

王丹阳,崔竞雯,刘新民,等. 槟榔碱对慢性不可预知温和应激小鼠抗抑郁作用及机制研究 [J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(6): 836-847.

WANG D Y, CUI J W, LIU X M, et al. Anti-depressant effect and mechanism of arecoline in mice with chronic and unpredictable mild stress [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(6): 836-847.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.06.006

槟榔碱对慢性不可预知温和应激小鼠抗抑郁作用及机制研究

王丹阳^{1,2}, 崔竞雯^{1,2}, 刘新民³, 范蓓^{1,2}, 王凤忠^{1,2*}, 卢聪^{1,2*}

(1. 山西农业大学食品科学与工程学院, 山西 晋中 030801; 2. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193; 3. 宁波大学新药技术研究院, 浙江 宁波 315211)

【摘要】 目的 以槟榔碱为研究对象, 采用慢性不可预知温和应激 (chronic and unpredictable mild stress, CUMS) 所致小鼠抑郁模型, 旨在评估槟榔碱在抗抑郁方面的潜在活性, 并初步探讨其可能涉及的作用机制, 从而为深入挖掘槟榔的健康功能提供实验依据, 并为其资源的科学开发与利用提供理论支撑。**方法** 选取 60 只检疫合格的 SPF 级 C57BL/6J 小鼠, 根据体质量随机分为空白组、模型组、氟西汀组 (20 mg/kg)、槟榔碱低剂量组 (10 mg/kg)、槟榔碱中剂量组 (20 mg/kg)、槟榔碱高剂量组 (40 mg/kg), 每组 10 只。采用旷场、悬尾和强迫游泳等行为学方法评价槟榔碱对抑郁小鼠的行为影响; 采用酶联免疫法检测分析小鼠血清 Cort 含量、血清和脑组织中 SOD、MDA、CAT 水平以及脑组织中 5-HT、NE、DA、GABA、TNF- α 、IL-10 和 IL-1 β 等生化指标; Western Blot 检测 BDNF、TrkB、CREB 的表达。**结果** 实验结果表明, 槟榔碱能显著降低模型小鼠在旷场活动中总路程、平均速度, 增加小鼠活动次数; 显著降低模型小鼠在悬尾和强迫游泳实验的不动时间。槟榔碱显著降低小鼠血清皮质酮水平, 提高 SOD、CAT 水平同时降低 MDA 水平; 显著增加神经递质 5-HT、DA、NE、GABA 水平; 显著降低细胞因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平; 以及显著上调小鼠脑组织内 BDNF、TrkB 和 CREB 的表达水平。**结论** 根据研究发现, 槟榔碱具有显著的抗抑郁能力, 其机制可能通过减轻氧化应激伤害、抑制神经炎症、调节神经递质平衡, 以及调节 BDNF/TrkB/CREB 信号通路来实现。本研究挖掘了槟榔碱的抗抑郁功效并初步揭示其可能的调控机制, 可为槟榔发挥神经活性提供数据支持并为槟榔的药用开发奠定理论基础。

【关键词】 槟榔碱; 抗抑郁; 氧化应激; 神经炎症; 神经递质

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2025) 06-0836-12

【基金项目】 三亚中国农业科学院国家南繁研究院“南繁专项” (YBXM2417), 三亚中国农业科学院国家南繁研究院“南繁专项” 2022 年院院联合攻关项目 (YYLH05), 中国农业科学院农产品加工研究所创新工程 (CAAS-ASTIP-2024-IFST)。

Funded by Sanya China Academy of Agricultural Sciences National Research Institute of Southern Breeding “Southern breeding special Project” (YBXM2417), Sanya China Academy of Agricultural Sciences National Research Institute of Southern Breeding “Southern breeding special Project” 2022 Joint Research Project (YYLH05), Innovation Project of Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS-ASTIP-2024-IFST).

【作者简介】 王丹阳, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 药食同源功能因子挖掘。Email: wdanyang1111@163.com

【通信作者】 王凤忠, 男, 博士, 研究员, 研究方向: 农产品时空多维品质评价及综合利用。Email: wangfengzhong@sina.com;

卢聪, 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 食药同源物质功能挖掘、功效评价及机制。Email: lucong198912@126.com。

* 共同通信作者

Anti-depressant effect and mechanism of arecoline in mice with chronic and unpredictable mild stress

WANG Danyang^{1,2}, CUI Jingwen^{1,2}, LIU Xinmin³, FAN Bei^{1,2}, WANG Fengzhong^{1,2*}, LU Cong^{1,2*}

- (1. College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030801, China;
2. Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China;
3. Institute of New Drug Technology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Corresponding author: LU Cong. E-mail: lucong198912@126.com;

WANG Fengzhong. E-mail: wangfengzhong@sina.com

【Abstract】 Objective We explored the anti-depressant activity and mechanism of arecoline *in vivo* in a mouse model of depression induced by chronic unpredictable mild stress. The aim was to explore the possible mechanisms of action, providing experimental evidence for further research into the health benefits of arecoline and theoretical support for the scientific development and utilization of this resource. **Methods** Sixty quarantine-qualified SPF C57BL/6J mice were divided randomly into a control group, model group, fluoxetine group (20 mg/kg), and arecoline low-, medium-, and high-dose groups (10, 20, and 40 mg/kg, respectively) according to body mass ($n = 10$ mice per group). The effects of arecoline on the behavior of the mice were evaluated by open-field, tail-suspension, and forced-swimming tests. Serum corticosterone and serum and brain levels of superoxide dismutase (SOD) were detected by enzyme-linked immunoassay. Malondialdehyde (MDA), catalase (CAT), 5-hydroxytryptamine (5-HT), and norepinephrine (NE) levels in brain tissue, and dopamine (DA), gamma-aminobutyric acid (GABA), tumor necrosis factor (TNF- α), interleukin (IL)-10, IL-1 β , brain-derived neurotrophic factor (BDNF), tropomyosin receptor kinase B (TrkB), and cAMP-response element binding protein (CREB) were detected by Western Blot. **Results** Arecoline significantly reduced the total distance and average speed of the model mice in open field tests and increased activities, and significantly reduced the immobility time in the tail suspension and forced swimming tests. Arecoline also significantly decreased serum corticosterone levels, increased SOD and CAT, and decreased MDA levels. 5-HT, DA, NE, and GABA levels were significantly increased, and the cytokines TNF- α , IL-6, and IL-1 β were significantly decreased. Expression levels of BDNF, TrkB, and CREB in the brain tissue were significantly increased. **Conclusions** Research has found that arecoline has a significant antidepressant ability, and its mechanism may be achieved by reducing oxidative stress damage, inhibiting neuroinflammation, regulating neurotransmitter balance, and regulating the BDNF/TrkB/CREB signaling pathway. This study explored the antidepressant efficacy of arecoline and preliminarily revealed its possible regulatory mechanism, which can provide data support for the neuroactivity of arecoline and lay a theoretical foundation for the development of arecoline as medicine.

【Keywords】 arecoline; anti-depressant; oxidative stress; neuroinflammation; neurotransmitters

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

槟榔(*Areca catechu* L.)是棕榈科槟榔属的一种常绿树种^[1],常见于我国南方的热带和亚热带地区,是一种重要的经济作物。它不仅在“四大南药”中占据首位,还因其药用和食用双重价值而备受关注。槟榔有广泛的生物活性作用,如抗炎^[2]、抗病毒^[3]、抗氧化^[4]、抗衰老^[5]、抗疲劳^[6]、抗抑郁^[7]、抗缺氧^[8]、抗血栓^[9]以及降血糖^[10-12]、血管保护^[13]和胃肠道蠕动增强^[14]。其干燥、成熟的种子被称为槟榔果。槟榔碱作为槟榔果的

重要活性物质之一,具有强大的生物学作用,特别是对神经系统^[15]。抑郁症是一种严重的复发性神经精神疾病,常见症状有情绪低落、失去快感、睡眠问题、食欲下降和体力减弱等,这些症状可能导致严重的后果,如自杀^[16]。全球范围内,抑郁症患者人数已突破 3.5 亿,约占全球总人口的 4.4%。该疾病不仅对各国公共健康体系构成严峻挑战,也对经济发展带来了显著的负面影响^[17]。目前治疗抑郁症的药物主要集中在提高

突触间隙中单胺类神经递质的水平,如传统的三环类抗抑郁药、选择性 5-HT 再摄取抑制剂以及去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)再摄取抑制剂等,已广泛用于临床治疗。但其药理机制尚不明确,并且部分患者疗效滞后、治疗反应不佳、自杀率难以有效控制^[18]。建立动物模型是推进抑郁症研究的关键^[19],实验室研究中常用的抑郁动物模型有慢性不可预见温和束缚小鼠抑郁模型和慢性不可预见节律紊乱小鼠躁狂模型等。慢性不可预见温和应激(chronic unpredicted mild stress, CUMS)引发的动物模型表现出与人类抑郁症核心症状高度相似的特点,因此该模型在抗抑郁药物的研发中得到了广泛应用^[20]。作为槟榔中一种生物碱有效组分,槟榔碱的活性报道尤其是抗抑郁具体作用机制不明。因此,本研究选取槟榔碱作为研究对象,构建 CUMS 小鼠模型,运用行为测试与分子机制分析手段,评估其抗抑郁活性及其潜在机制,为槟榔功能性研究提供数据参考,并为其资源的高效利用奠定理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

6 ~ 8 周龄, SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠 60 只, 体质量 18 ~ 22 g, 购于广东维通利华实验动物技术有限公司【SCXK(粤)2022-0063】, 在湖南普瑞玛药物研究中心有限公司屏蔽环境 D 区饲养【SYXK(湘)2020-0015】。环境保持 12 h 的光和暗循环, 稳定温度为 23 ~ 25 ℃, 相对湿度约为 55% ~ 65%。小鼠自由饮食饮水。本实验通过山西农业大学食品与工程学院伦理审批(SXAU202310), 并按照中国实验动物管理和使用委员会指导原则开展。

1.1.2 主要试剂与仪器

槟榔碱(批号:A14660, 购自上海吉至生化科技有限公司); 盐酸氟西汀片(批号:202109102, 规格:每片 10 mg, 购自常州四药有限公司); 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、皮质酮(corticosterone, Cort)试剂盒(批号:A001-3-2、A003-1-2、A007-1-1、H205-1-2, 购自南京建成生物工程); IL-1 β 、IL-6、TNF- α 试剂盒(批

号:H002-1-2、H007-1-2、H052-1-2, 购自南京建成生物工程); 多巴胺(dopamine, DA)、5-HT、NE、 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)试剂盒(批号:H170-1-2、H104-1-2、H096-1-2、H168-1-2, 购自南京建成生物工程); TrkB 抗体(批号:28205-1-AP、13129-1-AP, 购自 Proteintech Group); P-TrkB 抗体(批号:AB229908, 购自 Abcam); CREB、P-CREB 抗体(批号:9197、9198, 购自美国 Cell Signaling Technology); HRP 标记的山羊抗兔、HRP 标记的山羊抗小鼠(批号:111-035-003、115-035-003, 购自 Jackson 实验室)。Behav 动物行为分析系统(型号:JLbehv, 购自上海吉量科技有限公司); 电子天平(型号:ME2002E, 购自梅特勒公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组与给药

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 60 只, 根据体质量随机分为 6 组, 分别为空白组、模型组、氟西汀组(20 mg/kg)、槟榔碱低剂量组(10 mg/kg)、槟榔碱中剂量组(20 mg/kg)、槟榔碱高剂量组(40 mg/kg), 每组 10 只。如表 1 所示, 在测试之前, 小鼠有 1 周的时间来适应动物设施内的新环境, 除空白组外, 其余小鼠在 14 d 内每天随机接受 2 ~ 3 种不同类型的温和应激处理。为防止适应性产生, 相同应激源不连续施加, 确保刺激的不可预期性。在此期间同步进行灌胃给药, 空白组和模型组给予等量蒸馏水, 其他组给予相应药液, 给药体积为 20 mL/kg, 每日 1 次。

1.2.2 行为学检测指标

连续给药 14 d 后进行行为学评价。

旷场检测(open field test, OFT): 给药 14 d 后末次给药后 30 min, 用 Behav 动物行为分析系统, 检测时间为 10 min。实验开始时, 将待测小鼠放入测试箱中央, 且保证每次实验从同一位置同一方向放入小鼠。观察小鼠在测试时间内的活动情况。

悬尾检测(tail suspension test, TST): 小鼠 OFT 次日, 进行 TST。实验开始时, 尾部悬吊使小鼠呈倒悬体位, 头部与箱底保持一定距离。如多只小鼠同时进行实验, 每两只动物间需用不透明挡板隔开。实验时间为 6 min, 记录后 4 min 内小鼠的不动时间。

表 1 慢性不可预知性应激时间表
Table 1 Schedule of chronic unpredictability stress

时间 Time	造模方式 Molding method	具体时间 Specific time
第 1 天 Day 1	束缚 12 h + 倾笼 12 h Bind 12 h + dump cage 12 h	9:30 ~ 21:30 束缚; 21:30 ~ 9:30 倾笼 9:30 ~ 21:30 bind; 21:30 ~ 9:30 dump cage
第 2 天 Day 2	禁食 12 h + 湿笼 12 h + 昼夜颠倒 Fasting 12 h + wet cage 12 h + day and night reversal	8:30 ~ 20:30 禁食; 21:00 ~ 9:00 湿笼 8:30 ~ 20:30 fasting; 21:00 ~ 9:00 wet cage
第 3 天 Day 3	冰水游泳 10 min + 频闪 12 h(噪音 30 min) Ice water swimming 10 min + stroboscopic 12 h(noise 30 min)	8:50 ~ 9:00 冰水游泳; 9:00 ~ 21:00 频闪; 9:00 ~ 9:30 噪音 8:50 ~ 9:00 ice water swimming; 9:00 ~ 21:00 stroboscopic; 9:00 ~ 9:30 noise
第 4 天 Day 4	禁水 12 h + 禁食 12 h + 昼夜颠倒 No water 12 h + fasting 12 h + day and night reversal	8:30 ~ 20:30 禁水; 20:30 ~ 8:30 禁食 8:30 ~ 20:30 no water; 20:30 ~ 8:30 fasting
第 5 天 Day 5	束缚 12 h + 倾笼 12 h Bind 12 h + dump cage 12 h	8:30 ~ 20:30 倾笼; 21:30 ~ 9:30 束缚 8:30 ~ 20:30 dump cage; 21:30 ~ 9:30 bind
第 6 天 Day 6	冰水游泳 10 min + 频闪 12 h(噪音 30 min) Ice water swimming 10 min + stroboscopic 12 h(noise 30 min)	8:50 ~ 9:00 冰水游泳; 9:00 ~ 21:00 频闪; 9:00 ~ 9:30 噪音 8:50 ~ 9:00 ice water swimming; 9:00 ~ 21:00 stroboscopic; 9:00 ~ 9:30 noise
第 7 天 Day 7	禁水 12 h + 频闪 12 h(噪音 30 min) No water 12 h + stroboscopic 12 h (noise 30 min)	8:30 ~ 20:30 禁水; 9:00 ~ 9:00 频闪; 9:00 ~ 9:30 噪音 8:30 ~ 20:30 no water; 9:00 ~ 9:00 stroboscopic; 9:00 ~ 9:30 noise

强迫游泳检测(forced swim test, FST):小鼠 TST 次日,进行 FST。实验前测试水箱水温,应为 23 ~ 25 ℃。水深据动物体质量进行调整。实验时间 6 min,记录后 4 min 内小鼠的游泳时间和不动时间。不动时间越长表明抑郁程度越重^[21]。

1. 2. 3 样本收集及生化指标检测

在 FST 测试结束后,对每只小鼠进行采血。将这些样品在 4 ℃ 和 3500 r/min 下离心 10 min 获得血清。取出脑组织样本保存在-80 ℃ 内以作进一步分析。采用 ELISA 检测血清中 Cort 含量,血清和脑组织中 SOD、MDA、CAT 的活性,检测脑组织中神经递质 5-HT、DA、NE、GABA 以及炎症因子 TNF-α、IL-1β、IL-6 的水平。

1. 2. 4 Western Blot 分析

使用裂解缓冲液提取蛋白质,并补充磷酸酶抑制剂,确保全面的蛋白质恢复,同时防止去磷酸化。裂解后,将混合物在 4 ℃ 以 12 000 r/min 离心 15 min,从而收集含有蛋白质含量的上清液。等量的蛋白质样品(30 μg)在 8% 的 SDS-PAGE 上进行电泳,电泳条件:浓缩胶 90 V,约 20 min;分离胶 120 V,通过预染蛋白 Marker 来确定电泳停止时间。随后,分离的蛋白,用湿转法转膜至 PVDF 膜上,转膜条件:300 mA 恒流,0.45 μm 孔径 PVDF 膜,转膜时间 60 min。然后 5% 的 BSA-TBST 稀释一抗在 4 ℃ 下孵育过夜,确保最佳的结合亲和力和特异性。孵育后,用 TBST 洗涤膜 3

次,再用山羊抗兔 IgG(H + L)HRP(1 : 10 000),室温孵育 1 h。Western Blot 结果通过凝胶成像系统进行检测,用于 Western Blot 的可视化和强度测量。随后,采用 Image J 软件(版本 6.0)对条带信号进行分析,并以 β -actin 为内参对目标蛋白的相对表达水平进行归一化处理。

1.3 统计学分析

使用 GraphPad Prism 软件(版本 8.0.2)作图。通过 SPSS 软件(版本 25.0)进行统计学处理,结果以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用单因素方差分析对各组均值进行整体比较,然后采用 Fisher 最小显著差异法(LSD)事后检验来比较两组。以 $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

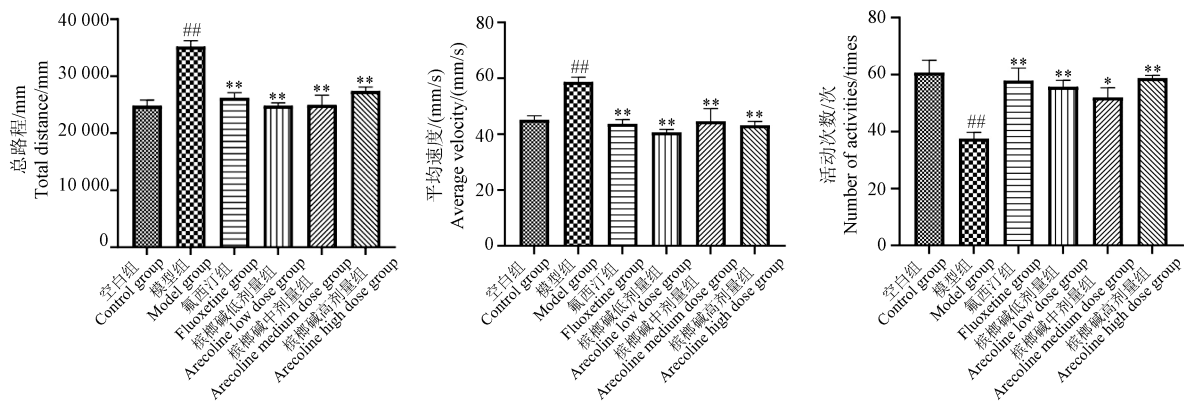
2 结果

2.1 槟榔碱对小鼠旷场自主活动的影响

如图 1 所示,与空白组比较,模型组小鼠总路程和平均速度显著升高($P < 0.01$),而活动次数显著减少($P < 0.01$)。与模型组比较,氟西汀组及槟榔碱各组小鼠总路程、平均速度显著降低($P < 0.01$),活动次数显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果表明,槟榔碱干预下小鼠抑郁样行为有所改善。

2.2 槟榔碱对小鼠悬尾和强迫游泳活动时间的影

如图 2 所示,与空白组比较,模型组小鼠 TST



注:与空白组相比,^{##} $P < 0.01$;与模型组相比,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。(下图同)

图 1 槟榔碱对小鼠 OMT 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Note. Compared with control group, ^{##} $P < 0.01$. Compared with model group, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$. (The same in the following figures)

Figure 1 Effects of arecoline on OMT of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

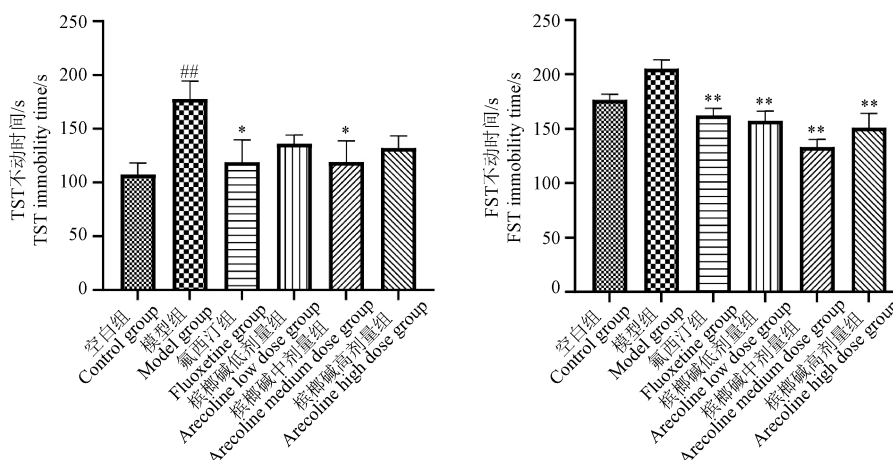


图 2 槟榔碱对小鼠 TST 和 FST 活动时间的影

Figure 2 Effects of arecoline on TST and FST activity time in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

不动时间显著升高 ($P < 0.01$), FST 不动时间明显升高。与模型组比较, 氟西汀组小鼠 TST 不动时间和 FST 不动时间均显著下降 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 槟榔碱中剂量组小鼠 TST 不动时间显著降低 ($P < 0.05$), 槟榔碱各剂量组小鼠 FST 不动时间显著降低 ($P < 0.01$)。结果表明, 槟榔碱可改善小鼠在 TST 和 FST 测试中的绝望抑郁样行为。

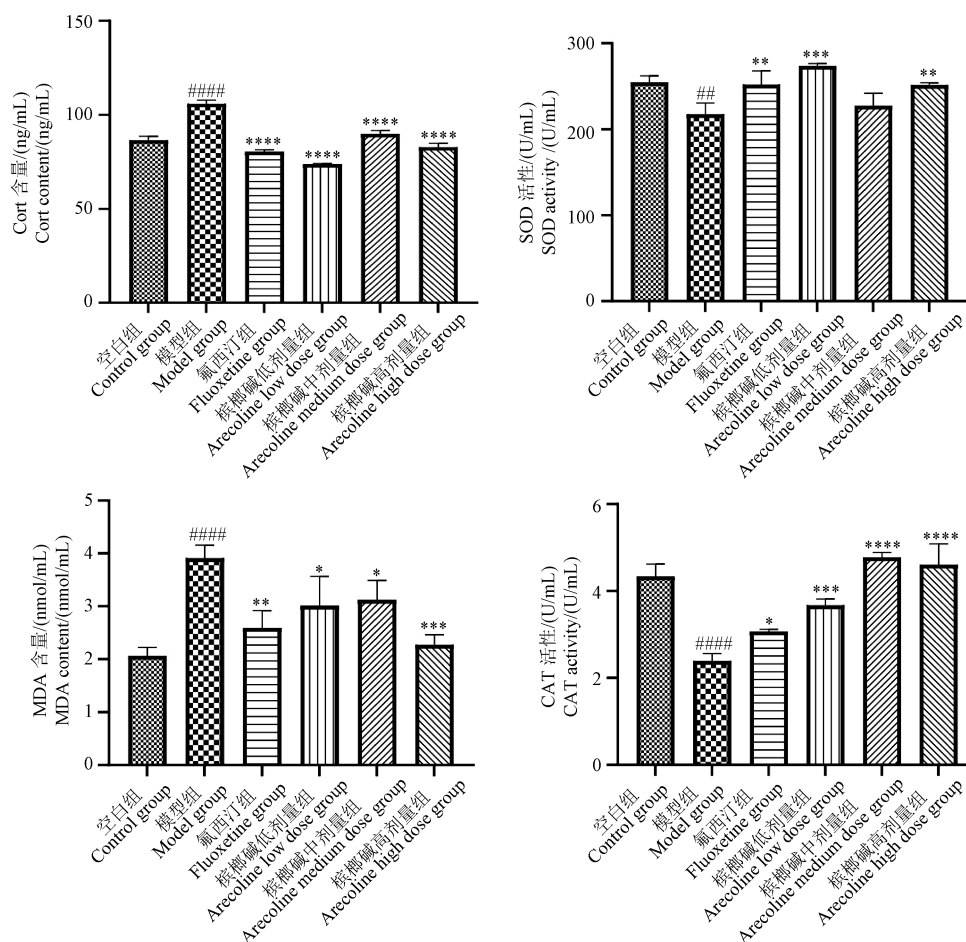
2.3 槟榔碱对小鼠血清氧化应激指标的影响

如图 3 所示, 与空白组比较, 模型组小鼠 Cort、MDA 显著增加 ($P < 0.0001$), SOD、CAT 显著减少 ($P < 0.01$, $P < 0.0001$)。与模型组比较, 氟西汀组小鼠血清 Cort、MDA 显著下降 ($P < 0.001$, $P < 0.01$), SOD、CAT 显著升高 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); 槟榔碱低、中、高剂量小鼠 Cort

显著降低 ($P < 0.0001$)、MDA 显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.001$), 槟榔碱低、高剂量组小鼠 SOD 显著增加 ($P < 0.01$, $P < 0.001$), 槟榔碱低、中、高剂量组小鼠 CAT 显著增加 ($P < 0.001$, $P < 0.0001$)。结果表明, 槟榔碱干预可显著提高模型小鼠血清中抗氧化水平。

2.4 槟榔碱对小鼠脑组织氧化应激指标的影响

结果如图 4 所示, 与空白组比较, 模型组小鼠 MDA 显著增加 ($P < 0.0001$), SOD、CAT 显著减少 ($P < 0.0001$)。与模型组比较, 氟西汀组小鼠脑组织 MDA 显著下降 ($P < 0.001$), SOD、CAT 显著升高 ($P < 0.0001$); 槟榔碱低、中、高剂量小鼠 MDA 显著降低 ($P < 0.01$, $P < 0.0001$, $P < 0.0001$), 槟榔碱低、中、高剂量组小鼠 SOD 显著增加 ($P < 0.01$, $P < 0.0001$, $P < 0.0001$), 槟榔碱



注: 与空白组相比, #### $P < 0.0001$; 与模型组相比, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。(下图同)

图 3 槟榔碱对小鼠血清氧化应激指标的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Note. Compared with control group, #### $P < 0.0001$. Compared with model group, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$. (The same in the following figures)

Figure 3 Effect of arecoline on serum oxidative stress indexes in mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

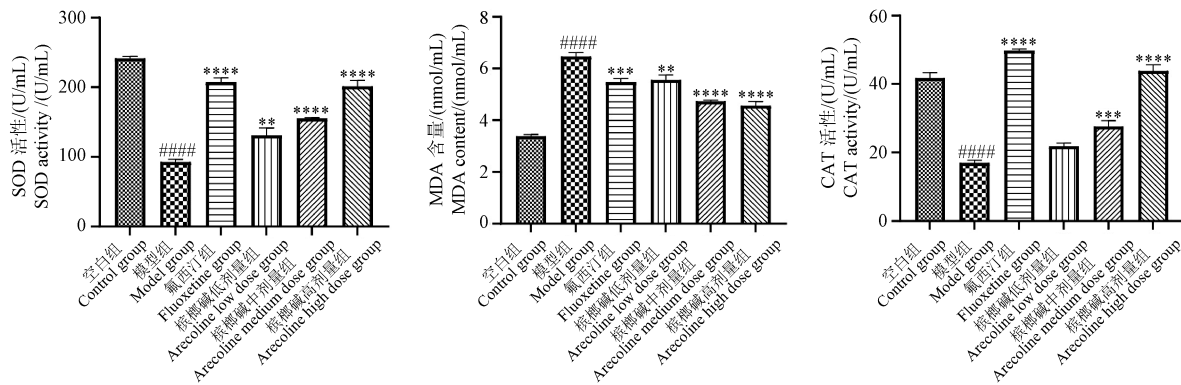


图 4 槟榔碱对小鼠脑组织氧化应激指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

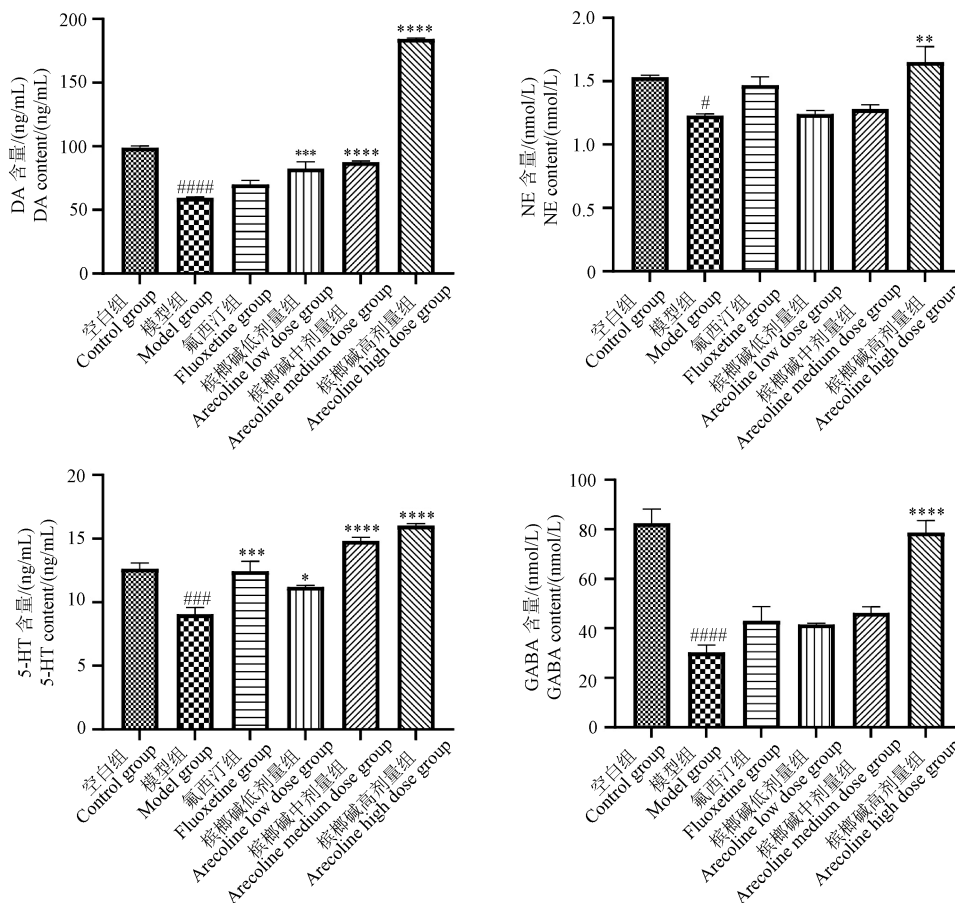
Figure 4 Effect of arecoline on oxidative stress indexes in brain tissue of mice($\bar{x} \pm s, n = 10$)

中、高剂量组小鼠 CAT 显著增加($P < 0.001$ 、 $P < 0.0001$)。结果表明, 槟榔碱干预可显著提升模型小鼠脑内抗氧化酶活力并抑制氧化应激水平。

2.5 槟榔碱对小鼠脑组织神经递质的影响

如图 5 所示单胺类神经递质假说中, 神经元

之间的 5-HT、DA、NE 等单胺类神经递质浓度减少时, 可能会导致抑郁症状的发生, GABA 也参与了情绪调控过程^[22]。与空白组比较, 模型组小鼠 DA、NE、5-HT 和 GABA 均显著降低($P < 0.0001$ 、 $P < 0.05$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.0001$)。与模型组比



注: 与空白组相比, # $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ 。(下图同)

图 5 槟榔碱对脑组织中 5-HT、DA、NE、GABA 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Note. Compared with control group, # $P < 0.05$, *** $P < 0.001$. (The same in the following figures)

Figure 5 Effects of arecoline on 5-HT, DA, NE and GABA in brain tissue($\bar{x} \pm s, n = 10$)

较,氟西汀组小鼠 5-HT 显著增加 ($P < 0.001$), DA、NE 和 GABA 均有所升高;槟榔碱低、中、高剂量小鼠 DA 和 5-HT 显著增加 ($P < 0.001$ 、 $P < 0.0001$ 、 $P < 0.05$ 、 $P < 0.0001$), 槟榔碱高剂量组小鼠 NE 和 GABA 显著增加 ($P < 0.01$ 、 $P < 0.0001$)。结果表明,槟榔碱干预可通过显著提升小鼠脑内神经递质释放水平来达到抗抑郁效果。

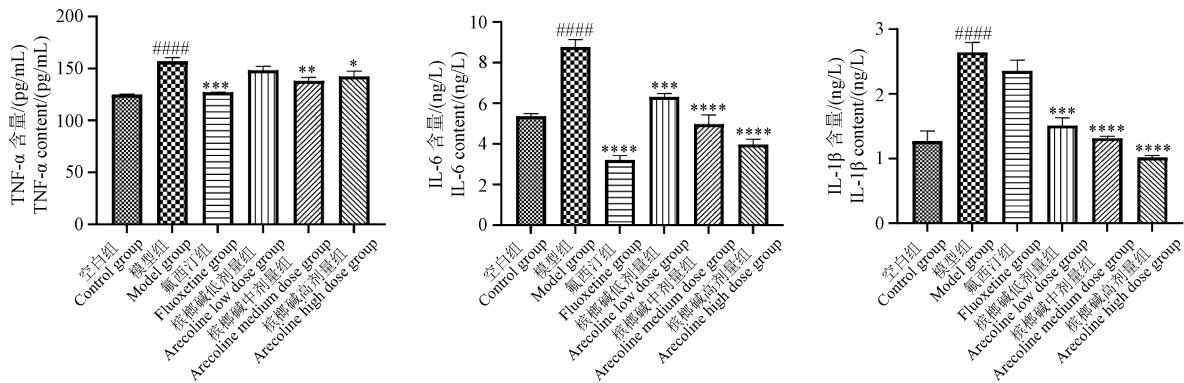


图 6 槟榔碱对脑组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Figure 6 Effects of arecoline on TNF- α , IL-6 and IL-1 β in brain tissue ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

2.7 槟榔碱对小鼠脑组织 BDNF/TrkB/CREB 信号通路的影响

如图 7 结果所示,与空白组相比,模型组小鼠脑组织内 BDNF/ β -actin 比值、P-TrkB/TrkB 比值和 P-CREB/CREB 比值显著降低 ($P < 0.001$ 、 $P < 0.0001$ 、 $P < 0.01$)。与模型组相比,槟榔碱高剂量组可显著上调 BDNF 蛋白表达 ($P < 0.05$);氟西汀、槟榔碱中和高剂量组可显著上调 P-TrkB/TrkB 比值 ($P < 0.0001$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.0001$);氟西汀组可显著上调 P-CREB/CREB 比值 ($P < 0.001$), 槟榔碱高剂量组 P-CREB/CREB 比值有所升高。该结果表明槟榔碱对抑郁小鼠的改善作用可能与其对 BDNF/TrkB/CREB 信号通路的调控密切相关。

3 讨论

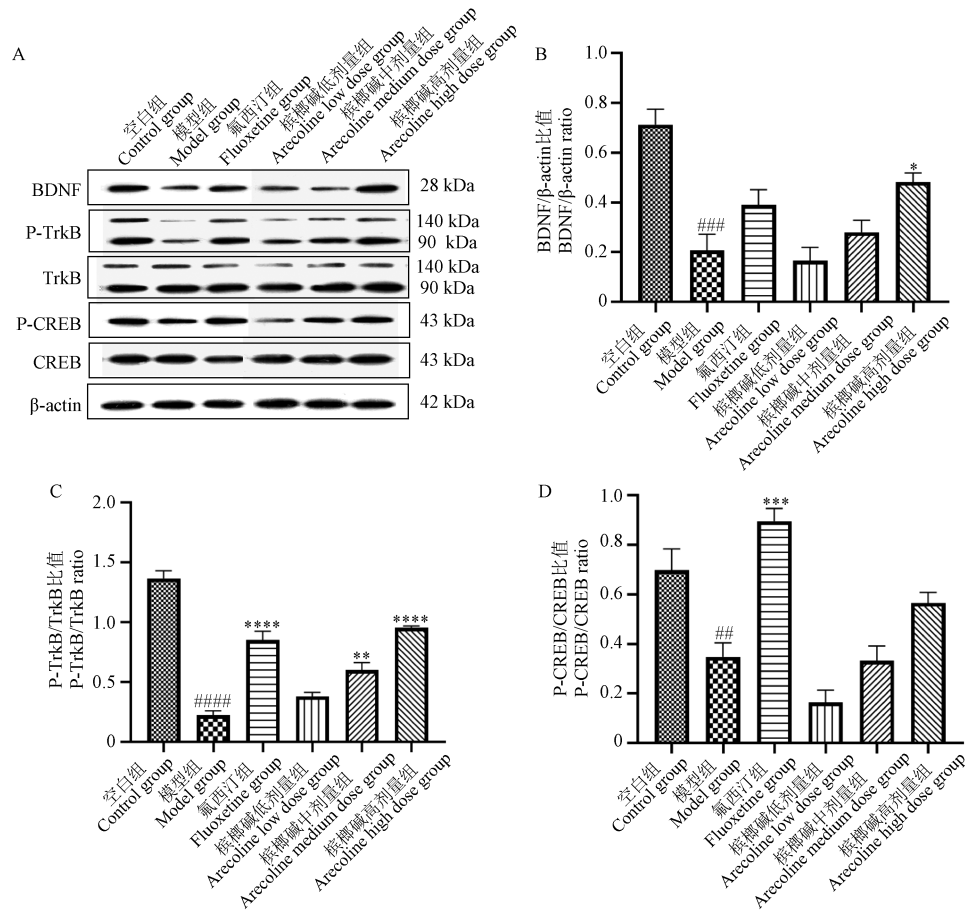
抑郁症是一种常见的精神疾病,其发病机制复杂,目前的发病假说主要包括:下丘脑-垂体-肾上腺 (hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA) 轴功能失调假说、单胺假说、神经炎症假说、遗传和表观遗传异常假说、大脑结构和功能重塑假说以及社会心理学假说^[24]。然而这些假说本身都不能完

2.6 槟榔碱对小鼠脑组织细胞因子的影响

细胞因子的水平也是评价抑郁症的重要指标^[23]。如图 6 所示,与空白组相比,模型组小鼠脑组织中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 含量显著增加 ($P < 0.0001$)。与模型组比较,槟榔碱中、高剂量小鼠 TNF- α 含量显著降低 ($P < 0.01$ 、 $P < 0.05$), 槟榔碱各剂量组小鼠 IL-6、IL-1 β 含量显著降低 ($P < 0.001$ 、 $P < 0.0001$)。

全解释抑郁症的病理基础,许多机制是相互作用的,并且单一细胞类型或脑区有限的病理变化不足以解释其机制^[25]。虽传统的三环类抗抑郁药、选择性 5-HT 及 NE 再摄取抑制剂已广泛用于抑郁症的临床治疗。但其药理机制尚不明确,并且部分患者疗效滞后、治疗反应不佳、自杀率难以有效控制。已发现的抗抑郁药,氯胺酮^[26]及其他一些迷幻药具有快速且持久的抗抑郁作用,但仍需深入研究确切的分子机制,同时进一步探索新的潜在治疗靶点和策略。本研究通过 CUMS 模型构建小鼠抑郁模型,小鼠的行为学检测结果显示模型组较比空白对照组旷场自主活动次数显著减少,总路程和平均速度显著增加;TST 和 FST 不动时间显著提高,提示造模成功。同时经过槟榔碱的干预,活动次数显著增加,总路程和平均速度显著降低;TST 和 FST 不动时间显著降低,说明槟榔碱的干预可以达到显著的抗抑郁效果。

HPA 轴的持续激活和失衡是抑郁症发展中的关键机制之一。已有研究表明,血清 Cort 水平可作为啮齿类动物 HPA 轴活动增强的有效生物标记物^[27]。为探究槟榔碱对这一通路的调控效应,本研究测定了实验动物血清及脑组织中的



注: A: 免疫蛋白印迹结果; B: BDNF 蛋白表达; C: TrkB 蛋白磷酸化水平; D: CREB 蛋白磷酸化水平。

图 7 槟榔碱对 CUMS 小鼠 BDNF/TrkB/CREB 通路的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Note. A. Western Blot result. B. BDNF protein expression. C. TrkB protein phosphorylation level. D. CREB protein phosphorylation level.

Figure 7 Effect of arecoline on BDNF/TrkB/CREB pathway in CUMS mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Cort 浓度。结果表明, 槟榔碱干预可显著降低小鼠血清 Cort 含量。脂质过氧化终产物 MDA 可用来衡量细胞内氧化应激的程度^[28]。另一方面, SOD 与 CAT 这两种酶在维持细胞抗氧化平衡方面具有重要意义^[29]。裴海月等^[30]的研究发现, 经过 14 d 的槟榔干预, 小鼠体内抗氧化相关酶 SOD 和 CAT 活性显著提高, 而氧化应激标志物 MDA 水平则明显下降, 进一步证明了槟榔具有显著的体内抗氧化能力。本研究结果表明, 不同剂量的槟榔碱处理均能有效减少小鼠体内 MDA 的积累, 显著提高小鼠 SOD 和 CAT 表达水平, 且槟榔碱抗氧化应激损伤能力比氟西汀强。表明槟榔碱可通过调节 HPA 轴功能, 对抗氧化应激损伤来达到抗抑郁效果。传统的单胺假说认为, 5-HT、DA 和 NE 等单胺类神经递质的缺乏是临床

抑郁症的根本原因^[31]。通过检测小鼠脑组织单胺类神经递质 5-HT、DA、NE 和 GABA, 结果表明, 槟榔碱各剂量组显著增加小鼠 5-HT 和 DA 含量且作用强于氟西汀, 同时槟榔碱高剂量组显著增加小鼠 NE 和 GABA 含量, 且槟榔碱低、中浓度干预下 NE 和 GABA 水平升高程度与氟西汀干预结果无明显差异。本研究表明, 槟榔碱在 CUMS 模型中具有调节单胺类神经递质水平的作用, 可显著回升 5-HT、DA、NE 和 GABA 的表达水平。由此推测, 其抗抑郁作用可能部分依赖于对胆碱能系统的调节与改善。CHU^[32]研究发现, 槟榔中的生物碱具有较强的 GABA 摄取抑制作用。咀嚼槟榔还可能作用于交感神经系统, 导致血液中去甲肾上腺素水平上升, 本研究结果与之一致。神经炎症假说揭示, 在抑郁症中, 促炎细胞因子与

营养因子的水平出现异常。进一步研究表明,活性氧、炎症细胞因子以及炎症小体的激活过程可以触发神经炎症反应,进而加剧抑郁症状的形成。有报道称有细胞会引起并加剧神经炎症和神经变性,同时释放 IL-1 β 、TNF- α 等促炎细胞因子,减少神经营养因子的产生,影响神经元的功能和形态,参与抑郁症的发生发展^[33]。本研究通过检测槟榔碱干预下小鼠脑组织 IL-6、IL-1 β 及 TNF- α 的水平,与模型组相比,槟榔碱中、高剂量组(20、40 mg/kg)小鼠 TNF- α 含量显著降低,槟榔碱低、中、高剂量小鼠的 IL-6、IL-1 β (10、20、40 mg/kg) 含量显著降低,表明槟榔碱通过抑制神经炎症反应、调节神经递质水平达到抗抑郁作用。脑源性营养因子 BDNF 等是与抑郁症密切相关的蛋白质,在认知、学习和记忆等方面起着重要作用^[34]。研究表明,较低水平的 BDNF 与抑郁症的易感性增加有关^[35]。TrkB 信号传导提高了大脑的可塑性,对抑郁症的发生机制和抗抑郁药物的效果具有重要影响^[36]。CREB 作为一个重要的转录因子,参与调节 BDNF 的表达及记忆的形成。CREB 通过活化并与 BDNF 的下游靶点结合,发挥其神经修复和保护功能^[37]。本研究通过进一步检测小鼠脑组织中 BDNF、TrkB、CREB 等蛋白,结果表明,与模型组相比,槟榔碱高剂量组可显著上调 BDNF 蛋白表达($P < 0.05$);槟榔碱中、高剂量组可显著上调 P-TrkB/TrkB 比值($P < 0.01$, $P < 0.0001$);槟榔碱高剂量组 P-CREB/CREB 比值有所升高。该结果表明槟榔碱可通过调控脑组织 BDNF/TrkB/CREB 信号通路对抑郁小鼠起到改善作用。

综上,本研究采用 CUMS 抑郁小鼠模型,通过 OFT、TST、FST 等行为学评价槟榔碱对抑郁小鼠的行为影响,结果发现槟榔碱具备显著抗抑郁活性,分子生物学实验还揭示,该成分的作用机制与其抵抗氧化应激损伤、抑制神经炎症反应、调节神经递质平衡,以及调控 BDNF/TrkB/CREB 信号通路密切相关。相比传统抗抑郁药,槟榔碱具有多靶点作用,这可能为某些对传统治疗反应不佳的患者提供另一种治疗途径。本研究首次挖掘了槟榔碱的抗抑郁功效并初步揭示其可能的调控机制,可为槟榔发挥神经活性提供数据支持并为槟榔的药用开发奠定理论基础。

参 考 文 献(References)

- [1] 孔丹丹,李歆悦,赵祥升,等. 药食两用槟榔的国内外研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(5): 1053–1059.
KONG D D, LI X Y, ZHAO X S, et al. Domestic and international research progress of edible and medicinal Arecae Semen [J]. Chin J Chin Mater Med, 2021, 46(5): 1053–1059.
- [2] 赵佳亮,田田,刘元法,等. 槟榔的化学成分及其功能活性研究进展[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(18): 212–218.
ZHAO J L, TIAN T, LIU Y F, et al. Research progress on chemical constituents and biological activities of *Areca catechu* L. [J]. Food Res Dev, 2023, 44(18): 212–218.
- [3] 吕俊辰,弓宝,孙佩文. 槟榔药用和食用安全性研究概况[J]. 中草药, 2017, 48(2): 384–390.
LV J C, GONG B, SUN P W. Research progress in safety for medicinal and edible areca catechu [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2017, 48(2): 384–390.
- [4] 唐敏敏,宋菲,王辉,等. 槟榔多糖的抗氧化活性及其对细胞内氧化损伤抑制作用的研究[J]. 热带作物学报, 2015, 36(6): 1136–1141.
TANG M M, SONG F, WANG H, et al. *In vitro* antioxidant activities and protective effects of polysaccharides from *Areca catechu* L. seed [J]. Chin J Trop Crops, 2015, 36(6): 1136–1141.
- [5] 尹明松,丁贺辉,潘飞兵,等. 响应面优化超声辅助双水相提取槟榔多糖及抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(19): 163–170.
YIN M S, DING H H, PAN F B, et al. Optimization of ultrasonic-assisted aqueous two-phase extraction of *Areca catechu* L. Polysaccharide using response surface design and assessment of its antioxidant activities [J]. Food Res Dev, 2021, 42(19): 163–170.
- [6] 祁静. 槟榔酚类化合物的提取、抗氧化及抗疲劳作用研究[D]. 海口: 海南大学; 2011.
QI J. Extraction, antioxidant and anti-fatigue effects of phenolic compounds of betel nut [D]. Haikou: Hainan University; 2011.
- [7] 孙娟,曹立幸,陈志强,等. 中药槟榔及其主要成分的药理和毒理研究概述[J]. 广州中医药大学学报, 2018, 35(6): 1143–1146.
SUN J, CAO L X, CHEN Z Q, et al. Review of pharmacological and toxicological studies on Semen arecae and its main component [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2018, 35(6): 1143–1146.
- [8] 马江红,杜兴,赵安鹏,等. 槟榔多酚的抗缺氧药理作用[J]. 中南大学学报(医学版), 2022, 47(4): 512–520.
MA J H, DU X, ZHAO A P, et al. Anti-hypoxic pharmacological effects of betelnut polyphenols [J]. J Cent

- South Univ (Med Sci), 2022, 47(4): 512–520.
- [9] 山雨梅, 张锦超, 赵艳玲, 等. 槟榔碱抗动脉粥样硬化分子机制的研究 [J]. 中国药理学通报, 2004, 20(2): 146–151.
- SHAN L M, ZHANG J C, ZHAO Y L, et al. Molecular mechanisms for arecoline against atherosclerosis [J]. Chin Pharmacol Bull, 2004, 20(2): 146–151.
- [10] HUANG L W, HSIEH B S, CHENG H L, et al. Arecoline decreases interleukin-6 production and induces apoptosis and cell cycle arrest in human basal cell carcinoma cells [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2012, 258(2): 199–207.
- [11] 亓竹青. 槟榔碱对 2 型糖尿病大鼠胰腺细胞的保护作用及其机制 [D]. 衡阳: 南华大学; 2010.
- QI Z Q. Protection effect of Arecoline on pancreas cells in type 2 diabetic rats and its mechanism [D]. Hengyang: University of South China; 2010.
- [12] 姚起鑫. 槟榔碱通过 CAR/PXR 改善高糖诱导的 2 型糖尿病大鼠肝糖代谢紊乱 [D]. 衡阳: 南华大学; 2010.
- YAO Q X. Arecoline improved glucose metabolism in type 2 diabetes rats by CAR and PXR [D]. Hengyang: University of South China; 2010.
- [13] 王佑权, 周寿红. 槟榔碱对高糖诱导血管内皮依赖性舒张功能损伤的保护作用 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18(6): 461–464.
- WANG Y Q, ZHOU S H. Arecoline prevents the injury of endothelium dependent relaxation induced by high glucose [J]. Chin J Arterioscler, 2010, 18(6): 461–464.
- [14] 栾剑, 陶晓月. 关于传统中药槟榔生物活性的研究进展 [J]. 安徽农学通报, 2018, 24(13): 8–10, 12.
- LUAN J, TAO X Y. Study on the biological activity of Areca catechu [J]. Anhui Agric Sci Bull, 2018, 24(13): 8–10, 12.
- [15] 胡金颖, 陈玺, 马腾, 等. 槟榔碱对神经损伤的缓解和修复作用及机制 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2023, 37(7): 497.
- HU J Y, CHEN X, MA T, et al. Effects of arecoline on nerve injury and its mechanism [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2023, 37(7): 497.
- [16] MONROE S M, HARKNESS K L. Major depression and its recurrences: life course matters [J]. Annu Rev Clin Psychol, 2022, 18: 329–357.
- [17] MORENO-AGOSTINO D, WU Y T, DASKALOPOULOU C, et al. Global trends in the prevalence and incidence of depression: a systematic review and meta-analysis [J]. J Affect Disord, 2021, 281: 235–243.
- [18] WONG V W, HO F Y, SHI N K, et al. Lifestyle medicine for depression: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. J Affect Disord, 2021, 284: 203–216.
- [19] PENG Y Y, TANG C, WANG H Y, et al. p75NTR mediated chronic restraint stress-induced depression-like behaviors in mice via hippocampal mTOR pathway [J]. Life Sci, 2024, 358: 123175.
- [20] LI R, WANG X, QIN T, et al. Apigenin ameliorates chronic mild stress-induced depressive behavior by inhibiting interleukin-1 β production and NLRP3 inflammasome activation in the rat brain [J]. Behav Brain Res, 2016, 296: 318–325.
- [21] LIU L, DONG Y, SHAN X, et al. Anti-depressive effectiveness of baicalin *in vitro* and *in vivo* [J]. Molecules, 2019, 24(2): 326.
- [22] DELGADO P L. Depression: the case for a monoamine deficiency [J]. J Clin Psychiatry, 2000, 61(6): 7–11.
- [23] TING E Y, YANG A C, TSAI S J. Role of interleukin-6 in depressive disorder [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(6): 2194.
- [24] WANG H Q, WANG Z Z, CHEN N H. The receptor hypothesis and the pathogenesis of depression: genetic bases and biological correlates [J]. Pharmacol Res, 2021, 167: 105542.
- [25] TARTT A N, MARIANI M B, HEN R, et al. Dysregulation of adult hippocampal neuroplasticity in major depression: pathogenesis and therapeutic implications [J]. Mol Psychiatry, 2022, 27(6): 2689–2699.
- [26] 赖增燕, 钱妍, 赵春景, 等. 氯胺酮及其衍生物的抗抑郁研究进展 [J]. 中国药物评价, 2024, 41(5): 372–376.
- LAI Z Y, QIAN Y, ZHAO C J, et al. Advanced in antidepressant research of ketamine and its derivatives [J]. Chin J Drug Eval, 2024, 41(5): 372–376.
- [27] ROTH M K, BINGHAM B, SHAH A, et al. Effects of chronic plus acute prolonged stress on measures of coping style, anxiety, and evoked HPA-axis reactivity [J]. Neuropsychopharmacology, 2012, 63(6): 1118–1126.
- [28] HSU W H, CHUNG C P, WANG Y Y, et al. Dendrobium nobile protects retinal cells from UV-induced oxidative stress damage via Nrf2/HO-1 and MAPK pathways [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 288: 114886.
- [29] KRZYSZCZAK A, DYBOWSKI M, JOŚKO I, et al. The antioxidant defense responses of *Hordeum vulgare* L. to polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives in biochar-amended soil [J]. Environ Pollut, 2022, 294: 118664.
- [30] 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.
- [31] 王元翀, 邱喜龙, 王博瑶. 中药调控单胺类神经递质治

- 疗抑郁症的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(9): 2182-2196.
- WANG Y C, QIU X L, WANG B Y. Research progress in treatment of depression with traditional Chinese medicine by regulating monoamine neurotransmitters [J]. Drug Eval Res, 2024, 47(9): 2182-2196.
- [32] CHU N S. Effects of Betel chewing on the central and autonomic nervous systems [J]. J Biomed Sci, 2001, 8(3): 229-236.
- [33] 刘燕, 彭梦薇, 张文娟, 等. 脑内星形胶质细胞-神经元相互作用参与抑郁症发病研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(3): 124-129.
- LIU Y, PENG M W, ZHANG W X, et al. Research progress of brain astrocyte-neuron interactions involved in the pathogenesis of depression [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(3): 124-129.
- [34] EGAN M F, KOJIMA M, CALLICOTT J H, et al. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function [J]. Cell, 2003, 112(2): 257-269.
- [35] LIM Y Y, MARUFF P, BARTHÉLEMY N R, et al. Association of BDNF Val66Met with tau hyperphosphorylation and cognition in dominantly inherited Alzheimer disease [J]. JAMA Neurol, 2022, 79(3): 261-270.
- [36] ZHANG J C, YAO W, HASHIMOTO K. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-TrkB signaling in inflammation-related depression and potential therapeutic targets [J]. Curr Neuropharmacol, 2016, 14(7): 721-731.
- [37] ROSA E, FAHNESTOCK M. CREB expression mediates amyloid β -induced basal BDNF downregulation [J]. Neurobiol Aging, 2015, 36(8): 2406-2413.
- [收稿日期] 2024-12-06

《中国实验动物学报》稿约

国内刊号 CN 11-2986/Q 国际刊号 ISSN 1005-4847 邮局代号 2-748

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是与实验动物与动物实验相关的生命科学各分支学科,栏目设置包括研究报告、研究快报和进展与综述。要求来稿材料翔实、数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊、《中国学术期刊文摘》来源期刊;被中国生物学文献数据库、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》(北大核心)等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章字数在 6000 字之内。

投稿网址: <http://zgswdw.cnjournals.com/>

期待您的来稿!