

郑涵文,王梓航,刘昕玥,等. 黄花菜醇提物对斑马鱼抑郁样行为的改善作用研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(4): 20-27.

Zheng HW, Wang ZH, Liu XY, et al. Improvement of depressive-like behavior in *Hemerocallis citrina Baroni* using a zebrafish model [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(4): 20-27.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.04.003

黄花菜醇提物对斑马鱼抑郁样行为的改善作用研究

郑涵文^{1,2}, 王梓航³, 刘昕玥², 于佳玮², Alberto Carlos Pires Dias⁴,
王凤忠^{2*}, 王 琼^{1,2*}

(1.西南医科大学附属中医医院中葡中医药国际合作中心, 四川 泸州 646000; 2.中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193; 3.中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 4.葡萄牙米尼奥大学生物系中葡药食植物资源研究中心, 葡萄牙 布拉加 4710-057)

【摘要】 目的 探究黄花菜醇提物 (*Hemerocallis citrina Baroni*, HCE) 在利血平 (reserpine) 诱导的斑马鱼幼鱼 (*Danio rerio*) 模型中对抑郁行为的改善作用。**方法** 将斑马鱼幼鱼分为对照 (Con) 组、利血平组、氟西汀组、黄花菜低剂量组 (1.5 mg/L)、黄花菜中剂量组 (3 mg/L)、黄花菜高剂量组 (4.5 mg/L)。采用斑马鱼声音刺激和光刺激进行抑郁样行为学分析。利用 RT-qPCR 研究黄花菜醇提物对抑郁症有关的星状胶质细胞标志物及其衍生物基因 (*GFAP*、*C3*、*C4B*、*EMP-1* 和 *S100α-10*) 以及神经营养因子 (*BDNF*) 及其自身受体转录基因 (*P75*、*TrkB*) 的调节功能。**结果** 与对照组相比, 模型组在 440 Hz 声音刺激与 8000 Lux 光照刺激下运动距离缩短、运动时间减少 ($P<0.05$, $P<0.001$, $P<0.0001$), 呈现运动的不敏感性。而经过黄花菜醇提物给药后的斑马鱼幼鱼对于光与声音的刺激敏感度相较于模型组有明显升高 ($P<0.05$, $P<0.0001$)。与对照组相比, 利血平组斑马鱼脑中的星形胶质细胞标志物基因表达上调 ($P<0.0001$), 而各给药组相较于利血平组, 星形胶质细胞标志物表达显著下调 ($P<0.0001$), 神经营养因子及其受体基因表达与对照组相比, 模型组斑马鱼脑中的 *BDNF*、*P75*、*TrkB* 下调 ($P<0.0001$), 而黄花菜醇提物给药组相较于模型组 *BDNF*、*P75*、*TrkB* 表达显著上调 ($P<0.01$, $P<0.0001$)。表明黄花菜醇提物抑制了星形胶质细胞激活诱发的炎症表现, 同时促进了神经营养因子及其受体基因的生成, 对抑郁起到了改善作用。**结论** 黄花菜醇提物可以改善利血平诱导的斑马鱼幼鱼的抑郁样行为变化, 斑马鱼脑中星形胶质细胞标志物的表达量减少, 同时促进神经营养因子及其受体基因的生成, 起到抗抑郁作用。

【关键词】 黄花菜; 抑郁症; 利血平; 斑马鱼

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 04-0020-08

Improvement of depressive-like behavior in *Hemerocallis citrina Baroni* using a zebrafish model

ZHENG Hanwen^{1,2}, WANG Zihang³, LIU Xinyue², YU Jiawei², ALBERTO Carlos Pires Dias⁴, WANG Fengzhong^{2*},
WANG Qiong^{1,2*}

(1. Sino-Portugal TCM International Cooperation Center, the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China. 2. Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193. 3. College of Food Science and Nutrition Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083. 4. Sino-PT Research Center for Medicinal and Food Plant Resources, Department of Biology, University of Minho, Braga 4710-057, Portugal)

【基金项目】 航天医学基础与应用国家重点实验室开放基金资助项目 (SMFA18K06); 国家重点研发计划 (2021YFD1600100); 高端外国专家引进计划 (G2022051012L)。

【作者简介】 郑涵文 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药神经药理与航天医学。E-mail: zhenghanwen0524@163.com

【通信作者】 王琼 (1975—), 女, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 中药神经药理与航天医学。E-mail: luyiwangqiong@163.com

王凤忠 (1972—), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 农产品多维品质评价及综合利用研究。E-mail: wangfengzhong@sina.com

* 共同通信作者

[Abstract] Objective To investigate the effects of alcoholic extract of *Hemerocallis citrina Baroni* on the depressive-like behaviors in zebrafish larvae (*Danio rerio*) induced by reserpine. **Methods** Zebrafish larvae were divided into various groups: control (Con) group, reserpine group, fluoxetine group, *H. citrina* alcohol extract (HCE) low dose group (1.5 mg/L), HCE medium dose group (3 mg/L), and HCE high dose group (4.5 mg/L). Depressive-like behaviors were analyzed using sound and light stimulation. Real-time PCR was used to investigate the effects of HCE on depression related astrocyte markers (*GFAP*, *C3*, *C4B*, *EMP-1*, *S100α-10*) and the neurotrophic factor *BDNF* and its receptor genes (*P75*, *TrkB*). **Results** In comparison to the control group, the model group demonstrated significantly shorter movement distance and reduced movement time under sound and light stimulation ($P < 0.05$, $P < 0.001$, $P < 0.0001$). Following the administration of HCE, zebrafish larvae exhibited significantly heightened sensitivity to light and sound stimulation compared to the model group ($P < 0.05$, $P < 0.0001$). Astrocyte marker genes were up-regulated in the model group zebrafish brains compared to the control group ($P < 0.0001$). However, when the model group was administered HCE, the expression of astrocyte markers was significantly down-regulated compared to the model group ($P < 0.0001$). Neurotrophic factor and its receptor genes (*BDNF*, *P75*, *TrkB*) were down-regulated in zebrafish brains in the model group compared to those in the control group ($P < 0.0001$). However, in the group administered HCE, the expression of *BDNF*, *P75*, and *TrkB* was significantly up-regulated compared to that in the model group ($P < 0.01$, $P < 0.0001$). These findings suggest that HCE suppressed the inflammatory responses caused by astrocyte activation and promoted the production of neurotrophic factors and their receptor genes, thereby exerting an ameliorative effect on depression. **Conclusions** Alcoholic extracts of *H. citrina* can ameliorate the depression-like behavioral changes induced by reserpine in zebrafish larvae. They reduce the expression of astrocyte markers in the zebrafish brain and promote the production of neurotrophic factors and their receptor genes, playing an antidepressant role.

[Keywords] *Hemerocallis citrina Baroni*; depression; reserpine; zebrafish

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

抑郁症是最常见的精神疾病之一,对人类健康造成巨大威胁。1990~2017 年,全球抑郁症发病率增加了 49.86%^[1],呈现增长趋势,现已变成世界各国最重大的公共社会问题。抑郁症主要表现为持续性抑郁、失眠,甚至存在自残或自杀,其发病机制极为复杂,涉及社会因素、遗传因素等,目前抑郁诱发的机制仍未阐明,可能与单胺类神经递质、脑源性神经营养因子以及炎症相关^[2]。在抑郁患者中一线药品,如舍曲林、氟西汀和帕罗西汀等,可减轻抑郁症状,但长期使用副作用明显,长期用药患者往往会产生失眠、恶心、头疼、精神紧张等严重副作用,对健康造成危害^[3-4]。而以安神补心六片和保元解郁方(黄芪)为代表的治抑郁的中药可有效改善斑马鱼^[5]和大鼠^[6]的抑郁症状,且具有副作用小、效果显著的特点^[7],值得深入研究。故开发抗抑郁的植物药或中药成分资源,促进中西药结合发展,已成为抑郁症临床治疗的主要研究方向之一^[8]。

黄花菜(*Hemerocallis citrina*)也称萱草、忘忧草,早在宋代苏颂《本草图经》中就指明黄花菜有治疗抑郁,使人“忘忧”的功效^[9]。现代药理学研究显示,黄花菜中起抗抑郁作用的活性成份主要是类黄

酮^[10]。黄花菜类黄酮水平的提高对小鼠抑郁的多种模型都具有重要的治疗意义。除此之外,黄花菜为主体的中药复方有明显的抗抑郁作用,例如欣宁颗粒可以增强单胺能系统功能从而拮抗利血平导致的抑郁^[9]。采用模式动物斑马鱼有几大优势,斑马鱼与人类高度的生理同源性,且斑马鱼表现出发育良好的功能性神经内分泌系统,通常与哺乳动物的神经内分泌系统相对应^[11]。因此,在本研究中,我们采用利血平造模 7 d 制备斑马鱼抑郁模型,利用 RT-qPCR 探究星形胶质细胞标志物与脑源性神经营养因子的基因表达量,进而验证黄花菜对斑马鱼抑郁模型的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

斑马鱼为本实验室自主繁育后养殖,种鱼为 3~5 个月大野生型 AB 成鱼,购自国家斑马鱼资源中心(中国,武汉)。饲养于购自上海海盛生物技术有限公司(中国,上海)的水箱中,水箱采用循环水系统。体系水的氯化钾(KCl)值为 0.05 g/L、碳酸氢钠(NaHCO₃)值为 0.025 g/L、氯化钠(NaCl)值为 3.5 g/L、氯化钙(CaCl₂)值为 0.1 g/L。斑马鱼胚胎用

Holt 培养液 (15 mmol/L NaCl、0.67 mmol/L KCl、0.03 mmol/L NaHCO₃、0.90 mmol/L CaCl₂, pH = 7.2) 孵育。斑马鱼 (胚胎和成鱼) 维持在 14 h/10 h 光/暗周期下。所有动物实验均遵循中国农业科学院农产品加工所实验动物伦理委员会的指导方针 (2022-1105), 实验动物饲养和实验过程均遵循 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

黄花菜购自湖南省祁东县;乙醇购自上海阿拉丁科技股份有限公司 (Ethanol, ≥99.5%);正丁醇购自上海阿拉丁科技股份有限公司 (1-Butanol, ≥99.5%);MBHA 树脂购自上海阿拉丁科技股份有限公司;利血平购自上海源叶生物科技有限公司 (Reserpine, 纯度 ≥98%);盐酸氟西汀购自美国 MCE 公司 (Fluoxetine hydrochloride, ≥99.82%);二甲基亚砜 (DMSO, 北京酷来搏科技有限公司, 纯度 ≥98%);正丁醇 (C₄H₁₀O, 上海阿拉丁生物科技有限公司);乙醇 (CH₃CH₂OH, 上海阿拉丁生物科技有限公司);HP-20 大孔吸附树脂 (科海思 (北京) 科技有限公司);RNA 提取试剂盒购自北京艾德莱生物科技有限公司;cDNA 反转录试剂盒购自普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司;引物由擎科生物科技公司 (中国, 北京) 设计。酶标仪购自美国 MolecuLar Devices 公司;实时荧光定量 PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司;低温高速离心机购自德国 Eppendorf 公司;斑马鱼行为轨迹跟踪系统购自诺达思 (北京) 信息技术有限责任公司。

1.3 实验方法

1.3.1 黄花菜醇提物的制备

选择湖南祁东县优质黄花菜,用 80%乙醇加热回流提取 3 次,合并提取液,减压浓缩得 80%乙醇提取物。将提取物悬浮于水中,用正丁醇萃取 3 次,减压浓缩后用 HP-20 大孔吸附树脂,以水、30%乙醇洗脱,将 30%乙醇洗脱液减压浓缩、干燥、粉碎即得实验样品。

1.3.2 斑马鱼抑郁模型的建立以及分组

将发育 2 h 左右的胚胎随机分为 6 组:对照 (Con) 组、利血平组、氟西汀组、黄花菜低剂量组 (1.5 mg/L)、黄花菜中剂量组 (3 mg/L)、黄花菜高剂量组 (4.5 mg/L)。将胚胎置于 6 孔板中孵育,每孔 30 枚胚胎,生物学重复 3 次。将利血平、氟西汀和 30%的黄花菜醇提物分别溶解在 1 mL 的 DMSO 中,为排除药物溶剂影响,实验 6 组分别加入同等含量的 DMSO。各组胚胎每天在固定时间进行换液,每天 1 次,连续 7 d,建立利血平抑郁模型。20:00 前进行行为学检测,实验流程见图 1。

1.3.3 斑马鱼声光刺激行为学

斑马鱼在光照强度为 0 的条件下适应 20 min,数据整合周期为 30 s,设置实验 100%光照强度 (8000 Lux),实验时长 20 min。斑马鱼在声音强度为 0 Hz 的条件下适应 20 min,数据整合周期为 30 s,设置实验 100%声音强度 (440 Hz),实验时长 20 min。

1.3.4 基因表达量测定

末次行为学实验结束后,将斑马鱼幼鱼处死后迅速断头,于冰上截取脑部,标记后置于液氮,取材完成后于-80℃条件下保存组织。

为确定黄花菜醇提物对斑马鱼的治疗作用,行为学实验 24 h 内按照说明书流程从斑马鱼脑组织中提取总 RNA、反转录和实时荧光定量检测斑马鱼鱼脑中星形胶质细胞标志物及其衍生物基因 (GFAP、C3、C4B、EMP-1 和 S100α-10),神经营养因子及其受体基因 (BDNF、P75 和 TrkB) 的表达量。引物序列如表 1 所示。

1.4 统计学方法

该实验统计学分析使用 GraPhPad Prism 9.5 软件和 SPSS 20.0 软件,结果用平均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,每组间比较采用 S-T 检验,组间差异的统计显著性采用单因素方差分析,所有数据符合正态分布,并以 P<0.05 认为差异有统计学意义。

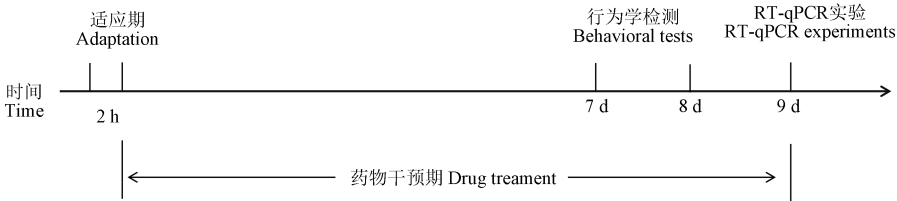


图 1 实验流程

Figure 1 Experimental process

2 结果

2.1 黄花菜对利血平幼鱼声光刺激状态下的影响

如图 2A、2B 所示,造模 7 d 后,在声音刺激下利血平组的移动速度以及移动距离相较对照组有明显下降($P<0.0001$)。与利血平组比较,氟西汀组、黄花菜低、中、高剂量组(1.5、3.0、4.5 mg/L)的移动

表 1 RT-qPCR 引物序列

基因	引物序列(5'-3')
Gene	Primer sequence(5'-3')
β -actin	F:ATCTTGACTGAGCGCGTTAT R:TCATGGATGCCAGCAGACTC
GFAP	F:GACCTCGGCACTCTCAAACA R:CAGCGGTCAAGTCTGGCTTA
C3	F:GAAAGCTGCGGCGTATGATG R:CATCCGTGAGGCTGGACAAT
C4B	F:TCTGGGGTGTCTTATGGCG R:CTTTTGCTCGTTTCGTCCTCA
EMP-1	F:CGACTTGAGGTGCGGGGA R:AGGGAAGCAGGATGCAACGA
S100 α -10	F:AGACGGCGAGGTGACTTTG R:CCGTCAAACACACCCACTGTA
BDNF	F:TAGGGGAAAAATGTTCACACAGG R:TGCTCGAAAAGTGTCCGTGAG
P75	F:CGGCTCTGTCTTTGCCCTTA R:CCAGTCGGTCTCCTATTGG
TrkB	F:TCACCTATGGCAAGCAACCC R:CTTTGGGCAAGTACGAGGT

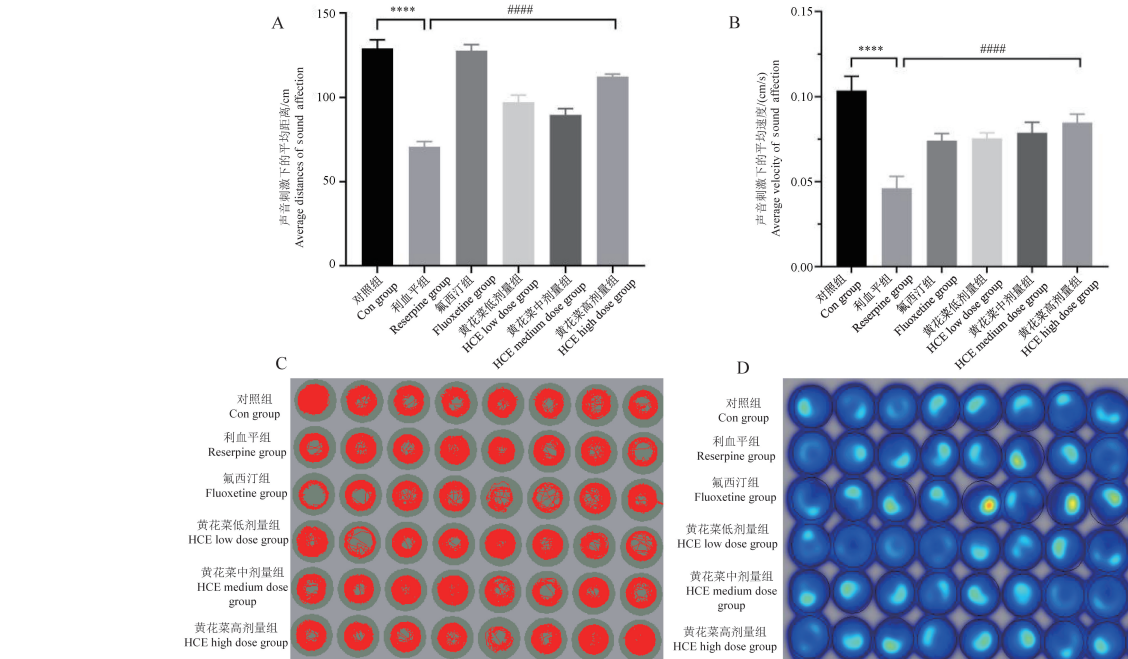
距离与移动速度均有明显恢复($P<0.0001$)。如图 3A、3B 所示,造模 7 d 后,在光照刺激下利血平组的移动速度以及移动距离相较对照组有明显下降($P<0.05$, $P<0.001$)。与利血平组比较,氟西汀组、黄花菜低高剂量组(1.5、4.5 mg/L)的移动速度有明显恢复($P<0.05$),与利血平组比较,氟西汀组的移动距离有明显恢复($P<0.0001$)。

2.2 黄花菜对利血平幼鱼脑组织中星形胶质细胞标志物的影响

用 RT-qPCR 测定星形胶质细胞主要标志物基因(*GFAP*、*C3*、*C4B*、*EMP-1*、*S100 α -10*)的相对表达水平。胶质纤维酸性蛋白(*GFAP*)是星形胶质细胞的主要生物标志物。RT-qPCR 检测结果如图 4 所示,与对照组相比,利血平组斑马鱼幼鱼的星形胶质细胞标志物 *GFAP*、*C3*、*C4B*、*EMP-1* 和 *S100 α -10* 水平升高($P<0.0001$)。与利血平组相比,黄花菜低、中、高剂量组(1.5、3.0、4.5 mg/L)各指标显著下降($P<0.0001$)。

2.3 黄花菜对利血平幼鱼脑组织中脑源性神经营养因子的影响

如图 5 所示,用 RT-qPCR 测定神经营养因子及

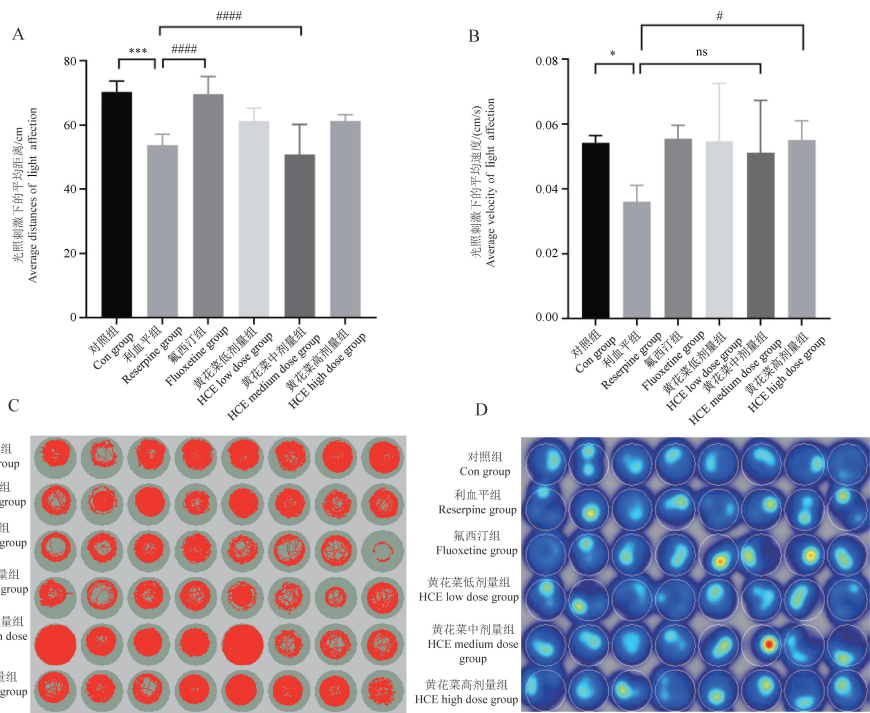


注:A:声音刺激影响下斑马鱼的运动距离;B:声音刺激影响下斑马鱼的运动速度;C:声音刺激影响下斑马鱼的运动轨迹;D:声音刺激影响下斑马鱼的运动热图。与对照组相比,**** $P<0.0001$;与利血平组相比,#### $P<0.0001$ 。

图 2 黄花菜对利血平幼鱼声音刺激状态下游行距离和速度的影响($n=8$)

Note. A, Distance traveled by zebrafish under the influence of sound stimulation. B, Speed of zebrafish under the influence of sound stimulation. C, Trajectory of zebrafish under the influence of sound stimulation. D, Thermogram of zebrafish under the influence of sound stimulation. Compared with the Con group, **** $P<0.0001$. Compared with the reserpine group, #### $P<0.0001$.

Figure 2 Effects of HCE on marching distance and speed in sound-stimulated states of zebrafish larvae

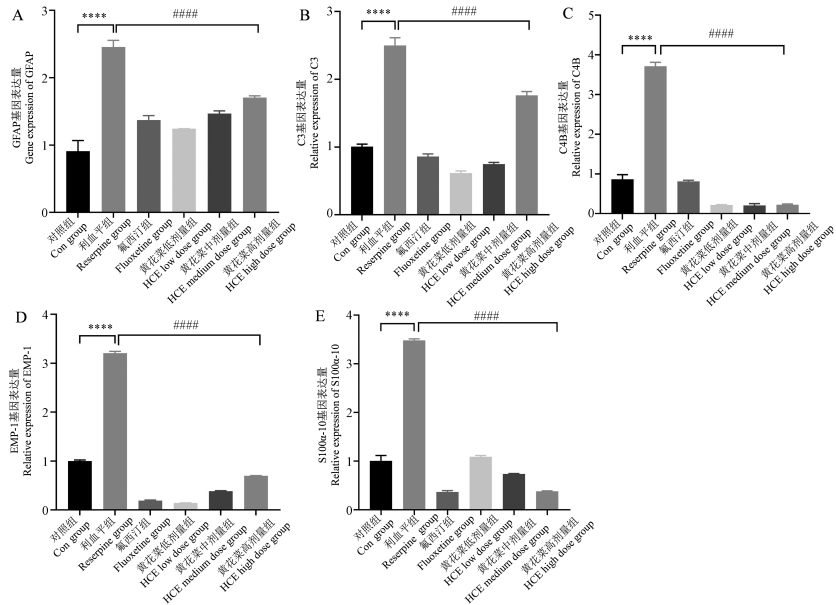


注:A:光照刺激影响下斑马鱼的运动距离;B:光照刺激影响下斑马鱼的运动速度;C:光照刺激影响下斑马鱼的运动轨迹;D:光照刺激影响下斑马鱼的运动热图。与对照组相比, * $P<0.05$, *** $P<0.001$;与利血平组相比, # $P<0.05$, #### $P<0.0001$ 。

图3 黄花草对利血平幼鱼光照刺激状态下游行距离和速度的影响 ($n=8$)

Note. A, Distance traveled by zebrafish under the influence of light stimulation. B, Speed of zebrafish under the influence of light stimulation. C, Trajectory of zebrafish under the influence of light stimulation. D, Thermogram of zebrafish movement under the influence of light stimulation. Compared with the Con group, * $P<0.05$, *** $P<0.001$. Compared with the reserpine group, # $P<0.05$, #### $P<0.0001$.

Figure 3 Effects of HCE on marching distance and speed in light-stimulated states of zebrafish larvae

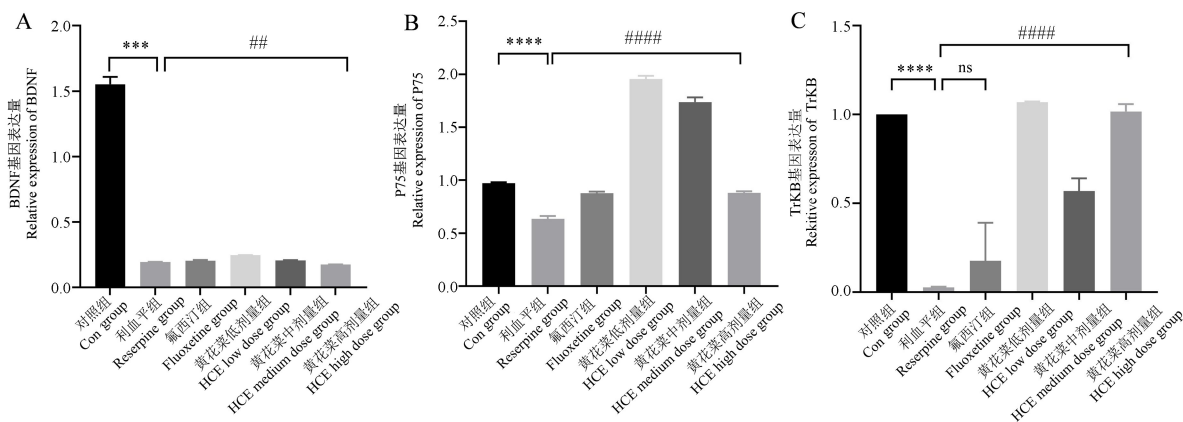


注:与对照组相比, **** $P<0.0001$;与利血平组相比, #### $P<0.0001$ 。

图4 黄花草对利血平幼鱼脑组织中星形胶质细胞标志物的影响 ($n=90$)

Note. Compared with the Con group, **** $P<0.0001$. Compared with the reserpine group, #### $P<0.0001$.

Figure 4 Effect of HCE on astrocyte markers in the brain tissue of zebrafish larvae



注:与对照组相比, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$;与利血平组相比, ## $P<0.01$, #### $P<0.0001$ 。
图5 黄花菜对利血平幼鱼脑组织中脑源性神经营养因子的影响 ($n=90$)
Note. Compared with the Con group, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$. Compared with the reserpine group, ## $P<0.01$, #### $P<0.0001$.

Figure 5 Effect of HCE on brain-derived neurotrophic factors in the brain tissue of zebrafish larvae

其受体基因 (*BDNF*、*P75*、*TrkB*) 的相对表达水平。实验结果显示,与对照组相比,利血平组斑马鱼幼鱼的神经营养因子及其受体基因 (*BDNF*、*P75*、*TrkB*) 水平降低 ($P<0.001$, $P<0.0001$)。与利血平组相比,黄花菜低、中、高剂量组 (1.5、3.0、4.5 mg/L) 各指标显著升高 ($P<0.01$, $P<0.0001$)。

3 讨论

抑郁症是世界范围内最常见的情感障碍,其特征是情绪低落、无助、忧郁和绝望。轻症表现为情绪不佳、没有工作兴趣、自责颓废、自我评价降低、倦怠,常伴有食欲和性欲下降、早晨惊醒、体重减轻等症状,重症则有自杀倾向^[10]。斑马鱼模型由于其花费少、生物体积小且基因在功能上与人类基因直系同源等诸多优势,已在人类神经退行性疾病 (如帕金森病,阿尔茨海默病等) 领域^[11] 和神经药理学 (如抑郁治疗相关方面) 中被成功应用^[12-13]。利血平因其在心脑血管方面的副作用常被用于诱导斑马鱼成鱼以及幼鱼抑郁模型^[14-16]。利血平已经在啮齿动物中被广泛应用于诱导抑郁引起的运动障碍模型^[17]。之前的研究结果证实,在暴露于 40 mg/L 利血平后,斑马鱼成鱼的游动距离明显减少,且游动持续时间也缩短了,这说明在利血平的影响下,斑马鱼产生了运动迟缓的抑郁样表现^[18]。光和声音刺激实验是经典的神经退行性疾病环境刺激实验,在以往的研究中曾多次涉及^[19-20],这两种实验可以系统地检测斑马鱼感官的敏感性变化和斑马鱼与外界环境相互联系的紧密程度^[21]。在

本研究中,经过 7 d 利血平诱导后,斑马鱼幼鱼在声音和光照刺激下的运动距离均出现明显缩短,游动时间也明显减少,这与之前的报道一致。表明经过不同浓度的黄花菜治疗后,可不同程度地改善利血平幼鱼模型的抑郁样行为,恢复斑马鱼与外界联系的紧密程度。

近年来的研究证实,利血平诱导的啮齿动物和斑马鱼抑郁样行为表现会导致星形胶质细胞的异常激活,促进 GFAP 及其衍生物的表达上调^[22-23]。抑郁也会导致海马体积缩小,对死后抑郁症患者的脑组织分析表明,星形胶质细胞密度的降低是海马体积缩小的主要原因^[24-25]。本研究表明,利血平诱导 7 d 后的星形胶质细胞标志物的基因表达水平显著升高,经过不同浓度的黄花菜治疗后均有所下降。此外,星形胶质细胞还会进而激活分化生成两种反应性细胞, A1 型和 A2 型。A1 型细胞如 *C3*、*C4B*, A2 型星形胶质细胞的生物标志物有 *EMP-1*、*S100α-10*^[26]。本研究表明,利血平诱导 7 d 后的 *C3*、*C4B* 和 *EMP-1*、*S100α-10* 的基因表达水平显著升高,经过不同浓度的黄花菜治疗后均有所降低。这些研究结果显示,黄花菜对利血平引起的神经炎症发挥了抑制作用。

根据抑郁症的神经源性假说,抑郁会抑制脑源性神经营养因子的释放,对大脑的神经保护作用降低^[27-28]。脑源性神经系统营养因子是由 *BDNF* 基因编码的神经营养蛋白家族的蛋白质,在人类认知、记忆和动作的突触可塑性过程中起到关键作用^[29]。A2 型星状胶质细胞也能够产生 BDNF,其中

的 BDNF 及其受体 *P75*、*TrkB* 在神经系统保护和神经细胞凋亡过程中均具有重要的意义。有研究表明,给予抗抑郁药后,脑卒中后抑郁 (post-stroke depression, PSD) 患者的 BDNF 水平明显升高^[30]。重度抑郁症 (major depressive disorder, MDD) 患者的 BDNF 前肽水平明显低于对照组^[31]。研究表明,利血平诱导 7 d 后的脑源性神经营养因子的基因表达水平显著降低,经过不同浓度的黄花菜治疗后均有所升高。说明黄花菜促进 BDNF 的增加,对大脑起保护作用的同时降低抑郁症的发生风险。

植物药和中草药提取物具有明显的生物活性,如黄芪、黄精、人参、枸杞多糖等均具有抗炎、抗氧化和免疫调节作用^[32]。茯苓多糖^[33]和秋葵多糖^[34]通过神经保护,提高脑源性神经因子的含量从而改善类似抑郁的行为。黄花菜作为一种药食同源的植物,之前的研究显示,其提取物如黄花菜总皂苷对治疗抑郁有很好的效果^[35-36]。黄花菜醇提取物作为一种植物提取物,主要成分有总糖、蛋白质、脂质与类黄酮,其中含量最高是黄花菜类黄酮^[37],有报道显示,黄花菜类黄酮对大鼠抑郁模型产生治疗作用^[10]。也有研究结果显示,黄花菜 75% 醇提取物具有明显的抗抑郁功效^[38]。这提示了黄花菜对抑郁有很好的治疗效果。本研究表明,30% 的黄花菜醇提取物对于利血平诱导的斑马鱼幼鱼模型具有神经保护作用,可以缓解游动障碍,其作用机制可能是降低 A1 型星形胶质细胞标志物的炎症表达水平,促进 A2 型细胞如脑源性神经因子的分泌来实现的。本研究中采用斑马鱼幼鱼利血平给药 7 d 来诱导抑郁模型,首次通过斑马鱼行为学以及对鱼脑中星形胶质细胞标志物、脑源性神经营养因子标志物基因表达量的分析证实了黄花菜对抑郁疾病的治疗作用,结合前期的研究结果,提示可能是黄花菜中的类黄酮物质发挥的抑郁治疗作用。

参考文献:

[1] LIU Q, HE H, YANG J, et al. Changes in the global burden of depression from 1990 to 2017: Findings from the Global Burden of Disease study [J]. J Psychiatr Res, 2020, 126: 134-140.

[2] 郭梦杰, 刘云, 吴志强, 等. 南极磷虾油对利血平诱导的斑马鱼抑郁模型的改善作用 [J]. 食品与机械, 2023, 39(7): 152-156, 171.

GUO M J, LIU Y, WU Z Q, et al. Improvement of Antarctic krill oil on reserpine induced zebrafish depression model [J]. Food Mach, 2023, 39(7): 152-156, 171.

[3] SZOKE-KOVACS Z, MORE C, SZOKE-KOVACS R, et al.

Selective inhibition of the serotonin transporter in the treatment of depression: sertraline, fluoxetine and citalopram [J]. Neuropsychopharmacol Hung, 2020, 22(1): 4-15.

[4] NUÑEZ N A, JOSEPH B, PAHWA M, et al. Augmentation strategies for treatment resistant major depression: a systematic review and network meta-analysis [J]. J Affect Disord, 2022, 302: 385-400.

[5] LIU J, SHANG Y, XIAO J, et al. Phenotype-based HPLC-Q-TOF-MS/MS coupled with zebrafish behavior trajectory analysis system for the identification of the antidepressant components in methanol extract of Anshen Buxin six pills [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 764388.

[6] WU X, YIN Y, LIU J, et al. Baoyuan Jieyu formula ameliorates depression-like behaviour in rats induced by simulated long-term spaceflight composite stress through regulating MAPK and BDNF pathways [J]. Life Sci Space Res, 2021, 31: 34-42.

[7] YEUNG K S, HERNANDEZ M, MAO J J, et al. Herbal medicine for depression and anxiety: a systematic review with assessment of potential psycho-oncologic relevance [J]. Phytother Res, 2018, 32(5): 865-891.

[8] (宋)苏颂. 本草图经 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1994.

SU S. Commentaries on the Illustrations [M]. Hefei: Anhui Science and Technology Press, 1994.

[9] 翟俊乐, 田欢, 李孟秋, 等. 黄花菜抗抑郁作用有效成分的筛选 [J]. 中国食品添加剂, 2015, 26(10): 93-97.

ZHAI J L, TIAN H, LI M Q, et al. Screen of active anti-depression ingredients from daylily [J]. China Food Addit, 2015, 26(10): 93-97.

[10] ZAKARIA F, AKHTAR M T, WAN NORHAMIDAH W I, et al. *Centella asiatica* (L.) Urb. Extract ameliorates branched-chain amino acid (BCAA) metabolism in acute reserpine-induced stress zebrafish model via ¹H Nuclear Magnetic Resonance (NMR)-based metabolomics approach [J]. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 2023, 264: 109501.

[11] 李杉杉, 李汇博, 陈善广, 等. 两种黄花菜组方抗抑郁作用的行为特征比较 [J]. 航天医学与医学工程, 2021, 34(3): 208-213.

LI S S, LI H B, CHEN S G, et al. Comparison of behavioral characteristics of antidepressant effects of two daylily prescriptions [J]. Space Med Med Eng, 2021, 34(3): 208-213.

[12] ZHANG R, QIAO C, LIU Q, et al. A reliable high-throughput screening model for antidepressant [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(17): 9505.

[13] WANG J, CAO H. Zebrafish and medaka: important animal models for human neurodegenerative diseases [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(19): 10766.

[14] KALUEFF A V, STEWART A M, GERLAI R. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders [J]. Trends Pharmacol Sci, 2014, 35(2): 63-75.

[15] ZAKARIA F, AKHTAR M T, WAN IBRAHIM W N, et al. Perturbations in amino acid metabolism in reserpine-treated

- zebrafish brain detected by ^1H nuclear magnetic resonance-based metabolomics [J]. *Zebrafish*, 2021, 18(1): 42–54.
- [16] SAROYA R, SMITH R, SEYMOUR C, et al. Injection of reserpine into zebrafish, prevents fish to fish communication of radiation-induced bystander signals; confirmation *in vivo* of a role for serotonin in the mechanism [J]. *Dose Response*, 2009, 8(3): 317–330.
 - [17] WANG L, MA J, WU W, et al. Effect of aerobic exercise as a treatment on type 2 diabetes mellitus with depression-like behavior zebrafish [J]. *Life Sci*, 2022, 300: 120578.
 - [18] WANG S, DUAN M, GUAN K, et al. Developmental neurotoxicity of reserpine exposure in zebrafish larvae (*Danio rerio*) [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2019, 223: 115–123.
 - [19] 陈保祯, 姜宁, 裴海月, 等. 基于文献数据库的药物诱导的抑郁动物模型的研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(5): 134–144.
CHEN Y Z, JIANG N, PEI H Y, et al. Literature review of animal models of depression induced by drugs [J]. *Chin J Comp Med*, 2023, 33(5): 134–144.
 - [20] 裴海月, 姜宁, 王孟迪, 等. 槟榔对小鼠的抗抑郁作用影响及机制研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2022, 32(1): 24–32.
PEI H Y, JIANG N, WANG M D, et al. Antidepressant effect of *Areca catechu* L. on mice and its mechanism [J]. *Chin J Comp Med*, 2022, 32(1): 24–32.
 - [21] 施旭来. MiR-129-3p 在斑马鱼胚胎中的神经保护作用及其机制研究 [D]. 济南: 山东大学, 2018.
SHI X L. Neuroprotective effect and mechanistic study of miR-129-3p in zebrafish embryos [D]. Jinan: Shandong University, 2018.
 - [22] STRAWBRIDGE R, JAVED R R, CAVE J, et al. The effects of reserpine on depression: a systematic review [J]. *J Psychopharmacol*, 2023, 37(3): 248–260.
 - [23] PUTTONEN H A J, SEMENOVA S, SUNDEVIK M, et al. Storage of neural histamine and histaminergic neurotransmission is VMAT2 dependent in the zebrafish [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 3060.
 - [24] 时萌萌, 张圆, 李菁, 等. 慢性束缚应激对小鼠海马星形胶质细胞表型转换及抑郁样行为的影响 [J]. *解剖学报*, 2023, 54(1): 42–49.
SHI M M, ZHANG Y, LI J, et al. Effect of chronic restraint stress on the phenotypic transition of hippocampal astrocytes and depression-like behavior in mice [J]. *Acta Anat Sin*, 2023, 54(1): 42–49.
 - [25] Quail Z, Carter MM, Wei A, et al. Management of cognitive decline in Alzheimer's disease using a non-pharmacological intervention program: A case report [J]. *Medicine (Baltimore)*. 2020, 99(21): e20128.
 - [26] ZHANG H Y, WANG Y, HE Y, et al. A1 astrocytes contribute to murine depression-like behavior and cognitive dysfunction, which can be alleviated by IL-10 or fluorocitrate treatment [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 200.
 - [27] CZÉH B, SIMON M, SCHMELTING B, et al. Astroglial plasticity in the hippocampus is affected by chronic psychosocial stress and concomitant fluoxetine treatment [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2006, 31(8): 1616–1626.
 - [28] RANA T, BEHL T, SEHGAL A, et al. Unfolding the role of BDNF as a biomarker for treatment of depression [J]. *J Mol Neurosci*, 2021, 71(10): 2008–2021.
 - [29] SANACORA G, BANASR M. From pathophysiology to novel antidepressant drugs: glial contributions to the pathology and treatment of mood disorders [J]. *Biol Psychiatry*, 2013, 73(12): 1172–1179.
 - [30] DU PREEZ A, ONORATO D, EIBEN I, et al. Chronic stress followed by social isolation promotes depressive-like behaviour, alters microglial and astrocyte biology and reduces hippocampal neurogenesis in male mice [J]. *Brain Behav Immun*, 2021, 91: 24–47.
 - [31] CARNIEL B P, DA ROCHA N S. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and inflammatory markers: Perspectives for the management of depression [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2021, 108: 110151.
 - [32] ZHANG E, LIAO P. Brain-derived neurotrophic factor and post-stroke depression [J]. *J Neurosci Res*, 2020, 98(3): 537–548.
 - [33] KOJIMA M, MATSUI K, MIZUI T. BDNF pro-peptide: physiological mechanisms and implications for depression [J]. *Cell Tissue Res*, 2019, 377(1): 73–79.
 - [34] ZHANG W, CHEN L, LI P, et al. Antidepressant and immunosuppressive activities of two polysaccharides from *Poria cocos* (Schw.) Wolf [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 120(Pt B): 1696–1704.
 - [35] YAN T, NIAN T, LIAO Z, et al. Antidepressant effects of a polysaccharide from okra (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench) by anti-inflammation and rebalancing the gut microbiota [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 144: 427–440.
 - [36] 杜秉健. 黄花菜水醇提取物的抗抑郁和促睡眠活性及综合利用研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
DU B J. Study on antidepressant and sleep-promoting activities and comprehensive utilization of water-alcohol extract from day lily [D]. Beijing: China Agricultural University, 2014.
 - [37] ZENG P, LI J, CHEN Y, et al. The structures and biological functions of polysaccharides from traditional Chinese herbs [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2019, 163: 423–444.
 - [38] COENEN V A, AMTAGE F, VOLKMANN J, et al. Deep brain stimulation in neurological and psychiatric disorders [J]. *Dtsch Arztebl Int*, 2015, 112(31/32): 519–526.