



雌马酚 (S-equol, Eq) 对慢性不可预知温和刺激小鼠抑郁样行为的改善作用

张瑛毓¹, 韦震¹, 任梓溢¹, 刘佳萌¹, 孙晶¹, 范蓓¹, 刘新民², 卢聪¹, 王凤忠¹

(1. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193; 2. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100193)

摘要:为探究雌马酚(S-equol, Eq)对慢性不可预知温和刺激抑郁模型(Chronic Unpredictable Mild Stress, CUMS)小鼠的改善作用, 试验设空白组(Con)、模型组(CUMS)、雌马酚低剂量组(Eq-L, 10 mg·kg⁻¹)、雌马酚中剂量组(Eq-M, 20 mg·kg⁻¹)和雌马酚高剂量组(Eq-H, 40 mg·kg⁻¹), 在预防给药14 d后, 对模型组和雌马酚组进行CUMS造模刺激, 造模42 d之后监测体重, 依次进行空场、糖水偏爱、悬尾、强迫游泳和新奇抑制摄食5种行为学试验, 并检测血清中皮质酮(CORT)水平。行为学结果显示:与空白组相比, CUMS模型组小鼠的自主活动能力未受到显著影响, 体重和糖水偏爱指数显著下降, 悬尾、强迫游泳中不动时间和新奇抑制摄食潜伏期显著延长;与模型组相比, 雌马酚没有影响小鼠的自主活动, 显著提高了小鼠的糖水偏爱指数, 缩短了悬尾、强迫游泳不动时间和新奇抑制摄食潜伏期。此外, CUMS模型组小鼠血清中CORT显著上调, 雌马酚给药显著改善上述异常指标。该结果表明雌马酚可以改善CUMS小鼠抑郁样行为, 并通过抑制下丘脑-垂体-肾上腺轴的过度亢进发挥改善抑郁的作用。

关键词:雌马酚; 慢性不可预知温和刺激抑郁模型; 下丘脑-垂体-肾上腺轴

Protective Effects of S-equol on Depressive-like Behavior Induced by Chronic Unpredictable Mild Stress in Mice

ZHANG Ying-yu¹, WEI Zhen¹, REN Zi-yi¹, LIU Jia-meng¹, SUN Jing¹, FAN Bei¹, LIU Xin-min², LU Cong¹, WANG Feng-zhong¹

(1. Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. Institute of Medicinal Plants, Chinese Academy of Medical Science, Beijing 100193, China)

Abstract: In order to explore the ameliorating effects of S-equol (Eq) on depressive-like behavior induced by chronic unpredictable mild stress (CUMS), mice were randomly divided into control group (Con), CUMS model group (CUMS), Eq-Low group (Eq-L, 10 mg·kg⁻¹), Eq-Medium group (Eq-M, 20 mg·kg⁻¹) and Eq-High group (Eq-H, 40 mg·kg⁻¹). After pre-administration with Eq for 14 days, the CUMS group and Eq groups were conducted by continue stress for 42 days. The antidepressant effect of Eq was investigated by body weight (BW), open field test (OFT), sucrose preference test (SPT), tail suspension test (TST), forced swimming test (FST) and novelty-suppressed feeding test (NFT). In addition, the level of corticosterone (CORT) in serum of mice was measured to explore the molecular mechanism of its antidepressant action. The results of behavioral tests showed that CUMS had no influence on the locomotor activity of mice compared to those of control group, the body weight and sucrose preference index of the CUMS-treated mice was significantly decreased, the immobility time in TST and FST and the latency time in NFT was significantly prolonged. Administration with Eq also had no influence on the locomotor activity of mice compared to the model group, while the body weight and sucrose preference index of the Eq-treated mice were significantly improved, the immobility time in TST and FST and the latency time in NFT were significantly shortened. Moreover, CUMS treatment significantly increased the levels of CORT in serum, however, Eq administration significantly reversed this change. These findings demonstrated that Eq treatment significantly alleviated the depressive-like behavior induced by CUMS, and the antidepressant-like effects of Eq may be related to normalize the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA).

Keywords: S-equol; chronic unpredictable mild stress; hypothalamic-pituitary-adrenal axis

据世界卫生组织(WHO)统计,全世界有超过3.5亿人受抑郁症困扰,已成为世界第四大疾病,而且还在快速增长。WHO预测2030年抑郁症将成为全球疾病负担第一位的疾病^[1]。新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的爆发及常态化防控加重抑郁症的

发生发展,尤其是后疫情时代,具备情绪调节功效的健康产品需求旺盛。从种类丰富、来源广泛的天然产物中寻找更为有效和安全的活性成分,能够为抗抑郁健康产品的研发提供新的思路。

雌马酚(S-equol, Eq)是大豆异黄酮生物转化的

收稿日期:2022-06-15

基金项目:国家大豆产业技术体系(CARS-04);中国农业科学院农产品加工研究所创新工程(CAAS-ASTIP-2022-IFST);中国农业科学院基本科研业务费专项院级统筹项目(Y2022LM09)。

第一作者:张瑛毓(1995—),女,博士研究生,主要研究方向为食品功能因子挖掘及功效研究。E-mail:ZhangYY0427@163.com。

通讯作者:卢聪(1989—),女,博士,副研究员,主要从事食品功能因子挖掘、功效评价及机制研究。E-mail:lucong198912@126.com;

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

代谢产物之一,与大豆异黄酮相比,在雌激素样作用、抗氧化、神经保护等方面展现出更为可观的生物活性^[2]。在抗抑郁研究领域,随着大豆异黄酮抗抑郁及神经保护功效的广泛报道,雌马酚的抗抑郁及神经保护活性开始得到关注。本实验室前期建立 3 种小鼠抑郁模型,展开了雌马酚抗抑郁活性研究,在脂多糖诱导小鼠抑郁模型中,雌马酚可以通过抑制神经炎症和增强突触可塑性缓解小鼠抑郁样行为^[3];在慢性睡眠干扰致小鼠抑郁模型和慢性束缚致小鼠抑郁模型中,雌马酚可以通过抑制神经炎症和氧化应激发挥抗抑郁作用^[4-5]。雌马酚在这 3 种模型中都表现出优秀的抗抑郁活性,在防治抑郁方面存在着巨大开发潜力,因此进一步验证雌马酚抗抑郁活性以及深入研究其机制,开发其抗抑郁产品具有重要意义。

慢性不可预知温和刺激(Chronic Unpredictable Mild Stress,CUMS)模型是一种公认的可以很好模拟压力诱导抑郁状态的模型,雌马酚在 CUMS 模型中的抗抑郁活性还鲜见报道,本研究通过建立 CUMS 诱导的慢性抑郁动物模型,探究雌马酚对 CUMS 抑郁小鼠的行为学影响,从不同角度进一步证明雌马酚在抗抑郁健康产品研发领域的开发潜力,为后续雌马酚抗抑郁及神经保护作用靶点的挖掘提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 参试 8 周龄雄性 BALB/c 小鼠 90 只,由北京维通利华实验动物公司提供[SCXK(京)2016-0006]。小鼠喂食标准饲料和饮用水,动

物房控制室温 22~24℃、相对湿度 55±10%、12 h 光/12 h 暗。本研究试验遵守动物福利 3R 原则、符合国际实验动物伦理学要求,所有试验程序均经中国医学科学院药用植物研究所实验动物中心研究院批准(批准文号 No. SLXD-2021071524),并严格遵守中国医学科学院实验动物饲养和使用指南。

1.1.2 药品及试剂 S-雌马酚(纯度≥98%,批号:S87204),上海麦克林生化科技有限公司;帕罗西汀(Paroxetine Hydrochloride,PX,批号:110429-35-1),上海源叶生物科技有限公司;羧甲基纤维素钠(CMC-Na,批号:110429-35-1),国药集团药业股份有限公司;蔗糖(批号:57-50-1),Baomanbio 公司;皮质酮(corticosterone,CORT)酶联免疫吸附分析试剂盒,南京建成生物工程研究所。

1.1.3 仪器 行为学检测仪器包括空场检测仪(KSYY-OP-V4.0)、悬尾检测仪(KSYY-TS-V3.0)、强迫游泳检测仪(KSYY-FS-V3.0)、新奇抑制摄食箱(40 cm×50 cm×50 cm),均为北京康森益友科技有限公司、中国医学科学院药用植物研究所和中国航天员中心联合研发。

1.2 试验设计

试验进程安排如图 1 所示,适应环境 7 d 后,根据糖水偏爱基线,将小鼠分组,每组 15 只。雌马酚组预防给药 14 d 后,进行 CUMS 造模,造模 42 d,期间连续给药,直至行为学检测结束。造模结束后依次进行糖水偏爱试验(Sucrose Preference Test,SPT)、空场试验(Open Field Test,OFT)、悬尾试验(Tail Suspension Test,TST)、强迫游泳试验(Forced Swimming Test,FST)、新奇抑制摄食试验(Novelty-suppressed Feeding Test,NFT)。

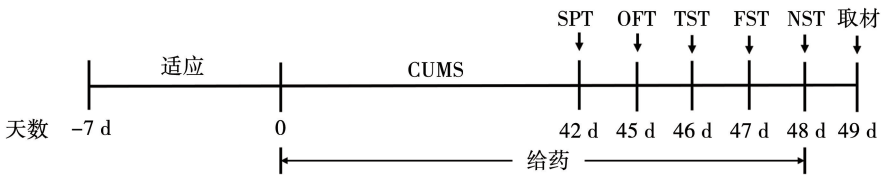


图 1 试验流程

Fig.1 Schedule of the experimental procedure

1.3 方法

1.3.1 分组及给药 根据糖水偏爱基线和体重,把 90 只小鼠随机分为 6 组,每组 15 只:空白对照组(Con)、模型组(CUMS)、帕罗西汀组(PX)、雌马酚低剂量组(Eq-L,10 mg·kg⁻¹)、雌马酚中剂量组(Eq-M,20 mg·kg⁻¹)、雌马酚高剂量组(Eq-H,40 mg·kg⁻¹)。小鼠笼尺寸为 29 cm×17.8 cm×16 cm,正常组小鼠合笼饲养(每笼 5 只),其余各组小鼠单笼饲养。雌马酚溶于 0.5% CMC-Na,3 个雌马酚剂量组预防给药 14 d,其余各组等量 0.5% CMC-Na 灌胃。预给药 14 d 后,开始 42 d

CUMS 造模,CUMS 程序及行为学检测前 1 h 各组以 0.1 mL·(10 g)⁻¹体重灌胃给药相应溶液。

1.3.2 CUMS 模型建立 参考 Cao 等^[6]建立的 CUMS 程序,稍作修改,刺激源包括:冰水游泳(4℃,5 min)、热水游泳(42℃,5 min)、拥挤(24 h)、禁食(24 h)、禁水(24 h)、湿笼(每笼 300 mL 水,10 h)、持续照明(24 h)、夹尾(3 min)、空瓶(1 h)、昼夜颠倒(24 h)、动物叫声(30 min)、束缚(4 h)。空白组不给予任何刺激,其余组每日随机 3~4 种刺激,每种刺激不连续出现,整个过程持续 42 d。刺激措施和具体安排详见表 1。

表 1 刺激源种类与时间表
Table 1 Types and time of stressors

刺激源种类 Stressors type	星期一 Monday	星期二 Tuesday	星期三 Wednesday	星期四 Thursday	星期五 Friday	星期六 Saturday	星期日 Sunday	星期一 Monday
冰水游泳 Cold swimming	5 min							
拥挤 Space reduction		10:00	→ 10:00					
热水游泳 Hot swimming					5 min			
禁食 Food deprivation			21:00	→ 9:00			21:00	→ 9:00
湿笼 Soiled cage					21:00	→ 9:00		
持续照明 Overnight illumination	9:00	→ 9:00				9:00	→ 9:00	
夹尾 Tail pinch		3 min						
禁水 Water deprivation	21:00	→ 9:00			21:00	→ 9:00		
空瓶 Empty water bottles			1 h			1 h		
昼夜颠倒 Day and night reversed				9:00	→ 9:00		9:00	→ 9:00
噪音 Noise		30 min				30 min		
束缚 Physical restraint				4 h				

1.3.3 体重检测 CUMS 造模开始以及造模期间, 每周一(上午 9:00—10:00)记录小鼠体重。

1.3.4 糖水偏爱实验 参照 Sun 等^[7]的方法, 试验中动物需单笼饲养, 每笼对称放置两个外观相同的水瓶, 试验分为训练阶段(48 h)、禁食禁水阶段(12 h)和测试阶段(24 h)。训练阶段 day 1: 两瓶 2% 蔗糖溶液, 12 h 后交换两个水瓶位置; 训练阶段 day 2: 1 瓶 2% 蔗糖溶液, 1 瓶纯水, 12 h 后交换两个水瓶位置; 训练阶段 day 3: 禁食禁水 12 h; 测试阶段 day 4: 测试开始前对所有水瓶编号和称重。测试期间保持环境安静, 动物自由饮水, 测试结束后对水瓶称重, 计算糖水偏爱指数。

糖水偏爱指数(%) =

$$\frac{\text{糖水饮用量(g)}}{\text{糖水饮用量(g)} + \text{纯水饮用量(g)}} \times 100$$

1.3.5 空场实验 参照 Li 等^[8]的方法, 末次灌胃给药 1 h 后进行空场实验, 检测小鼠的自主活动。该装置由 4 个金属罐(直径 30 cm, 高 40 cm)组成, 4 只小鼠同时测试顶部固定有摄像机, 测试期间保持安静的实验环境。测试开始时, 将 4 只小鼠分别放在 4 个罐的中心, 允许自由探索 3 min 以适应环境, 之后记录小鼠 5 min 自发活动情况。每次检测结束后, 清理粪便并用 75% 酒精擦拭场地去除气味。

1.3.6 悬尾实验 参照 Steru 等^[9]报道的方法, 末次灌胃给药 1 h 后, 将小鼠尾巴距尾尖部约 1 cm 处缠上胶布(胶布约宽 6 mm, 长 6~8 cm), 挂在铁钩上, 使其呈倒悬体位, 其头部距离悬尾箱底面约 5~10 cm, 悬尾箱支架上的传感器能够接收小鼠挣扎时的张力变化信号, 系统自动记录小鼠 6 min 内不动时间, 并统计后 4 min 内的累积不动时间(不动状态

即小鼠呈下垂状且没有肢体运动)。每次检测结束后清理粪便。

1.3.7 强迫游泳实验 参照 Cao 等^[10]的方法, 末次灌胃给药 1 h 后, 利用强迫游泳实验计算机图像实时检测分析处理系统进行实验。将小鼠单独放入盛有水(25 ℃)的塑料圆柱体(直径 15 cm, 高 20 cm, 水深 15 cm)中, 进行 6 min 的强制游泳。系统自动记录 6 min 内小鼠的活动状态, 并统计后 4 min 内小鼠的累计不动时间(不动即小鼠停止挣扎或小鼠呈漂浮状态, 小鼠四肢有轻微动作以保持头部在水面)。每次动物检测结束后换水。

1.3.8 新奇抑制摄食实验 参照 Dulawa 等^[11]的方法稍作修改。测试在新奇抑制摄食箱中进行, 测试前 1 d, 让小鼠适应 10 min 并禁食 24 h。第 2 天, 预先在摄食箱中心放一颗相同的食物, 将每只小鼠面朝墙壁单独放置在摄食箱一角, 放入同时记录小鼠 5 min 内摄食潜伏期。全程摄像, 后期用秒表记录首次摄食时间。

1.3.9 样本采集 行为学实验结束后, 麻醉处死小鼠。收集血样, 4 ℃, 3 000 r·min⁻¹离心 15 min 以获得血清。

1.3.10 血清皮质酮水平检测 根据 Elisa 试剂盒说明书, 检测小鼠血清 CORT 水平。在 450 nm 处记录 OD 值, 并用标准曲线计算浓度。

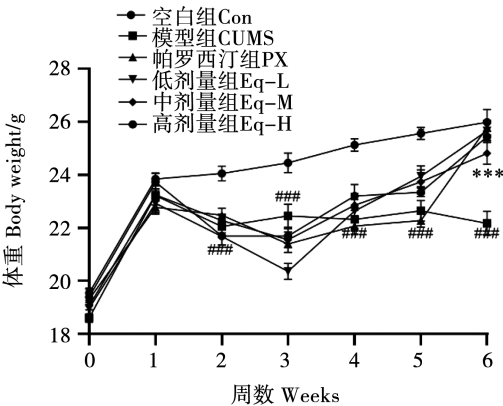
1.4 数据分析

用 SPSS 21.0 软件进行数据统计分析, 结果以“均值 ± 标准误”(Mean ± SEM)的形式表示。进行单因素方差分析(one-way ANOVA), 使用最小显著差数法(LSD)多重比较方法比较组间差异, *P* < 0.05 时认为差异具有统计学意义。使用 Graph Pad Prism 8.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 雌马酚对小鼠体重的影响

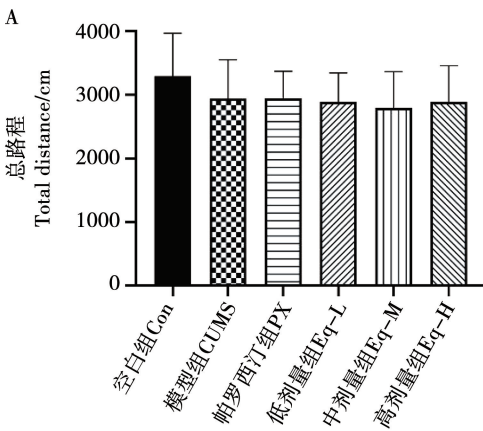
如图2所示,CUMS造模期间空白组小鼠体重呈上升趋势。造模7 d 各组小鼠体重无显著性差异,造模7 d 后直至造模42 d,模型组小鼠体重与空白组相比显著降低($P<0.001$)。造模24 d 开始,雌马酚干预组和帕罗西汀组小鼠体重开始上升,造模42 d,雌马酚高剂量组 and 帕罗西汀组小鼠体重与模型组相比显著升高($P<0.001$)。



注:与空白组相比,#为 $P<0.05$,##为 $P<0.01$,###为 $P<0.001$;与模型组比较,*为 $P<0.05$,**为 $P<0.01$,***为 $P<0.001$ 。下同。

Note:# mean $P<0.05$, ## mean $P<0.01$, ### mean $P<0.001$, compared with the control group; * mean $P<0.05$, ** mean $P<0.01$, *** mean $P<0.001$, compared to the model group. The same below.

图2 雌马酚对 CUMS 小鼠体重的影响
Fig.2 Effects of Eq on the body weight of CUMS model mice



注:A. 总路程;B. 平均速度。
Note: A. Total distance; B. Average speed.

图4 雌马酚对 CUMS 模型小鼠自主活动的影响
Fig.4 Effects of Eq on spontaneous activities of CUMS model mice

2.2 雌马酚对小鼠糖水偏爱指数的影响

糖水偏爱指数是评价小鼠快感缺失程度的经典指标。如图3所示,CUMS造模6周后,与空白对照组相比,模型组糖水偏爱指数显著降低($P<0.01$),说明 CUMS 小鼠抑郁模型构建成功;与模型组相比,帕罗西汀组糖水偏爱指数有升高趋势,但无显著性差异,雌马酚中剂量组糖水偏爱指数显著上升($P<0.05$),雌马酚高剂量组糖水偏爱指数有升高趋势,但无显著性差异,与帕罗西汀组的结果一致。

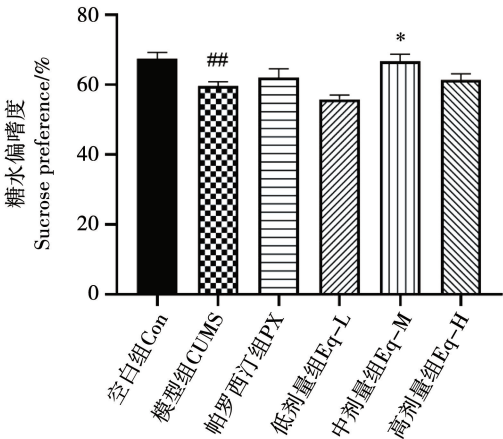
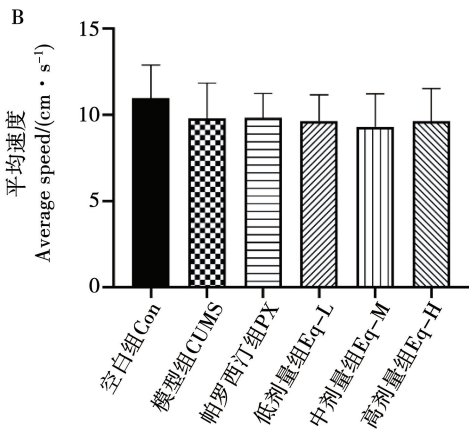


图3 雌马酚对 CUMS 模型小鼠糖水偏爱指数的影响
Fig.3 Effects of Eq on sucrose preference index of CUMS model mice

2.3 雌马酚对小鼠自主活动的影响

如图4所示,各组小鼠的总路程和平均速度无显著性差异,说明42 d CUMS造模、帕罗西汀干预以及雌马酚干预均不影响小鼠的自主活动。



2.4 雌马酚对小鼠悬尾不动时间的影响

如图 5 所示,与空白对照组相比,模型组小鼠在悬尾实验中的不动时间显著增加($P < 0.001$),说明小鼠出现行为绝望的抑郁行为;与模型组相比,帕罗西汀组和雌马酚干预组($10, 20, 40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)小鼠在悬尾实验中的不动时间显著缩短($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$),其中帕罗西汀组缩短小鼠不动时间的效果最好。

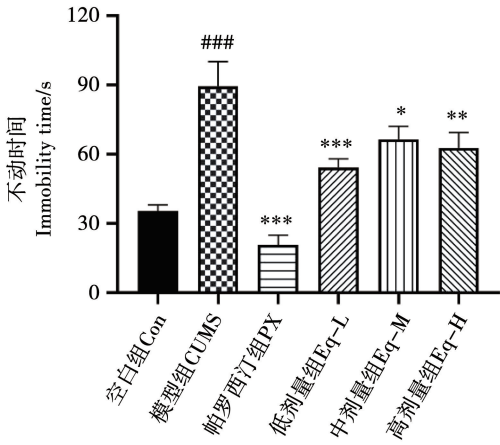


图 5 雌马酚对 CUMS 模型小鼠悬尾不动时间的影响
Fig.5 Effects of Eq on tail suspension immobility time of CUMS model mice

2.5 雌马酚对小鼠强迫游泳不动时间的影响

如图 6 所示,与空白对照组相比,模型组小鼠强迫游泳不动时间显著增加($P < 0.01$);与模型组相比,帕罗西汀组小鼠的不动时间有缩短趋势,但无显著性差异,雌马酚中剂量组和高剂量组小鼠不动时间显著缩短($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),雌马酚低剂量组小鼠不动时间有缩短趋势,但无显著性差异。

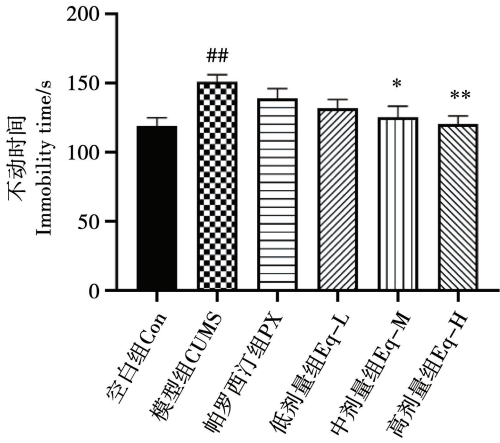


图 6 雌马酚对 CUMS 模型小鼠强迫游泳不动时间的影响
Fig.6 Effects of Eq on forced swimming immobility time of CUMS model mice

2.6 雌马酚对小鼠新奇抑制摄食的影响

如图 7 所示,与空白对照组相比,模型组小鼠摄食潜伏期显著延长($P < 0.001$),说明 42 d CUMS 使小鼠出现了焦虑状态;与模型组相比,帕罗西汀组小鼠摄食潜伏期有缩短趋势,但无显著性差异,雌马酚中剂量组小鼠摄食潜伏期显著缩短($P < 0.05$),雌马酚低、高剂量组小鼠摄食潜伏期也有所缩短,但没有显著性差异。

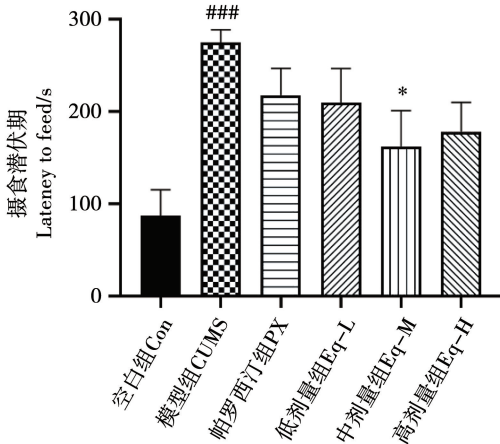


图 7 雌马酚对 CUMS 模型小鼠摄食潜伏期的影响
Fig.7 Effects of Eq on latency to feed of CUMS model mice

2.7 雌马酚对小鼠血清皮质酮水平的影响

如图 8 所示,与空白对照组相比,模型组小鼠血清 CORT 含量显著升高($P < 0.01$),表明 CUMS 组小鼠 HPA 轴过度激活,导致 CORT 水平增加;与模型组相比,雌马酚干预组($10, 20, 40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)小鼠血清 CORT 含量均显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$),说明雌马酚能够改善抑郁小鼠 HPA 轴亢进,使 CORT 分泌减少。

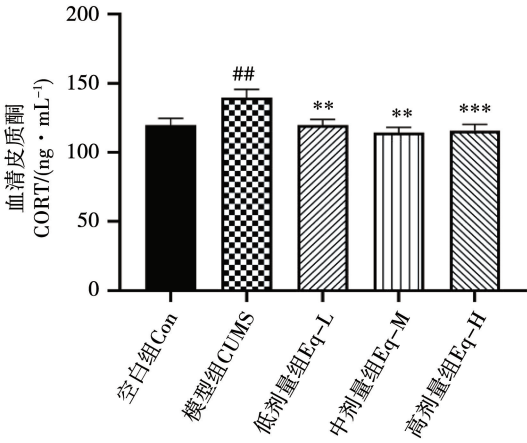


图 8 雌马酚对 CUMS 模型小鼠血清皮质酮水平的影响
Fig.8 Effects of Eq on corticosterone in serum of CUMS model mice

3 讨论

压力与神经系统疾病密切相关,现代社会,长期慢性压力刺激是抑郁症产生和发展的重要诱因。抑郁症患者表现出情绪低落、体重改变、兴趣减退、饮食减少等症状。CUMS 抑郁模型就是通过反复无规律地给予小鼠一系列不可预知的温和刺激,诱发小鼠产生类似于临床抑郁症的行为和生理症状,基于 CUMS 抑郁模型,可以评价活性成分对长期多重压力诱发抑郁的干预作用,是目前最常用、最有效的评价方法^[12-13]。Yan 等^[14]通过 42 d 连续随机给予小鼠不同种刺激的方式建立 CUMS 抑郁模型,模型小鼠出现了明显的抑郁样行为,糖水偏爱率显著降低,摄食潜伏期和强迫游泳实验中的不动时间显著延长;Liu 等^[15]通过 42 d 连续刺激构建 CUMS 小鼠抑郁模型,评价甘草苷的抗抑郁作用;Wang 等^[16]通过 35 d 连续刺激构建 CUMS 小鼠抑郁模型评价梓醇的抗抑郁作用。因此,本研究采用冰水游泳、热水游泳、拥挤、禁食、禁水、湿笼、持续照明、夹尾、空瓶、昼夜颠倒、噪音和束缚作为应激源,每种应激源随机且不重复出现,通过持续 42 d 应激构建 CUMS 抑郁模型,最大限度地模拟抑郁人群生活中所处的应激状态,从而探究雌马酚的抗抑郁作用。

在 CUMS 模型中,随着造模时间延长,小鼠抑郁程度加深,导致食欲下降以及禁食禁水刺激等小鼠的体重出现增长变缓的现象,一定时间后,与空白对照组小鼠相比体重显著降低,因此,造模过程中小鼠体重变化被作为评价抑郁状态的参考指标之一^[17]。本研究中,造模第 7 天小鼠体重直线增长,造模第 14 天直至造模结束小鼠体重增长停滞,且与空白对照组相比有显著性差异,提示模型小鼠已处于抑郁状态,Song 等^[18]的研究也出现类似结果,CUMS 模型大鼠的体重从造模第 7 天开始直至造模结束均显著低于空白对照组;从造模第 28 天开始,给予雌马酚使小鼠体重开始逐渐上升,第 42 天时与模型组相比显著升高,提示雌马酚给药组小鼠的抑郁程度随着给药时间延长而减轻。

空场实验用于评估动物的自发运动和探索行为,本研究中空场实验结果显示各组间没有显著性差异,说明给予雌马酚以及体重变化等因素不会对小鼠的自主活动产生影响,这与之前的研究结果保持了一致,在慢性束缚和慢性睡眠干扰致小鼠抑郁模型中,雌马酚干预也没有使小鼠的自主活动产生显著的变化^[4,5]。快感缺乏表现为对奖励刺激缺乏兴趣,是人患有抑郁症的核心症状之一,在小鼠抑

郁模型中,通常采用糖水偏爱实验评价应激小鼠快感缺失程度^[19],糖水偏爱指数降低,是小鼠抑郁模型的重要表现^[14],42 d 的 CUMS 造模使小鼠蔗糖偏好度显著降低;Wang 等^[20]的结果表明,大豆异黄酮在 CUMS 大鼠抑郁模型中大鼠的糖水偏爱率显著增加,本研究结果显示,通过给予雌马酚,也能够显著增加小鼠的糖水偏爱率,明显减轻 CUMS 小鼠快感缺失症状,在脂多糖和慢性束缚致小鼠抑郁模型中,给予雌马酚同样显著增加了小鼠的糖水偏爱率^[3,4]。

悬尾和强迫游泳是评价药物抗抑郁效果的两种经典行为绝望模型^[21],当小鼠被悬尾或被强迫游泳时,抑郁小鼠求生欲降低,会因挣扎无效而陷入绝望,即表现为不动时间延长,与之前的报道一致^[14],42 d 的 CUMS 造模显著延长了小鼠不动时间;而雌马酚干预可以明显缩短抑郁小鼠的不动时间,有效降低 CUMS 小鼠的绝望程度,结合之前的研究结果^[3-5],这也说明了在不同的抑郁模型中,雌马酚可能都具有减轻小鼠绝望程度的作用。

新奇抑制摄食试验是在动物禁食后将其放入新奇环境,动物的摄食欲望和对新奇环境的恐惧之间会产生矛盾,利用这种矛盾冲突可以评价动物的焦虑状态^[22],42 d 的 CUMS 造模使小鼠的摄食潜伏期显著延长,说明 CUMS 造模使小鼠出现了焦虑状态,这也与之前的报道一致^[14];而通过雌马酚干预可以显著缩短小鼠的摄食潜伏期,明显缓解小鼠的焦虑症状,这与大豆异黄酮缓解焦虑的作用具有一致性,Wang 等^[19]的研究显示,大豆异黄酮在 CUMS 大鼠抑郁模型中能够显著缩短大鼠的暗箱停留时间,暗箱停留时间也是评估大鼠焦虑样行为的重要指标。

以上抑郁行为实验结果表明雌马酚干预可显著改善慢性不可预知刺激诱导的小鼠抑郁样行为,具备抗抑郁功效,同时,这些结果提示了大豆应用于神经调节类功能产品的研发价值。

CORT 水平升高是模型小鼠产生抑郁的重要指标之一。CORT 是 HPA 轴的产物,HPA 轴被认为是与抑郁相关的神经内分泌通路,长期的压力刺激使得 CORT 水平持续升高,从而破坏 HPA 轴的负反馈调节机制,HPA 轴持续亢进,导致内分泌系统平衡失调,最终引发抑郁^[23]。42 d 的 CUMS 造模显著升高了小鼠血清 CORT 水平,说明 HPA 轴过度激活,而给予雌马酚可以显著降低小鼠血清 CORT 水平,提示雌马酚能够通过调节 HPA 轴起到抗抑郁的作用。

4 结论

本研究表明雌马酚干预可以改善慢性不可预知温和刺激诱导的小鼠抑郁样行为,具备抗抑郁活性,其作用与调节 HPA 轴功能有关。本研究结果为后续雌马酚抗抑郁及神经保护作用靶点的深入挖掘提供理论依据,并为神经调节类大豆功能性产品的开发奠定理论基础。

参考文献

[1] ANTONIUK S, BIJATA M, PONIMASKIN E, et al. Chronic unpredictable mild stress for modeling depression in rodents; Meta-analysis of model reliability [J]. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 2019, 99: 101-116.

[2] MAYO B, VAZQUEZA L, FLOREZ B. Equol: A bacterial metabolite from the daidzein isoflavone and its presumed beneficial health effects[J]. Nutrients, 2019, 11(9): 2231.

[3] LU C, GAO R J, ZHANG Y Y, et al. S-equol, a metabolite of dietary soy isoflavones, alleviates lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice by inhibiting neuroinflammation and enhancing synaptic plasticity[J]. Food & Function, 2021, 12(13): 5770-5778.

[4] 任梓溢, 韦震, 姜宁, 等. 雌马酚对慢性睡眠干扰所致小鼠抑郁样行为的改善作用[J]. 大豆科学, 2022, 41(3): 323-329. (REN Z Y, WEI Z, JIANG N, et al. Protective effects of equol on depression-like behavior induced by chronic sleep deprivation in mice[J]. Soybean Science, 2022, 41(3): 323-329.)

[5] 韦震, 高荣静, 张瑛毓, 等. 雌马酚对慢性束缚致抑郁小鼠模型的改善作用及机制研究[J]. 大豆科学, 2022, 41(1): 38-90. (WEI Z, GAO R J, ZHANG Y Y, et al. Protective effects of S-equol on cheonic restraint stress-induced depressive-like behavior in mice[J]. Soybean Science, 2022, 41(1): 38-90.)

[6] CAO L H, ZHAO Y Y, BAI M, et al. Mechanistic studies of gypenosides in microglial state transition and its implications in depression-like behaviors; Role of TLR4/MyD88/NF-κB signaling [J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 838261.

[7] SUN X P, LI S D, SHI Z, et al. Antidepressant-like effects and memory enhancement of a herbal formula in mice exposed to chronic mild stress[J]. Neuroscience Bulletin, 2013, 29(6): 737-744.

[8] LI Y, WANG M L, ZHANG B, et al. Antidepressant-like effect and mechanism of ginsenoside rd on rodent models of depression [J]. Drug Design Development and Therapy, 2022, 16: 843-861.

[9] STERU L, CHERMAT R, THIERRY B, et al. The tail suspension test; A new method for screening antidepressants in mice[J]. Psychopharmacology (Berl), 1985, 85(3): 367-370.

[10] CAO L H, QIAO J Y, HUANG H Y, et al. PI3K-AKT signaling

activation and icariin; The potential effects on the perimenopausal depression-like rat model[J]. Molecules, 2019, 24(20): 3700.

[11] DULAWAS C, HEN R. Recent advances in animal models of chronic antidepressant effects; The novelty-induced hypophagia test [J]. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 2005, 29 (4-5): 771-783.

[12] D'AQUILA P S, BRAIN P, WILLNER P. Effects of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression[J]. Physiology & Behavior, 1994, 56(5): 861-867.

[13] PAPP M, MORYL E, WILLNER P. Pharmacological validation of the chronic mild stress model of depression[J]. European Journal of Pharmacology, 1996, 296(2): 129-136.

[14] YAN Z Y, JIAO H Y, CHEN J B, et al. Antidepressant mechanism of traditional Chinese medicine formula xiaoyaosan in CUMS-induced depressed mouse model *via* RIPK1-RIPK3-MLKL mediated necroptosis based on network pharmacology analysis[J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 12: 773562.

[15] LIU C, YUAN D, ZHANG C, et al. Liquiritin alleviates depression-like behavior in CUMS mice by inhibiting oxidative stress and NLRP3 inflammasome in hippocampus[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2022: 7558825.

[16] WANG Y L, WU H R, ZHANG S S, et al. Catalpol ameliorates depressive-like behaviors in CUMS mice *via* oxidative stress-mediated NLRP3 inflammasome and neuroinflammation [J]. Translational Psychiatry, 2021, 11: 353.

[17] YUAN Q F, DUAN H Z, XU Z Z, et al. Research on the impacts of chronic unpredictable stress on dynamic changes of body weight and inflammatory factors in mice [J]. China Medicine and Pharmacy, 2021, 11(7): 25-28, 39.

[18] SONG M, ZHANG J J, LI X J, et al. Effects of xiaoyaosan on depressive-like behaviors in rats with chronic unpredictable mild stress through HPA axis induced astrocytic activities[J]. Frontiers in Psychiatry, 2020, 11: 545823.

[19] WEISS J M. Does decreased sucrose intake indicate loss of preference in CMS model? [J]. Psychopharmacology, 1997, 134(4): 368-370.

[20] WANG L, WU X J, MAO Y H, et al. Supplementation with soy isoflavones alleviates depression-like behaviour *via* reshaping the gut microbiota structure[J]. Food & Function, 2021, 12(11): 4995-5006.

[21] PORSOLT R D, BERTIN A, JALFRE M. Behavioral despair in mice; A primary screening test for antidepressants[J]. Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie, 1977, 229(2): 327-336.

[22] BLASCO-SERRA A, GONZALEZ-SOLER E M, CERVERA-FERRI A, et al. A standardization of the novelty-suppressed feeding test protocol in rats[J]. Neuroscience Letters, 2017, 658: 73-78.

[23] ZHANG K, WANG Z, PAN X, et al. Antidepressant-like effects of xiaochaihutang in perimenopausal mice [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2020, 248: 112318.