

基于 BDNF/TrkB/CREB 信号通路探讨鼠尾草酸对大鼠抑郁样行为的改善作用

邓祥敏¹, 阮仁余², 朱星宇¹, 叶耘峰¹, 吴鑫¹, 马艳春^{3*}

(1. 江苏护理职业学院药学与中药学院, 江苏 淮安 223005; 2. 江苏食品药品职业技术学院本科生院, 江苏 淮安 223003; 3. 黑龙江中医药大学基础医学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: **目的** 探讨鼠尾草酸对抑郁大鼠行为学的干预作用及对 BDNF/TrkB/CREB 信号通路的影响。**方法** 大鼠随机分为空白组、模型组、阳性组及鼠尾草酸高、中、低剂量组, 以慢性不可预知温和应激结合孤养方法复制大鼠抑郁症模型。鼠尾草酸高、中、低剂量组分别灌胃给予鼠尾草酸 4.5、1.5、0.5 mg/kg; 阳性组灌胃给予盐酸氟西汀 1.8 mg/kg; 空白组和模型组灌胃给予等体积生理盐水, 每天 1 次, 连续 21 d。采用蔗糖偏好测试、悬尾实验和旷场实验评估大鼠行为学变化, ELISA 法检测血清皮质酮 (CORT)、去甲肾上腺素 (NE)、5-羟色胺 (5-HT) 水平, 免疫组化法分析大鼠海马 BDNF、CREB 阳性细胞分布, RT-qPCR 和 Western blot 法检测海马组织 BDNF、CREB mRNA 及 BDNF、酪氨酸激酶受体 B (TrkB)、CREB 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 鼠尾草酸各剂量组大鼠蔗糖偏好率和自发运动次数升高 ($P<0.05$), 悬尾不动时间缩短 ($P<0.05$); 血清 5-HT、NE 水平升高 ($P<0.05$), CORT 水平降低 ($P<0.05$); 海马区 BDNF、CREB 阳性细胞分布, BDNF、CREB mRNA 表达及 BDNF、TrkB、CREB 蛋白表达均升高 ($P<0.05$)。**结论** 鼠尾草酸可剂量依赖性地改善大鼠抑郁样行为, 其机制可能与调控 BDNF/TrkB/CREB 信号通路有关。

关键词: 鼠尾草酸; 抑郁症; BDNF/TrkB/CREB 信号通路; 神经保护

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2022)12-4009-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.12.045

抑郁症是一类以精神障碍为突出表现的中枢神经系统疾病, 据世界卫生组织统计, 全球约有 3.5 亿人正饱受抑郁症的困扰^[1-2], 约占全球人口 4.4%, 特别是在如今冠状病毒病 (COVID-19) 大流行的特殊时期, 抑郁症和焦虑症的患病率、复发率在全球范围内与日俱增^[3], 而处于一线的医护工作人员和社区防疫人员更易产生与 COVID-19 相关的心理困扰^[4-5]。目前临床上针对抑郁症的治疗主要依赖于口服 SSRIs、三环类抗抑郁药物 (TCAs) 等中枢抗抑郁药, 但普遍存在起效迟缓、不良反应严重、价格高、停药易复发等弊端^[6-7]。

在我国诸多天然抗抑郁药物均有着良好的临床应用基础和广阔的应用前景, 其中迷迭香 *Rosmarinus officinalis* L 已被证明具有镇静安神、醒脑开窍作用, 中医临床常将其用于失眠、心悸、头痛等病症的治疗^[8]。现代药理学研究证实, 迷迭香具有明显的抗抑郁作用^[9]。鼠尾草酸是迷迭香的主要活性成分, 前期研究发现鼠尾草酸可通过调节特殊脑区 5-HT 能神经递质代谢改善大鼠抑郁样行为^[10], 但其具体机制尚不明确。基于此, 本研究在前期基础上以不

同剂量鼠尾草酸对抑郁症大鼠进行干预, 并基于 BDNF/TrkB/CREB 信号通路探讨其可能的作用机制, 以期鼠尾草酸作为新型抗抑郁药物研发奠定实验基础。

1 材料

1.1 药物 鼠尾草酸 (纯度 98.92%, 批号 140519, 上海融禾医药科技发展有限公司); 盐酸氟西汀 (国药准字 HJ20181215, 批号 A207315, 礼来苏州制药有限公司)。

1.2 动物 雄性健康 SD 大鼠, SPF 级, 体质量 (200±20) g, 由南京大学-南京生物医药研究院提供, 实验动物生产许可证号 SCXK (苏) 2015-0001。大鼠饲养于黑龙江中医药大学动物实验中心实验室, 在光照/黑暗循环 12 h, 恒温 (25±2)℃ 条件下饲养, 自由饮水进食。实验在黑龙江中医药大学和淮安市“天医星”医学检验重点实验室完成, 动物实验经黑龙江中医药大学动物伦理委员会批准 (编号 200512)。

1.3 试剂 大鼠皮质酮 (CORT)、去甲肾上腺素 (NE)、5-羟色胺 (5-HT) ELISA 试剂盒 (美国 Sigma 公司); BCA 蛋白质测定试剂盒、Trizol 试剂盒、RevertAid First Strand

收稿日期: 2022-04-07

基金项目: 江苏省卫生健康委科研项目 (Z2020054); 淮安市“天医星”医学检验重点实验室 (HAP202004); 江苏省高职院校青年教师企业实践培训资助项目 (2020QYSJPX014)

作者简介: 邓祥敏 (1983—), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为中药药理学。E-mail: dengxiangmin163@sina.com

* 通信作者: 马艳春 (1972—), 女, 博士, 研究员, 研究方向为慢性病中医药防治研究。E-mail: yanchunma@163.com

cDNA Synthesis Kit、Applied Biosystem™ SYBR 试剂盒（美国 Thermo Fisher 公司）；RIPA 蛋白裂解液、山羊血清封闭液、苏木素染液（上海碧云天生物技术有限公司）；BDNF、TrkB、CREB、β-actin 一抗、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 二抗（英国 Abcam 公司）；DAB 显色试剂盒、ECL 化学发光试剂（南京建成生物工程研究所）。

1.4 仪器 TG18.5 型台式高速离心机（上海卢湘仪离心机仪器有限公司）；Leica DMi8 型光学显微镜（德国 Leica 公司）；Stuart SHM2 型组织匀浆器（英国 Bibby-Stuart 公司）；752 型紫外可见分光光度计（上海光学仪器有限公司）；ELx808 型酶标仪（美国 BioTek 公司）；SDS-PAGE 凝胶电泳仪（美国 Bio-Rad 公司）；PCR 仪（杭州博日科技股份有限公司）；全自动荧光定量 PCR 检测系统（上海宏石医疗科技有限公司）。

2 方法

2.1 分组与造模 90 只大鼠随机分为空白组、模型组、阳性组及鼠尾草酸高、中、低剂量组，每组 15 只。空白组大鼠常规群养，自由饮水进食，不给予任何刺激；其余各组大鼠均单笼饲养，以慢性不可预知温和应激结合孤养方法复制大鼠抑郁症模型^[11]，给予包括禁水 24 h、禁食 24 h、4 ℃冰水游泳 5 min、45 ℃热水游泳 5 min、夹尾 2 min、悬尾 20 min、束缚应激 2 h、水平震荡 5 min、潮湿垫料 24 h、昼夜颠倒 24 h 等共 10 种刺激，每天随机给予 1~2 种，相邻 2 d 不重复，共持续刺激 21 d。

2.2 给药干预 模型复制的同时，鼠尾草酸各组大鼠分别灌胃给予相应剂量的鼠尾草酸（根据人与大鼠体质量换算药物剂量，高、中、低剂量组给药剂量分别为 4.5、1.5、0.5 mg/kg）；阳性组灌胃给予盐酸氟西汀（1.8 mg/kg）；空白组和模型组灌胃给予等体积生理盐水，每天 1 次，连续 21 d。

2.3 行为学检测

2.3.1 蔗糖偏好测试 蔗糖偏好测试被广泛用于检测大鼠的快感缺乏^[12]，测试前预先训练 1 周，让大鼠适应性喝 2 瓶水。测试阶段每只大鼠单笼饲养，每笼放置 2 个外观相同且体积相等的水瓶，一瓶装纯水，一瓶装 2% 蔗糖溶液，随机放置，测试前称量 2 个水瓶质量，12 h 后换位 1 次，24 h 后再次称量 2 个水瓶质量，计算蔗糖偏好率，公式为蔗糖偏好率 = [蔗糖摄入量 /（蔗糖摄入量 + 纯水摄入量）] × 100%。

2.3.2 悬尾实验 悬尾实验是一种经典的行为测试，广泛用于评估抑郁程度和对抗抑郁治疗的反应^[13]。将大鼠倒挂在实验操作台边缘，在距离尾尖 5 cm 处粘贴胶带，头离地面至少 10 cm。整个实验时间为 6 min，前 2 min 不记录，让大鼠适应倒立状态，后 4 min 记录大鼠的不动时间，评估抑郁程度。

2.3.3 旷场实验 旷场实验可用于检测大鼠的自发运动活力^[14]。实验在安静、黑暗环境中进行，将大鼠置于实验用敞箱（100 cm×100 cm×50 cm）中自由活动，箱内壁为黑

色，箱底部为白色，分成 25 个相等面积的正方形，自大鼠被放置在箱中心位置起，用摄相机连续拍摄 5 min。采用 SuperMaze 软件对大鼠的移动轨迹进行分析，记录大鼠的水平运动（穿越箱底面方格次数）和垂直运动（抬起前肢或攀附箱壁次数）情况。

2.4 ELISA 法检测血清 CORT、NE、5-HT 水平 大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉后仰位固定，腹主动脉取血约 5 mL，3 500 r/min 离心 10 min，取上层血清于 -80 ℃中保存待测，按照 ELISA 试剂盒说明书检测大鼠血清 CORT、NE、5-HT 水平。

2.5 免疫组化法检测海马组织 BDNF、CREB 阳性细胞分布 大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛麻醉，开胸暴露心脏，0.9% 生理盐水和 4% 多聚甲醛溶液依次心脏灌注，断头取脑，10% 中性甲醛溶液固定，梯度乙醇脱水，石蜡包埋，切片，脱蜡，3% H₂O₂ 孵育 10 min，PBS 冲洗，血清封闭 30 min，滴加稀释后的 BDNF、CREB 一抗（1：100），4 ℃过夜，PBS 冲洗，滴加稀释后的二抗，37 ℃孵育 30 min，PBS 冲洗，DAB 显色，苏木素复染，梯度乙醇脱水，透明，封片后置于光镜下观察，每只大鼠随机选取 3 个切片，采用 Image Pro Plus7.0 图像分析系统计算海马区 BDNF、CREB 阳性细胞的平均光密度值（IOD SUM/area）。

2.6 RT-qPCR 法检测海马组织 BDNF、CREB mRNA 表达 按“2.5”项下方法取大鼠全脑，分离海马组织，使用 TRIzol 试剂提取总 RNA，紫外分光光度法测定总 RNA 浓度，将总 RNA 逆转录为 cDNA，然后进行 RT-qPCR 反应，PCR 扩增反应程序为 95 ℃预变性 3 min；95 ℃变性 15 s，60 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 30 s，共 40 个循环。导出扩增曲线，获取 C_T 值，以 2^{-ΔΔCT} 法计算各目的基因相对表达，引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	序列
BDNF	正向 5'-TAGCCAGTAAGCGAACTGTC-3'
	反向 5'-CCGATGAGCCAACGTAGTTG-3'
CREB	正向 5'-AGCCTGGCTACTAGCAGTC-3'
	反向 5'-GACTACTGCCATGTCCTTC-3'
β-actin	正向 5'-CGGTCAGCTGGCATCCGATC-3'
	反向 5'-CAGGACGTAACCTAAGTTCGC-3'

2.7 Western blot 法检测海马组织 BDNF、TrkB、CREB 蛋白表达 按“2.5”项下方法取大鼠全脑，分离海马组织，加入 RIPA 蛋白裂解液匀浆 30 min，10 000 r/min 离心 10 min，提取上清液，BCA 法测定总蛋白浓度，加入蛋白缓冲液后变形，10% SDS-PAGE 分离蛋白并转移到 PVDF 膜上，TBST 漂洗后加入 5% 脱脂奶粉溶液，密封避光孵育 2 h，TBST 洗膜，滴加稀释后的 BDNF、酪氨酸激酶受体 B（TrkB）和 CREB 一抗（1：1 000），4 ℃孵育过夜，次日 TBST 洗膜，滴加稀释后的二抗（1：2 000），室温孵育 2 h，TBST 洗膜，ECL 试剂显影、曝光，Bio-Rad 凝胶成像分析系统分析电泳条带图像，计算各目的蛋白相对表达量。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 24.0 软件进行处理，采用

Graphpad prism 5 绘制统计图, 计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 多组间比较采用方差分析, 两两比较采用 SNK-*q* 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 鼠尾草酸对抑郁大鼠行为学的影响 与空白组比较, 模型组大鼠蔗糖偏好率降低 ($P<0.01$), 悬尾不动时间延

长 ($P<0.01$), 自发运动次数减少 ($P<0.01$), 提示抑郁症模型复制成功; 与模型组比较, 鼠尾草酸各剂量组均可提高大鼠蔗糖偏好率 ($P<0.05$, $P<0.01$), 缩短悬尾不动时间 ($P<0.05$, $P<0.01$), 增加自发运动次数 ($P<0.05$, $P<0.01$), 并呈剂量依赖性, 其中鼠尾草酸高剂量组作用与阳性组相当, 见表 2。

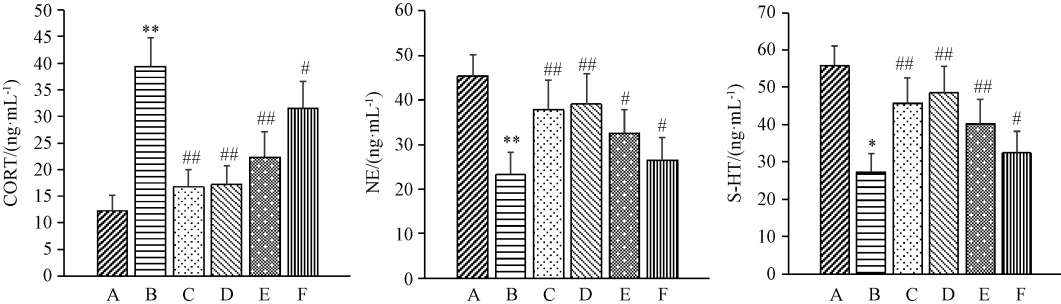
表 2 鼠尾草酸对抑郁大鼠行为学的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=15$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	蔗糖偏好率/%	悬尾不动时间/s	自发运动次数/次
空白组	—	85.42±4.31	54.20±3.56	77.05±3.54
模型组	—	54.26±5.72**	96.42±6.43**	36.21±4.19**
阳性组	1.8	80.95±4.37##	61.80±5.72##	65.35±4.72##
鼠尾草酸高剂量组	4.5	81.26±5.41##	58.27±7.04##	63.70±5.58##
鼠尾草酸中剂量组	1.5	67.64±5.88#	76.35±6.25##	55.68±4.76##
鼠尾草酸低剂量组	0.5	62.03±6.24#	85.46±5.38#	41.93±4.43*

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

3.2 鼠尾草酸对抑郁大鼠血清 CORT、NE、5-HT 水平的影响 与空白组比较, 模型组大鼠血清 5-HT、NE 水平降低 ($P<0.01$), CORT 水平升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 鼠

尾草酸各剂量组大鼠血清 5-HT、NE 水平升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), CORT 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 并呈剂量依赖性, 其中鼠尾草酸高剂量组作用与阳性组相当, 见图 1。

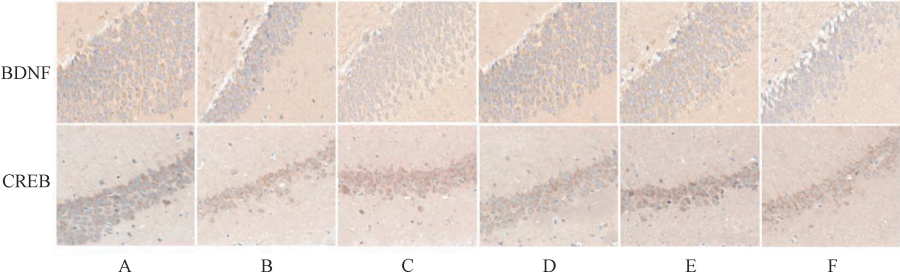


注: A 为空白组, B 为模型组, C 为阳性组, D~F 为鼠尾草酸高、中、低剂量组。与空白组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

图 1 鼠尾草酸对抑郁大鼠血清 CORT、NE、5-HT 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=15$)

3.3 鼠尾草酸对抑郁大鼠海马组织 BDNF、CREB 阳性表达的影响 光镜下大鼠海马区存在 BDNF、CREB 阳性细胞表达, 染色主要存在于细胞浆和树突中。如图 2~3 所示, 与空白组比较, 模型组大鼠海马组织 BDNF、CREB 表达均

减少 ($P<0.01$); 与模型组比较, 鼠尾草酸各剂量组大鼠海马组织 BDNF、CREB 表达均升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 并呈剂量依赖性, 其中鼠尾草酸高剂量组作用与阳性组相当。



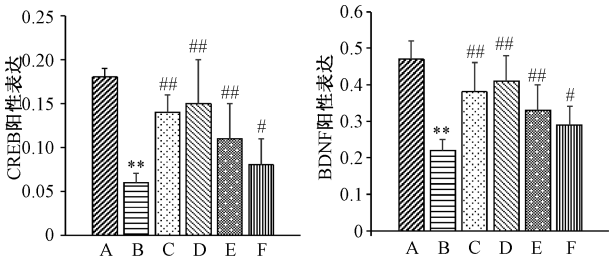
注: A 为空白组, B 为模型组, C 为阳性组, D~F 为鼠尾草酸高、中、低剂量组。

图 2 各组大鼠海马组织 BDNF、CREB 阳性细胞分布 ($\times 40$)

3.4 鼠尾草酸对抑郁大鼠海马组织 BDNF、CREB mRNA 表达的影响 与空白组比较, 模型组大鼠海马组织 BDNF、CREB mRNA 表达均降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, 鼠尾草酸各剂量组大鼠海马组织 BDNF、CREB mRNA 表达均升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 并呈剂量依赖性, 其中鼠尾草酸

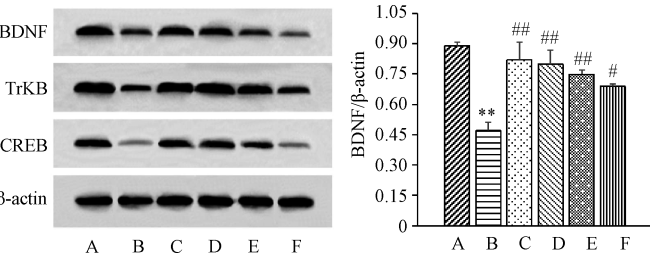
高剂量组作用与阳性组相当, 见图 4。

3.5 鼠尾草酸对抑郁大鼠海马组织 BDNF、TrkB、CREB 蛋白表达的影响 与空白组比较, 模型组大鼠海马组织 BDNF、TrkB、CREB 蛋白表达均降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, 鼠尾草酸各剂量组大鼠海马组织 BDNF、TrkB、



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为阳性组，D~F 为鼠尾草酸高、中、低剂量组。与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 3 鼠尾草酸对抑郁大鼠海马组织 BDNF、CREB 阳性表达的影响 ($\bar{x}\pm s$ ， $n=5$)



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为阳性组，D~F 为鼠尾草酸高、中、低剂量组。与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

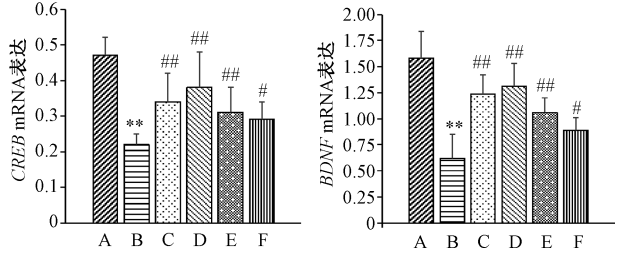
图 4 鼠尾草酸对抑郁大鼠海马组织 BDNF、CREB mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$ ， $n=5$)

4 讨论

近年来，中医药在治疗抑郁症方面显示出独特优势，其多层次、多途径、多靶点的作用可有效避免西药抗抑郁药单链作用产生的副作用^[15]。阐明中药抗抑郁的确切有效成分，开发相关的靶点药物将是研究的重点与难点之一。天然药物迷迭香已被证实具有明显的抗抑郁作用^[9]，但关于迷迭香中起抗抑郁作用的药效物质基础及作用机制研究较少。鼠尾草酸是迷迭香中的主要活性成分，具有抗氧化、抗炎、神经保护等多种药理活性^[16-17]。前期研究显示，鼠尾草酸可明显增加大鼠杏仁核 5-HIAA、5-HT 和海马 BDNF 水平，并证实其改善大鼠抑郁样行为的作用与调控海马 BDNF 水平相关^[10]。为进一步验证鼠尾草酸的抗抑郁作用及机制，本研究以慢性不可预知温和应激结合长期孤养模拟人类持续性应激所导致的抑郁症表现，诱导大鼠产生抑郁样行为^[18]，用不同剂量鼠尾草酸进行干预，结果显示鼠尾草酸各剂量均能增加抑郁大鼠的蔗糖偏好率和自发运动次数，缩短悬尾不动时间，并呈剂量依赖性，其中高剂量与一线抗抑郁药氟西汀的作用相当。

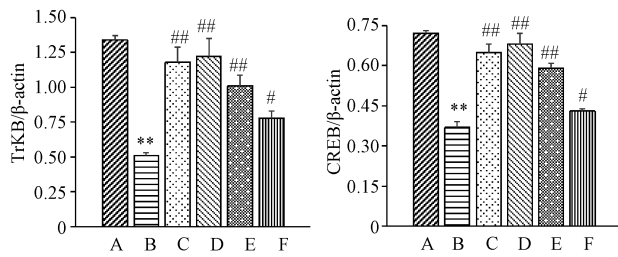
抑郁症的发生发展与海马神经元的损伤密切相关^[19]，并常伴随着海马区 BDNF/TrkB/CREB 通路蛋白的低表达^[20-21]。BDNF 是海马与其他大脑区域突触传递和长时程增强的重要神经调节因子^[22]，对维持海马神经元功能、促进神经元再生与抑制神经元凋亡具有重要作用^[23]；TrkB 是 BDNF 的高亲和力受体，与 BDNF 特异性结合后，可同时激

活下游 PI3K/Akt、MAPK、cAMP 等多条信号通路^[24-25]，参与并介导抑郁症的发生发展，与此同时，CREB 被进一步激活，并通过调节神经树突的形成和发育，促进突触间隙神经递质的释放，干预神经细胞的增殖、分化^[26]；CREB 已被证实与神经系统的可塑性、抑郁情绪调节等密切相关^[27]。此外，长期慢性应激可造成大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴（HPA 轴）功能亢进，抑制 NE、5-HT 等单胺类神经递质释放^[28-29]，同时诱导肾上腺合成和大量 CORT 分泌，与海马区糖皮质激素受体结合后加重海马神经损伤^[30]。本研究结果显示，鼠尾草酸各剂量均能增加抑郁大鼠血清 5-HT、NE 水平，降低 CORT 水平，并提升海马组织 BDNF、TrkB、CREB 蛋白表达，并呈剂量依赖性。



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为阳性组，D~F 为鼠尾草酸高、中、低剂量组。与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 5 鼠尾草酸对抑郁大鼠海马组织 BDNF、CREB 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$ ， $n=5$)



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为阳性组，D~F 为鼠尾草酸高、中、低剂量组。与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 6 鼠尾草酸对抑郁大鼠海马组织 BDNF、TrkB、CREB 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$ ， $n=5$)

综上所述，鼠尾草酸能够改善大鼠的抑郁样行为，并呈现剂量依赖性，其抗抑郁作用机制可能是通过调控 BDNF/TrkB/CREB 信号通路保护和重塑海马神经元实现的。

参考文献：

[1] 过伟峰，曹晓岚，盛 蕾，等. 抑郁症中西医结合诊疗专家共识 [J]. 中国中西医结合杂志，2020，40（2）：141-148.

[2] Askelund A D, Schweizer S, Goodyer I M, et al. Positive memory specificity is associated with reduced vulnerability to depression[J]. *Nat Hum Behav*, 2019, 3(3): 265-273.

[3] Inchausti F, MacBeth A, Hasson-Ohayon I, et al. Psychological intervention and COVID-19: What we know so far and what we

can do[J]. *J Contemp Psychother*, 2020, 50(4): 243-250.

[4] Zhang N, Shi W X, Feng D J, *et al.* A preliminary study on the anxiety and depression situation and psychological intervention of the first-line medical staff in our hospital during the COVID-19 epidemic[J]. *J Clin Neurosci*, 2021, 91: 9-12.

[5] Yang C Y, Liu W J, Chen Y H, *et al.* Prevalence and risk factors for mental health symptoms in community epidemic prevention workers during the postpandemic era of COVID-19 in China[J]. *Psychiatry Res*, 2021, 304: 114132.

[6] Jokela M, García-Velázquez R, Airaksinen J, *et al.* Chronic diseases and social risk factors in relation to specific symptoms of depression: Evidence from the U.S. national health and nutrition examination surveys[J]. *J Affect Disord*, 2019, 251: 242-247.

[7] Ménard C, Hodes G E, Russo S J. Pathogenesis of depression insights from human and rodent studies[J]. *Neuroscience*, 2016, 321: 138-162.

[8] 吴 蒙, 徐晓军. 迷迭香化学成分及药理作用最新研究进展[J]. *生物质化学工程*, 2016, 50(3): 51-57.

[9] Ferlemi A V, Katsikoudi A, Kontogianni V G, *et al.* Rosemary tea consumption results to anxiolytic- and anti-depressant-like behavior of adult male mice and inhibits all cerebral area and liver cholinesterase activity; phytochemical investigation and *in silico* studies[J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 237: 47-57.

[10] 邓祥敏, 朱星宇, 李 光. 鼠尾草酸对慢性不可预见性应激模型大鼠抑郁样行为及杏仁核 5-HT、5-HIAA 和海马 BDNF 含量的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2019, 28(33): 3668-3671.

[11] Wang C D, Wu C L, Yan Z G, *et al.* Ameliorative effect of Xiaoyao-jieyu-san on post-stroke depression and its potential mechanisms[J]. *J Nat Med*, 2019, 73(1): 76-84.

[12] Wang W K, Zhou Y, Fan L, *et al.* The antidepressant-like effects of Danggui Buxue Decoction in GK rats by activating CREB/BDNF/TrkB signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2021, 89: 153600.

[13] Wei Y Y, Wang G H, Wang H L, *et al.* Sex-dependent impact of different degrees of maternal separation experience on OFT behavioral performances after adult chronic unpredictable mild stress exposure in rats [J]. *Physiol Behav*, 2018, 194: 153-161.

[14] Zhang R Y, Guo L T, Ji Z Y, *et al.* *Radix scutellariae* attenuates CUMS-induced depressive-like behavior by promoting neurogenesis via cAMP/PKA pathway [J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(11): 2111-2120.

[15] 石晓雯, 周明眉, 朱海燕, 等. 中药通过色氨酸-犬尿氨酸代谢途径治疗抑郁症的研究进展[J]. *中医药学报*, 2017, 45(5): 98-102.

[16] Teng L F, Fan L F, Peng Y J, *et al.* Carnosic acid mitigates early brain injury after subarachnoid hemorrhage; possible involvement of the SIRT1/p66shc signaling pathway[J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 26.

[17] Ishitobi H, Sanada Y, Kato Y, *et al.* Carnosic acid attenuates cartilage degeneration through induction of heme oxygenase-1 in human articular chondrocytes [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 830: 1-8.

[18] 徐雪娇, 李天英, 马芸瑄, 等. 抑郁症动物模型概述[J]. *医学综述*, 2021, 27(7): 1345-1349; 1357.

[19] 李亚慧, 杨 斌, 高 蕊, 等. 天心解郁方对抑郁模型大鼠大脑内 CREB、BDNF 及神经再生的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(4): 2290-2293.

[20] Ge L, Liu L W, Liu H S, *et al.* Resveratrol abrogates lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior, neuroinflammatory response, and CREB/BDNF signaling in mice[J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 768: 49-57.

[21] 余 汇, 陈佳佳, 曾冰清, 等. cAMP/CREB/BDNF 信号通路在沃替西汀抗小鼠抑郁样行为中的作用[J]. *南方医科大学学报*, 2017, 37(1): 107-112.

[22] Leal G, Comprido D, Duarte C B. BDNF-induced local protein synthesis and synaptic plasticity[J]. *Neuropharmacology*, 2014, 76: 639-656.

[23] Smith E D, Prieto G A, Tong L, *et al.* Rapamycin and interleukin-1 β impair brain-derived neurotrophic factor-dependent neuron survival by modulating autophagy[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(30): 20615-20629.

[24] Casarotto P C, Giryck M, Fred S M, *et al.* Antidepressant drugs act by directly binding to TRKB neurotrophin receptors [J]. *Cell*, 2021, 184(5): 1299-1313.

[25] 杨恩璐, 孙秉贵. BDNF 及其下游通路 GABA 能神经元发育相关性的研究进展[J]. *生命科学*, 2020, 32(6): 544-550.

[26] 施学丽, 李 玲, 曹智怡, 等. CREB 信号通路抗抑郁中药关系的研究进展[J]. *神经解剖学杂志*, 2020, 36(3): 349-352.

[27] 王凌霄, 彭代辉, 方贻儒. CREB 在抑郁症发病和治疗作用中的研究进展[J]. *上海交通大学学报 (医学版)*, 2010, 30(6): 647-650.

[28] Borges S, Gayer-anderson C, Mondelli V. A systematic review of the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in first episode psychosis [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2013, 38(5): 603-611.

[29] 邓海峰, 孙曼利, 吴 琼, 等. 毛蕊花糖苷通过调控 BDNF-TrkB 信号通路改善 CUMS 大鼠的抑郁样行为[J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(9): 1633-1637.

[30] 菊 轩, 时雯雯, 陈 松, 等. 睡眠剥夺联合氟西汀对抑郁模型大鼠行为及血清促肾上腺皮质激素、皮质酮的影响[J]. *中国现代医生*, 2021, 59(16): 43-47; 51.