



# 大豆异黄酮对脂多糖诱导小鼠抑郁样行为的改善作用研究

高荣静<sup>1,2</sup>, 黄红<sup>3</sup>, 姜宁<sup>3</sup>, 刘新民<sup>3</sup>, 孙晶<sup>2</sup>, 卢聪<sup>2</sup>, 王凤忠<sup>1,2</sup>

(1. 南京农业大学 食品科技学院, 江苏 南京 210095; 2. 中国农业科学院 农产品加工研究所, 北京 100193; 3. 中国医学科学院 药用植物研究所, 北京 100193)

**摘要:**为研究大豆异黄酮对脂多糖诱导小鼠抑郁样行为的改善作用,将 60 只 SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠按体重随机分为 6 组,每组 10 只,即空白组(Control)、模型组(LPS)、SI 低剂量组(10 mg·kg<sup>-1</sup>)、SI 中剂量组(20 mg·kg<sup>-1</sup>)、SI 高剂量组(40 mg·kg<sup>-1</sup>)和阳性药阿米替林组(10 mg·kg<sup>-1</sup>)。预防给药 14 d 后,首先通过空场试验观察小鼠的自主活动情况,然后采用单次腹腔注射脂多糖(1 mg·kg<sup>-1</sup>)的方法建立抑郁小鼠模型,并于 LPS 注射 24 h 后通过糖水偏爱和悬尾试验对小鼠的抑郁样行为进行评价,采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定小鼠皮层中促炎细胞因子白介素 6(IL-6)、白介素 1β(IL-1β)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)及色氨酸代谢产物犬尿氨酸(kynurenine, KYN)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)的含量。结果表明:大豆异黄酮给药后不影响小鼠的自主活动能力;与空白组相比,LPS 模型组小鼠的糖水偏爱指数显著下降而悬尾不动时间显著延长,表明模型组小鼠出现抑郁样行为;与模型组相比,大豆异黄酮和阳性药阿米替林给药后显著提高小鼠的糖水偏爱指数并缩短悬尾中的不动时间,表明大豆异黄酮预防给药对 LPS 诱导的抑郁行为有改善作用。ELISA 结果显示,与空白组相比,LPS 组小鼠皮层中 IL-6、IL-1β、TNF-α 水平显著升高,色氨酸代谢产物 5-HT 水平显著降低、KYN 水平显著升高,表明 LPS 诱导小鼠出现炎症反应且色氨酸代谢通路异常;与模型组相比,大豆异黄酮和阿米替林预给药显著改善上述异常的指标。综上所述,大豆异黄酮可通过抑制炎症反应和调节色氨酸代谢通路发挥抗抑郁作用。

**关键词:**大豆异黄酮;脂多糖;抗抑郁;炎症反应;色氨酸代谢

## Improvement Effects of Soybean Isoflavones on Lipopolysaccharide-Induced Depression-Like Behavior in Mice

GAO Rong-jing<sup>1,2</sup>, HUANG Hong<sup>3</sup>, JIANG Ning<sup>3</sup>, LIU Xin-min<sup>3</sup>, SUN Jing<sup>2</sup>, LU Cong<sup>2</sup>, WANG Feng-zhong<sup>1,2</sup>

(1. College of Food Science Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100193, China)

**Abstract:** The current study was conducted to explore the effects of soybean isoflavones (SI) on lipopolysaccharide (LPS)-induced depression-like behavior in mice and investigate its possible mechanisms. Sixty SPF C57BL/6J male mice were randomly divided into control group, LPS group, SI low dose group(10 mg·kg<sup>-1</sup>), SI medium dose group(20 mg·kg<sup>-1</sup>), SI high dose group(40 mg·kg<sup>-1</sup>) and positive drug (amitriptyline, 10 mg·kg<sup>-1</sup>) group, with 10 mice in each group. The depression model was established by acute intraperitoneal injection of LPS(1 mg·kg<sup>-1</sup>) once after treatment with SI for two weeks. The open field test was used to observe spontaneous activity of mice. Sucrose preference test and tail suspension test were performed to evaluate the depression behaviors of mice. The inflammatory factors (interleukin-6, interleukin-1β, and tumour necrosis factor-α), tryptophan metabolites kynurenine (KYN) and serotonin (5-HT) in the cortex of mice were measured by ELISA. The results of behavioral tests showed that SI did not affect the spontaneous activities of mice, but reversed the decrease of sucrose preference index and prolonged immobility of tail suspension induced by LPS. The results of ELISA showed that compared with control group, LPS treatment significantly increased the contents of pro-inflammatory cytokines and interrupted tryptophan metabolic pathway. However, SI administration effectively reserved these changes. The current study demonstrated that SI had the antidepressant effect, which may be related to inhibit the inflammatory responses and modulate the tryptophan metabolism.

**Keywords:** Soybean isoflavones; Lipopolysaccharide; Anti-depression; Inflammatory reaction; Tryptophan metabolism

收稿日期:2021-02-02

基金项目:国家大豆产业技术体系建设专项(CARS-04);国家农业科技创新工程项目(125161015000150013);中国农业科学院科技创新工程项目(CAAS-ASTIP-2020-IFST-04);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(S2020JBKY-20);中国农业科学院基本科研业务费专项(Y2020LM05)。

第一作者:高荣静(1997—),女,在读硕士,主要从事大豆功能因子挖掘利用研究。E-mail:15028596679@163.com。

通讯作者:王凤忠(1972—),男,博士,研究员,主要从事农产品功能因子挖掘利用研究。E-mail:wangfengzhong@sina.com;

卢聪(1989—),女,博士,助理研究员,主要从事食药同源功能因子挖掘及利用研究。E-mail:lucong198912@126.com。

抑郁症 (depression) 是一类目前临床表现为失眠焦虑、情绪不振、食欲低下、严重者会有自杀倾向的情感障碍性精神疾病<sup>[1]</sup>。随着人们生活节奏的加快和工作压力的增加,近年来抑郁症发病率逐年递增。据世界卫生组织报道,目前全球抑郁患者已超过 3.5 亿,抑郁症成为仅次于心脑血管疾病的第二大负担疾病<sup>[2]</sup>。然而目前临床上的抗抑郁药物大都存在起效缓慢、副作用大、一旦停止服用易反复等缺点,因此寻求天然安全、具备抗抑郁活性的功能因子,并对其深入开发利用对于抑郁症防治显得尤为重要<sup>[3]</sup>。

大豆异黄酮 (Soybean Isoflavones, SI) 是大豆中一类重要的功能因子,近年来其在神经保护方面的功效受到广泛关注<sup>[4-5]</sup>。研究表明,对阿尔兹海默病 (Alzheimer Disease, AD) 患者每天补充 SI 后可降低体内氧化应激水平,提高患者的语言灵巧度<sup>[6]</sup>。Jiang 等<sup>[7]</sup>通过对暴露于异氟醚 (一种麻醉剂) 的大鼠灌胃给予 SI 后,发现其可通过抑制神经元凋亡、上调脑源性神经营养因子 (Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF) 和环腺苷酸反应元件结合蛋白 (Cyclic AMP Response Element-Binding protein, CREB) 的表达显著改善大鼠在水迷宫试验中受损的空间学习记忆能力。王艳等<sup>[8]</sup>和蔡标等<sup>[9]</sup>等通过侧脑室注射  $\beta$ -淀粉样蛋白 ( $\beta$ -amyloid protein,  $A\beta_{25-35}$ ) 建立大鼠 AD 模型,研究 SI 的神经保护作用,均发现其可以改善 AD 大鼠的学习记忆能力。另外本实验室前期研究结果也表明 SI 对慢性酒精损伤和睡眠干扰所致学习障碍模型小鼠有良好的改善作用<sup>[10-11]</sup>。除改善学习记忆外,有研究学者通过母鼠产后分离建立抑郁模型研究 SI 的抗抑郁活性,发现其可减轻母鼠的抑郁样行为,该作用可能与脑区雌激素受体  $\alpha$  水平降低有关<sup>[12]</sup>。以上研究提示 SI 具备良好的神经保护作用,但在抗抑郁功效方面的研究则鲜有报道。

脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 是革兰氏阴性细菌细胞壁的组成成分,细菌死亡时,其可通过溶解破坏细胞从细胞壁中脱落,因而具有细胞毒性。动物体内注射 LPS 可引发抑郁样行为,黄蕊等<sup>[13]</sup>研究发现 LPS 可通过促进海马内炎症因子表达诱导小鼠出现快感缺失、行为绝望的抑郁样行为。薄秀梅等<sup>[14]</sup>的研究结果表明 LPS 可通过激活 C-Jun 氨基末端激酶、促进神经细胞凋亡诱导小鼠抑郁。此外,袁璐等<sup>[15]</sup>的研究结果也表明腹腔注射 LPS 确实可诱导小鼠出现抑郁样行为。以上提示腹

腔注射 LPS 致小鼠抑郁是一个切实可行的模型,因此本研究采用腹腔注射 LPS 的方法建立抑郁模型,研究大豆异黄酮的抗抑郁活性并探索其作用机制,为大豆异黄酮类功能因子的充分挖掘利用提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 主要试剂和药品 大豆异黄酮 (SI, 纯度 80%, 货号: B25058) 购于上海源叶生物科技有限公司; 脂多糖 (LPS, 血清型 O55: B5, 货号: L2880) 购于美国 Sigma 公司; 盐酸阿米替林 (Amitriptyline hydrochloride, Ami, 货号: A129730) 购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 小鼠白介素 6 (IL-6, 货号: D721022 - 0096)、白介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ , 货号: D721017 - 0096) 酶联免疫吸附检测试剂盒购于上海生工生物工程股份有限公司; 犬尿氨酸 (kynurenine, KYN, 货号: 2M-KMLJM220445m)、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ , 货号: H052) 和 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT, 货号: H104-96t) 酶联免疫吸附检测试剂盒购于南京建成科技有限公司。

1.1.2 供试动物 SPF 级 C57BL/6J 雄鼠 60 只, 4~5 周龄, 购于北京华阜康生物科技股份有限公司 [SCXK(京)2019-0008]。动物购入后饲喂标准繁育饲料及试验动物饮用水, 维持 12 h 光/12 h 暗昼夜节律, 室温 (24  $\pm$  1)  $^{\circ}$ C, 相对湿度为 (55  $\pm$  10) %。所有动物试验均经过动物伦理委员会的批准 (批准号: No. SLXD-2020031623)。

1.1.3 主要仪器 小鼠多功能空场实时检测装置和小鼠悬尾实时检测分析处理系统, 均为北京康森益友科技有限公司和中国医学科学院药用植物研究所、中国航天员中心联合自主研发。

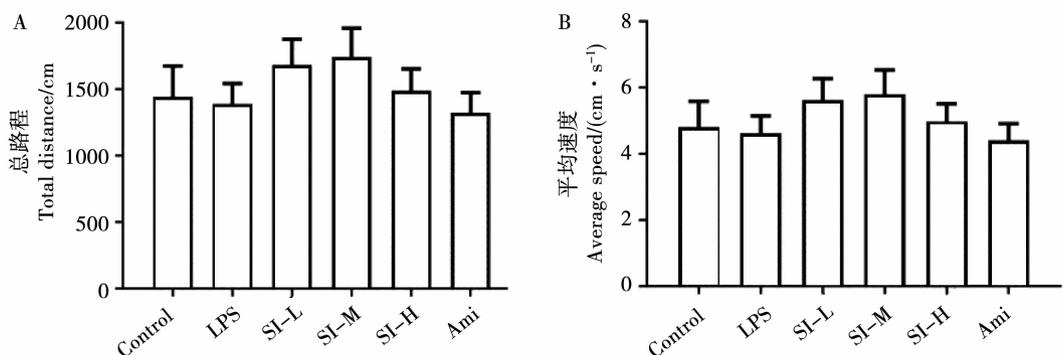
### 1.2 方 法

1.2.1 动物分组及给药 C57BL/6J 小鼠适应性喂养 14 d 后按体重随机分为 6 组, 每组 10 只, 分别为空白对照组 (Control)、模型组 (LPS)、大豆异黄酮低剂量组 (SI-L, 10 mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>)、大豆异黄酮中剂量组 (SI-M, 20 mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>)、大豆异黄酮高剂量组 (SI-H, 40 mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>)、阳性药阿米替林组 (Ami, 10 mg  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>)。分组结束后开始预防性灌胃给药 14 d, 期间大豆异黄酮 3 个剂量组与阳性药组每日给予相应剂量的药物, 大豆异黄酮溶于 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 中, 阿米替林溶于水中, 空白组及模型组每日给予相应体积的 CMC-Na, 各组灌胃量为 0.01 mL  $\cdot$  g<sup>-1</sup>。

预防给药结束后,依次进行空场试验、糖水偏爱和悬尾试验,于检测前 60 min 灌胃给药。

**1.2.2 空场试验** 在预防性灌胃给药结束后于当天进行空场试验,参照黄红等<sup>[16]</sup>方法并进行改进。空场试验在小鼠多功能空场实时检测装置内进行,检测当天未进行 LPS 注射造模,用于考察大豆异黄酮给药对正常小鼠自主活动能力的影响,以排除对后续抑郁行为学检测的干扰。该仪器由 4 个亚克力箱体(30 cm × 28 cm × 35 cm)组成,每个箱体上方有 120 Lux 的光源,并用摄像头对动物的运动进行监测。检测当天于灌胃给药 60 min 后,将小鼠置于空场测试箱的中央,先适应 3 min,随后系统实时在线软件(KSYY-OP-V4.0)自动记录 5 min 内小鼠的总路程和平均速度,作为评价自主活动的指标。每次试验结束后,用 75% 酒精擦洗箱体底板,避免气味对动物产生影响。

**1.2.3 糖水偏爱试验** 在预防性灌胃给药结束后第 1 天进行糖水偏爱试验,该试验是评价动物是否出现快感缺失抑郁样行为的经典行为学试验,参照 Strekalova 等<sup>[17]</sup>的方法,分为适应期和测试期两部分。适应期小鼠单笼饲养后给予 1 瓶 2% 蔗糖水和 1 瓶纯水 48 h,24 h 时交换水瓶位置,让动物适应含糖饮水。适应期结束后对除空白组外的小鼠单次腹腔注射  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  LPS 造模<sup>[14]</sup>,LPS 溶于生理盐水中,注射量为  $0.01 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ ,空白组小鼠则注射等体积的生理盐水。造模后开始进行糖水偏爱测试期,测试前称重糖水和纯水瓶重量,12 h 后交换水瓶位置,24 h 后试验结束再次称重瓶子重量,计算小鼠的糖水偏爱指数( $\%$ ) = 糖水消耗量(g)/总液体消耗量(g) × 100。



A - 总路程; B - 平均速度。

A - Total distance; B - Average speed.

图 1 大豆异黄酮对小鼠自主活动的影响

Fig. 1 The effects of SI on spontaneous activities of mice

## 2.2 大豆异黄酮对小鼠糖水偏爱指数的影响

如图 2 所示,与空白组相比,模型组小鼠的糖水

**1.2.4 悬尾试验** 于给药后第 5 天,LPS 造模 48 h 后进行悬尾试验,该试验是评价动物是否出现行为绝望抑郁样行为的经典试验,参照 Jiang 等<sup>[18]</sup>的方法并改进。在距小鼠尾巴尖约 1 cm 处黏上胶布,使小鼠倒挂悬于悬尾支架的“S”铁钩上,其头部距离悬尾箱底面约 5 ~ 10 cm,悬尾支架与传感器相连,系统自动统计小鼠的不动时间。试验时,小鼠悬挂 2 min 后正式开始试验,系统自动记录小鼠 4 min 内的不动时间。“不动”标准为停止挣扎或无任何活动。

**1.2.5 生物样品采集分析** 行为学检测结束后,小鼠脱颈处死后剥离脑壳,按解剖学位置分离皮层,投入液氮后于  $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$  保存待测。皮层中促炎细胞因子(IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ )及色氨酸代谢产物(5-HT、KYN)的测定按照 ELISA 试剂盒提供的说明书进行。

## 1.3 数据分析

采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,试验结果用“平均值±标准差”表示。数据采用单因素方差分析(One-way ANOVA),不满足正态分布的数据采用非参数检验,组间差异进行 LSD 分析比较。分析结果用 GraphPad Prism software 8.01 软件绘制图表。

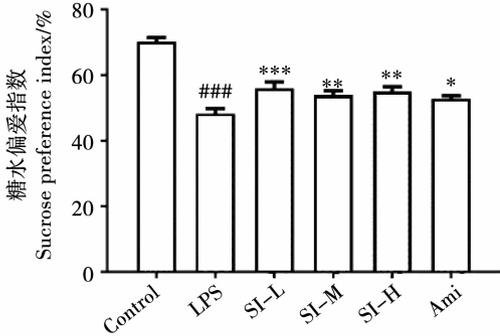
## 2 结果与分析

### 2.1 大豆异黄酮对小鼠自主活动的影响

如图 1 所示,大豆异黄酮和阿米替林预防给药 14 d 后,虽然小鼠的总路程和平均速度呈现增加趋势,但均未出现显著性差异,表明大豆异黄酮预防给药 14 d 未对小鼠的自主活动产生影响。

偏爱指数显著下降( $P < 0.001$ ),表明小鼠出现快感缺失的抑郁样行为;与模型组相比,大豆异黄酮和

阿米替林给药后 LPS 模型小鼠的糖水偏爱指数显著升高( $P < 0.05$ ;  $P < 0.01$ ;  $P < 0.001$ ),表明小鼠的抑郁样行为得到改善。以上结果表明大豆异黄酮给药可显著改善 LPS 模型组小鼠快感缺失的抑郁样行为,提示具有抗抑郁活性。



### - 与空白组相比,在  $P < 0.001$  水平存在显著差异; \* - 与模型组相比,在  $P < 0.05$  水平存在显著差异; \*\* - 与模型组相比,在  $P < 0.01$  水平存在显著差异; \*\*\* - 与模型组相比,在  $P < 0.001$  水平存在显著差异。下同。

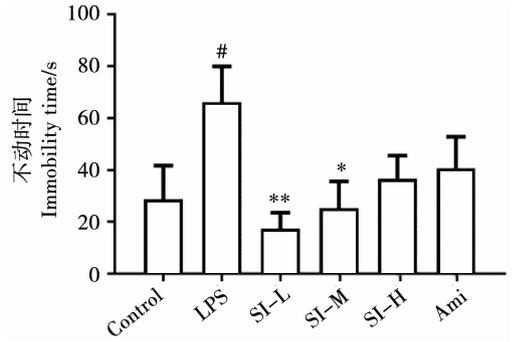
### - There is significant difference at  $P < 0.001$  level compared with control group; \* - There is significant difference at  $P < 0.05$  level compared with model group; \*\* - There is significant difference at  $P < 0.01$  level compared with model group; \*\*\* - There is significant difference at  $P < 0.001$  level compared with model group. The same below.

图2 大豆异黄酮对 LPS 模型小鼠糖水偏爱指数的影响  
Fig. 2 The effects of SI on sucrose preference index in the LPS mice

### 2.3 大豆异黄酮对小鼠悬尾不动时间的影响

如图3所示,与空白组相比,模型组小鼠在悬尾试验中的不动时间显著延长( $P < 0.05$ ),表明小鼠出现行为绝望的抑郁样行为;与模型组相比,大豆异黄酮低、中剂量组给药后显著缩短 LPS 模型小鼠的不动时间( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),表明小鼠的抑郁样行为得到改善。以上结果表明大豆异黄酮给药

可显著改善 LPS 模型组小鼠行为绝望的抑郁样行为,具有抗抑郁作用。

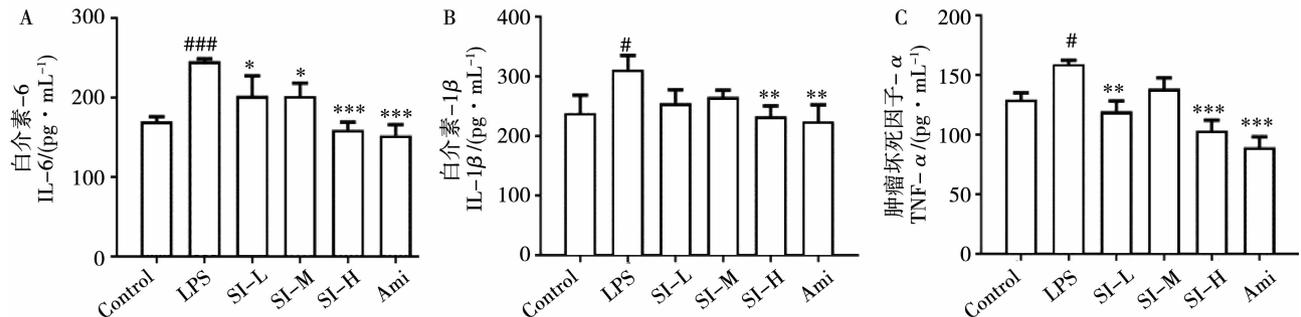


# - 与空白组相比,在  $P < 0.05$  水平存在显著差异。下同。  
# - There is significant difference at  $P < 0.05$  level compared with control group. The same below.

图3 大豆异黄酮对 LPS 模型小鼠悬尾不动时间的影响  
Fig. 3 The effects of SI on immobility time in the LPS mice

### 2.4 大豆异黄酮对小鼠皮层中促炎细胞因子的影响

如图4所示,与空白组相比,模型组小鼠皮层中促炎细胞因子 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量均显著上升( $P < 0.05$ ;  $P < 0.001$ ),表明模型组小鼠出现炎症反应。与模型组相比,阳性药阿米替林给药后皮层中 IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  含量均显著下降( $P < 0.001$ ;  $P < 0.01$ ;  $P < 0.001$ ),大豆异黄酮低、中、高剂量组给药后皮层中 IL-6 含量均显著下降( $P < 0.05$ ;  $P < 0.05$ ;  $P < 0.001$ ),大豆异黄酮高剂量组给药后皮层中 IL-1 $\beta$  含量显著下降( $P < 0.01$ ),大豆异黄酮低、高剂量组给药后皮层中 TNF- $\alpha$  含量均显著下降( $P < 0.01$ ;  $P < 0.001$ ),表明大豆异黄酮给药后可显著降低小鼠皮层中促炎细胞因子 IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  含量,降低炎症反应。以上结果表明大豆异黄酮给药后可显著降低 LPS 模型组小鼠皮层中的炎症反应。



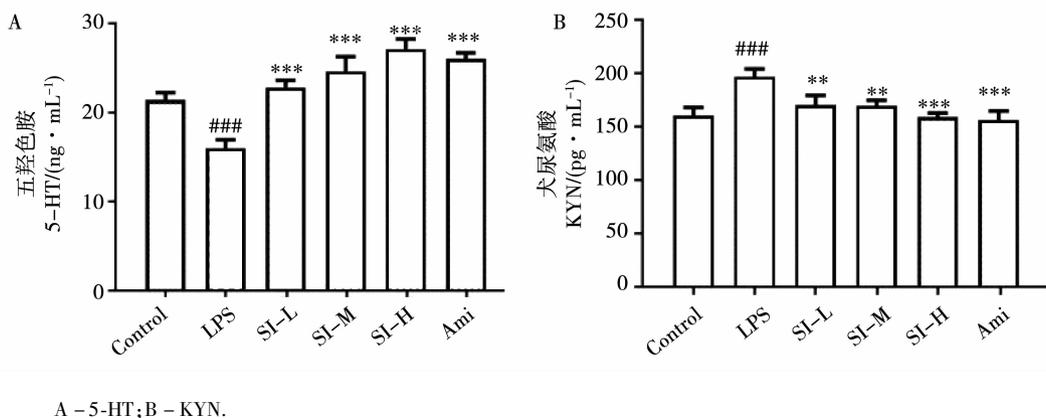
A - IL-6; B - IL-1 $\beta$ ; C - TNF- $\alpha$ .

图4 SI对 LPS 模型小鼠皮层中促炎细胞因子的影响  
Fig. 4 The effects of SI on inflammatory factors in cortex of LPS model mice

## 2.5 大豆异黄酮对小鼠皮层中 5-HT 和 KYN 的影响

如下图 5 所示,与空白组相比,模型组小鼠皮层中 5-HT 含量显著下降( $P < 0.001$ )而 KYN 含量显著升高( $P < 0.001$ ),表明模型组小鼠色氨酸代谢通路异常;与模型组相比,大豆异黄酮低、中、高剂量与阳性药阿米替林给药后小鼠皮层中 5-HT 含量显

著升高( $P < 0.001$ )、KYN 含量显著下降( $P < 0.01$ ;  $P < 0.001$ ),表明大豆异黄酮给药后可显著调节小鼠色氨酸代谢通路。以上结果表明大豆异黄酮给药后可显著回调 LPS 模型组小鼠色氨酸代谢通路紊乱。



A - 5-HT; B - KYN.

图 5 SI 对 LPS 模型小鼠皮层中 5-HT 和 KYN 的影响

Fig. 5 The effects of SI on 5-HT and KYN in cortex of LPS model mice

## 3 讨论

目前,全球每年由于抑郁症自杀的人数达到 85 万,同时抑郁症造成的人际关系损害、劳动力丧失给患者带来沉重的经济和心理负担,因此对抑郁症的预防和治疗意义重大。然而抑郁症发病机制复杂,目前研究较多的发病机制主要有单胺类神经递质假说、细胞因子假说、HPA 轴假说、神经可塑性假说等,临床上用于治疗抑郁症的药物也大都基于以上假说,如传统的抗抑郁药物单胺氧化酶抑制剂(Monoamine Oxidase Inhibitor, MAOI)、三环类药物(Tricyclic Antidepressive Agents, TCAs)、选择性 5-HT 再摄取抑制剂(Selective Serotonin Reuptake Inhibitor, SSRIs)等,但这些药物大都存在起效慢、效果不显著、容易复发且有不良反应(如性功能下降)等缺点,使抑郁症患者得不到理想的治疗<sup>[19]</sup>。近年来研究者们致力于寻找新的抑郁症治疗靶点,炎症假说为其中之一,其认为机体受到应激刺激后引发免疫炎症反应,体内促炎因子水平升高,透过血脑屏障进入脑内干扰神经递质传递功能,引发抑郁症<sup>[20-21]</sup>。腹腔注射 LPS 致小鼠抑郁是基于此假说的经典急性动物模型<sup>[22]</sup>。因此本研究利用单次腹腔注射  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  LPS 制作抑郁模型,采用此模型对大豆异黄酮的抗抑郁功效进行评价。

首先采用空场试验评价大豆异黄酮给药对小鼠自主活动的影响。结果显示,与空白组相比,大豆异黄酮给药组小鼠的总路程和平均速度未出现显著性差异,即预防给药未对小鼠的自主活动能力

产生影响,排除动物自身运动能力变化的影响,为后续的抑郁行为学试验提供参考。快感缺失是抑郁症的典型症状,而糖水偏爱试验是评价动物快感缺失的经典行为学试验方法,其基本原理是利用啮齿类动物天性对甜味的喜爱,试验时同时给予动物一瓶纯水和一瓶糖水,正常动物会更多的饮用糖水,而当动物抑郁时,糖水饮用量会减少<sup>[23]</sup>。本研究中注射 LPS 后,小鼠的偏爱指数显著降低,表明小鼠出现抑郁行为,这与之前报道一致<sup>[24]</sup>。而大豆异黄酮给药后显著升高了偏爱指数,表明大豆异黄酮对 LPS 诱导的小鼠抑郁行为有明显改善作用。行为绝望也是抑郁症的典型症状,悬尾试验是评价动物行为绝望的经典行为学方法,其基本原理是当动物处于一种无法逃脱的不利环境中时会产生绝望,即停止挣扎(静止不动),而停止挣扎的时间长短则被用来评价抑郁的严重程度,不动时间越长,抑郁程度越严重<sup>[25]</sup>。本研究中与空白组相比,LPS 模型组小鼠的不动时间显著延长,而大豆异黄酮( $10$  和  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )给药后显著逆转这一情况,表明大豆异黄酮对 LPS 诱导的抑郁行为有改善作用。

免疫系统在抑郁症发病过程中扮演重要角色,研究表明外周及中枢神经免疫系统受到应激被激活后导致免疫细胞分泌细胞因子增多,后者直接或间接作用于大脑,影响大脑内环境稳态,从而导致抑郁<sup>[26-27]</sup>。本研究中在注射了 LPS 后小鼠皮层中的促炎细胞因子明显增多,说明脑内发生了炎症反应,而大豆异黄酮给药后改善了这种情况,表明大豆异黄酮可能通过减轻脑内炎症反应达到抗抑郁

的效果。5-HT 是生物体内一种重要的单胺类神经递质,可调节睡眠、情绪和行为,当其含量降低时,会影响前额叶皮层和海马区的 BDNF 表达,影响神经元活性,降低神经发生,导致抑郁<sup>[28]</sup>。其在机体内主要通过色氨酸代谢产生,色氨酸在体内有两条代谢途径:一是在色氨酸羟化酶的作用下生成 5-HT;二是经色氨酸 2,3 - 双加氧酶(TDO)和吲哚胺 2,3 - 双加氧酶(IDO)催化生成 KYN,而 KYN 会产生神经毒性<sup>[29]</sup>。研究表明,促炎细胞因子在炎症状态下可上调 IDO 的表达,而 IDO 是 KYN 途径的限速酶,当其表达增加时,大量色氨酸代谢成 KYN,5-HT 合成竞争性减少<sup>[30]</sup>。本研究中腹腔注射 LPS 后小鼠皮层中促炎细胞因子的含量显著上调,从而导致 IDO 过度表达,色氨酸代谢通路紊乱,5-HT 水平显著减少而 KYN 水平显著升高,与之前文献报道一致<sup>[31]</sup>。大豆异黄酮预防给药后小鼠皮层内 5-HT 含量显著升高而 KYN 含量显著下降,提示大豆异黄酮可能是通过回调色氨酸代谢通路紊乱发挥抗抑郁作用。

阳性药阿米替林是临床中常用的三环类抗抑郁药物,可通过非选择性的抑制突触前膜对 5-HT 再摄取,提高突触间隙中 5-HT 含量发挥抗抑郁作用<sup>[32]</sup>。本研究结果显示阿米替林可显著下调 LPS 模型小鼠皮层的促炎细胞因子水平、提升 5-HT 水平、降低 KYN 含量,并显著改善 LPS 诱导的小鼠糖水偏爱指数下降,但试验中悬尾不动时间缩短并不显著,这可能与三环类药物具有镇静作用有关<sup>[33]</sup>。此外,研究发现无论是糖水偏爱试验还是悬尾试验,大豆异黄酮对 LPS 模型小鼠抑郁样行为的改善作用均强于阿米替林,提示大豆异黄酮也可用于抑郁症的防治。

## 4 结 论

大豆异黄酮可显著改善脂多糖诱导的小鼠抑郁样行为,具有抗抑郁活性,且该作用与其能抑制小鼠脑内的炎症反应并回调色氨酸代谢紊乱相关。本研究可为大豆功能因子 - 大豆异黄酮用于抑郁症的防治提供数据支持,并为大豆异黄酮的综合开发利用奠定理论基础。

## 参考文献

[1] Martins J, Brijesh S. Phytochemistry and pharmacology of anti-depressant medicinal plants: A review [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 104: 343-365.

[2] Tran B X, Ha G H, Nguyen D N, et al. Global mapping of interventions to improve quality of life of patients with depression during

1990-2018[J]. *Quality of Life Research*, 2020, 29(9): 2333-2343.

[3] 何海然,薛占霞. 抑郁症相关发病机制的研究进展[J]. *神经药理学报*, 2016, 6(2): 20-25. (He H R, Xue Z X. Research progress of depression-related pathogenesis [J]. *Journal of Neuropharmacology*, 2016, 6(2): 20-25.)

[4] 李硕,王建. 大豆异黄酮临床应用的研究进展[J]. *大豆科学*, 2020, 39(4): 633-640. (Li S, Wang J. Research progress in clinical application of soybean isoflavones [J]. *Soybean Science*, 2020, 39(4): 633-640.)

[5] 张珍,韩领,夏晓洋,等. 大豆异黄酮神经保护作用的研究进展[J]. *中国食物与营养*. 2019, 25(1): 53-57. (Zhang Z, Han L, Xia X Y, et al. Research progress on neuroprotection of soybean isoflavones [J]. *Chinese Food and Nutrition*, 2019, 25(1): 53-57.)

[6] Gleason C E, Fischer B L, Dowling N M, et al. Cognitive effects of soy isoflavones in patients with Alzheimer's disease[J]. *Journal of Alzheimers Disease*, 2015, 47(4): 1009-1019.

[7] Jiang T, Wang X, Ding C, et al. Genistein attenuates isoflurane-induced neurotoxicity and improves impaired spatial learning and memory by regulating cAMP/CREB and BDNF-TrkB-PI3K/Akt signaling[J]. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 2017, 21(6): 579.

[8] 王艳,汪远金,蔡标,等. 大豆异黄酮对 AD 大鼠海马 CaM-CaMPK 信号转导通路相关蛋白的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(4): 952-954. (Wang Y, Wang Y J, Cai B, et al. Effect of soybean isoflavones on proteins related to CaM-CaMPK signal transduction pathway in hippocampus of AD rats [J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2014, 34(4): 952-954.)

[9] 蔡标,彭代银,汪远金,等. 大豆异黄酮对 AD 大鼠海马 NO-cGMP 信号转导系统的影响[J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(2): 220-223. (Cai B, Peng D Y, Wang Y J, et al. Effects of soybean isoflavones on NO-cGMP signal transduction system in hippocampus of AD rats [J]. *Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2011, 36(2): 220-223.)

[10] Lu C, Gao R, Lyu J, et al. Neuroprotective effects of soy isoflavones on chronic ethanol-induced dementia in male ICR mice [J]. *Food Function*, 2020, 11(11): 10011-10021.

[11] Lu C, Wang Y, Wang D, et al. Neuroprotective effects of soy isoflavones on scopolamine-induced amnesia in mice [J]. *Nutrients*, 2018, 10(7): 853.

[12] 何凤琴,向全丽,屈庚超,等. 大豆异黄酮影响 C57BL/6J 母鼠行为与雌激素受体  $\alpha$  的关系[J]. *西安文理学院学报(自然科学版)*, 2020, 23(1): 50-55. (He F Q, Xiang Q L, Qu G C, et al. The relationship between soybean isoflavones and estrogen receptor  $\alpha$  in C57BL/6J female mice [J]. *Journal of Xi'an University of Arts and Sciences (Natural Science Edition)*, 2020, 23(1): 50-55.)

[13] 黄蕊,罗涛,刘永芳,等. 丙泊酚对脂多糖诱导的脓毒症小鼠抑郁样行为和海马炎症反应的影响[J]. *神经损伤与功能重建*. 2020, 15(6): 325-328. (Huang R, Luo T, Liu Y F, et al. Effects of propofol on depressive behavior and hippocampal inflammatory response in lipopolysaccharide-induced sepsis mice [J]. *Nerve Injury and Functional Reconstruction*, 2020, 15(6): 325-328.)

[14] 薄秀梅,贺玲,张荣丽,等. 姜黄素对脂多糖诱导的小鼠抑郁样

- 行为的影响及机制[J]. 安徽医科大学学报, 2020, 55(7): 1064-1068. (Bo X M, He L, Zhang R L, et al. Effect of curcumin on lipopolysaccharide-induced depression-like behavior in mice and its mechanism [J]. Journal of Anhui Medical University, 2020, 55(7): 1064-1068.)
- [15] 袁璐,李晋熙,罗跃嘉. 脂多糖连续注射诱发小鼠抑郁行为及认知改变[J]. 成都医学院学报, 2017, 12(5): 536-540. (Yuan L, Li J X, Luo Y J. Depressive behavior and cognitive changes induced by continuous injection of lipopolysaccharide in mice [J]. Journal of Chengdu Medical College, 2017, 12(5): 536-540.)
- [16] 黄红,陈碧清,姜宁,等. 鲜天麻对睡眠干扰诱导小鼠学习记忆障碍的改善作用[J]. 中草药, 2020, 51(9): 2509-2516. (Huang H, Chen B Q, Jiang N, et al. Effect of fresh *Gastrodiaeata Blume* on learning and memory impairment induced by sleep disturbance in mice [J]. Chinese Herbal Medicine, 2020, 51(9): 2509-2516.)
- [17] Strekalova T, Spanagel R, Bartsch D, et al. Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration[J]. Neuropsychopharmacology, 2004, 29(11): 2007-2017.
- [18] Jiang N, Wang H, Li C, et al. The antidepressant-like effects of the water extract of *Panax ginseng* and *Polygala tenuifolia* are mediated via the BDNF-TrkB signaling pathway and neurogenesis in the hippocampus [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2021, 267: 113625.
- [19] 冯殿伟. 抑郁症治疗靶标及其药物研发进展[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(4): 443-449. (Feng D W. Progress in research and development of therapeutic targets and drugs for depression [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2018, 38(4): 443-449.)
- [20] Remus J L, Dantzer R. Inflammation models of depression in rodents: Relevance to psychotropic drug discovery [J]. The International Journal of Neuropsychopharmacology, 2016, 19(9): pyw028.
- [21] Lichtblau N, Schmidt F M, Schumann R, et al. Cytokines as biomarkers in depressive disorder: Current standing and prospects [J]. International Review of Psychiatry, 2013, 25(5): 592-603.
- [22] 胡明会,李亚琼,张浩,等. 基于抑郁症动物模型炎症机制的研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(12): 2294-2298. (Hu M H, Li Y Q, Zhang H, et al. Research progress of inflammation mechanism based on depression animal model [J]. Medical Review, 2019, 25(12): 2294-2298.)
- [23] Bekris S, Antoniou K, Daskas S, et al. Behavioural and neurochemical effects induced by chronic mild stress applied to two different rat strains[J]. Behavioural Brain Research, 2005, 161(1): 45-59.
- [24] Lim D W, Park J, Han D, et al. Anti-inflammatory effects of Asianfawn Lily (*Erythronium japonicum*) extract on lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice[J]. Nutrients, 2020, 12(12): 3809.
- [25] Zhang L, Zhao N, Guo W, et al. Antidepressant-like and anxiolytic-like effects of YL-IPA08, a potent ligand for the translocator protein (18 kDa) [J]. Neuropharmacology, 2014, 81: 116-125.
- [26] Valkanova V, Ebmeier K P, Allan C L. CRP, IL-6 and depression: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies[J]. Journal of Affective Disorders, 2013, 150(3): 736-744.
- [27] Schmidt F M, Lichtblau N, Minkwitz J, et al. Cytokine levels in depressed and non-depressed subjects, and masking effects of obesity[J]. Journal of Psychiatric Research, 2014, 55: 29-34.
- [28] Wang J, Jia Y, Li G, et al. The dopamine receptor D3 regulates lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice[J]. The International Journal of Neuropsychopharmacology, 2018, 21(5): 448-460.
- [29] 吴月容,谷有全,秦红岩. 色氨酸代谢对卒中后抑郁影响的研究[J]. 临床神经病学杂志, 2020, 33(3): 222-225. (Wu Y R, Gu Y Q, Qin H Y. The effect of tryptophan metabolism on post-stroke depression [J]. Journal of Clinical Neurology, 2020, 33(3): 222-225.)
- [30] O'Connor J C, Andre C, Wang Y, et al. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha mediate the upregulation of indoleamine 2,3-dioxygenase and the induction of depressive-like behavior in mice in response to bacillus Calmette-Guerin [J]. Journal of Neuroscience, 2009, 29(13): 4200-4209.
- [31] Walker A K, Budac D P, Bisulco S, et al. NMDA receptor blockade by ketamine abrogates lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in C57BL/6J mice [J]. Neuropsychopharmacology, 2013, 38(9): 1609-1616.
- [32] 屈悦. 抗抑郁药物的临床应用进展[J]. 蛇志, 2010, 22(2): 142-144. (Qu Y. Clinical application progress of antidepressants [J]. Journal of Snake, 2010, 22(2): 142-144.)
- [33] 陈景清,张丽,付凤珍,等. 帕罗西汀、文拉法辛、阿米替林对首发抑郁症认知功能的影响[J]. 精神医学杂志, 2011, 24(4): 263-266. (Chen J Q, Zhang L, Fu F Z, et al. Effects of paroxetine, venlafaxine and amitriptyline on cognitive function of first-episode depression [J]. Journal of Psychiatry, 2011, 24(4): 263-266.)