

细叶远志皂苷抑制 NF- κ B 信号通路 发挥抗抑郁作用研究

唐超智^{1,2}, 翟自晗², 张玉玲², 李一晨²

(1.六盘水师范学院 生物科学与技术学院, 贵州 六盘水 553004; 2.河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007)

摘要: [目的]探究细叶远志皂苷(TEN)对 CUMS 抑郁模型小鼠的治疗功效及机制。[方法]60 只体重 18~22 g 的 8 周龄的 C57BL/6 雄性小鼠随机均分为对照组(Control)、抑郁模型组(CUMS)、低剂量 TEN 组(TEN-L)、中剂量 TEN 组(TEN-M)、高剂量 TEN 组(TEN-H)和氟西汀组(Flu), 除 Control 组外, 其余 5 组随机给予不可预知性轻度刺激 8 周, 其中 TEN-L、TEN-M、TEN-H 和 Flu 组小鼠于第 5~8 周分别灌胃给药, 第 9 周采用糖水偏好实验(SPT)、悬尾实验(TST)、旷场实验(OFT)和 Morris 水迷宫实验(MWMT)评价小鼠的抑郁行为, 苏木素伊红(HE)染色观察小鼠海马组织结构, 酶联免疫吸附(ELISA)实验检测海马组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平, 免疫印迹(WB)检测海马组织 p-IKK β /IKK β 、p-I κ B α /I κ B α 和 p-NF- κ B/NF- κ B 的表达比率。[结果]与 CUMS 组相比, TEN-M、TEN-H 和 Flu 组小鼠的糖水偏好率上升, 悬尾不动时间减少, 旷场内活动的总路程、中心区路程及中心区活动时间增多, 水迷宫内的潜伏时间减少和目标象限活动路程增多, 海马组织的神经元损伤减轻, IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 含量下降, p-IKK β /IKK β 、p-I κ B α /I κ B α 和 p-NF- κ B/NF- κ B 蛋白的表达均降低。[结论]TEN 能通过抑制 NF- κ B 信号通路, 降低抑郁小鼠海马组织的炎症水平和神经元损伤, 减轻其抑郁行为。

关键词: 细叶远志皂苷; 抑郁; NF- κ B 信号通路; 炎症

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2367(2025)06-0117-07

抑郁是一种以心情低落、兴趣减退、欲望下降等为主要特征的精神疾病, 严重者通常表现出明显的认知障碍、记忆力减弱、体重减轻等症状。抑郁是全球疾病负担的主要贡献者, 世界卫生组织预计, 2030 年抑郁将成为全球最大的致残原因^[1]。当前针对抑郁的治疗药物主要为基于单胺递质理论开发的 5-HT 选择性再摄取抑制剂(selective serotonin reuptake inhibitors, SSRI), 但这类药物对于抑郁患者而言, 只能治标不能治本, 长期的药物依赖性和高昂的治疗成本令大多数抑郁患者旧疾未去又添新愁^[2]。因此, 针对抑郁发生原因的探索和新型抗抑郁药物的研发成为近年的热点问题。

近 20 年对抑郁发生机制的研究更多地集中于“炎症假说”, 脑组织炎症紊乱被认为是导致神经递质减少或功能失调的原因, 减轻神经炎症的药物可能从源头上治疗抑郁^[3]。远志是我国历史悠久的安神益智类中草药^[4], 其活性成分细叶远志皂苷(tenuifolin, TEN)可减轻机体炎症水平^[5], 但 TEN 是否可藉此缓解抑郁仍未被深入探讨。核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)是调节机体细胞分泌炎症介质的重要转录因子, 海马区小胶质细胞的 NF- κ B 信号通路活化被认为在小鼠抑郁发生过程中发挥了积极作用^[6]。因此, 本研究拟探讨 TEN 是否可通过影响抑郁小鼠海马 NF- κ B 信号发挥抗抑郁作用。

收稿日期: 2023-09-14; **修回日期:** 2023-12-11。

基金项目: 国家自然科学基金(72174055); 河南省科技攻关计划项目(252102311190)。

作者简介(通信作者): 唐超智(1980—), 男, 河南潢川人, 六盘水师范学院副教授, 博士, 研究方向为抑郁发生及治疗, E-mail: tcz1980@126.com。

引用本文: 唐超智, 翟自晗, 张玉玲, 等. 细叶远志皂苷抑制 NF- κ B 信号通路发挥抗抑郁作用研究[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2025, 53(6): 117-123. (Tang Chaozhi, Zhai Zihan, Zhang Yuling, et al. Study on the antidepressant efficacy of tenuifolin by inhibiting NF- κ B signaling pathway[J]. Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition), 2025, 53(6): 117-123. DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2023.09.14.0002.)

1 材料与方法

1.1 主要试剂和设备

TEN(PU0259-0025,普思生物科技有限公司),氟西汀(fluoxetine,Flu)(F830634,上海麦克林生化科技有限公司),白细胞介素(interleukin,IL)-1 β 、IL-6 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α) ELISA 试剂盒(ab100705,ab100713,ab108910,英国 Abcam 公司),BCA 蛋白定量试剂盒、磷酸化 κ B 抑制蛋白激酶(phosphorylated inhibitor of kappa B protein kinase,p-IKK) β 和 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(LM3001,LM5398R,LM0061R,上海联迈生物工程有限公司),IKK β 、磷酸化 NF- κ B 抑制剂(phosphonated inhibitor of NF- κ B,p-I κ B) α 、I κ B α 、p-NF- κ B 和 NF- κ B 抗体(8943,5209,4812,3033,8242,CST).

小鼠悬尾装置、旷场实验箱、水迷宫(JLBehv-STGM-1,JLBehv-LAM-1,JLBehv-MWMM,上海玉研科学仪器有限公司),旋转切片机(RM2245,Leica),显微镜(BX51TF,Olympus),酶标仪(Synergy HT,BioTek),垂直电泳仪、转膜电泳仪和化学发光凝胶成像仪(Mini PROTEAN[®],Mini Trans-Blot[®],Universal Hood II,Bio-Rad).

1.2 抑郁小鼠模型建立和给药

8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠购买于北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号:SYXK(京)2022-0052.饲养温度(22 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C,湿度 40%~60%.小鼠适应性喂养 7 d 后,选取体质量 18~22 g 个体进行实验.本实验经河南师范大学动物伦理委员会审批(批号为 HNSD-2023BS0804).以孤养加慢性不可预知性温和应激(chronic unpredictability mild stress,CUMS)的方法建立抑郁小鼠模型,刺激方式包括禁食 24 h、禁水 24 h、潮湿垫料 24 h、昼夜颠倒、震荡 2 h、斜坡放置 2 h、冷水游泳 5 min、夹尾 5 min 等,相同刺激不连续进行,持续刺激 8 周.实验小鼠随机均分为对照组(Control)、抑郁模型组(CUMS)、低剂量 TEN 组(TEN-L)、中剂量 TEN 组(TEN-M)、高剂量 TEN 组(TEN-H)和 Flu 组,每组 10 只.除 Control 组外,其他组均进行 CUMS 刺激.于第 5 周开始,TEN-L、TEN-M、TEN-H 和 Flu 组小鼠灌胃给药,剂量分别为 2.0、4.0、8.0 和 4.5 mg/kg,Control 和 CUMS 组以同等体积的纯水灌胃,所有小鼠每日灌胃 1 次,连续 4 周.

1.3 行为学实验

第 9 周对全部小鼠进行糖水偏好实验(sucrose preference test,SPT)、悬尾实验(tail suspension test,TST)、旷场实验(open field test,OFT)和 Morris 水迷宫实验(morris water maze test,MWMT),检测小鼠的兴趣、绝望程度、运动、自发探索能力、空间定位及学习记忆能力等(图 1).

SPT:先对小鼠进行糖水训练,每笼小鼠放置 1 瓶蒸馏水和 1 瓶质量分数 1%的蔗糖水,24 h 后将其位置对调,再经 24 h 后将小鼠禁水 20 h,训练结束.接着移走小鼠饲料并提供称重的蒸馏水和 1%蔗糖水,2 h 后称量蒸馏水和 1%蔗糖水的消耗量,之后将 2 瓶水位置调换,2 h 后再次称量蒸馏水和 1%蔗糖水的消耗量.根据公式计算小鼠的糖水偏好率,糖水偏好率=1%蔗糖水总消耗量/(1%蔗糖水总消耗量+蒸馏水总消耗量) $\times$ 100%.

TST:用医用胶带粘住小鼠尾部末端,将小鼠悬挂在悬尾装置的横梁上(横梁离地面 45 cm)5 min,摄像头记录小鼠在后 4 min 内的不动时间.结束后,清理悬尾装置内的小鼠排泄物,再进行下一只小鼠的测量,避免干扰实验结果.

OFT:将小鼠单独放置在旷场实验箱(40 cm $\times$ 40 cm $\times$ 35 cm)内底部中心区域,并让小鼠在安静的实验环境中自由探索 6 min,摄像头记录小鼠后 5 min 在旷场内活动的总路程、中心区路程和中心区活动时间.结束后清理旷场实验箱内的小鼠排泄物,再进行下一只小鼠的测量,避免干扰实验结果.

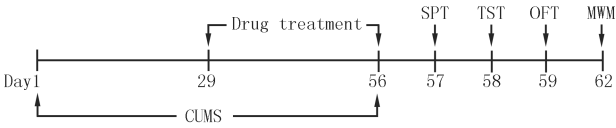


图1 抑郁小鼠的模型建立、药物干预及行为学实验流程
Fig.1 Depression model establishment, drug intervention and behavioral test in mice

MWMT:将平台(直径 6 cm,高 30 cm)固定在圆形水池(直径 120 cm,高 50 cm)第一象限的中心位置,向水池中注入自来水,并倒入少量白色染料使平台隐形,水位应高于平台 1 cm,水温保持在 (22 ± 1) °C.正式检测前,将小鼠连续训练 5 d,每天训练 4 次,在 4 个象限中均随机选取 1 个进入点,当小鼠找到平台或 60 s 后,训练结束.如果 60 s 内找不到平台,小鼠被引导到平台上停留 10 s.用棉絮将小鼠擦干,放回鼠笼.第 6 天进行检测时,将平台移去,摄像头记录小鼠在水迷宫内逃避潜伏时间和目标象限活动路程来评估小鼠的学习记忆能力.

1.4 HE(hematoxylin-eosin)染色

行为学实验结束后,每组小鼠随机选取 4 只麻醉,经心脏依次灌注 4 °C 预冷的质量分数 0.9% NaCl 和体积分数 4%多聚甲醛.然后剪下小鼠头部,分离全脑,体积分数 4%多聚甲醛固定,梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,旋转切片机切片(7 μ m),37 °C 烘烤 24 h.烤好的组织切片经二甲苯脱蜡,梯度浓度酒精复水,苏木精染色(15 min),自来水冲洗,体积分数 1%盐酸酒精分化,蒸馏水浸泡,梯度酒精(体积分数 70%~80%~90%)脱水,伊红染色(5 min),体积分数 95%和 100%酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片.显微镜下观察结果,AxioCam MRc 相机(德国 ZEISS)照相.

1.5 ELISA

其余小鼠颈椎脱臼处死,分离海马,RIPA 裂解液中匀浆 5 min 后冰上裂解 30 min,离心收集上清,BCA 定量蛋白浓度,-20 °C 保存备用,用于酶联免疫吸附(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)和免疫印迹(western blot, WB).ELISA 检测海马 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 含量的流程如下:96 孔板洗板后加入 100 μ L 标准品/样品,室温孵育 2.5 h;洗板,每孔加入 100 μ L 生物素偶联二抗,室温下轻摇孵育 1 h;洗板,每孔加入 100 μ L HRP-Streptavidin 溶液,在室温下轻摇孵育 45 min;洗板,每孔加入 100 μ L 底物,室温下黑暗中轻轻摇晃孵育 30 min;最后每孔加入 50 μ L 终止液,立即于 450 nm 测量光密度值.

1.6 Western Blot 实验

取 1.5 小节中保存的蛋白样品 100 °C 孵育 5 min,进行 SDS-PAGE 电泳.然后将蛋白质转移到 PVDF 聚偏二氯乙烯膜,5%牛血清白蛋白室温封闭 30 min,分别用 p-IKK β 、IKK β 、p-I κ B α 、I κ B α 、p-NF- κ B、NF- κ B 和 β -actin 一抗 4 °C 孵育过夜,TBST(tris-buffered saline with tween-20)冲洗膜 4 次,每次 5 min,加入二抗,室温孵育 1 h,TBST 冲洗膜 4 次,每次 5 min,ECL 溶液显影,化学发光凝胶成像仪成像,ImageJ 软件定量分析.

1.7 统计学分析

采用 SPSS 26.0 对行为学实验、ELISA 和 WB 结果数据进行单因素方差分析,确定各组间差异的显著性并作图.获得数据以平均值 $\pm$ 标准误($\bar{x}\pm$ SE)表示, $P<0.05$ 为组间差异具有统计学意义.作图时,#、##和###分别表示与对照组相比 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 和 $P<0.001$,*、**和***分别表示与 CUMS 组相比 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 和 $P<0.001$.

2 结果

2.1 TEN 可有效改善小鼠的抑郁行为

SPT 结果显示,与 Control 组相比,CUMS 组小鼠糖水偏好率显著降低;与 CUMS 组相比,TEN-L 组小鼠糖水偏好率无明显变化,TEN-M、TEN-H 和 Flu 组小鼠糖水偏好率均显著升高(图 2).

TST 结果显示,与 Control 组相比,CUMS 组小鼠悬尾不动时间显著增加;与 CUMS 组相比,TEN-L 组小鼠悬尾不动时间无明显变化,TEN-M、TEN-H 和 Flu 组小鼠悬尾不动时间均显著减少(图 3).

OFT 结果显示,与 Control 组相比,CUMS 组小鼠旷场活动总路程、中心区路程和中心区活动时间显著减少;与 CUMS 组相比,TEN-L 组小鼠旷场活动总路程、中心区路程和中心区活动时间无明显变化,TEN-M、TEN-H 和 Flu 组小鼠旷场活动总路程、中心区路程和中心区活动时间均显著增加(图 4).

MWMT 结果显示,与 Control 组相比,CUMS 组小鼠的逃避潜伏时间显著增加,目标象限活动路程显著减少;与 CUMS 组相比,TEN-L 组小鼠的逃避潜伏时间和目标象限活动路程的变化不明显,TEN-M、TEN-H 和 Flu 组小鼠的逃避潜伏时间显著减少,目标象限活动路程显著增加(图 5).

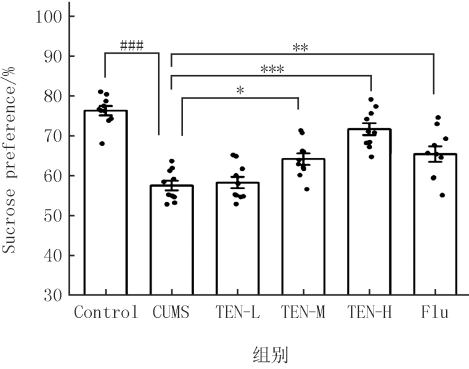


图2 TEN增加了抑郁小鼠的糖水偏好($n=10$)

Fig.2 TEN increased sugar water preference in depressed mice($n=10$)

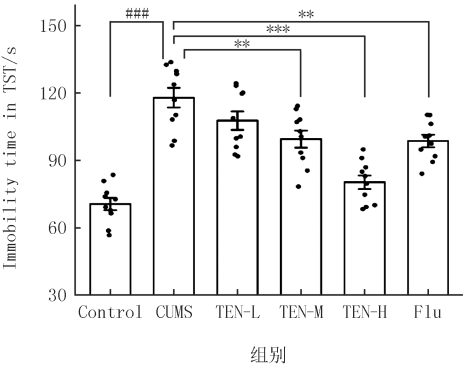
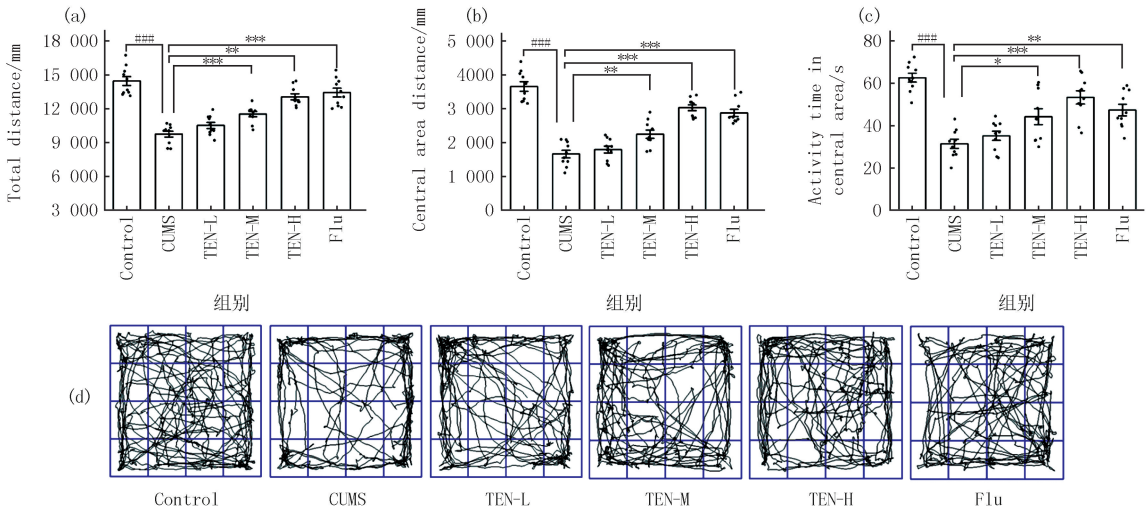


图3 TEN减少了抑郁小鼠的悬尾不动时间($n=10$)

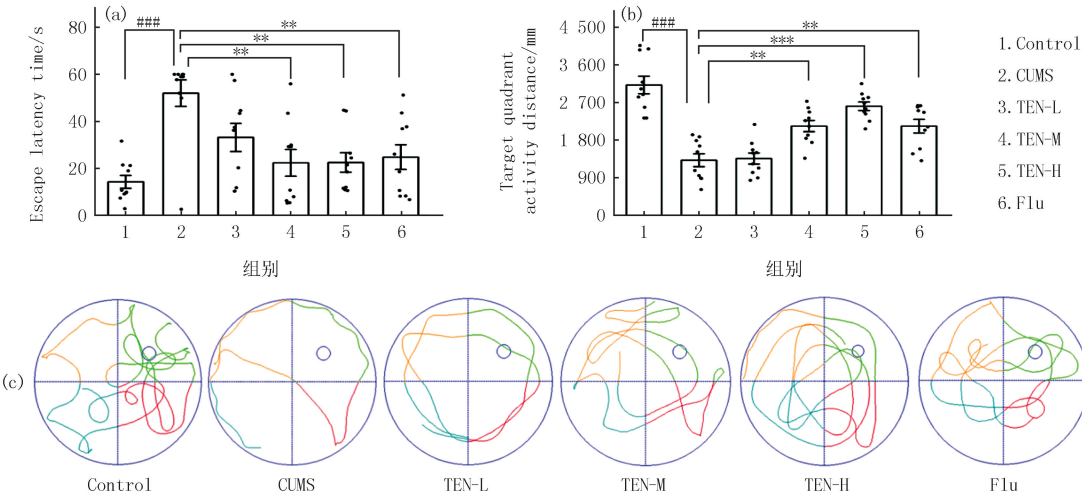
Fig.3 TEN reduced immobility time during tail suspension in depressed mice($n=10$)



(a)总路程; (b)中心区路程; (c)中心区活动时间; (d)具有代表性的小鼠旷场活动路径.

图4 TEN增加了抑郁小鼠旷场活动($n=10$)

Fig.4 TEN enhanced open field activity in depressed mice($n=10$)



(a)逃避潜伏时间; (b)目标象限活动路程; (c)具有代表性的小鼠水迷宫活动路径.

图5 TEN改善了抑郁小鼠的认知障碍($n=10$)

Fig.5 TEN improved the cognitive impairment in depressed mice($n=10$)

2.2 TEN 可明显减轻抑郁小鼠的海马神经元损伤

HE 染色结果显示,Control 组小鼠的海马神经元排列紧密有序,细胞体形态规则,无空泡,核仁明显,染色质结构均匀;CUMS 组小鼠的海马神经元排列紧密度明显下降,细胞间隙增大,组织结构稍显紊乱,细胞形态呈不规则、多边形或纺锤形等并伴有细胞肿胀、空泡化或不同程度的核固缩;与 CUMS 组相比,TEN-L 组无明显差异,TEN-M、TEN-H 和 Flu 组不同程度的减轻了海马神经元损伤(图 6)。

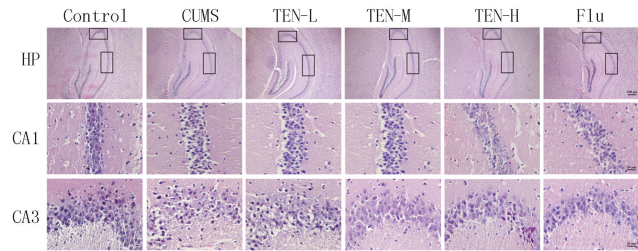


图6 TEN可明显减轻抑郁小鼠的海马神经元损伤(n=4)

Fig.6 TEN significantly relieved hippocampal neuron damage in depressed mice(n=4)

2.3 TEN 降低了抑郁小鼠海马的 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 水平

ELISA 结果显示,与 Control 组相比,CUMS 组小鼠海马组织 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 水平显著升高;与 CUMS 组相比,TEN-L 组小鼠海马组织 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 水平变化不明显,TEN-M、TEN-H 和 Flu 组小鼠海马组织 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 水平显著降低(图 7)。

2.4 TEN 抑制了抑郁小鼠海马的 NF-κB 信号通路

WB 结果显示,与 Control 组相比,CUMS 组小鼠海马组织的 p-IKKβ/IKKβ、p-IκBα/IκBα 和 p-NF-κB/NF-κB 比率显著升高;与 CUMS 组相比,TEN-L 组小鼠海马组织的 p-IKKβ/IKKβ、p-IκBα/IκBα 和 p-NF-κB/NF-κB 比率变化不明显,TEN-M、TEN-H 和 Flu 组小鼠海马组织的 p-IKKβ/IKKβ、p-IκBα/IκBα 和 p-NF-κB/NF-κB 比率显著降低(附录图 S1)。该结果提示,TEN 抑制了抑郁小鼠海马的 NF-κB 信号通路。

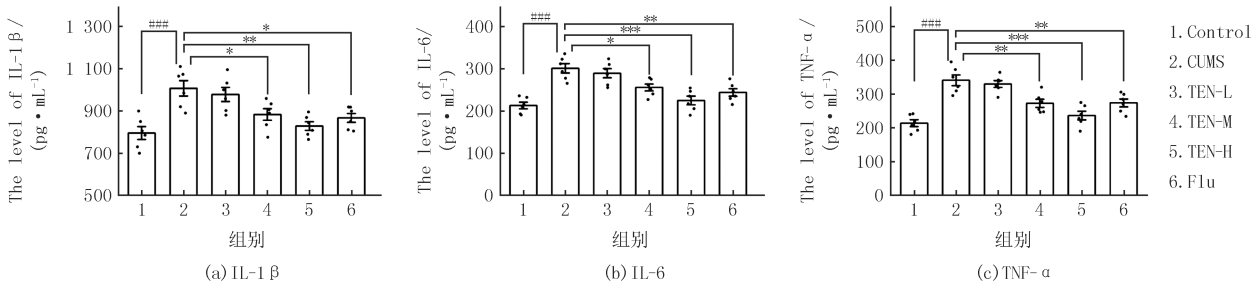


图7 TEN降低了抑郁小鼠海马的IL-1β、IL-6和TNF-α水平(n=6)

Fig.7 TEN reduced levels of IL-1β, IL-6 and TNF-α in the hippocampus of depressed mice(n=6)

3 讨 论

越来越多的证据表明,慢性压力在抑郁症的病理生理中起着至关重要的作用,CUMS 作为目前最常用、最可靠和最有效的抑郁症啮齿动物模型,已被广泛用于研究抑郁症和评估各种药物的抗抑郁作用^[7-8]。本研究通过采用慢性、随机性、不同低强度的应激刺激诱导小鼠,建立了 CUMS 抑郁模型。SPT、TST、OFT 和 MWMT 是目前国际上公认的应用于评估抑郁程度的有效监测指标,SPT 被广泛用于评估小鼠兴趣减退情况^[9],TST 不动时间的长短反映了小鼠的绝望、无助程度^[10],OFT 则用于评估实验动物在新环境中的探索行为和一般活动,其中总路程通常用于评估小鼠的运动活动,中心区域活动路程和在中心区停留的时间长短则反映了小鼠的探索动机^[11-12],MWMT 被广泛用于评估啮齿动物的空间感知能力和记忆完整性,水迷宫内活动的逃避潜伏时间增加和目标象限活动路程减少都与记忆和认知损伤有关。通过上述的 4 个行为学实验评估 TEN 对 CUMS 模型小鼠的治疗功效,发现 TEN 可提高抑郁小鼠的蔗糖偏好率,减少小鼠的悬尾不动时间,增加小鼠的旷场总路程、中心区域活动路程和在中心区停留的时间,减少小鼠在水迷宫内的逃避潜伏时间,增加其在逃生台所在区域的活动路程,这些结果表明,TEN 可有效改善小鼠的抑郁行为。

TEN 是我国历史悠久的安神益智药物中的主要有效成分,可穿越血脑屏障进入中枢神经组织^[13],其抗抑郁功效的研究在近年来备受关注,但有关其抗抑郁的机制研究仍处于初级阶段。研究表明,抑郁症的发生常伴有 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 等炎症因子的水平升高^[14]。而促炎细胞因子 IL-1β 的水平升高会导致抑郁患者

与认知能力相关的神经元的可塑性发生损伤,IL-6 被发现与突触可塑性、神经发生和神经调节有关;TNF- α 作为应激的生物标志物在脑先天免疫中起主要作用^[15].因此降低炎症因子的水平可能是缓解抑郁发生的有效途径.本研究发现 CUMS 诱导的抑郁模型小鼠海马中的炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平显著升高,并伴有神经元损伤,而 TEN-M、TEN-H 和 Flu 给药显著降低了小鼠海马中的 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平,并不同程度改善了神经元损伤,缓解小鼠抑郁样行为.这一实验结果提示 TEN 作为一种天然的神保护化合物,能通过降低炎症反应发挥抗抑郁功效.

NF- κ B 作为中枢神经系统炎症的关键调节因子,在神经炎症的发生中起着至关重要的作用.正常情况下 NF- κ B(NF- κ B 的 p65 结构与细胞质中的 I κ B 结合形成复合物)存在于细胞质中,不能发挥基因调节作用,当细胞受到某些外界因素刺激时,I κ B α 被 IKK 复合物磷酸化,并通过泛素/蛋白酶体途径降解,从而释放 NF- κ B,使其失去束缚进入细胞核,激活 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等多种炎症因子表达,这在神经元中被认为是诱导抑郁发生的机制^[16-18],而抑制 NF- κ B 信号通路可以降低促炎细胞因子如 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的水平,改善患者的抑郁行为^[19-22].因此本实验进一步探讨了 TEN 对 NF- κ B 信号通路的调节作用,结果发现,抑郁模型组小鼠海马中 p-IKK β /IKK β 、p-I κ B α /I κ B α 和 p-NF- κ B/NF- κ B 的比率较正常组小鼠明显升高,而 TEN 处理组的 p-IKK β /IKK β 、p-I κ B α /I κ B α 和 p-NF- κ B/NF- κ B 的比率较抑郁模型组小鼠明显下降,该结果表明 TEN 可抑制抑郁小鼠海马的 NF- κ B 信号通路活化.

综上所述,TEN 可以通过降低 IKK β 、I κ B α 的活化,抑制 NF- κ B 信号通路,进而降低 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等炎症因子的水平,从而减轻压力导致的神经元损伤,发挥抗抑郁作用.本研究结果为 TEN 作为单体化合物或配伍药物成分应用于临床抗抑郁提供了新的证据.基于本研究结果,进一步开展体内外细胞实验,更广泛和深入地揭示 TEN 的靶向作用路径,将有助于加快 TEN 从实验研究走向临床应用.

附录见电子版(DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2023.09.14.0002).

参 考 文 献

[1] MONROE S M,HARKNESS K L.Major depression and its recurrences:life course matters[J].Annual Review of Clinical Psychology, 2022,18:329-357.

[2] EDINOFF A N,AKULY H A,HANNA T A,et al.Selective serotonin reuptake inhibitors and adverse effects;a narrative review[J].Neurology International,2021,13(3):387-401.

[3] ASLANLAR D A,VISNECI E F,OZ M,et al.N-acetylcysteine ameliorates chemotherapy-induced impaired anxiety and depression-like behaviors by regulating inflammation,oxidative and cholinergic status,and BDNF release[J].Behavioural Brain Research,2024,458:114740.

[4] CHEN Z,YANG Y,HAN Y,et al.Neuroprotective effects and mechanisms of senegenin,an effective compound originated from the roots of Polygala tenuifolia[J].Frontiers in Pharmacology,2022,13:937333.

[5] WANG L,JIN G F,YU H H,et al.Protective effect of tenuifolin against Alzheimer's disease[J].Neuroscience Letters,2019,705:195-201.

[6] LI Z F,XU H X,XU Y,et al.Morinda officinalis oligosaccharides alleviate depressive-like behaviors in post-stroke rats via suppressing NLRP3 inflammasome to inhibit hippocampal inflammation[J].CNS Neuroscience & Therapeutics,2021,27(12):1570-1586.

[7] JIAO H Y,FAN Y L,GONG A M,et al.Xiaoyaosan ameliorates CUMS-induced depressive-like and anorexia behaviors in mice via necroptosis related cellular senescence in hypothalamus[J].Journal of Ethnopharmacology,2024,318:116938.

[8] WANG B,CHEN S M,YANG S Q,et al.GDF11 mediates H2S to prevent chronic stress-induced cognitive impairment by reducing hippocampal NLRP3/caspase-1-dependent pyroptosis[J].Journal of Affective Disorders,2024,344:600-611.

[9] PRIMO M J,FONSECA-RODRIGUES D,ALMEIDA A,et al.Sucrose preference test;a systematic review of protocols for the assessment of anhedonia in rodents[J].European Neuropsychopharmacology,2023,77:80-92.

[10] HAQ F U,SHOAIB M,ALI SHAH S W,et al.Antidepressant activities of synthesized benzodiazepine analogues in mice[J].Brain Sciences,2023,13(3):523.

[11] ZHANG H M,CHEN Z Y.Electroacupuncture alleviates depression-like behaviours via a neural mechanism involving activation of Nucleus Accumbens Shell[J].The World Journal of Biological Psychiatry,2023,24(8):721-729.

[12] PINDER N E,LIGOCKI I Y,HORTON B M,et al.Valerenic acid reduces anxiety-like behavior in young adult,female(C57BL/6J)mice [J].Behavioural Brain Research,2024,457:114717.

[13] MA B,LI X T,LI J,et al.Quantitative analysis of tenuifolin concentrations in rat plasma and tissue using LC-MS/MS: Application to pharmacokinetic and tissue distribution study[J].Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,2014,88:191-200.

- [14] NG A, TAM W W, ZHANG M W, et al. IL-1 β , IL-6, TNF- α and CRP in elderly patients with depression or Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 12050.
- [15] LIU L, DONG Y, SHAN X, et al. Anti-depressive effectiveness of baicalin in vitro and in vivo[J]. Molecules, 2019, 24(2): 326.
- [16] LIU C H, ZHANG G Z, LI B, et al. Role of inflammation in depression relapse[J]. Journal of Neuroinflammation, 2019, 16(1): 90.
- [17] CHAI Y H, CAI Y W, FU Y, et al. Salidroside ameliorates depression by suppressing NLRP3-mediated pyroptosis via P2X7/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway[J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 812362.
- [18] LISTWAK S J, RATHORE P, HERKENHAM M. Minimal NF- κ B activity in neurons[J]. Neuroscience, 2013, 250: 282-299.
- [19] YU H, LIN L B, ZHANG Z Q, et al. Targeting NF- κ B pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2020, 5: 209.
- [20] REN J, SU D, LI L X, et al. Anti-inflammatory effects of Aureusidin in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages via suppressing NF- κ B and activating ROS- and MAPKs-dependent Nrf2/HO-1 signaling pathways[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2020, 387: 114846.
- [21] SINGH S, SINGH T G. Role of nuclear factor kappa B (NF- κ B) signalling in neurodegenerative diseases: an mechanistic approach[J]. Current Neuropharmacology, 2020, 18(10): 918-935.
- [22] WANG T Y, WENG H D, ZHOU H J, et al. Esketamine alleviates postoperative depression-like behavior through anti-inflammatory actions in mouse prefrontal cortex[J]. Journal of Affective Disorders, 2022, 307: 97-107.

Study on the antidepressant efficacy of tenuifolin by inhibiting NF- κ B signaling pathway

Tang Chaozhi^{1,2}, Zhai Zihan², Zhang Yuling², Li Yichen²

(1. School of Biological Science and Technology, Liupanshui Normal University, Liupanshui 553004, China;

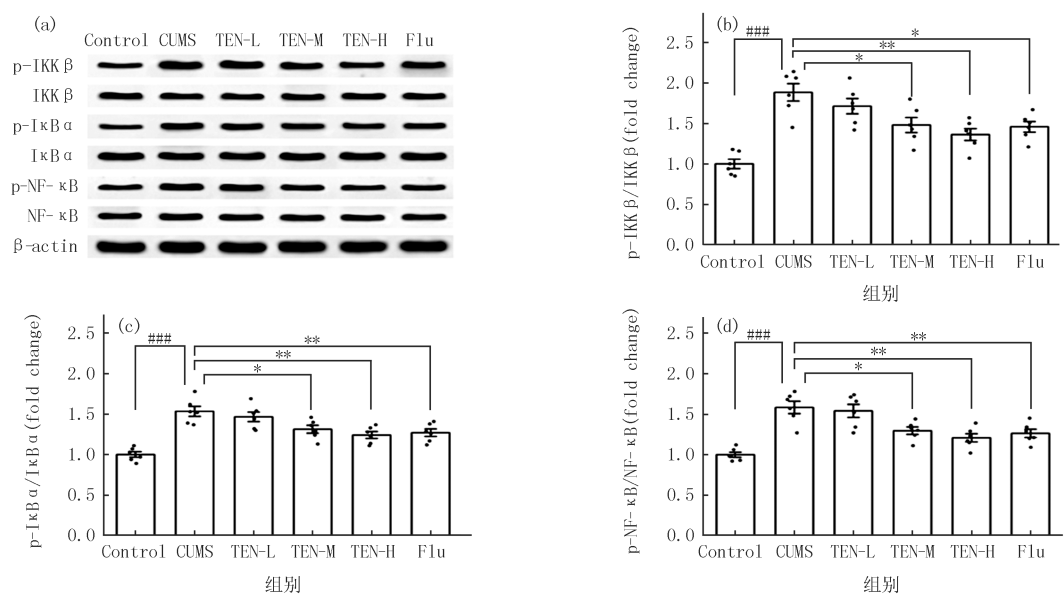
2. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: [Objective] To investigate the therapeutic efficacy and mechanism of tenuifolin (TEN) on chronic unpredictability mild stress (CUMS) depression model mice. [Methods] Sixty C57BL/6 male mice weighing 18-22 g aged 8 week were randomly divided into control group (Control), CUMS group (CUMS), low-dose TEN group (TEN-L), medium-dose TEN group (TEN-M), high-dose TEN group (TEN-H) and fluoxetine group (Flu). Besides the control group, the other 5 groups were given CUMS for 8 weeks, among which the TEN-L, TEN-M, TEN-H and Flu groups were given intragastric administration at 5-8th week, respectively. At the 9th week, the depression behavior of mice was evaluated by the sugar preference test (SPT), tail suspension test (TST), open field test (OFT), and Morris water maze test (MWM), the hippocampus structure of mice was detected by hematoxylin-eosin (HE) staining, the levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in hippocampus were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the ratio of p-IKK β /IKK β , p-I κ B α /I κ B α and p-NF- κ B/NF- κ B in hippocampus was detected by western blot (WB). [Results] Compared with CUMS group, the sugar water preference rate of TEN-M, TEN-H and Flu groups increased, the tail suspension immobility time decreased, the total distance, the distance of central area and the activity time in central area increased in the open field, the escape latency time reduced and the target quadrant activity distance increased in the Morris water maze, neuron damage in the hippocampus believed, the levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α declined, the ratio of p-IKK β /IKK β , p-I κ B α /I κ B α and p-NF- κ B/NF- κ B decreased. [Conclusion] TEN can decrease the level of inflammation and neuronal damage in hippocampus of depressed mice by inhibiting NF- κ B signaling pathway, and ultimately alleviate depressive behavior in depressed mice.

Keywords: tenuifolin; depression; nuclear factor- κ B signaling pathway; inflammation

[责任编辑 刘洋 赵晓华]

附 录



(a) 具有代表性的p-IKKβ, IKKβ, p-IκBα, IκBα, p-NF-κB, NF-κB和β-actin的表达条带; (b) p-IKKβ/IKKβ; (c) p-IκBα/IκBα; (d) p-NF-κB/NF-κB.

图S1 TEN抑制了抑郁小鼠海马的NF-κB信号通路(n=6)

Fig.S1 TEN inhibited NF-κB signaling pathway in the hippocampus of depressed mice(n=6)