

## 柴胡疏肝散干预急性心肌梗死后抑郁大鼠 海马炎症因子的表达

郭磊磊<sup>1</sup>, 李启玉<sup>2</sup>, 蔡琨<sup>1</sup>, 舒华<sup>2</sup>, 吕晶<sup>2</sup>

(1. 贵州中医药大学, 贵州省贵阳市 550025; 2. 贵州中医药大学第二附属医院心血管内科, 贵州省贵阳市 550003)

[关键词] 柴胡疏肝散; 急性心肌梗死; 抑郁; 海马; 炎症因子

[摘要] 目的 探讨柴胡疏肝散干预急性心肌梗死后抑郁大鼠的作用及机制。方法 120 只 SD 大鼠, 其中 90 只造模成急性心肌梗死后抑郁后随机分为模型组 30 只、中药组 30 只和氟西汀组 30 只, 未造模 30 只为正常组, 治疗 7 天、14 天、21 天后, 对各组大鼠进行行为学指标测定, 之后处死并分离海马组织, 采用酶联免疫吸附法分析白细胞介素 1(IL-1)、白细胞介素 6(IL-6)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 9(Caspase-9) 和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(Caspase-3), 采用蛋白免疫印迹法及反转录聚合酶链反应检测氨基末端激酶 3(JNK3) 的表达水平。结果 与正常组同期相比较, 模型组行为学指标均降低( $P < 0.05$ ), IL-1、IL-6、Caspase-3、Caspase-9、JNK3 显著升高( $P < 0.05$ ), 而中药组和氟西汀组敞箱试验得分减少( $P < 0.05$ ), 在 7 天、14 天后氟西汀组、中药组炎症因子均明显增高( $P < 0.05$ ), 而 21 天后中药组除 IL-1、JNK3 和 Caspase-9 明显增高而氟西汀组除 IL-1、JNK3 明显增高( $P < 0.05$ ) 外余差异无显著性( $P > 0.05$ ); 与模型组同期相比较, 中药组、氟西汀组行为学指标明显改善( $P < 0.05$ ), IL-1、IL-6、Caspase-3、Caspase-9、JNK3 显著降低( $P < 0.05$ ); 与氟西汀组同期相比较, 21 天后中药组 IL-1 降低( $P < 0.05$ )。结论 柴胡疏肝散有效改善心肌梗死大鼠抑郁情况, 可能是通过抑制大鼠海马炎症来完成的。

[中图分类号] R7

[文献标识码] A

### Observation of Chaihu Shugan decoction intervening the expression of inflammatory factors in hippocampus of rats with depression after acute myocardial infarction

GUO Leilei<sup>1</sup>, LI Qiyu<sup>2</sup>, CAI Kun<sup>1</sup>, SHU Hua<sup>2</sup>, LYU Jing<sup>2</sup>

(1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou 550025, China; 2. Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou 550003, China)

[KEY WORDS] Chaihu Shugan decoction; acute myocardial infarction; depression; hippocampus; inflammatory factors

[ABSTRACT] **Aim** To observe the clinical efficacy and mechanism of Chaihu Shugan decoction in rats with depression after acute myocardial infarction. **Methods** 90 models among 120 SD rats were randomly divided into model group ( $n=30$ ), Chinese medicine group ( $n=30$ ) and fluoxetine group ( $n=30$ ), unmodeled rats were normal group ( $n=30$ ), after 7 days, 14 days, 21 days for treatment, behavioral indicators were measured in each group of rats, then hippocampus was sacrificed and isolated, and interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), cysteinyl aspartate specific proteinase-9 (Caspase-9) and cysteinyl aspartate specific proteinase-3 (Caspase-3) were analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the expression levels of Jun N-terminal kinase 3 (JNK3) were detected by Western blot and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** Compared with normal group in the same period, the behavior indicators of the model group were reduced ( $P < 0.05$ ), IL-1, IL-6, Caspase-3, Caspase-9, and JNK3 were significantly increased ( $P < 0.05$ ), while the open-field test scores of Chinese medicine group and fluoxetine group decreased ( $P < 0.05$ ), and the inflammatory factors were significantly increased in Chinese medicine group and fluoxetine

[收稿日期] 2020-04-26

[修回日期] 2020-06-17

[基金项目] 贵州省科技厅项目(黔科合 J 字[2011]2366 号); 贵州省科技厅项目(黔科合平台人才[2017]5735 号-04)

[作者简介] 郭磊磊, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为中西医结合心病防治的研究, E-mail 为 273821255@qq.com。

group after 7 days and 14 days ( $P < 0.05$ ). After 21 days, except IL-1, JNK3, Caspase-9 in Chinese medicine group and IL-1, JNK3 in fluoxetine group, there was no significant difference in the remaining indicators compared with normal group ( $P > 0.05$ ). Compared with model group in the same period, the behavior indicators were significantly improved in Chinese medicine group and fluoxetine group ( $P < 0.05$ ), and IL-1, IL-6, Caspase-3, Caspase-9, and JNK3 were significantly reduced ( $P < 0.05$ ). Compared with fluoxetine group in the same period, IL-1 decreased in Chinese medicine group after 21 days ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Chaihu Shugan decoction can effectively improve the depression of myocardial infarction rats, which may be accomplished by inhibiting the inflammation of hippocampus in rats.

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 后抑郁是最常见的心身疾病, 研究表明, 急性心肌梗死后 36.7% ~ 60% 的患者会出现抑郁<sup>[1-2]</sup>, 其中 35.4% 发生在急性心肌梗死后 1 个月内<sup>[3]</sup>。心肌梗死后如果患者出现抑郁, 抑郁情绪会通过一系列途径加重心肌梗死, 使患者预后不良, 死亡率增加<sup>[4]</sup>, 两者相互促进, 形成恶性循环。目前治疗心理疾病的西药不良反应较大, 患者的依从性较差, 而中医药治疗心理疾病历史悠久, 可对复杂的细胞因子进行适量协调, 抑制相应递质的合成和释放, 使之适量分泌, 平衡调节<sup>[5-6]</sup>, 达到稳定机体内环境的作用, 故本研究以急性心肌梗死模型大鼠为研究对象, 通过中医药柴胡疏肝散干预, 从行为学指标、海马炎症因子等方面, 阐明急性心肌梗死后抑郁发生的机制及柴胡疏肝散的作用途径, 进一步为中医药提供实验基础, 并为临床预防和治疗心身疾病开拓新的思路。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

健康雄性 SD 大鼠 160 只, SPF 级, 由贵州医科大学动物房提供, 体质量 200 g 左右 (许可证号: SCXK(黔)2012-001)。本实验已得到贵州中医药大学实验动物伦理委员会批准。

### 1.2 药物与主要试剂

贵州中医药大学第二附属医院中药房提供生药材颗粒剂: 柴胡 6 g、陈皮 6 g、川芎 5 g、香附 5 g、枳壳 5 g、芍药 5 g、甘草 2 g, 水煎浓缩至 1 000 g/L, 冷藏备用; 氟西汀 20 mg/粒 (美国礼来公司), 用蒸馏水配制成 1 g/L 的混悬液; 试剂 phospho-JNK1/2/3 (Thr183+Thr185) bs-1640R (北京博奥森生物技术有限公司); 超纯 RNA 提取试剂盒、羊抗兔单克隆抗体、actin 抗体、eCL Western blot 试剂盒 (北京康为世纪生物科技有限公司); ELISA 试剂盒 (上海蓝基公司)。

### 1.3 主要仪器

SIM-F140AY65ICEMAKER 型制冰机 (日本 SANYO 公司); 酶标仪 (Thermo 公司)、反转录仪、Chemi Doc™ XRS+ 化学发光凝胶成像系统 (美国 BIO-TEK 公司); DYY-6C 型 PCR 电泳仪 (北京六一仪器厂); Centrifuge 5810R 离心机 (Eppendorf, 德国)。

### 1.4 模型制备

急性心肌梗死模型按照文献<sup>[7]</sup>制备。将大鼠仰卧固定在鼠板上, 开胸结扎大鼠左冠状动脉, 造成大鼠心肌梗死, 开胸时间不要超过 30 min, 模型制备完成后, 检测大鼠心电图, II 导联 ST 段呈明显弓背向上抬高, 持续时间超过 30 min, 表示造模成功。抑郁模型制备: 心肌梗死的模型成功后, 采取孤养+慢性不可预见的应激来制备大鼠抑郁模型<sup>[8]</sup>, 造模时间为 21 天, 正常组大鼠不予任何刺激, 每笼饲养 10 只; 余 3 组大鼠每笼饲养 1 只, 接受不同的慢性应激, 主要包括: 通宵照明、禁食 24 h、禁水 24 h、4 °C 冰水游泳 5 min、45 °C 热应激 5 min、夹尾 1 min、电击足底, 每日随机安排一种应激, 通过孤养加慢性不可预刺激后, 大鼠体质量增长缓慢、敞箱试验评分降低、糖水消耗减少, 判断抑郁模型造模成功。在整个造模过程中, 死亡 20 只, 造模失败 10 只, 为便于统计分析, 将大鼠数量调整为 120 只, 其中 90 只造模大鼠, 30 只未造模大鼠。

### 1.5 分组及给药

90 只造模大鼠随机分为模型组 30 只、中药组 30 只、氟西汀组 30 只, 未造模大鼠为正常组 30 只。分组完成后开始给药, 正常组和模型组大鼠灌服等量生理盐水; 氟西汀组大鼠灌服氟西汀等效剂量为 1.8 mg/kg, 每天 1 次; 中药组大鼠灌服柴胡疏肝散等效剂量为 3 g/kg, 每天 1 次; 每组连续给药 21 天。

### 1.6 敞箱试验

长宽各 80 cm、高 40 cm 的木箱, 内面涂满黑漆, 并将底面划分为 25 个等边的方格。大鼠置入敞箱中, 其水平活动得分为穿越地面的块数, 穿越 1 格为

1 次,若沿线行走,则每 10 cm 为 1 次,若直立的次数为垂直活动得分,则以其双足离开地面为标志,无论其站立多长时间直至其放下双足为 1 次活动。分别于 7、14、21 天进行测定,每只大鼠进行 1 次,每次 3 min。

### 1.7 糖水试验

于敞箱试验后进行,分别于 7、14、21 天,让各组大鼠任意饮用两种不同的水:一瓶为含 1% 蔗糖的自来水,一瓶则为自来水。通过称水瓶质量测定早晨 7:00 至次日早晨 7:00 自来水和蔗糖水饮用量。

### 1.8 ELISA 法检测海马组织炎症因子 IL-1、IL-6、Caspase-9 和 Caspase-3 的含量

分别于 7、14、21 天,大鼠麻醉断头处死后,低温条件下迅速取海马组织,用生理盐水冲洗,滤纸吸干,称取质量后置入匀浆器中匀浆,取上清液,放于 4 °C 冰箱保存,采用 ELISA 法检测各组海马组织中炎症因子 IL-1、IL-6、Caspase-9 和 Caspase-3 的含量,具体按试剂盒说明书进行操作。

### 1.9 蛋白免疫印迹法检测海马组织 JNK3 蛋白的表达

于 21 天后,大鼠处死同上,50 mg 海马组织加入 1000  $\mu$ L 的含苯甲基磺酰氟的细胞裂解液,电动匀浆器匀浆后,将其移入 1.5 mL 的 EP 管中,冰浴 20 min,间或振荡 1 次。于 4 °C 下 12 000 r/min,离心 15 min,分取上清,以 40  $\mu$ L/管分装于新的 EP 管中,放于 -80 °C 冰箱中备用。采用 BCA 法测定待测样品的蛋白浓度,具体按 BCA 蛋白浓度检测试剂盒说明书操作。

### 1.10 反转录聚合酶链反应检测海马组织中 JNK3 的表达

于 21 天后,大鼠处死同上,30 mg 海马组织加入 600  $\mu$ L Buffer RL,按照 RNA 试剂盒操作说明进行,收集 RNA 溶液,-70 °C 冰箱保存。在相关基因库中查出引物序列,采用两步法反转录聚合酶链反应,结束后,取 PCR 产物 5  $\mu$ L 于 0.2 g/L 琼脂糖凝胶上电泳,Chemi Doc™ XRS+ 化学发光凝胶成像系统分析结果。

### 1.11 统计学方法

采用统计学软件 SPSS22.0 进行数据分析,计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,若资料满足 Huynh-Feldt 条件,则用一元方差分析,若不满足 Huynh-Feldt 条件,则用多元方差分析或混合模型来分析,采用 LSD 法进行组间比较, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠行为学指标测定

2.1.1 四组大鼠不同时间体质量变化 各组大鼠在造模后 7 天、14 天体质量无明显差异 ( $P > 0.05$ )。第 21 天后,与正常组相比较,模型组体质量明显降低 ( $P < 0.05$ );与模型组相比较,中药组、氟西汀组体质量增长明显 ( $P < 0.05$ ),而正常组、中药组、氟西汀组间比较差异无显著性 ( $P > 0.05$ ;表 1)。

表 1. 四组大鼠体质量变化比较 ( $n = 10$ )

Table 1. Comparison of body weight changes of rats in four groups ( $n = 10$ ) 单位:g

分组	7 天	14 天	21 天
正常组	245.46 $\pm$ 19.8	288.30 $\pm$ 26.68	312.2 $\pm$ 19.86
模型组	246.40 $\pm$ 21.78	276.2 $\pm$ 26.25	286.12 $\pm$ 17.95 <sup>a</sup>
中药组	250.28 $\pm$ 22.31	283.80 $\pm$ 25.16	304.59 $\pm$ 22.85 <sup>b</sup>
氟西汀组	248.31 $\pm$ 21.23	285.62 $\pm$ 25.36	306.25 $\pm$ 18.57 <sup>b</sup>

注:a 为  $P < 0.05$ ,与正常组同期比较;b 为  $P < 0.05$ ,与模型组同期比较。

2.1.2 四组大鼠敞箱试验不同时间得分变化 与正常组同期相比较,模型组敞箱试验得分明显减少 ( $P < 0.05$ );与模型组同期相比较,中药组、氟西汀组得分明显增多 ( $P < 0.05$ ),但仍低于正常组同期得分 ( $P < 0.05$ );中药组与氟西汀组组间同期得分差异无显著性 ( $P > 0.05$ ;表 2)。

表 2. 四组大鼠敞箱试验得分比较 ( $n = 10$ )

Table 2. Comparison of the scores of the open-field test of four groups of rats ( $n = 10$ )

分组	7 天	14 天	21 天
正常组	87.86 $\pm$ 9.12	89.34 $\pm$ 11.78	89.06 $\pm$ 10.67
模型组	54.16 $\pm$ 8.25 <sup>a</sup>	42.28 $\pm$ 10.17 <sup>a</sup>	33.28 $\pm$ 8.21 <sup>a</sup>
中药组	67.24 $\pm$ 11.37 <sup>ab</sup>	68.52 $\pm$ 10.26 <sup>ab</sup>	70.39 $\pm$ 9.27 <sup>ab</sup>
氟西汀组	68.27 $\pm$ 10.34 <sup>ab</sup>	70.23 $\pm$ 11.38 <sup>ab</sup>	71.19 $\pm$ 11.45 <sup>ab</sup>

注:a 为  $P < 0.05$ ,与正常组同期比较;b 为  $P < 0.05$ ,与模型组同期比较。

### 2.1.3 四组大鼠糖水消耗试验不同时间变化

与正常组同期相比较,模型组糖水消耗量明显降低 ( $P < 0.05$ );与模型组同期相比较,中药组和氟西汀组糖水消耗量明显增多 ( $P < 0.05$ ),且与正常组间差异无显著性 ( $P > 0.05$ ;表 3)。

表 3. 四组大鼠糖水消耗量比较 ( $n=10$ )

Table 3. Comparison of sugar consumption in

four groups of rats ( $n=10$ ) 单位: mL

分组	7 天	14 天	21 天
正常组	17.10±3.01	19.23±3.67	24.12±2.53
模型组	11.37±2.30 <sup>a</sup>	13.96±2.82 <sup>a</sup>	15.10±2.45 <sup>a</sup>
中药组	15.61±2.53 <sup>b</sup>	17.86±3.29 <sup>b</sup>	21.23±2.42 <sup>b</sup>
氟西汀组	15.59±3.08 <sup>b</sup>	18.84±3.10 <sup>b</sup>	22.89±2.34 <sup>b</sup>

注: a 为  $P<0.05$ , 与正常同期相比较; b 为  $P<0.05$ , 与模型组同期比较。

## 2.2 IL-1、IL-6、Caspase-9 和 Caspase-3 水平变化

与正常组同期相比较, 模型组炎症因子明显增高 ( $P<0.05$ ); 与模型组同期相比较, 其中治疗 7 天后中药组、氟西汀组的 Caspase-3 及中药组 Caspase-9 差异无显著性 ( $P>0.05$ ), 余时间点炎症因子均明显降低 ( $P<0.05$ ); 与正常组同期相比较, 在 7 天、14 天后中药组和氟西汀组炎症因子均明显增高 ( $P<0.05$ ), 而 21 天后氟西汀组中除 IL-1 明显增高而中药组除 IL-1 和 Caspase-9 明显增高 ( $P<0.05$ ) 外余指标差异无显著性 ( $P>0.05$ ); 与氟西汀组同期相比较, 中药组除 21 天后 IL-1 明显减低 ( $P<0.05$ ) 外, 余时间点各炎症因子差异均无显著性 ( $P>0.05$ ; 表 4、5、6、7)。

表 4. 四组大鼠海马 IL-1 水平比较 ( $n=10$ )

Table 4. Comparison of IL-1 levels in hippocampus of

four groups of rats ( $n=10$ ) 单位: pmol/L

分组	7 天	14 天	21 天
正常组	6.69±1.72	7.21±1.38	7.48±1.79
模型组	36.63±5.99 <sup>a</sup>	42.39±5.78 <sup>a</sup>	46.94±11.11 <sup>a</sup>
中药组	21.89±7.39 <sup>ab</sup>	19.07±5.29 <sup>ab</sup>	15.28±2.49 <sup>abc</sup>
氟西汀组	23.0±3.50 <sup>ab</sup>	21.70±2.33 <sup>ab</sup>	19.19±1.50 <sup>ab</sup>

注: a 为  $P<0.05$ , 与正常组同期比较; b 为  $P<0.05$ , 与模型组同期比较; c 为  $P<0.05$ , 与氟西汀组同期比较。

表 5. 四组大鼠海马 IL-6 水平比较 ( $n=10$ )

Table 5. Comparison of IL-6 levels in hippocampus of

four groups of rats ( $n=10$ ) 单位: pmol/L

分组	7 天	14 天	21 天
正常组	7.06±1.04	6.61±1.55	7.03±1.99
模型组	23.09±1.60 <sup>a</sup>	25.04±1.99 <sup>a</sup>	25.93±2.21 <sup>a</sup>
中药组	17.93±2.69 <sup>ab</sup>	12.41±2.21 <sup>ab</sup>	10.95±1.47 <sup>b</sup>
氟西汀组	17.82±2.20 <sup>ab</sup>	11.05±2.93 <sup>ab</sup>	8.08±2.52 <sup>b</sup>

注: a 为  $P<0.05$ , 与正常组同期比较; b 为  $P<0.05$ , 与模型组同期比较。

表 6. 四组大鼠海马 Caspase-3 水平比较 ( $n=10$ )

Table 6. Comparison of Caspase-3 levels in hippocampus

of four groups of rats ( $n=10$ ) 单位: pmol/L

分组	7 天	14 天	21 天
正常组	13.15±1.71	12.62±1.47	13.05±1.38
模型组	17.70±2.82 <sup>a</sup>	17.71±3.48 <sup>a</sup>	20.39±3.48 <sup>a</sup>
中药组	17.91±1.99 <sup>a</sup>	15.17±1.28 <sup>ab</sup>	12.99±1.73 <sup>b</sup>
氟西汀组	16.10±1.27 <sup>a</sup>	14.97±2.18 <sup>ab</sup>	13.16±1.92 <sup>b</sup>

注: a 为  $P<0.05$ , 与正常组同期比较; b 为  $P<0.05$ , 与模型组同期比较。

表 7. 四组大鼠海马 Caspase-9 水平比较 ( $n=10$ )

Table 7. Comparison of Caspase-9 levels in hippocampus

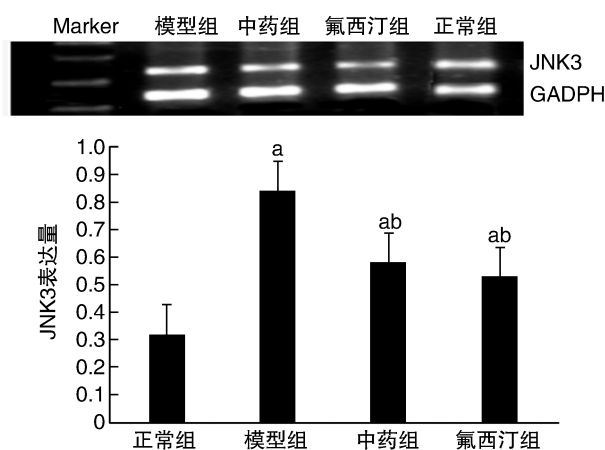
of four groups of rats ( $n=10$ ) 单位: pmol/L

分组	7 天	14 天	21 天
正常组	2.55±0.74	2.98±0.87	2.56±0.82
模型组	5.91±0.85 <sup>a</sup>	6.45±1.06 <sup>a</sup>	7.47±1.22 <sup>a</sup>
中药组	5.22±1.79 <sup>a</sup>	3.98±0.90 <sup>ab</sup>	3.43±0.77 <sup>ab</sup>
氟西汀组	4.16±0.87 <sup>ab</sup>	4.35±0.90 <sup>ab</sup>	2.95±0.94 <sup>b</sup>

注: a 为  $P<0.05$ , 与正常组同期比较; b 为  $P<0.05$ , 与模型组同期比较。

## 2.3 海马组织 JNK3 表达量的变化

RT-PCR 和 Western blot 结果表明, 与正常组相比较, 模型组、中药组和氟西汀组海马组织 JNK3 表达量明显增高 ( $P<0.05$ ); 与模型组相比较, 中药组和氟西汀组 JNK3 表达量明显下降 ( $P<0.05$ ); 但中药组与氟西汀组相比较差异无显著性 ( $P>0.05$ ; 图 1 和图 2)。

图 1. RT-PCR 检测各组大鼠海马 JNK3 表达量 ( $n=10$ )

a 为  $P<0.05$ , 与正常组相比较; b 为  $P<0.05$ , 与模型组相比较。

Figure 1. JNK3 expression levels in hippocampus of each group by RT-PCR ( $n=10$ )



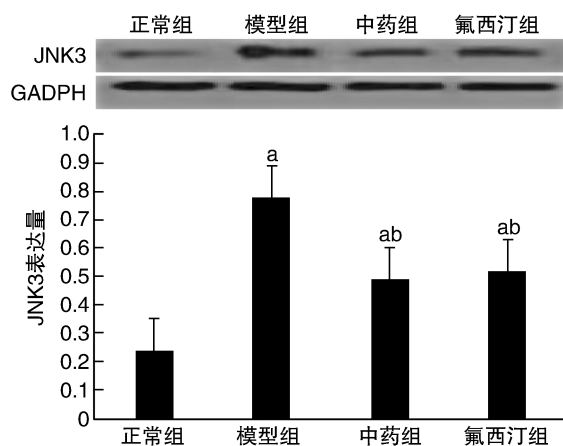


图 2. Western blot 检测各组大鼠海马 JNK3 表达量 (n=10)

a 为  $P < 0.05$ , 与正常组相比较; b 为  $P < 0.05$ , 与模型组相比较。

Figure 2. JNK3 expression levels in hippocampus of each group by Western blot (n=10)

### 3 讨论

抑郁是心肌梗死后新发心脏事件的独立危险因素。心肌梗死后抑郁发病机制复杂, 现普遍认为其重要机制是海马神经元突触可塑性改变所致<sup>[9]</sup>。而炎症因子是可塑性改变的重要诱发因素, 其参与了突触的形成和修整<sup>[10-11]</sup>, 进而影响到海马谷氨酸能突触的功能<sup>[12]</sup>。早在 2002 年的时候, Vallières 等<sup>[13]</sup>就报道了 IL-6 转基因小鼠神经病理特征为海马出现明显的神经元退化, 尤以海马 CA1 区域的树突萎缩最为明显, 其中树突空泡化和树突数目明显减少, 且伴随着 IL-6 mRNA 的高表达及高水平的 IL-6, 这充分说明转基因小鼠神经元退化的主要原因在于其脑内明显升高的 IL-6。脑内兴奋性氨基酸和自由基等神经毒性物质的产生亦由 IL-1 促进, 并可引起  $Ca^{2+}$  超载, 进而激活其靶酶, 引起神经元的损伤和凋亡。而海马神经元凋亡的执行则依赖于 Caspase 家族的活化, 该蛋白酶家族中与凋亡有关的主要为 Caspase-8、Caspase-9 等启动酶及 Caspase-3 等效应酶<sup>[14]</sup>, 所有的启动酶由同一个效应酶 Caspase-3 来执行凋亡活动, 活化的 Caspase-3 通过激活核酸内切酶, 使其对 DNA 进行剪切导致细胞凋亡<sup>[14]</sup>。细胞凋亡的发生需要多种分子的协同作用, 氨基末端激酶 (c-jun amino-terminal kinase, JNK) 就是其中重要的调控者<sup>[15]</sup>, JNK 由 JNK1、JNK2 和 JNK3 组成, JNK1、JNK2 的表达具有广泛性, JNK3 局限于脑<sup>[16]</sup>, JNK 能应答多种胞外刺激, 如肿瘤坏死因子、生长因子等细胞因子, 参与细胞增殖、凋亡和

DNA 损伤等生命过程<sup>[16]</sup>, 活化的 JNK 则可从胞质中转位入核, 通过 c-Jun、c-Fos 等转录因子调节下游凋亡相关靶基因的表达<sup>[17-18]</sup>。因此, JNK 被各种炎症细胞因子、环境应激激活导致细胞增生肥大或凋亡, 是细胞信息传递的交汇点或共同通路<sup>[19]</sup>, 提示 JNK 信号通路在抑郁神经细胞凋亡中起重要作用。通过炎症因子的媒介, 抑郁与心肌梗死互相影响, 互为因果, 抑郁加重心肌梗死患者的临床症状及引起不良预后, 使患者的再住院率、病死率等增加。

辨证论治是中医的精髓和原则, 课题组经过多年临床实践, 认为心肌梗死后抑郁属中医学“郁证”的范围, 基本病机是情志不畅和/或因病致郁, 与肝密切相关, 疏肝理气解郁是为基本治法。课题组以上述认识为基础, 融汇众多专家学者观点, 以柴胡疏肝散为基础进行适当加减, 验之临床效果显著。柴胡疏肝散是治肝郁的经典方, 源于明·张介宾《景岳全书·古方八阵》, 全方主要由四逆散加味而成, 功效为疏肝理气、活血止痛, 方中柴胡疏肝而解郁, 是为君药, 香附疏肝理气而宽中, 川芎行气开郁而止痛, 两药合用, 助柴胡疏肝经之郁滞, 行活血止痛之功效, 共为臣药, 陈皮、枳壳行气消滞, 芍药养血和营, 共为佐药。甘草调和诸药, 为使药。诸药合用, 共奏疏肝理气、活血止痛之功。

本研究结果显示, 与模型组相比较, 中药组大鼠在灌服柴胡疏肝散后, 21 天后体质量增长较快、敞箱试验评分增加、糖水消耗量增多, 说明该方能够有效改善心肌梗死后抑郁的行为学指标。进一步采用 ELISA 法、Western blot、RT-PCR 对大鼠海马组织中 IL-1、IL-6、Caspase-3、Caspase-9 和 JNK3 进行检测, 发现中药组相关炎症因子出现了显著下降, JNK3 亦明显被抑制, 说明该方能够有效抑制炎症相关因子和 JNK3, 亦证实炎症相关因子与 JNK3 的相关性, 炎症因子可以激活 JNK3, 进而导致海马神经元可塑性细胞的凋亡, 引起抑郁; 与正常组相比较, 在心肌梗死后抑郁行为指标方面, 中药组基本无明显差异, 在抑制炎症相关因子及 JNK3 方面, 在 21 天后仍有部分炎症因子 IL-1、Caspase-9 及 JNK3 增高, 说明该方虽可有效抗心肌梗死后抑郁, 但组方仍需进一步优化; 与氟西汀组相比较, 则两者未见明显差异, 说明该方在抗抑郁方面具有与氟西汀相当的作用, 但避免了抗抑郁药可能引起的心律失常、烦躁、心境不稳定甚至猝死的风险。综上, 可以得出柴胡疏肝散能够有效改善大鼠的行为学指标, 抑制 JNK3 活化, 降低炎症因子, 达到治疗心肌梗死后抑郁的目的, 值得在临床上推广应用。心肌梗死

后抑郁分子机制及其他相关通路仍有许多不清楚的地方,需继续深入探讨,并不断优化中医药组方,以期进一步为中医药的临床应用提供更为客观的依据并提升疗效。

#### [参考文献]

- [1] 乔佳君, 黄力, 孙瑞, 等. 心肌梗死后合并抑郁状态的中西医病机与治疗研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(5): 1002-1006, 1012.
- [2] 平海芹. 心肌梗死合并抑郁的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2016, 15(3): 321-325.
- [3] Zheng YY, Geng QS. AAFP guideline for the detection and management of postmyocardial infarction depression [J]. *Ann Fam Med*, 2009, 7(1): 71-79.
- [4] Liang J, Yuan X, Shi S, et al. Effect and mechanism of fluoxetine on electrophysiology in vivo in a rat model of postmyocardial infarction depression [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9(5): 763-772.
- [5] Lu S, Luo Y, Sun GB, et al. Traditional Chinese medicines treating macrophage: a particular strategy for atherosclerosis [J]. *Chin Herbal Med*, 2019, 11(1): 3-9.
- [6] Qadir M, Manzoor A, Akash M, et al. Potential role of medicinal plants for anti-atherosclerosis activity [J]. *BJP*, 2018, 13(1): 59-66.
- [7] Shi SB, Liang JJ, Liu T, et al. Depression increases sympathetic activity and exacerbates myocardial remodeling after myocardial infarction: evidence from an animal experiment [J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e101734.
- [8] Reese RL, Freedland K, Steinmeyer BC, et al. Depression and rehospitalization following acute myocardial infarction [J]. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2011, 4(6): 626-633.
- [9] Ménard C, Hodes G, Russo SJ. Pathogenesis of depression: insights from human and rodent studies [J]. *Neuroscience*, 2016, 321: 138-162.
- [10] Filiano AJ, Gadani SP, Kipnis J. Interactions of innate and adaptive immunity in brain development and function [J]. *Brain Res*, 2015, 1617: 18-27.
- [11] Chung WS, Welsh CA, Barres BA, et al. Do glia drive synaptic and cognitive impairment in disease? [J]. *Nat Neurosci*, 2015, 18(11): 1539-1545.
- [12] Riazi K, Galic M, Kentner AC, et al. Microglia-dependent alteration of glutamatergic synaptic transmission and plasticity in the hippocampus during peripheral inflammation [J]. *J Neurosci*, 2015, 35(12): 4942-4952.
- [13] Vallières L, Campbell IL, Gage FH, et al. Reduced hippocampal neurogenesis in adult transgenic mice with chronic astrocytic production of interleukin-6 [J]. *J Neurosci*, 2002, 22(2): 486-492.
- [14] 杨涛, 费振海, 钟兴明. Caspase 家族与细胞凋亡的研究进展 [J]. 浙江医学, 2018, 40(18): 2083-2087, 2091.
- [15] Li Z, Wu C, Ding X, et al. Toll signaling promotes JNK-dependent apoptosis in *Drosophila* [J]. *Cell Div*, 2020, 15(7): 7.
- [16] Long J, Cai L, Li J, et al. JNK3 involvement in nerve cell apoptosis and neurofunctional recovery after traumatic brain injury [J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(16): 1491-1499.
- [17] Bogoyevitch M, Kobe B. Uses for JNK: the many and varied substrates of the c-Jun N-terminal kinases [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2006, 70(4): 1061-1095.
- [18] Pan J, Zhao YX, Wang ZQ, et al. Expression of FasL and its interaction with Fas are mediated by c-Jun N-terminal kinase (JNK) pathway in 6-OHDA-induced rat model of Parkinson disease [J]. *Neurosci Lett*, 2007, 428(2/3): 82-87.
- [19] Ren YS, Zheng Y, Duan H, et al. Dandelion polyphenols protect against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice via activation of the Nrf-2/HO-1 pathway and inhibition of the JNK signaling pathway [J]. *Chin J Nat Med*, 2020, 18(2): 103-113.

(此文编辑 许雪梅)