水平明显低于空白对照组($P < 0.001$);与模型组相比较,药物干预氟西汀组和柴胡皂苷 A 组小鼠血清内 5-HT 均有不同程度的增高($P < 0.001$)。与空白对照组相比,模型组小鼠血清中 CORT 显著增加($P < 0.001$);与模型组相比,药物干预氟西汀组和柴胡皂苷 A 组小鼠血清内 CORT 有不同程度的降低,柴胡皂苷 A 组小鼠降低更明显($P < 0.001$)。与空白对照组对比,模型组小鼠血清内 CRH 含量明显增加($P < 0.001$);与模型组相比,药物干预氟西汀组和柴胡皂苷 A 组小鼠血清内 CRH 含量下降($P < 0.001$)。见表 1。

表 1 各组小鼠血清 5-HT、CORT、CRH 含量对比

组别	<i>n</i>	5-HT/(pg · mL ⁻¹)	CORT/(pg · mL ⁻¹)	CRH/(pg · mL ⁻¹)
模型组	6	63.53 ± 7.13 ^a	238.26 ± 7.13 ^a	19.20 ± 2.54 ^a
空白对照组	6	100.60 ± 6.21	100.61 ± 6.21	7.72 ± 1.55
柴胡皂苷 A 组	6	81.65 ± 10.51 ^b	81.65 ± 10.51 ^b	13.57 ± 1.84 ^b
氟西汀组	6	92.18 ± 6.43	92.18 ± 6.43	11.21 ± 1.16

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;②与空白对照组比较,a: $P < 0.001$;与模型组比较,b: $P < 0.001$ 。

2.2 柴胡皂苷 A 对 LPS 致急性抑郁小鼠行为学的影响。

2.2.1 柴胡皂苷 A 对抑郁小鼠悬尾静止时间的影响

柴胡皂苷 A 组的悬尾静止时间较空白对照组明显增加($P < 0.001$)。与模型组比较,柴胡皂苷 A 组的悬尾静止时间明显缩短($P < 0.001$)。见表 2。

表 2 各组小鼠行为学实验结果

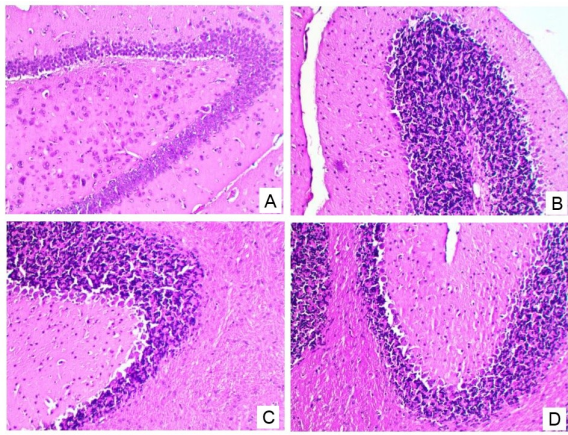
组别	<i>n</i>	悬尾静止时间/s	强迫游泳不动时间/s	小鼠蔗糖偏好/%
模型组	6	159.03 ± 11.82 ^a	147.98 ± 8.99 ^a	45.75 ± 3.83 ^a
空白对照组	6	73.05 ± 10.51	47.67 ± 4.42	82.33 ± 2.23
柴胡皂苷 A 组	6	138.52 ± 4.82 ^b	122.47 ± 12.29 ^b	63.43 ± 1.96 ^b
氟西汀组	6	125.07 ± 5.48	97.97 ± 23.47	70.79 ± 2.89

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;②与空白对照组比较,a: $P < 0.001$;与模型组比较,b: $P < 0.001$ 。

2.2.2 柴胡皂苷 A 对抑郁小鼠强迫游泳不动时间的影响 与空白对照组比较,模型组小鼠强迫游泳不动时间明显增加($P < 0.001$)。柴胡皂苷 A 组能明显缩短小鼠的运动不动时间($P < 0.001$)。见表 2。

2.2.3 柴胡皂苷 A 对抑郁小鼠蔗糖偏好的影响 该模型组小鼠对蔗糖的偏好程度低于空白对照组($P < 0.001$)。柴胡皂苷 A 组可使小鼠对蔗糖的偏好增加($P < 0.001$)。见表 2。

2.3 柴胡皂苷 A 对小鼠海马病理形态的影响 空白对照组的细胞呈圆形、规则排列,无明显的凋亡现象。在模型组中,凋亡细胞较正常对照组多,细胞呈圆锥状、无序、染色深。与模型组相比,柴胡皂苷 A 组细胞排列相对规则,凋亡细胞较少,可见大量正常细胞,见图 1。



注:A为空白对照组;B为模型组;
C为柴胡皂苷A组;D为氟西汀组。

图1 HE染色(×200倍)

3 讨论

抑郁症作为最为重要的精神疾病之一,对人类健康有着重要影响。抑郁症通常起病慢,复发率高,并且复发风险随着发作次数的增加而增加^[8]。近年来,抑郁症病因学和治疗等领域的研究受到广泛关注,虽有进展但仍然无法找到其确切的发病机制^[1]。脑-肠轴(GBA)是肠道微生物群与中枢神经系统之间的双向通信通道,通过调节肠道微生物菌群是改善中枢神经系统疾病的关键^[9],主要依赖迷走神经途径、免疫途径和神经内分泌途径,通过干预肠道微生物群调控HPA轴、调节神经递质、改善炎症从而实现对中枢神经系统自下而上的调节^[10-11]。

柴胡具有多重药理作用,主要包括对炎症疾病、肿瘤、免疫系统疾病、神经系统疾病、病毒感染性疾病等作用^[5]。对离体心脏缺血一再灌注损伤、疾病诱发的疼痛起到改善和缓解作用^[12-13]。近年来,中医治疗抑郁症已取得显著疗效。柴胡中具有抗抑郁作用的活性物质如SSA、SSB2和SSD,因此探究柴胡皂苷A的抗抑郁机制对中药柴胡的开发利用有重大意义。

本实验以“微生物-肠-脑”轴模型为理论基础,通过建立脂多糖诱导小鼠模型,通过空白对照组(生理盐水)、模型组(生理盐水+LPS)、柴胡皂苷A组(柴胡皂苷A+LPS)、氟西汀组(氟西汀+LPS)4组的对比实验说明了柴胡皂苷A在强迫游泳实验、悬尾实验、蔗糖偏好实验中均可以改善小鼠抑郁样行为。LPS引起的小鼠抑郁样行为与HPA持续亢进,进一步导致CRH、CORT水平升高,而柴胡皂苷A预处理通过抑制HPA降低小鼠体内CORT、CRH水平,提高5-HT水平从而改善小鼠的抑郁样行为。抑郁样行为往往伴随有探索求生欲望行为减退,实验研究表明,柴胡皂苷A可以通过调节抑郁症大鼠辅助性T细胞17和调节性T细胞的失衡及炎症细胞因子的分泌减轻大鼠的抑郁程度^[14]。本实验研究中,LPS增加小鼠的抑郁样行为包括有增加悬尾和强迫游泳的静止不动时间,连

续9d灌胃柴胡皂苷A,则显著改善抑郁样行为。本实验通过病理切片观察海马区细胞形态发现,LPS模型组的细胞出现大量凋亡,细胞排列紊乱,且染色加深,而柴胡皂苷A给药组细胞形态较规则,边缘清晰,表明柴胡皂苷A具有神经保护作用。

综上所述,柴胡皂苷A能够改善小鼠的抑郁样行为,其作用机制与通过改善小鼠肠道菌群从而调控抑制HPA降低小鼠体内CORT、CRH水平,提高5-HT水平有关。实验还证明了柴胡皂苷A高剂量无副作用,安全可靠,为临床有效防治抑郁症提供了新的治疗方法和理论基础。

参考文献:

- [1] 尹一淑,刘军莲,王佳平,等. 抑郁症相关发病机制研究进展[J]. 医学综述,2022,28(12):2368-2372.
- [2] 田萍,张薇,李开言,等. 地黄对慢性不可预知温和应激模型大鼠抑郁样行为及海马单胺类神经递质的影响[J]. 中国中药杂志,2022,47(17):4691-4697.
- [3] YANG Z L, LI J J, GUI X H, et al. Updated review of research on the gut microbiota and their relation to depression in animals and human beings[J]. Mol Psychiatry, 2020,25(11):2759-2772.
- [4] DU Y, GAO X R, PENG L, et al. Crosstalk between the microbiota-gut-brain axis and depression[J]. Heliyon, 2020,6(6):e04097.
- [5] 肖丽霞,周辉年,龙勃,等. 柴胡皂苷A的药理活性和作用机制研究现状及进展[J]. 生物医学转化,2021,2(4):60-66.
- [6] 赵慧源,田诗琪,翟春影,等. 柴胡皂苷a对抑郁模型大鼠脑内神经递质及行为学的影响[J]. 中国医学创新,2021,18(34):28-32.
- [7] 许一凡,张雨恒,余雪瑞,等. 甘麦大枣汤通过调控炎症改善LPS诱导的小鼠急性抑郁样行为[J]. 中药药理与临床,2019,35(5):6-11.
- [8] 杨潇,董再全,王瑜,等. 抑郁症病因学和治疗学的研究进展[J]. 中国科学:生命科学,2022,52(11):1678-1691.
- [9] 廖师师,罗杰,图拉妮萨·喀迪尔,等. 肠道微生物群-肠-脑轴间的双向交流途径研究进展[J]. 山东医药,2022,62(9):98-101.
- [10] 韦玉彬. 嗜酸乳杆菌通过脑肠轴对帕金森小鼠运动障碍改善作用及机制研究[D]. 重庆:重庆医科大学,2022.
- [11] 王伟龙,党心雨,刘立,等. 基于脑肠轴理论探讨龙牡安神方对慢性束缚应激焦虑模型小鼠的影响[J]. 中医临床研究,2022,14(32):39-43.
- [12] 邢颖,张冬芹,杨静云,等. 柴胡皂苷在离体大鼠I/R后心肌保护作用的研究[J]. 心血管康复医学杂志,2022,31(4):479-484.
- [13] 谈英,杨晓娟,韩晓妮,等. 基于网络药理学的柴胡镇痛作用机制初探[J]. 中国药学杂志,2019,54(2):98-104.
- [14] 郭旭彤,安继东,梅建强. 柴胡皂苷A对抑郁症大鼠Treg和Th17免疫平衡的影响[J]. 海南医学院学报,2020,26(22):1686-1690.

收稿日期:2024-07-03;修回日期:2024-09-19

(本文编辑 覃洪含)