

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research基于 BDNF - AKT - mTOR 通路探讨百合
有效成分的抗抑郁作用及其机制研究Research of antidepressant effect and mechanism of effective components of lily
based on BDNF - AKT - mTOR pathway韦莹莹^{1a,2}, 邓丽英^{1b}, 陈燕^{1a},
戴佩如^{1a}, 吴晓梅^{1a}, 陈春林^{1a}

(1. 宜春学院, a. 化学与生物工程学院; b. 医学院, 江西 宜春 336000; 2. 盐城市第三人民医院, 药学部, 江苏 盐城 224000)

WEI Ying - ying^{1a,2},
DENG Li - ying^{1b},
CHEN Yan^{1a}, DAI Pei - ru^{1a},
WU Xiao - mei^{1a},
CHEN Chun - lin^{1a}(1. a. College of Chemistry and
Bioengineering; b. College of Medicine,
Yi Chun University, Yichun 336000,
Jiangxi Province, China; 2. Pharmacy
Department, Yancheng Third People's
Hospital, Yancheng 224000, Jiangsu
Province, China)基金项目: 国家自然科学基金资助项目
(81560584); 江西省研究生创新专
项基金资助项目(YC2022 - s974)作者简介: 韦莹莹(1998 -), 女, 硕士研究生, 主
要从事神经药理学方面的研究

通信作者: 陈春林, 教授, 硕士生导师

MP: 18979539940

E - mail: chenchunlinyexy@ 163. com

摘要:目的 基于脑源性神经营养因子/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(BDNF/AKT/mTOR)通路探讨百合有效成分的抗抑郁作用及其机制。方法 在细胞实验中,人神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y)分为空白对照组(细胞培养液)、模型对照组(皮质酮 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 建模)、百合皂苷低剂量组(皮质酮 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 百合皂苷)、百合皂苷高剂量组(皮质酮 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} + 0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 百合皂苷)、百合多糖低剂量组(皮质酮 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 百合多糖)和百合多糖高剂量组(皮质酮 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} + 0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 百合多糖)。除空白组外,其余各组用皮质酮建立损伤模型,检测细胞存活率。在动物实验中,将 48 只雄性 ICR 小鼠随机分成 6 组:模型组(灌胃等量饮用水)、百合皂苷低剂量组($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、百合皂苷高剂量组($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、百合多糖低剂量组($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、百合多糖高剂量组($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)和阳性药对照组(盐酸氟西汀, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。各组均给予小鼠急性应激造模,并观察行为学指标变化。用酶联免疫吸附测定法检测血清中皮质酮的水平。用蛋白质免疫印迹分析法检测小鼠前额叶皮层中 BDNF/AKT/mTOR 信号通路相关蛋白以及突触后致密物 95(PSD95)和突触素(Synapsin)的表达水平。结果 在细胞实验中,模型组、百合皂苷低、高剂量组和百合多糖低、高剂量组的细胞存活率分别是 $(71.46 \pm 1.92)\%$ 、 $(95.97 \pm 1.11)\%$ 、 $(105.51 \pm 1.80)\%$ 、 $(107.48 \pm 0.27)\%$ 和 $(107.66 \pm 3.61)\%$ 。给药组与模型组存活率相比,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。在动物实验中,模型组和百合皂苷低、高剂量组、百合多糖低、高剂量组和阳性对照组的小鼠悬尾累计不动时间分别是 (122.75 ± 4.77) 、 (90.75 ± 2.09) 、 (66.13 ± 3.23) 、 (79.75 ± 2.84) 、 (54.38 ± 4.40) 和 (42.00 ± 6.34) s;小鼠血清中皮质酮含量分别是 (236.94 ± 6.17) 、 (213.88 ± 3.95) 、 (165.52 ± 2.19) 、 (203.40 ± 3.27) 、 (170.18 ± 2.18) 和 $(104.96 \pm 3.87) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$;脑源性神经营养因子(BDNF)相对表达水平为 0.26 ± 0.03 、 0.74 ± 0.25 、 0.86 ± 0.03 、 0.97 ± 0.11 、 0.92 ± 0.13 和 1.05 ± 0.23 ;磷酸化蛋白激酶 B/蛋白激酶 B(p-AKT/AKT)相对表达水平为 0.26 ± 0.03 、 0.60 ± 0.19 、 0.75 ± 0.09 、 0.82 ± 0.05 、 0.94 ± 0.23 和 0.58 ± 0.07 ;磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR/mTOR)相对表达水平为 0.46 ± 0.04 、 0.52 ± 0.19 、 0.60 ± 0.18 、 1.01 ± 0.01 、 0.98 ± 0.06 和 0.93 ± 0.10 ;突触后致密物 95(PSD95)相对表达水平为 0.36 ± 0.05 、 0.50 ± 0.08 、 0.60 ± 0.09 、 0.73 ± 0.09 、 0.84 ± 0.18 和 1.00 ± 0.12 ;突触素(Synapsin)蛋白相对表达水平为 0.13 ± 0.04 、 1.03 ± 0.02 、 1.16 ± 0.06 、 1.02 ± 0.00 、 1.00 ± 0.04 和 0.65 ± 0.15 。高剂量组的上述指标与模型组相比,除高剂量组百合皂苷组的 p-mTOR/mTOR 和 PSD95 外,其余各指标在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 百合皂苷和多糖可能通过调控 BDNF/AKT/mTOR 信号通路改善前额叶皮层的突触可塑性,从而改善行为绝望小鼠抑郁样行为,抑制其血清中皮质酮水平。其中百合多糖在改善突触可塑性的效果上略优于百合皂苷。

关键词:百合多糖;百合皂苷;抑郁;急性抑郁模型;突触可塑性

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.17.012

中图分类号:R28 **文献标志码:**A

文章编号:1001-6821(2025)17-2465-06

Abstract: Objective To explore the antidepressant effect and its mechanism of effective components of *Lilium brownii* based on brain-derived neurotrophic factor/protein kinase B/mammalian target of rapamycin (BDNF/AKT/mTOR) pathway. **Methods** In cellular experiments, the experiments were divided into control group (cell culture solution), model group (corticosterone $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), lily saponin low dose group (corticosterone $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ lily saponin), lily saponin high dose group (corticosterone $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} + 0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ lily saponin), lily polysaccharide low dose group (corticosterone $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ lily polysaccharide), and lily polysaccharide high dose group (corticosterone $400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} + 0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ lily polysaccharide). Except for the blank group, the remaining groups were modeled with corticosterone to establish human neuroblastoma cells (SH-SY5Y) injury, and cell survival was detected. In the animal experiments, 48 male ICR mice were randomly divided into 6 groups: model group (drinking water with the same amount), low dose of lily saponin ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), high dose of lily saponin ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), low dose of lily polysaccharide ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), high dose of lily polysaccharide ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and positive drug control group (fluoxetine, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Each group was given acute stress modeling in mice, and changes in behavioral indexes were observed. Serum corticosterone levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. The relative expression levels of proteins such as postsynaptic densifier 95 (PSD95) and synapsin in the prefrontal cortex of mice were detected by protein immunoblot analysis. **Results** In the cellular experiments, the cell survival rates of each subgroup were $(71.46 \pm 1.92)\%$, $(95.97 \pm 1.11)\%$, $(105.51 \pm 1.80)\%$, $(107.48 \pm 0.27)\%$ and $(107.66 \pm 3.61)\%$, respectively. The differences between the administered groups and the model group were all statistically significant (all $P < 0.01$). In the animal experiments, the cumulative immobilization time of mice with suspended tails in model group, low and high dose of lily saponin groups, low and high dose of lily polysaccharide group and positive drug group was (122.75 ± 4.77) , (90.75 ± 2.09) , (66.13 ± 3.23) , (79.75 ± 2.84) , (54.38 ± 4.40) , and (42.00 ± 6.34) s, respectively; the levels of corticosterone in the serum of mice were (236.94 ± 6.17) , (213.88 ± 3.95) , (165.52 ± 2.19) , (203.40 ± 3.27) , (170.18 ± 2.18) and $(104.96 \pm 3.87) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the relative expression levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) were 0.26 ± 0.03 , 0.74 ± 0.25 , 0.86 ± 0.03 , 0.97 ± 0.11 , 0.92 ± 0.13 and 1.05 ± 0.23 , respectively; the relative expression levels of phosphorylated protein kinase B/protein kinase B (p-AKT/AKT) were 0.26 ± 0.03 , 0.60 ± 0.19 , 0.75 ± 0.09 , 0.82 ± 0.05 , 0.94 ± 0.23 and 0.58 ± 0.07 , respectively; the relative expression levels of phosphorylated mammalian target of rapamycin/mammalian target of rapamycin protein (p-mTOR/mTOR) were 0.46 ± 0.04 , 0.52 ± 0.19 , 0.60 ± 0.18 , 1.01 ± 0.01 , 0.98 ± 0.06 and 0.93 ± 0.10 , respectively; the relative expression levels of postsynaptic density protein-95 (PSD95) were 0.36 ± 0.05 , 0.50 ± 0.08 , 0.60 ± 0.09 , 0.73 ± 0.09 , 0.84 ± 0.18 and 1.00 ± 0.12 , respectively; the relative expression levels of synapsin protein were 0.13 ± 0.04 , 1.03 ± 0.02 , 1.16 ± 0.06 , 1.02 ± 0.00 , 1.00 ± 0.04 and 0.65 ± 0.15 , respectively. Except the p-mTOR/mTOR and PSD95 in high dose of lily saponin, the differences of the above indexes between the model group and the high dose groups were all statistically significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** Lily saponins and polysaccharides may improve synaptic plasticity in prefrontal cortex by modulating the BDNF/AKT/mTOR signaling pathway, which improves depressive-like behavior and suppresses serum corticosterone levels in behavioral despair mice. Among them, lily polysaccharides were slightly better than lily saponins in improving synaptic plasticity.

Key words: lily polysaccharide; lily saponin; depression; acute depression model; synaptic plasticity

抑郁症是一种以持续性和长期性的快感缺乏或抑郁情绪为特点的慢性精神疾病,影响全球超3亿

人^[1]。目前,抑郁症的发病机制尚未完全阐明,现有的治疗方法往往伴随药物不良反应和复发风险。传

统药食两用中药百合(*Lilii Bulbus*)具有润肺止咳、清心安神等功效。最近的研究表明,百合能通过调节慢性抑郁模型小鼠海马区的骨髓细胞瘤病毒癌基因同源物(myelocytomatosis viral oncogene homolog, MYC)蛋白表达,抑制小胶质细胞活化和炎症因子释放来发挥抗抑郁效果^[1]。而甾体皂苷和多糖为百合的主要活性成分。本研究旨在利用皮质酮(corticosterone, CORT)诱导的细胞模型和急性抑郁小鼠模型,探究百合中的皂苷和多糖成分对抗抑郁的具体机制,为百合作为潜在抗抑郁药物的应用提供参考。

材料与方法

1 材料

细胞 人神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y),购于中国科学院典型培养物保藏委员会昆明细胞库。

动物 雄性 SPF 级 ICR 小鼠,鼠龄:8~9 周,体重:18~20 g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,实验小鼠生产许可证号:SCXK(湘)2019-0004,动物使用许可证号:SYXK(赣)2015-0001。本实验经宜春学院动物伦理委员会批准,伦理批号:伦审科第 2024(022)号。

试剂 百合,规格:每袋 500 g,批号:230402,安徽惠丰国药有限公司生产;百合多糖,规格:每瓶 5 g,纯度:75%,批号:S18HS194558,源叶生物科技有限公司生产;盐酸氟西汀,规格:每瓶 1 g,纯度:98%,批号:D1823052,阿拉丁生物科技有限公司生产;CORT,规格:每瓶 100 mg,纯度:98%,批号:D1823052,索莱宝生物科技有限公司生产;细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)试剂盒,大连美仑生物科技有限公司生产;脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF),碧云天生物有限公司生产;蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR),均由美国 CST 公司生产;磷酸化蛋白激酶 B(phosphorylated AKT, p-AKT),沈阳万类生物科技有限公司生产; β -actin 和山羊抗鼠二抗,均由北京全式金生物技术有限公司生产;磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(phosphorylated mTOR, p-mTOR)和突触后致密物 95(postsynaptic density protein-95, PSD95),均由武汉三鹰生物科技有限公司生产;突触素(synapsin),成都正能技术有限公司生产;山羊抗兔二抗,北京四正柏生物有限公司生产;CORT 酶联免疫吸附(enzyme-linked immunosorbent assays, ELISA)试剂盒,上海科顺生物技术有限公司生产。

仪器 Imark 酶标仪、Trans-Blot1703930 蛋白电泳仪,均为美国 Bio-Rad 公司产品;H2050R 冷冻离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司产品;AlphaMager HP 凝胶成像系,美国 Alpha 科技有限公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞实验方法

2.1.1 百合皂苷的提取^[2]

卷丹百合干燥鳞叶磨粉过筛后,80%乙醇超声提取 3 h,水温 70℃,固液比 1:10。离心取上清液合并浓缩至浸膏。用超纯水冲散制成悬浊液,经 AB8 大孔树脂纯化:先用超水洗脱水溶性杂质,再用 3 倍柱体积 80%乙醇洗脱,洗脱液减压、冷冻干燥得百合总皂苷,纯度为 71.5%。

2.1.2 细胞培养

将 SH-SY5Y 置于加入含有青霉素和链霉素的双抗的 10% 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)达尔伯克改良伊格培养基(Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM)中,在 37℃、5% CO₂ 孵箱中培养。

2.1.3 细胞毒性检测

取处在对数生长期的 SH-SY5Y 细胞,接种于 96 孔板中,24 h 后分别加入含 0.2 mg·L⁻¹ 百合皂苷、0.6 mg·L⁻¹ 百合皂苷、0.2 mg·L⁻¹ 百合多糖和 0.6 mg·L⁻¹ 百合皂多糖的 DMEM 100 μ L,继续培养 24 h,24 h 后用 CCK-8 试剂盒测定细胞存活率。

2.1.4 CORT 细胞损伤模型的建立^[3]

取处在对数生长期的 SH-SY5Y 细胞,接种于 96 孔板中,24 h 后加入不同浓度(200、300、400、500 μ mol·L⁻¹)的 CORT 100 μ L,继续培养 24 h,24 h 后测定细胞存活率,确定 CORT 诱导 SH-SY5Y 细胞损伤程度为 50% 的浓度为用于后续实验。

2.1.5 细胞实验分组与给药方法

取处在对数生长期的 SH-SY5Y 细胞,分为 6 组:空白对照组(细胞培养液)、模型对照组(皮质酮 400 μ mol·L⁻¹ 建模)、百合皂苷低剂量组(皮质酮 400 μ mol·L⁻¹ + 0.2 mg·L⁻¹ 百合皂苷)、百合皂苷高剂量组(皮质酮 400 μ mol·L⁻¹ + 0.6 mg·L⁻¹ 百合皂苷)、百合多糖低剂量组(皮质酮 400 μ mol·L⁻¹ + 0.2 mg·L⁻¹ 百合多糖)和百合多糖高剂量组(皮质酮 400 μ mol·L⁻¹ + 0.6 mg·L⁻¹ 百合多糖)。接种于 96 孔板中,待细胞贴壁后,弃废液,除空白对照组仅加细胞培养液常规培养外,其他各组加入含有治疗药物的 DMEM 100 μ L 培养 2 h 后,再加入含有 CORT 的 DMEM 100 μ L 继续培养 24 h。

2.1.6 用CCK-8试剂盒检测细胞活力

除空白对照组外,其他按试剂盒说明书加入含有CORT的DMEM 100 μL 继续培养24 h后,每孔加入CCK-8溶液10 μL ,继续培养1~4 h,用酶标仪在波长450 nm处检测其光密度(optical density, OD)。

2.2 动物实验方法

2.2.1 动物实验分组与给药方法^[4]

将48只小鼠,随机分成6组:模型组(灌胃等量饮用水)、百合皂苷低剂量(50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、百合皂苷高剂量(100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、百合多糖低剂量(50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、百合多糖高剂量(100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)和阳性对照组(盐酸氟西汀组,10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),每组8只。用饮用水制成混悬液,给药体积10 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,模型组给予等体积的饮用水灌胃。每天上午8:30灌胃1次,给药7天后依次进行旷场实验、悬尾实验、强迫游泳实验。

2.2.2 模型建立及行为学检测^[5]

旷场实验用于检测药物是否影响小鼠自主活动。悬尾和强迫游泳实验用于建立行为绝望模型并观察药物对其改善作用。

旷场实验 提前24 h将小鼠放置旷场实验室适应1~2 h。给药30 min后,将小鼠轻轻放置在50 cm×50 cm×50 cm全黑色敞箱中心位置,观察小鼠在5 min测试期间的水平爬格数与直立次数。

悬尾实验 小鼠给药30 min后,将小鼠尾部1~2 cm处用橡皮圈固定在挂钩上,使其倒挂、悬空,其头部距离地面10~15 cm,用黑色挡板隔开小鼠两侧视线。用相机观察记录6 min,计小鼠后4 min的累计不动时间(s)。

强迫游泳实验 小鼠给药30 min后,将其置于直径14 cm,高20 cm透明容器中,水深15 cm,水温(23±2)℃。用相机观察记录6 min,计后4 min内累计不动时间(s)。

2.2.3 体质量检测

每天称质量1次,监测各组小鼠体质量变化。

2.2.4 样本采集

实验结束后,小鼠眼球取血并处死,在冰上迅速分离大脑皮层后,存于-80℃冰箱备用;血样在室温静置30 min后,以3 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15 min,取上清液,-80℃保存。

2.2.5 ELISA法检测血清CORT水平^[6]

取出所需板条,先加不同浓度的标准品,再加待测样本和样本稀释液。除空白孔外,标准品孔和样本孔中每孔加入检测抗体,封板后恒温箱温育60 min。

弃液后洗板5次。每孔加入底物A和B,37℃避光孵育15 min后再加终止液,在450 nm波长处测OD值,并计算小鼠血清中CORT的含量。

2.2.6 蛋白印迹法检测前额叶皮层BDNF、AKT、p-AKT、mTOR、p-mTOR、PSD95和Synapsin蛋白相对表达水平^[7]

提取蛋白样品,进行电泳和转膜,封闭,加入BDNF、AKT、p-AKT、mTOR、p-mTOR、PSD95和Synapsin一抗稀释液,4℃孵育过夜。洗膜,加入二抗稀释液,室温摇床孵育1 h后,再次洗膜。显影,用凝胶成像仪检测目的条带化学发光成像,并用Image J软件对检测出的条带进行灰度值分析。

3 统计学处理

用SPSS 20.0软件进行统计分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用单因素方差分析。

结 果

1 细胞实验结果

1.1 CORT对SH-SY5Y细胞存活率的影响

200、300、400、500 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的CORT细胞存活率分别为(87.00±9.43)%、(68.37±2.96)%、(55.39±3.24)%和(41.13±7.74)%。与0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CORT相比,不同浓度CORT作用于SH-SY5Y细胞后SH-SY5Y细胞活力均显著下降($P < 0.05$, $P < 0.001$),且CORT浓度与细胞活力呈负相关。当CORT浓度为400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,SH-SY5Y细胞活力约为正常对照组的50%,因此以400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 用于后续造模。

1.2 百合皂苷和多糖对SH-SY5Y细胞的毒性作用

百合皂苷低、高剂量组和百合多糖低、高剂量组的细胞活力分别为(105.46±1.16)%、(103.61±0.91)%、(114.04±5.41)%和(115.06±3.48)%。细胞存活率未受影响,这提示百合皂苷和百合多糖对SH-SY5Y不存在明显的细胞毒性。

1.3 百合皂苷和多糖对CORT诱导SH-SY5Y细胞损伤模型的保护作用

空白对照组、模型组、百合皂苷低、高剂量组和百合多糖低、高剂量组细胞存活率分别为(100.00±0)%、(71.46±1.92)%、(95.97±1.11)%、(105.51±1.80)%、(107.48±0.27)%和(107.66±3.61)%。与空白对照组相比,模型组的细胞活力显著下降($P < 0.01$);与模型组相比,百合多糖和百合皂苷给药组能够显著降低细胞损伤,并显著提高细胞活力($P < 0.01$)。百合多糖与

百合皂苷给药组在降低细胞损伤,提高细胞活力上的比较,在统计学上差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。

2 动物实验结果

2.1 百合皂苷和百合多糖对抑郁小鼠体质量变化的影响

给药前,各组小鼠的平均体质量比较,在统计学上差异无统计学意义($P>0.05$);与第1天比,给药7天后小鼠体质量均呈上升趋势。表明50、100 mg·kg⁻¹的百合皂苷和多糖对小鼠生长发育没有不良影响,各组小鼠状况良好,见表1。

2.2 百合皂苷和多糖对抑郁小鼠行为学变化的影响

在给药1周后进行的旷场实验中,与模型组相比,给药组(50、100 mg·kg⁻¹)的直立次数和爬格子数比较,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),也表明百合皂苷和多糖并未对小鼠的自主活动产生影响,见表2。

小鼠在应激条件下,经过反复挣扎后表现出不动状态,不动状态的持续时间是衡量抑郁样行为的指标。与模型组相比,盐酸氟西汀组、低、高剂量百合皂苷和低、高剂量百合多糖组均显著减少了小鼠悬尾实验中累计不动时间(均 $P<0.01$)。百合多糖组减少小鼠累计不动时间与百合皂苷给药组相比,在统计学上差异无统计学意义($P>0.05$)。在强迫游泳实验中,与模型组相比,盐酸氟西汀组、低、高剂量百合皂苷和低、高剂量百合多糖组均显著减少了小鼠累计不动时间,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。

2.3 百合皂苷和多糖对抑郁小鼠血清中CORT的影响

模型组、百合皂苷低、高剂量组和百合多糖组低、高剂量组和阳性对照组的血清CORT水平分别为(236.94±6.17)、(213.88±3.95)、(165.52±2.19)、(203.40±3.27)、(170.18±2.18)和(104.96±3.87)

ng·mL⁻¹。与模型组相比,阳性对照组、低、高剂量百合皂苷组和低、高剂量百合多糖组均能显著降低小鼠血清中皮质酮水平,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。低、高剂量百合皂苷组和低、高剂量百合多糖组血清中皮质酮水平对比,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。

2.4 百合皂苷和多糖对抑郁小鼠前额叶皮层中相关蛋白表达量的影响

低剂量百合皂苷组的Synapsin表达水平,高剂量百合皂苷组的BDNF、p-AKT/AKT和Synapsin相对表达水平较模型组均显著升高($P<0.05$, $P<0.01$);低、高剂量百合多糖组的各检测蛋白(包括BDNF、p-AKT/AKT、p-mTOR/mTOR、PSD95和Synapsin)的相对表达水平均较模型组显著升高($P<0.05$, $P<0.01$);阳性对照组除p-AKT/AKT外,其他4种蛋白相对表达水平均较模型组显著升高($P<0.05$, $P<0.01$),见表3。

表1 百合多糖和皂苷对急性抑郁小鼠体质量的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Effect of polysaccharide and saponin of Lily on body weight of mice with acute depression($\bar{x}\pm s$)

Group	Dose (mg·kg ⁻¹)	n	Body weight(g)	
			Before treatment	After treatment
Model	—	8	24.21±0.34	28.70±0.50
LLS	50	8	26.24±0.62	26.88±0.79
HLS	100	8	24.56±0.34	29.25±0.41
LLP	50	8	25.27±0.45	30.25±1.08
HLP	100	8	25.68±0.65	30.75±0.75
F	10	8	24.75±0.26	27.11±0.60

Model group: Potable water; Lily saponin low dose (LLS) group: 50 mg·kg⁻¹ LS; Lily saponin high dose (HLS) group: 100 mg·kg⁻¹ LS; Lily polysaccharide low dose (LLP) group: 50 mg·kg⁻¹ LP; Lily polysaccharide high dose (HLP) group: 100 mg·kg⁻¹ LP; Fluoxetine (F) group: 10 mg·kg⁻¹ F.

表2 百合多糖和皂苷对急性抑郁小鼠行为学的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Effects of lily polysaccharides and saponins on behaviors of acute depression mice($\bar{x}\pm s$)

Group	Open field test		Tail suspension test	Forced swimming test
	Cross-lattice number	Rearing times		
Model	188.25±6.19	53.88±4.10	122.75±4.77	146.125±3.73
LLS	184.38±6.24	55.38±4.28	90.75±2.09**	87.38±6.55**
HLS	229.13±11.59	50.25±3.52	66.13±3.23**	103.00±5.14**
LLP	219.38±15.74	68.38±3.10	79.75±2.84**	81.38±8.68**
HLP	182.63±7.88	60.37±4.38	54.38±4.40**	93.00±3.56**
F	227.50±5.90	58.13±4.07	42.00±6.34**	68.86±3.42**

Dose and n refer to table 1; Compared with model group, ** $P<0.01$.

表 3 百合多糖和皂苷对急性抑郁小鼠前额叶皮层相关蛋白相对表达水平的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of polysaccharide and saponin of lily on related protein relative expression levels in prefrontal cortex of mice with acute depression($\bar{x} \pm s$)

Group	n	BDNF	p - AKT/AKT	p - mTOR/mTOR	PSD95	Synapsin
Model	3	0.26 ± 0.03	0.26 ± 0.03	0.46 ± 0.04	0.36 ± 0.05	0.13 ± 0.04
LLS	3	0.74 ± 0.25	0.60 ± 0.19	0.52 ± 0.19	0.50 ± 0.08	1.03 ± 0.02 **
HLS	3	0.86 ± 0.03 *	0.75 ± 0.09 *	0.60 ± 0.18	0.60 ± 0.09	1.16 ± 0.06 **
LLP	3	0.97 ± 0.11 **	0.82 ± 0.05 *	1.01 ± 0.01 **	0.73 ± 0.09 *	1.02 ± 0.00 **
HLP	3	0.92 ± 0.13 *	0.94 ± 0.23 **	0.98 ± 0.06 **	0.84 ± 0.18 **	1.00 ± 0.04 **
F	3	1.05 ± 0.23 **	0.58 ± 0.07	0.93 ± 0.10 *	1.00 ± 0.12 **	0.65 ± 0.15 **

Dose refer to table 1; BDNF: Brain - derived neurotrophic factor; p - AKT/AKT: Phosphorylated protein kinase B/protein kinase B; p - mTOR/mTOR: Phosphorylated mammalian target of rapamycin/mammalian target of rapamycin; PSD95: Postsynaptic density protein - 95; Compared with model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

讨 论

突触可塑性是神经系统生长发育、损伤修复以及学习和记忆的神经生物学基础^[8]。其中 PSD95 和 Synapsin 是突触可塑性的特异性蛋白标志物。当突触数量减少、功能障碍时,容易出现抑郁样行为。本实验中,模型组小鼠在行为学实验中表现出明显的抑郁状态,给予百合皂苷和多糖干预后,小鼠抑郁行为有改善,并且大脑前额叶皮层 PSD95 及 Synapsin 蛋白表达水平升高,表明百合皂苷和多糖可能通过改善神经元突触可塑性达到抗抑郁作用。

BDNF 与酪氨酸激酶受体 B (tyrosine kinase receptor B, Trk B) 的高亲和力结合导致 Trk B 细胞中酪氨酸残基的二聚化和自磷酸化,从而激活下游磷脂酰肌醇 3 - 激酶 (phosphatidylinositol 3 - kinase, PI3K)/AKT 细胞内信号通路,随后活化的 AKT 直接或间接激活 mTOR,最后调节 PSD95 及 Synapsin 等突触功能蛋白^[9]。因此,mTOR 信号传导的异常会导致突触蛋白的缺陷,这表明 mTOR 信号转导可能是抑郁症的重要机制^[10]。本实验中,百合皂苷和多糖给药组中 BDNF/AKT/mTOR 相关蛋白相对表达水平显著增加,说明通过调控 BDNF/AKT/mTOR 信号通路改善突触可塑性。值得注意的是,与百合皂苷给药组相比,百合多糖组更能显著上调抑郁小鼠前额叶皮层中 BDNF/AKT/mTOR 通路相关蛋白和突触相关蛋白的表达。

此外,有研究表明,血浆皮质醇的升高可以预测患者持续的症状和抑郁的严重程度^[11]。本次研究显示,与模型组相比,百合皂苷和百合水提均能显著改善小鼠血浆中 CORT 的水平。

本研究提示:百合皂苷和多糖可以通过调控 BDNF/AKT/mTOR 信号通路改善前额叶皮层的突触可塑性,从而改善行为绝望小鼠抑郁样行为,抑制其血浆中 CORT 水平。百合多糖在改善突触可塑性的

效果上略优于百合皂苷。

参考文献:

[1] WORLD HEALTH ORGANIZATION. Depression and other common mental disorders[R]. Geneva: WHO,2017.

[2] FU C, SHUANG Q, LIU Y, *et al*. Baihe extracts reduce the activation and apoptosis of microglia in the hippocampus of mice with depression - like behaviors by downregulating MYC. *ACS Chem Neurosci*. 2022;13(5):587—598.

[3] 姜伟. 百合皂苷提取及其对低密度脂蛋白代谢调控作用研究[D]. 安徽 合肥:安徽农业大学,2019.

[4] 邹存恩,李孟雪,王珂,等. 核桃多酚对皮质酮损伤 PC12 细胞的作用机制[J]. 食品科学技术学报,2023,41(5):68—75,122.

[5] 韦震,宋洪波,安凤平,等. 黄精多糖对急性抑郁小鼠模型的改善作用及机制[J]. 食品工业科技,2022,43(6):351—357.

[6] 卢杨君,陈磊,伍春桃,等. 白术多糖对 CUMS 模型小鼠抑郁样行为、脑肠轴和 HPA 轴的影响[J/OL]. 天然产物研究与开发, 2024 - 10 - 23 [2024 - 11 - 21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/51.1335.Q.20241023.1240.002.html>.

[7] 董文晟,高义鹏,叶云佳,等. 鸢尾素对脂多糖诱导的内皮细胞损伤影响[J]. 心血管病学进展,2025,46(1):71—76.

[8] JAMJOOM A A B, RHODES J, ANDREWS P J D, *et al*. The synapse in traumatic brain injury[J]. *Brain*,2021,144(1):18—31.

[9] LI J, ZHANG M, PEI Y, *et al*. The total alkaloids of *Sophora alopecuroides* L. Improve depression - like behavior in mice *via* BDNF - mediated AKT/mTOR signaling pathway [J/OL]. *J Ethnopharmacol*,2023,316:116723. 2023 - 11 - 15 [2024 - 11 - 20]. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116723>.

[10] GOSWAMI D B, JERNIGAN C S, CHANDRAN A, *et al*. Gene expression analysis of novel genes in the prefrontal cortex of major depressive disorder subjects [J/OL]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*,2013,43:126 - 133. 2023 - 06 - 03 [2024 - 11 - 20]. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.12.010>

[11] CHOI K W, NA E J, FAVA M, *et al*. Increased adrenocorticotrophic hormone (ACTH) levels predict severity of depression after six months of follow - up in outpatients with major depressive disorder [J/OL]. *Psychiatry Research*,2018,270:246—252. 2018 - 09 - 21 [2024 - 11 - 20]. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2018.09.047>.

(收稿日期 2024 - 11 - 22)