

异泽兰黄素通过改善腹侧海马GABA_A受体传递缓解大鼠酒精戒断焦虑样行为

李露露, 焦宇, 姜敏, 李秋月, 吴朋烺, 马淑丽, 郑晓宇, 赵容杰, 赵正林

Eupatilin Attenuates Ethanol Withdrawal-Induced Anxiety-like Behavior in Rats by Improving Ventral Hippocampus GABA_A Transmission

LI Lulu, JIAO Yu, JIANG Min, LI Qiuyue, WU Pengyang, MA Shuli, ZHENG Xiaoyu, ZHAO Rongjie, and ZHAO Zhenglin

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023060034>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

雨生红球藻破壁孢子粉对小鼠酒精性肝损伤的保护作用

Protective Effects of Sporoderm-broken Spore Powder of *Haematococcus pluvialis* on Alcoholic Liver Injury in Mice

食品工业科技. 2019, 40(5): 270-274 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.05.045>

人参低聚肽对老年db/db小鼠血糖及免疫调节的作用

Effects of Ginseng Oligopeptide on Blood Glucose and Immune Regulation in the Aging db/db Mice

食品工业科技. 2020, 41(14): 297-301,309 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.14.048>

核桃低聚肽对亚健康大鼠氧化应激和炎症反应的影响

Effect of Walnut Oligopeptides on Inhibiting Oxidative Stress and Inflammation of Sub-health Rats

食品工业科技. 2020, 41(4): 316-321 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.04.054>

发酵麦麸多糖对氧化应激大鼠脾脏的保护作用研究

Protective Effects of Fermented Wheat Bran Polysaccharides against Oxidative Stress Induced by Diquat of Spleen in Weaned Rats

食品工业科技. 2021, 42(24): 327-333 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021030127>

人参多糖对氧化应激损伤肝细胞的保护作用机制研究

Mechanism of Protective Effect of Ginseng Polysaccharide on Hepatocytes Induced by Oxidative Stress

食品工业科技. 2020, 41(5): 280-285,292 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.05.046>

葛仙米对高脂血症小鼠氧化应激的保护作用

Protective Effect of *Nostoc sphaeroides* Kütz on Oxidative Stress in Hyperlipidemic Mice

食品工业科技. 2021, 42(14): 320-327 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020090140>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 特邀主编专栏—食品中天然产物提取分离、结构表征和生物活性 (客座主编:杨栩、彭鑫) ·

客座主编寄语: 天然产物泛指动物、植物和微生物体内的组成成分、内源性化学成分及其次生代谢产物等。当前,随着“健康中国”理念逐渐深入人心,具有良好生物活性、低毒性的天然活性产物受到广泛关注,已成为改善健康和预防疾病的热门话题。开展食品相关天然产物的提取分离纯化、结构表征与生物活性研究,对于新型功能食品和医用食品的研发与创制具有重要的推进作用。

李露露,焦宇,姜敏,等.异泽兰黄素通过改善腹侧海马 GABA_A 受体传递缓解大鼠酒精戒断焦虑样行为[J].食品工业科技,2023,44(23):1-10. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023060034

LI Lulu, JIAO Yu, JIANG Min, et al. Eupatilin Attenuates Ethanol Withdrawal-Induced Anxiety-like Behavior in Rats by Improving Ventral Hippocampus GABA_A Transmission[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(23): 1-10. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023060034

异泽兰黄素通过改善腹侧海马 GABA_A 受体传递缓解大鼠酒精戒断焦虑样行为

李露露,焦宇^{*},姜敏,李秋月,吴朋焱,马淑丽,郑晓宇,赵容杰^{*},赵正林^{*}
(齐齐哈尔医学院,黑龙江齐齐哈尔 161006)

摘要:目的:研究异泽兰黄素(Eupatilin, Eptl)对大鼠酒精戒断(Ethanol withdrawal, EtOHWI)焦虑样行为的改善作用及其与腹侧海马(Ventral hippocampus, vHippo)相关机制。方法:将32只成年雄性Sprague-Dawley大鼠随机分为4组,分别为生理盐水对照组、EtOHWI模型组、Eptl低剂量治疗组和Eptl高剂量治疗组,每组各8只。EtOHWI模型组、Eptl低、高剂量治疗组每天1次腹腔注射3 g/kg乙醇(Ethanol, EtOH),连续28 d,戒断3 d制备大鼠EtOHWI模型,生理盐水对照组腹腔注射等容积生理盐水。在3 d戒断期间,Eptl低、高剂量治疗组分别每天1次灌胃10和30 mg/kg Eptl,第3次给药30 min后,利用旷场(Open field, OF)和高架十字迷宫(Elevated plus maze, EPM)实验对各组大鼠进行焦虑样行为学检测。利用ELISA检测血清皮质酮(Cortosterone, CORT)浓度、vHippo组织中GABA水平;利用实时荧光定量PCR检测vHippo组织中谷氨酸脱羧酶67(GAD 67) mRNA相对表达量;利用Western blot(WB)检测vHippo组织中GABA_Aα1(GABA_A receptor α1, GABA_Aα1)、GABA_Aα2、核因子E2相关因子2(Nrf2)、血红素加氧酶1(HO-1)蛋白表达;利用试剂盒检测vHippo组织中MDA、T-SOD、CAT、GSH以及IL-6和TNF-α的含量。利用免疫荧光检测技术观察HT22细胞的核中Nrf2蛋白水平。结果:与EtOHWI模型组相比,Eptl低、高剂量治疗组大鼠在OF中央区活动距离极显著升高($P<0.01$),分别为70.62%和124.21%,活动时间显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),分别为251.75%和371.62%,EPM的开放臂进入次数百分比显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),分别为110.33%和207.32%,滞留时间百分比显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),分别为99.56%和184.18%;血清CORT含量极显著降低($P<0.01$);vHippo组织中GABA含量和GAD67mRNA表达显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);GABA_Aα1、GABA_Aα2、Nrf2和HO-1蛋白表达显著增多($P<0.05$ 或 $P<0.01$);MDA水平极显著降低($P<0.01$),而T-SOD、CAT和GSH的活性或水平显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);IL-6、TNF-α含量显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。体外实验结果显示,与空白对照组相比,200 μmol/L H₂O₂刺激的HT22细胞核中Nrf2的水平极显著增多($P<0.01$),但30 μmol/L Eptl预处理显著抑制了Nrf2水平的增多($P<0.05$)。结论:Eptl具有改善大鼠EtOHWI焦虑样行为的作用,其机制可能通过Eptl的抗氧化和抗炎作用而调节EtOHWI大鼠vHippo的GABA_A传递紊乱所介导。

关键词:异泽兰黄素,酒精戒断焦虑样行为,腹侧海马,GABA_A受体,氧化应激,炎症

中图分类号:R749.92

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2023)23-0001-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023060034



本文网刊:

收稿日期:2023-06-07 +并列第一作者

基金项目:齐齐哈尔医学院重点培育项目(2021-ZDPY-014);齐齐哈尔市科技计划联合引导项目(LHYD-202011);齐齐哈尔医学院研究生创新基金项目(QYYCX2022-22)。

作者简介:李露露(1999-),女,硕士研究生,研究方向:物质依赖及其机制的研究,E-mail:luu5176@163.com。

焦宇(1990-),男,硕士,研究方向:物质依赖及其机制的研究,E-mail:jiaoyuqmu@163.com。

*通信作者:赵容杰(1967-),男,博士,教授,研究方向:物质依赖及其机制的研究,E-mail:rongjiezhao@163.com。

赵正林(1971-),女,博士,教授,研究方向:物质依赖及其机制的研究,E-mail:mdj6612@163.com。

Eupatilin Attenuates Ethanol Withdrawal-Induced Anxiety-like Behavior in Rats by Improving Ventral Hippocampus GABA_A Transmission

LI Lulu, JIAO Yu⁺, JIANG Min, LI Qiuyue, WU Pengyang, MA Shuli, ZHENG Xiaoyu, ZHAO Rongjie^{*}, ZHAO Zhenglin^{*}

(Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China)

Abstract: Objective: To study the improving effect of Eupatilin (Eptl) on ethanol withdrawal (EtOHWI)-induced anxiety-like behavior in rats and probe the mechanisms related to ventral hippocampus (vHippo). Methods: Thirty-two adult male Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups, 8 rats per group: Saline-treated control group, EtOHWI model group, low-dose Eptl treatment group and high-dose Eptl treatment group. The EtOHWI was established by intraperitoneal injection of 3 g/kg of ethanol (20% volume/volume, dissolved in saline) once a day for 28 days followed by 3 days of withdrawal, during the withdrawal period, the low-and the high-dose Eptl treatment groups were respectively given 10 and 30 mg/kg Eptl through oral route once a day, while the saline control group was administered with an equal volume of saline. Thirty minutes after the third Eptl, all the rats were subjected to open field (OF) and elevated plus maze (EPM) tests to detect anxiety-like behaviors. The serum corticosterone (CORT) concentration and vHippo γ -aminobutyric acid (GABA) secretion were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and vHippo glutamic acid decarboxylase 67 (GAD 67) mRNA relative expression was assayed by real-time quantitative polymerase chain reaction. The protein expression of GABA_A receptor $\alpha 1$ (GABA_AR $\alpha 1$), GABA_AR $\alpha 2$, nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2), heme oxygenase-1 (HO-1) in the vHippo were analyzed by Western blot. The levels of MDA, T-SOD, CAT and GSH, IL-6 and TNF- α were measured by commercial kits. Meanwhile, in the *in vitro* experiment, the nuclear levels of Nrf2 in HT22 cells were detected via immunofluorescent technique. Results: Compared with the rats in the EtOHWI group, the rats in low and high-dose Eptl treatment groups moving distance increased significantly ($P < 0.01$) in the central region of OF which was 70.62% and 124.21% respectively, and moving time increased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) which was 251.75% and 371.62% respectively in the central zone of the OF. Visited more frequently ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) which was 110.33% and 207.32% respectively, and stayed time increased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) which was 99.56% and 184.18% respectively in the open arms of the EPM1. In biochemical assays, compared with those in EtOHWI rats, in the rats of low-dose and high-dose Eptl treatment groups, the serum CORT concentrations decreased significantly ($P < 0.01$). The vHippo GABA and GAD67 mRNA levels increased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The protein expression of GABA_AR $\alpha 1$, GABA_AR $\alpha 2$, Nrf2, HO-1 in the vHippo increased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The level of MDA decreased significantly ($P < 0.01$), while the activities of T-SOD and CAT, as well as the level of GSH increased respectively significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The levels of IL-6 and TNF- α decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). In the *in vitro* experiment, the immunofluorescent assay showed that compared with blank control group, Nrf2 level in nucleus of HT22 stimulated by 200 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂ increased significantly ($P < 0.01$), whereas pretreatment with 30 $\mu\text{mol/L}$ Eptl inhibited the increase of Nrf2 level ($P < 0.05$). Conclusion: Eptl attenuates EtOHWI-induced anxiety-like behavior in rats, which may be mediated by regulating the vHippo GABA_AR transmissional disorder of EtOHWI rats via its antioxidant and anti-inflammatory activities.

Key words: eupatilin; ethanol withdrawal-induced anxiety-like behavior; ventral hippocampus; GABA_A receptor; oxidative stress; inflammatory reaction

酒精中毒(Alcoholism)的危害极大,但其治疗成功率极低^[1]。酒精中毒患者戒酒一段时间后复饮是其治疗的最大难点,而酒精戒断(EtOH Withdrawal, EtOHWI)引起的情感障碍是导致复饮的根源之一^[2]。临床研究和实验动物研究表明,EtOHWI后酒精中毒患者和实验动物均表现出显著的焦虑障碍(症),为了缓解此症状的痛苦,酒精中毒患者和实验动物会觅酒和重新饮酒^[3-4]。目前临床上应用的治疗酒精中毒的药物地西洋或劳拉西洋等苯二氮卓类药物主要通过缓解患者的焦虑症而实现其治疗效果^[5]。虽然此类药物表现出一定的疗效,但其本身具有较强的成瘾

性^[6],继而很大限制其进一步使用。很显然,研发具有良好的抗焦虑效应,并且无成瘾性的新药是目前酒精中毒治疗所面临的重大课题。

异泽兰黄素(Eupatilin, Eptl),中药艾叶中的重要黄酮类成份,也广泛存在于多种菊科蒿属类植物中^[7],而艾叶在民间常被做食用原料或佐料使用^[8]。已知Eptl具有良好的抗炎、抗氧化、抗肿瘤和神经保护等药理活性^[9-10],并且发现Eptl通过海马(Hippocampus, Hippo)的神经传递调节和抗炎等机制抑制小鼠抑郁样行为^[11-12]。海马是大脑边缘系统的重要结构,分布着大量的 γ -氨基丁酸(Gamma-aminobutyric

acid, GABA)能神经^[13],而 GABA_AR 是酒精的主要作用点,且 GABA 能神经功能紊乱是导致大量饮酒所致情感障碍的重要因素^[14]。因此,本研究首先在行为和应激激素的角度观察 Eptl 对大鼠 EtOHWI 焦虑样行为的作用,以 vHippo 的 GABA 能神经传递功能变化、炎症和氧化应激等作为靶点探讨 Eptl 的作用机制,旨在为 Eptl 研发成新的抗 EtOHWI 焦虑症的药物提供基础研究依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

32 只雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 随机选取 8 周龄,体重均为 200~220 g,由齐齐哈尔医学院动物实验中心提供,使用许可证号:SYXK(黑)2021-013。实验大鼠均在 20~23 ℃,湿度 40%~50%,具有自动空气清洁设备的专用 IVC 鼠笼饲养,自由饮水饮食。本实验已通过齐齐哈尔医学院实验动物伦理委员会批准(批号:QMU-AECC-2023-68),且所有操作均按照相关指南执行;小鼠海马神经细胞系 HT22

以含 10% 胎牛血清、1% 青霉素和链霉素的 Dulbecco's modified Eagle's medium 高糖培养液在 37 ℃、5% CO₂ 恒温培养箱中孵育,BeNa Culture Collection; 异泽兰黄素(纯度 ≥ 98%) 成都德斯特生物科技有限公司;总蛋白测定试剂盒、MDA、CAT、T-SOD、GSH 检测试剂盒、Nrf2 抗体 碧云天生物技术公司;HO-1 抗体 Santa Cruz Biotechnology; GABA_ARα1、GABA_ARα2 抗体 索莱宝科技有限公司;大鼠 CORT、大鼠 GABA、大鼠 TNF-α、大鼠 IL-6 ELISA 检测试剂盒 上海酶联生物科技有限公司。

RL20170223 大鼠旷场 (Open field, OF) 实验箱、RL20170210 高架十字迷宫 (Elevated plus maze, EPM) 上海软隆科技发展有限公司;多功能酶标仪

奥地利 Tecan 公司;1658001 小型垂直电泳槽、1703935 电泳转印系统 美国 BIO-RAD 公司;UVP Chemstudio touch 多功能成像仪、qTOWER3G 荧光定量梯度基因扩增仪 德国 Analytikjena 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物模型的分组、模型建立和给药 适应性饲养 1 周后,将实验大鼠随机分为 4 组,分别为生理盐水对照组、酒精戒断(EtOHWI)模型组、Eptl 低剂量治疗组和 Eptl 高剂量治疗组,每组各 8 只。除生理盐水对照组外,其余各组每天 1 次腹腔注射 3 g/kg EtOH(稀释于生理盐水,20% 的容积比),共 28 d。戒断 3 d 制备 EtOHWI 模型,生理盐水对照组以生理盐水代替 EtOH^[15]。在戒断 3 d 期间,每天对 Eptl 低剂量治疗组(10 mg/kg)和 Eptl 高剂量治疗组(30 mg/kg)分别灌胃 1 次^[16](Eptl 灌胃前先溶解于二甲基亚砜,后用生理盐水进行稀释)。生理盐水对照组和 EtOHWI 模型组灌胃生理盐水。在第 3 次给药 30 min 后,对各组大鼠进行 OF 和 EPM 检测,观察行为学变化。

1.2.2 行为学检测 旷场试验(OF):首先,将各组大鼠放置于旷场实验箱的正中央区域(50 cm×50 cm×50 cm),采用视频系统开始记录 5 min 内大鼠的活动情况。观察指标为:中央区域的活动距离(mm)及活动时间(s)^[17];高架十字迷宫试验(EPM):EPM 由从地面 50 cm 升高的十字形长宽(50 cm×10 cm)相同的开放臂(无侧壁)和闭合臂(有侧壁)垂直交叉构成。OF 检测结束 10 min 后进行 EPM 实验,将各组大鼠放置于迷宫中央区域,头均朝向开放臂方向,采用视频系统开始记录 5 min 内大鼠的活动情况。观察指标为:开放臂进入次数百分比(%)和开放臂滞留时间百分比(%)。行为学检测期间实验室保持通风安静,每只大鼠检测后,用 0.1% 醋酸擦干仪器除味^[18]。

开放臂进入次数百分比(%) =

$$\frac{\text{开放臂进入次数}}{\text{开放臂进入次数} + \text{闭合臂进入次数}} \times 100$$

$$\text{开放臂滞留时间百分比(%) = } \frac{\text{开放臂滞留时间}}{\text{总时间}} \times 100$$

1.2.3 血清中 CORT 含量测定 行为学检测结束后,大鼠安乐死后收集血液至 1.5 mL 离心管中,在 4 ℃、3000 r/min 离心 15 min 后收集血清,严格按照 ELISA 试剂盒说明书检测 CORT 水平,结果以 ng/mL 表示。

1.2.4 vHippo 中 GABA 含量测定 大鼠安乐死处理后取出大脑,根据大鼠脑定位图谱^[19],分离出 vHippo 并称重,按 5% 的比例于 PBS 中充分匀浆,8000 r/min 离心 10 min,收集上清严格按照大鼠 GABA 测定试剂盒说明书检测 GABA 水平,结果以 μmol/L 表示。

1.2.5 Western blot 检测 vHippo 中 GABA_ARα1、GABA_ARα2、Nrf2、HO-1 蛋白表达 将收集的 vHippo 于 RIPA 蛋白裂解液(含有蛋白酶抑制剂)中充分研磨,12000 r/min 离心 5 min 取上清液,用 BCA 试剂盒进行蛋白定量,并按照常规操作方法进行电泳、转膜、封闭、I 抗 4 ℃ 孵育过夜,再加入 II 抗室温摇床孵育 2 h 后,用 ECL 显色,利用多功能凝胶成像系统扫描并用 ImageJ 软件进行灰度值分析,以 GAPDH 作为内参对照。

1.2.6 vHippo 中氧化应激指标和炎症因子的测定 将收集的 vHippo 按 10% 的比例于 PBS 中充分匀浆,3000 r/min 离心 20 min,收集上清严格按试剂盒说明书分别检测 vHippo 中氧化应激指标 MDA、T-SOD、CAT 和 GSH 水平以及炎症因子 IL-6 和 TNF-α。

1.2.7 qPCR 检测 vHippo 中 GAD67 mRNA 相对表达量 将收集的 vHippo 采用 Trizol Reagent 法提取 RNA 并检测其浓度和纯度,严格按照试剂盒说明书进行逆转录合成 cDNA。基因引物序列如下: GAD67, Forward: CATCATGGCGGCTGGTACACAG; Reverse: GTGACTGTGTTCTGAGGTGAAGAGG。GAPDH, Forward: AATCCTGGGCGGTACA ACTC; Reverse: GTTCACACCGACCTTCACCA。

qPCR 反应条件为预变性 95 ℃、3 min, 变性 95 ℃、15 S, 退火 55 ℃、30 S, 延伸 72 ℃、20 S, 共进行 43 个循环, 然后计算 $\Delta Ct = Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{\text{内参基因}}$, $\Delta \Delta Ct = \text{处理组 } \Delta Ct - \text{对照组 } \Delta Ct$, 最后计算 $2^{-\Delta \Delta Ct}$ 值, 然后进行统计分析。

1.2.8 MTT 法检测 HT22 细胞活力 根据文献 [20] 的方法, 收集生长状态良好的 HT22 细胞, 制备细胞悬液, 以每孔 4×10^3 个接种于 96 孔板中, 每孔 100 μL , 加入不同浓度 (50、100、200、400、800、1000 $\mu\text{mol/L}$) 的 H_2O_2 培养 24 h。准备相同细胞加入不同浓度 (3、10、30、60 $\mu\text{mol/L}$) 的 Eptl 培养 24 h。接种相同细胞, 预处理组加入 30 $\mu\text{mol/L}$ 的 Eptl 预处理 2 h, 与 H_2O_2 模型组同时给予 200 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 刺激, 培养 24 h, 每组均设 3 个复孔。然后加入 10 μL MTT 染色液, 于 37 ℃、5% CO_2 恒温培养箱中继续孵育 4 h, 每孔加 100 μL Formazan 溶解液继续孵育 5 h 待结晶完全溶解后用酶标仪检测 570 nm 处吸光度 (OD) 值, 并计算细胞存活率, 筛选最佳 H_2O_2 和 Eptl 处理浓度。

1.2.9 HT22 细胞分组、给药以及免疫荧光实验 收集生长状态良好的 HT22 细胞, 爬片到经组织培养物处理的圆形玻片上, 分为 Control 组 (空白组)、 H_2O_2 模型组 (200 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2) 和 Eptl 预处理组 (30 $\mu\text{mol/L}$ Eptl+200 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2)。Eptl 预处理组以 30 $\mu\text{mol/L}$ Eptl 预处理 2 h 后, 与模型组同时给予 200 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 培养 24 h, 空白组用正常培养基培养。造模完成后经 PBS 润洗 3 min, 10% 中性甲醛固定 40 min, 0.1% Triton-X 穿透 10 min, 5% BSA 封闭 0.5 h, 加入 Nrf2 I 抗 4 ℃ 孵育过夜, II 抗室温孵育 2 h, DAPI 核染色 10 min, 抗荧光淬灭剂封片后于倒置荧光显微镜观察。

1.3 数据处理

采用 GraphPad Prism 8.0 统计软件进行数据分析, 数据均采用均数 $\pm$ 标准差 (Mean $\pm$ SD) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析 (One-way, ANOVA), 组间两两比较采用 Newman-Keuls 法进行检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 Eptl 对 EtOHWI 大鼠行为学变化的影响

OF 是利用啮齿类动物对开阔的新异环境的恐

惧和探究能力来反映动物的自发活动情况和焦虑心理。EPM 是利用啮齿类动物对新异环境的探究能力和对高悬敞开臂的恐惧形成矛盾冲突行为来检测动物的焦虑状态^[21-22]。由表 1 可知, 在 OF 检测中, EtOHWI 模型组大鼠在中央区域的活动距离和活动时间均极显著低于生理盐水对照组 ($P < 0.01$); 与 EtOHWI 组比较, Eptl 低、高剂量治疗组大鼠在 OF 中央区活动距离极显著增加 ($P < 0.01$), 分别为 70.62% 和 124.21%, 活动时间显著增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 分别为 251.75% 和 371.62%; 在 EPM 检测中, EtOHWI 模型组大鼠开放臂进入次数和开放臂滞留时间百分比均极显著低于 ($P < 0.01$) 生理盐水对照组; 与 EtOHWI 模型组比较, Eptl 低、高剂量治疗组大鼠开放臂进入次数百分比显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 分别为 110.33% 和 207.32%, 滞留时间百分比显著增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 分别为 99.56% 和 184.18%, 表现出大鼠对开放臂的探索趋势显著升高; 在组间两两比较中, Eptl 高剂量治疗组大鼠开放臂进入次数和开放臂滞留时间百分比均显著高于 ($P < 0.05$) 低剂量治疗组, 说明 Eptl 对 EtOHWI 大鼠焦虑样行为的治疗具有剂量依赖性。上述检测指标提示, 大鼠 EtOHWI 焦虑样模型制备成功。在 EtOHWI 期给予 Eptl 治疗后, 焦虑样行为显著减轻。

2.2 Eptl 对 EtOHWI 大鼠血清 CORT 水平、vHippo 中 GABA 含量的影响

下丘脑-垂体-肾上腺轴 (Hypothalamic pituitary adrenal axis, HPA) 是机体内最为重要的神经内分泌系统之一。HPA 轴中 CORT 含量变化可作为直接评价啮齿类动物焦虑程度的重要指标, 两者呈正相关^[23]。如表 2 所示, 各组大鼠血清 CORT 检测结果如下。与生理盐水对照组比较, EtOHWI 模型组大鼠血清 CORT 含量极显著升高 ($P < 0.01$); 与 EtOHWI 模型组比较, Eptl 低、高剂量治疗组血清 CORT 水平均极显著降低 ($P < 0.01$); 组间两两比较显示, Eptl 低、高剂量治疗组间 CORT 水平差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 表明两者具有极显著的剂量依赖性, 说明 Eptl 显著降低了 EtOHWI 大鼠血清 CORT 的上升趋势, 减轻了对 EtOH 戒断焦虑样行为。GABA 是大脑中广泛分布的抑制性神经递质, EtOH 与 GABA 相互作用会增强 EtOH 的负性强化作用, 在 EtOH 成

表 1 Eptl 对 EtOHWI 大鼠行为学变化的影响 (n=8)

Table 1 Effect of eupatilin on the changes of EtOHWI rats (n=8)

组别	旷场试验		高架十字迷宫试验	
	中央区活动距离 (mm)	中央区活动时间 (s)	开放臂进入次数百分 (%)	开放臂滞留时间百分 (%)
生理盐水对照组	232.07 $\pm$ 22.52	16.6 $\pm$ 7.09	27.37 $\pm$ 4.69	29.51 $\pm$ 6.69
EtOHWI 模型组	101.73 $\pm$ 19.71 ^{##}	3.30 $\pm$ 1.23 ^{##}	8.97 $\pm$ 2.97 ^{##}	10.22 $\pm$ 3.27 ^{##}
Eptl 低剂量治疗组	173.57 $\pm$ 12.03 ^{**}	15.54 $\pm$ 2.51 [*]	18.87 $\pm$ 6.95 [*]	20.39 $\pm$ 4.62 [*]
Eptl 高剂量治疗组	228.09 $\pm$ 23.32 ^{**&}	16.74 $\pm$ 4.86 ^{**}	27.58 $\pm$ 4.86 ^{**&}	29.03 $\pm$ 6.11 ^{**&}

注: 与生理盐水对照组比较, ##表示有极显著差异 $P < 0.01$; 与 EtOHWI 模型组比较, *表示有显著差异 $P < 0.05$, **表示有极显著差异 $P < 0.01$; 与 Eptl 低剂量治疗组比较, &表示有显著差异 $P < 0.05$; 表 2~表 3, 图 1~图 2 同。

表 2 Eptl 对 EtOHWI 大鼠血清 CORT 水平、vHippo 中 GABA 含量的影响(n=8)

Table 2 Effects of eupatilin on the level of serum CORT and the ventral hippocampal GABA content concentration of EtOHWI rats (n=8)

组别	CORT(ng/mL)	GABA(μmol/L)
生理盐水对照组	53.91±7.01	36.65±3.58
EtOHWI模型组	121.07±12.77 ^{##}	19.68±3.53 ^{##}
Eptl低剂量治疗组	89.15±6.62 ^{**}	29.78±7.36 [*]
Eptl高剂量治疗组	57.92±9.00 ^{**&&}	34.48±3.92 ^{**}

瘾和依赖中起着重要作用。苯二氮卓类药物镇静、抗焦虑和抗惊厥作用与 GABA 系统的激活有关,本研究结果与之呼应^[24]。ELISA 检测结果显示,与生理盐水对照组比较,EtOHWI 模型组大鼠 vHippo 中 GABA 含量极显著降低($P<0.01$);与 EtOHWI 模型组比较,Eptl 低、高剂量治疗组 vHippo 中 GABA 含量均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。此结果说明,在 EtOHWI 大鼠发病过程中 vHippo 中 GABA 的降低

会导致焦虑样行为,而 Eptl 可通过上调 vHippo 中 GABA 水平改善 EtOHWI 大鼠焦虑样行为。

2.3 Eptl 对 EtOHWI 大鼠 vHippo 中 GABA α 1、GABA α 2、Nrf2、HO-1 蛋白表达的影响

GABA α R 是维持和控制大脑神经元兴奋的关键蛋白,GABA 通过与其受体 GABA α R 结合发挥生理功能,焦虑症的发生与 GABA α 1、GABA α 2 的改变密切相关^[25-26]。长期的 EtOH 依赖或戒断会导致机体处于氧化应激状态,其中 Nrf2/HO-1 是氧化应激反应重要的信号通路。Western blot 检测结果如图 1,与生理盐水对照组比较,EtOHWI 模型组大鼠 vHippo 中 GABA α 1、GABA α 2、Nrf2 和 HO-1 蛋白表达极显著减少($P<0.01$);与 EtOHWI 模型组比较,Eptl 低、高剂量治疗组大鼠 vHippo 中 GABA α 1、GABA α 2、Nrf2 和 HO-1 蛋白表达显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);组间两两比较显示,Eptl 低、高剂量治疗组间 GABA α 1、GABA α 2、Nrf2 和 HO-1 蛋白表达均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),

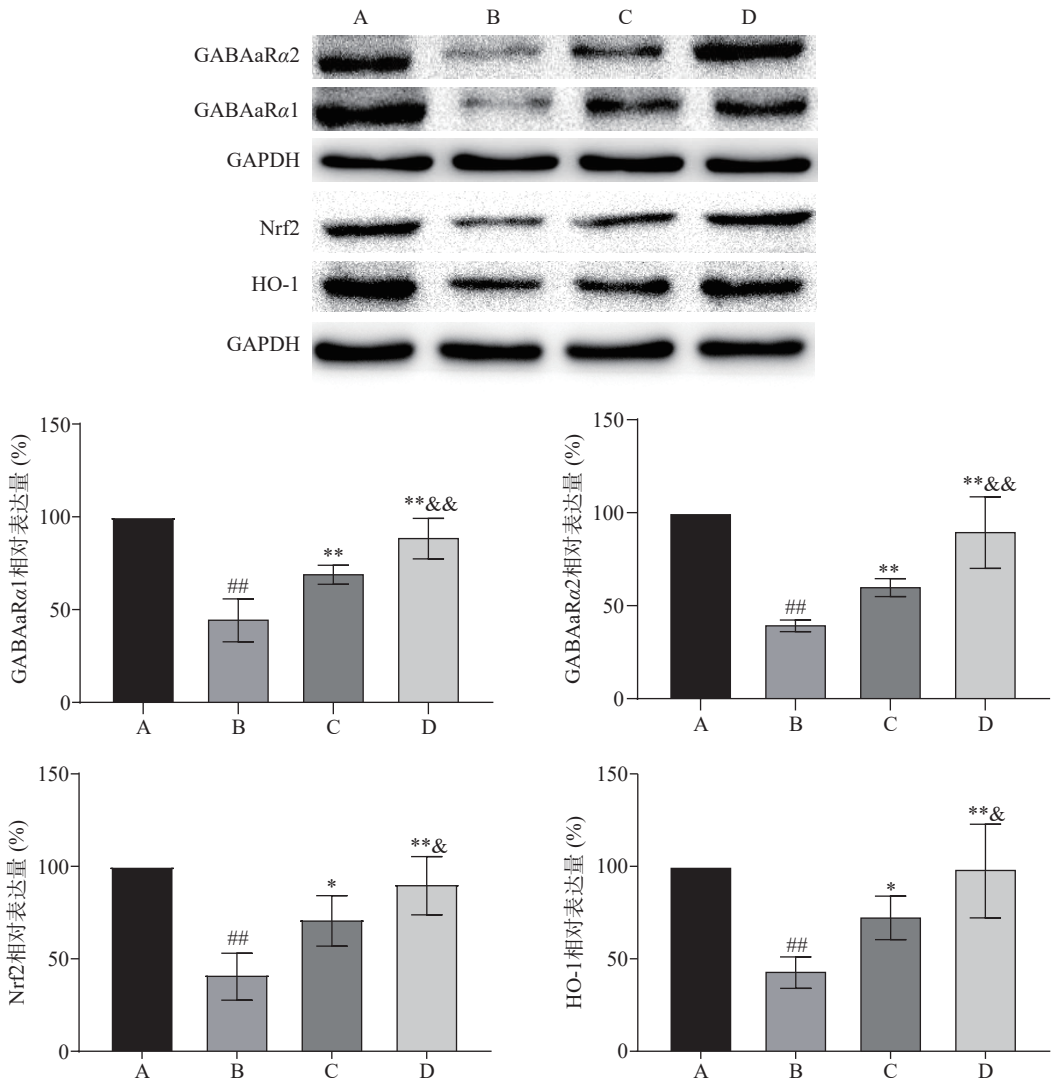


图 1 各组大鼠 vHippo 中 GABA α 1、GABA α 2、Nrf2、HO-1 蛋白表达(n=8)

Fig.1 Protein expression of ventral hippocampal GABA α 1, GABA α 2, Nrf2 and HO-1 of each group rats (n=8)

注: A: 生理盐水对照组; B: EtOHWI 模型组; C: Eptl 低剂量治疗组; D: Eptl 高剂量治疗组; 图 2 同。

表3 Eptl对EtOHWI大鼠vHippo氧化应激指标和炎症因子水平的影响(n=8)

Table 3 Effects of eupatilin on the oxidative stress and inflammatory factors in ventral hippocampal of EtOHWI rats (n=8)

组别	氧化应激指标				炎症因子	
	MDA[$\mu\text{mol}/(\text{g protein})$]	T-SOD[$\times 10^3 \text{ U}/(\text{g protein})$]	CAT[$\times 10^3 \text{ U}/(\text{g protein})$]	GSH[$\mu\text{mol}/(\text{mg protein})$]	IL-6(pg/mg)	TNF- α (pg/mg)
生理盐水对照组	1.54 $\pm$ 0.19	60.55 $\pm$ 9.11	86.38 $\pm$ 8.14	3.71 $\pm$ 1.11	6.90 $\pm$ 1.15	4.02 $\pm$ 0.67
EtOHWI模型组	3.53 $\pm$ 0.62 ^{##}	31.90 $\pm$ 6.11 ^{##}	38.60 $\pm$ 6.81 ^{##}	1.62 $\pm$ 0.51 ^{##}	13.04 $\pm$ 2.67 ^{##}	8.22 $\pm$ 1.29 ^{##}
Eptl低剂量治疗组	2.23 $\pm$ 0.49 ^{**}	48.21 $\pm$ 4.44 ^{**}	71.50 $\pm$ 12.14 ^{**}	3.02 $\pm$ 0.76 [*]	8.42 $\pm$ 1.60 ^{**}	5.85 $\pm$ 1.44 [*]
Eptl高剂量治疗组	1.52 $\pm$ 0.34 ^{**&}	55.99 $\pm$ 5.82 ^{**}	82.12 $\pm$ 12.57 ^{**}	3.37 $\pm$ 0.93 [*]	6.92 $\pm$ 0.43 ^{**}	3.98 $\pm$ 0.76 ^{**&}

具有剂量依赖性。由此可推断, GABA α 1、GABA α 2 蛋白下调可能是介导 EtOHWI 焦虑症的重要机制, 而 Eptl 能纠正其紊乱发挥抑制 EtOHWI 焦虑样行为的效应。Nrf2/HO-1 抗氧化系统可能参与了 Eptl 的抗氧化过程从而保护了 vHippo 氧化应激的损伤。

2.4 Eptl 对 EtOHWI 大鼠 vHippo 中氧化应激指标和炎症因子水平的影响

各组实验大鼠 vHippo 中氧化应激指标和炎症因子的变化如表 3 所示, 与生理盐水对照组比较, EtOHWI 模型组大鼠 vHippo 中 MDA 水平呈极显著升高 ($P<0.01$), 而 T-SOD、CAT、GSH 活性极显著降低 ($P<0.01$); 与 EtOHWI 模型组比较, Eptl 低、高剂量治疗组大鼠 vHippo 中 MDA 水平极显著降低 ($P<0.01$), T-SOD、CAT、GSH 活性显著升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 在组间两两比较中, Eptl 高剂量治疗组大鼠较 Eptl 低剂量治疗组 vHippo 中 MDA 水平显著降低 ($P<0.05$), 有剂量依赖性。在炎症因子的检测中, EtOHWI 模型组大鼠 vHippo 中 IL-6、TNF- α 含量较生理盐水对照组极显著升高 ($P<0.01$), 而 Eptl 低、高剂量治疗组大鼠 vHippo 中 IL-6、TNF- α 含量较 EtOHWI 模型组大鼠显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 在组间两两比较中, Eptl 高剂量治疗组大鼠较 Eptl 低剂量治疗组 vHippo 中 TNF- α 显著降低 ($P<0.05$), 表现出剂量依赖性。因此可以推断, EtOHWI 期大鼠 vHippo 中发生了氧化应激和炎症反应, 失去了内环境稳态的动态平衡, 诱导了 vHippo 中 GABA 能神经传递的紊乱, 进一步说明 EtOHWI 焦虑症发病机制中大脑 vHippo 中氧化应激和炎症反应的重要作用。Eptl 治疗后 vHippo 中氧化应激指标和炎症因子水平紊乱得到显著改善, 缓解了 EtOHWI 对大鼠 vHippo 的损伤。

2.5 Eptl 对 EtOHWI 大鼠 vHippo 中 GAD67 mRNA 相对表达量的影响

qPCR 检测结果如图 2 所示, 与生理盐水对照组比较, EtOHWI 模型组大鼠 vHippo 中 GAD67 mRNA 相对表达量极显著减少 ($P<0.01$); 与 EtOHWI 模型组比较, Eptl 低、高剂量治疗组大鼠 vHippo 中 GAD67 mRNA 相对表达量显著升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 组间两两比较显示, Eptl 低、高剂量治疗组间 GAD67 mRNA 相对表达量差异具有统计学意义 ($P<0.05$),

具有剂量依赖性。此结果进一步说明了 GABA α 神经传递紊乱可能是介导 EtOHWI 焦虑症的重要机制, 给予 Eptl 可以恢复 GABA α 神经的生理功能, 减轻 EtOHWI 给机体带来的损伤, 缓解焦虑症状。

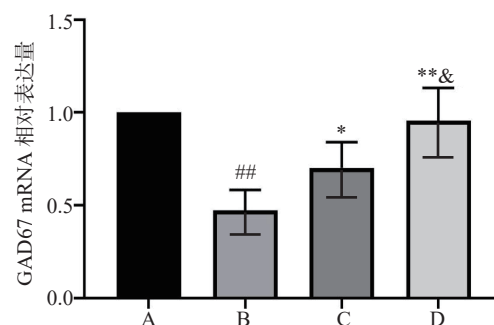
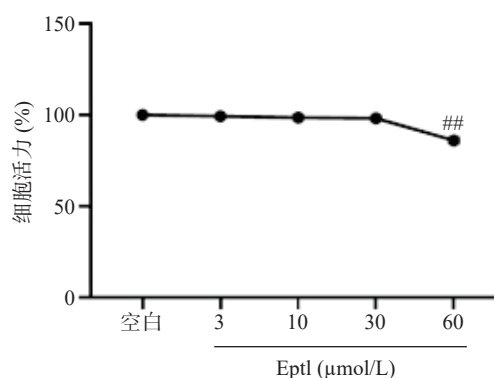
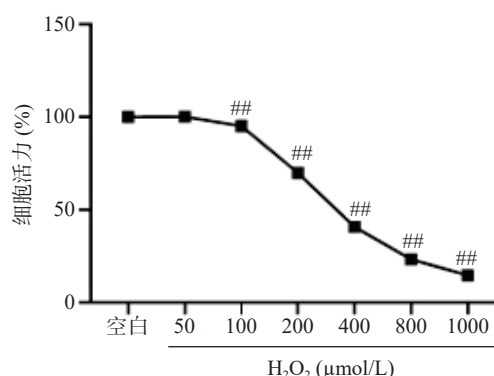


图2 各组大鼠 vHippo 中 GAD67 mRNA 相对表达量(n=8)

Fig.2 Relative expression of ventral hippocampal GAD67 mRNA of each group rats (n=8)

2.6 Eptl 对 H₂O₂ 诱导的 HT22 细胞活力的影响

如图 3 所示, H₂O₂ 和 Eptl 单独处理后观察对 HT22 细胞活力的影响, H₂O₂ 最适刺激浓度为 200 $\mu\text{mol}/\text{L}$, Eptl 预处理浓度为 30 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。与空白组比较, H₂O₂ 模型组细胞活力极显著降低 ($P<0.01$);



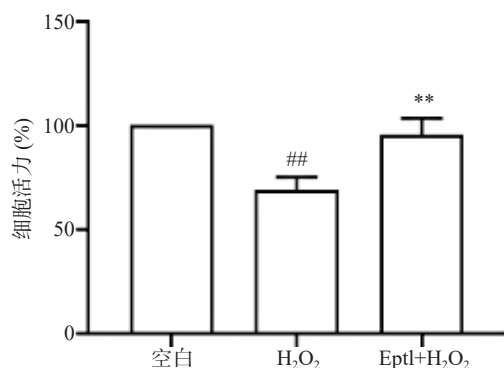
图3 Eptl 对 H₂O₂ 诱导的 HT22 细胞活力的影响(n=3)

Fig.3 Effect of eupatilin on the viability of H₂O₂-induced HT22 cells (n=3)

注: 与空白组比较, ^{##}表示有极显著差异 $P<0.01$; 与 H₂O₂ 模型组比较, ^{**}表示有极显著差异 $P<0.01$ 。

与 H₂O₂ 模型组比较, 30 μ mol/L Eptl 预处理组的细胞活力显著升高($P<0.01$)。

2.7 Eptl 对 H₂O₂ 诱导的 HT22 细胞中 Nrf2 表达的影响

如图 4 所示, Control(空白)组中, Nrf2 主要存在于胞质内, 胞核中表达极少, 而 H₂O₂ 模型组细胞核中 Nrf2 的表达较 Control 组极显著升高($P<0.01$); 与 H₂O₂ 模型组比较, Eptl 预处理组细胞核中 Nrf2 的表

达显著减少($P<0.05$), 且与 Control(空白)组比较, 并无显著性差异($P>0.05$)。

3 讨论与结论

酒精中毒会引起酒精依赖, 戒断会导致睡眠障碍、焦虑和抑郁等精神症状, 给社会 and 个人的生活带来严重的危害^[27]。本研究发现 EtOHWI 期给予 Eptl 对抑制大鼠的 EtOHWI 焦虑样行为有积极作用。EtOHWI 期血液中 CORT 水平增高被认为是大鼠焦虑的激素学基础^[27]。本研究中观察到 EtOHWI 大鼠血清 CORT 水平的极显著升高($P<0.01$), 且两个剂量的 Eptl 均可有效地抑制其增高, 此结果不仅从激素学角度支持了 Eptl 抗 EtOHWI 焦虑的行为学的作用, 而且与行为学检测结果相印证初步确定了 Eptl 对 EtOHWI 焦虑样行为的改善作用。

本研究在不同角度探讨 Eptl 的抗焦虑作用机制, 其中 vHippo 作为 EtOHWI 焦虑症的解剖组织学靶点, 解释了 Eptl 作用机制。Hippo 是学习记忆等认知功能的关键部位, 也是介导焦虑等情感障碍的重要结构, 分布有大量的 GABA_AR^[28-29]。在中枢神经系统(Central nervous system, CNS), GABA 从突触前膜被释放后, 与突触后膜的 GABA_AR 结合而发挥抑制神经传递作用, 因此, GABA 合成和释放以及

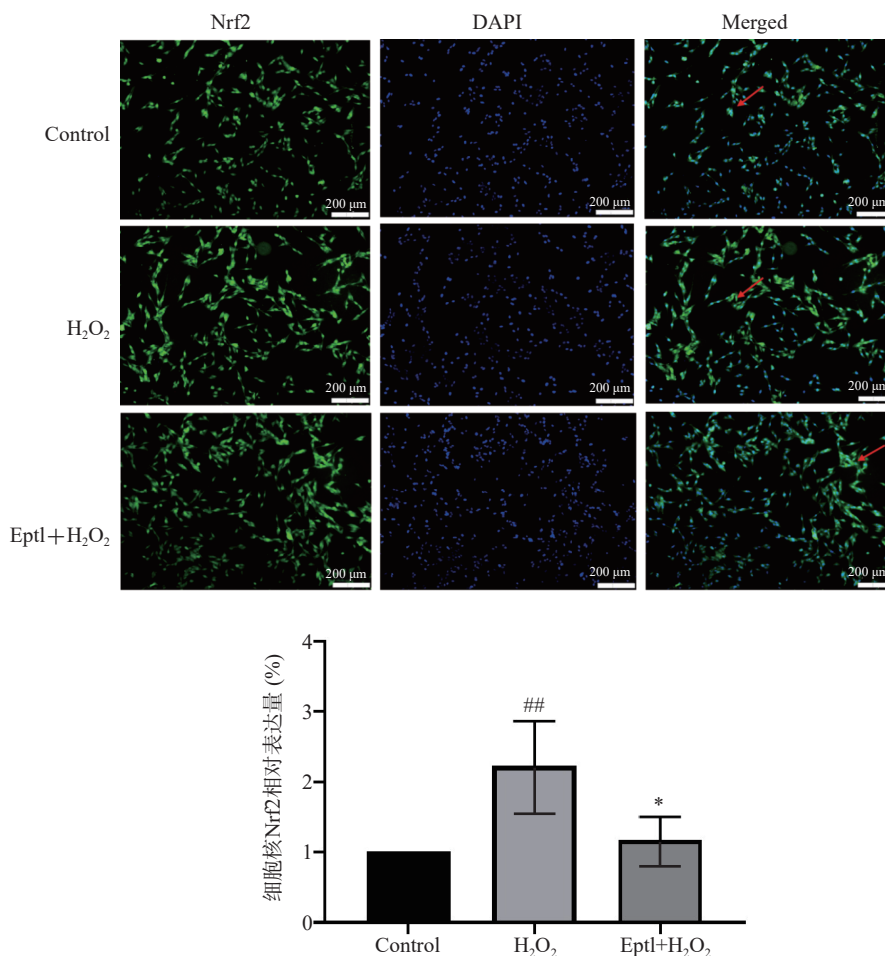
图4 Eptl 对 H₂O₂ 诱导的 HT22 细胞中 Nrf2 表达的影响(200 $\times$, n=3)

Fig.4 Effect of eupatilin on the expression of H₂O₂-induced HT22 cells (200 $\times$, n=3)

注: 与 Control 组比较, ^{##}表示有极显著差异 $P<0.01$; 与 H₂O₂ 模型组比较, ^{*}表示有显著差异 $P<0.05$ 。

GABA_AR 表达直接影响 GABA_AR 传递效应^[30-31]。GAD65 和 GAD67 是中枢 GABA 合成的限速酶,后者一般以功能饱和状态存在,主要负责胞浆内的 GABA 合成,但前者多数受到一些刺激后才被激活发挥作用。因此,组织的 GABA 水平主要由 GAD67 表达量所决定^[32-33]。研究发现,情感障碍患者的 Hippo 存在 GAD67 的显著下调并伴有 GABA_AR 传递异常^[34],表明 GABA 合成能力下降是其发病机制之一。在 Hippo, GABA_AR 和 GABA_BR 是介导 GABA 神经传递的主要受体,其中 GABA_AR 作为抑制性离子通道受体的代表,是介导 EtOH 中枢作用的重要物质基础。GABA_AR 是由 5 个亚基围绕一个中心氯离子通道的五聚体,有 19 种亚型,分布于不同的中枢神经系统,具有特定的生理功能^[35]。苯二氮卓类药物正是通过增强 GABA 与其受体的结合发挥镇静催眠和抗焦虑作用,尤其在海马中体现^[36-37]。在本研究中,EtOHWI 大鼠模型 vHippo 的 GABA 水平极显著降低($P<0.01$),并伴有 GAD67 mRNA 相对表达量的减少,表明在 EtOHWI 期,GABA 合成与释放减少,同时,EtOHWI 大鼠 vHippo 中 GABA_AR 的 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 亚基蛋白表达量均极显著减少($P<0.01$),这些结果与上述其它研究者的结果一致。综上,vHippo 的 GABA_A 神经传递功能下降是介导 EtOHWI 焦虑症重要机制,而 Eptl 通过改善其发挥抗 EtOHWI 焦虑症的效应。

炎症反应和氧化应激存在相互作用,它们所致的损伤通常被认为是,长期饮用 EtOH 或 EtOHWI 导致的 CNS(包括 Hippo)功能紊乱的潜在因素。Jeong 等^[12]曾在研究中发现,Stillen(Eptl 的别名)可降低 Hippo 的 IL-6 和 TNF- α 等炎症因子的表达以发挥抗小鼠抑郁症的效应。在本研究发现,EtOHWI 大鼠模型 vHippo 的 IL-6 和 TNF- α 与生理盐水对照组相比,极显著升高($P<0.01$),而戒断期低高剂量 Eptl 的治疗均显著抑制了这些现象,表明 Eptl 良好的抗炎作用可能是保护或逆转长期饮用 EtOH 或戒断期 vHippo 的 GABA_A 神经传递损伤的基本机制之一。与此相似,Tiwari 等^[38]的研究也发现,长期 EtOH 引起 Hippo 的氧化应激损伤因子的表达增多,而白藜芦醇通过缓解氧化应激损伤等机制改善长期 EtOH 所致大鼠认知障碍。同样,在本研究中,检测到 EtOHWI 模型大鼠 vHippo 的 MDA 水平增高,而 CAT 和 T-SOD 的活性降低,且 Eptl 低、高剂量治疗显著改善氧化应激损伤,表明 Eptl 的抗氧化应激作用也可能是它保护 vHippo 的 GABA_A 神经传递治疗 EtOHWI 焦虑症的重要机制之一。Nrf2/HO-1 是细胞中重要的抗氧化应激系统,本研究检测了 vHippo 的 HO-1 和 Nrf2 的蛋白表达,结果发现 EtOHWI 模型大鼠 vHippo 的此两种蛋白表达有极显著降低($P<0.01$),但 Eptl 治疗显著提高了它们的表达($P<0.05$),表明 Nrf2/HO-1 抗氧化系统可能参与 Eptl 的抗氧化

过程,此结果与课题组前期的研究相符合^[20],也在本研究的细胞实验中进一步得到了证实。在利用啮齿类 Hippo 来源的 HT22 细胞进行的荧光免疫染色中发现,H₂O₂ 诱导组的 HT22 细胞中 Nrf2 向细胞核内的进入量极显著增多($P<0.01$),通常 Nrf2 存在于胞浆内,与胞质接头蛋白(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)结合在一起。当氧化应激或一些信号因子存在的情况下,Nrf2 与 Keap1 分离进入到细胞核内与抗氧化反应元件(Antioxidant response element, ARE)结合启动 HO-1 和 NQO-1 等抗氧化因子的转录过程^[39]。因此,此结果显示 HT22 受到氧化应激攻击时的细胞保护反应,但在同样的免疫荧光染色中发现,30 μ mol/L Eptl 预处理的 HT22 细胞中 Nrf2 进入胞核的量反而减少,说明此浓度的 Eptl 预处理通过某种机制减弱了 H₂O₂ 诱导的氧化应激的攻击,保护了 HT22 受到氧化应激的损伤。上述细胞实验结果和组织中 Nrf2、HO-1 蛋白表达的结果综合说明了,EtOHWI 期间存在 vHippo 的抗氧化应激保护通路紊乱,而 Eptl 通过纠正和改善这些紊乱缓解氧化应激对 GABA_A 传递的损伤,进而表现出抑制 EtOHWI 焦虑症的疗效。

综上所述,本研究得出 EtOHWI 期给予 Eptl 能缓解 EtOHWI 大鼠焦虑样行为,这种效应可能通过 Eptl 的抗炎抗氧化作用所介导,从而改善大鼠 vHippo 的 GABA_AR 传递紊乱。本研究的实验结果为 Eptl 可能成为治疗 EtOHWI 焦虑症及酒精中毒的新药研发提供新的基础实验数据和依据,且考虑到艾叶是民间常用的食用原料和佐料,本研究的结果也为艾叶的药用和保健作用增添新的科学依据。

参考文献

- [1] FREED C R. The natural history of alcoholism: Causes, patterns, and paths to recovery-the virtues of an interdisciplinary perspective of alcoholism and alcoholism recovery[J]. *Addiction*, 2022, 117(2): 506-509.
- [2] KIM H J, LEE M Y, KIM G R, et al. Korean Red Ginseng extract attenuates alcohol-induced addictive responses and cognitive impairments by alleviating neuroinflammation[J]. *Journal of Ginseng Research*, 2023, 47(4): 583-592.
- [3] MILIVOJEVIC V, SULLIVAN L, TIBER J. Pregnenolone effects on provoked alcohol craving, anxiety, HPA axis, and autonomic arousal in individuals with alcohol use disorder[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2023, 240(1): 101-114.
- [4] WANG S C, CHEN Y C, CHEN S J, et al. Alcohol addiction, gut microbiota, and alcoholism treatment: A review[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(17): 6413.
- [5] ROSENBAUM J F. Anxiety treatment with benzodiazepines[J]. *Focus (American Psychiatric Publishing)*, 2021, 19(2): 211.
- [6] PENG L, MORFORD K L, LEVANDER X A. Benzodiazepines and related sedatives[J]. *The Medical Clinics of North America*, 2022, 106(1): 113-129.
- [7] NAGEEN B, SARFRAZ I, RASUL A, et al. Eupatilin: A natural pharmacologically active flavone compound with its wide range applications[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2020, 22(1): 1-16.

- [8] 游新侠,李越.艾叶果蔬复合小馒头的研制[J].粮食与油脂,2020,33(10):75-79. [YOU Xinxia, LI Yue. The development of crunchy rice ball with mugwort and fruit-vegetable compound[J]. Cereals & Oils, 2020, 33(10): 75-79.]
- [9] 徐海卫.艾叶黄酮异泽兰黄素对运动损伤大鼠炎症和抗氧化系统的影响[J].分子植物育种,2023,21(13):4414-4420. [XU Haiwei. Effects of *Artemisia argyi* flavonoid eupatilin on inflammation and antioxidant system in rats with sports injury[J]. Molecular Plant Breeding, 2023, 21(13): 4414-4420.]
- [10] 程德刚,李福昌,任刚.异泽兰黄素通过 DCST1-AS1/miR-138-5p 对胰腺癌细胞 SW-1990 的影响[J].河北医药,2022,44(19):2907-2910,2915. [CHENG Degang, LI Fuchang, REN Gang. Effects and molecular mechanism of eupatilin yellow on the biological behavior of pancreatic cancer cells-SW-1990 through DCST1-AS1/miR-138-5p[J]. Hebei Medical Journal, 2022, 44(19): 2907-2910,2915.]
- [11] ZHANG Y, QIN L, XIE J, et al. Eupatilin prevents behavioral deficits and dopaminergic neuron degeneration in a Parkinson's disease mouse model[J]. *Life Sciences*, 2020, 253: 117745.
- [12] JEONG H J, KIM J H, KIM N R, et al. Antidepressant effect of stillen[J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(6): 1223-1231.
- [13] SAKIMOTO Y, OO P M, GOSHIMA M, et al. Significance of GABA_A receptor for cognitive function and hippocampal pathology[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(22): 12456.
- [14] CENTANNI S W, TEPPEN T, RISHER M L, et al. Adolescent alcohol exposure alters GABA_A receptor subunit expression in adult hippocampus[J]. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 2014, 38(11): 2800-2808.
- [15] ZHAO Z, KIM Y W, WU Y, et al. Korean Red Ginseng attenuates anxiety-like behavior during ethanol withdrawal in rats[J]. *J Ginseng Res*, 2014, 38(4): 256-263.
- [16] LEE H Y, NAM Y, CHOI W S, et al. The hepato-protective effect of eupatilin on an alcoholic liver disease model of rats[J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2020, 24(5): 385-394.
- [17] 王小龙,武爽,吴琦,等.芍药苷对酒精戒断大鼠焦虑样行为、炎症因子及肠道菌群的影响[J].食品工业科技,2022,43(10):378-387. [WANG Xiaolong, WU Shuang, WU Qi, et al. Effects of paeoniflorin on anxiety-like behavior, inflammatory factors and intestinal microflora in alcohol withdrawal rats[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(10): 378-387.]
- [18] JIAO Y, KIM S C, WANG Y, et al. Sauchinone blocks ethanol withdrawal-induced anxiety but spares locomotor sensitization: involvement of Nitric Oxide in the bed nucleus of the stria terminalis[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 6670212.
- [19] KHAZIPOV R, ZAYNUTDINOVA D, OGIEVETSKY E, et al. Atlas of the postnatal rat brain in stereotaxic coordinates[J]. *Front Neuroanat*, 2015, 9: 161.
- [20] 姜敏,李露露,吴桐,等.三白草酮通过调控海马 Nrf2/HO-1 表达减少酒精戒断大鼠抑郁样行为[J].中国病理生理杂志,2022,38(10):1803-1811. [JING Min, LI Lulu, WU Tong, et al. Sauchinone attenuates alcohol withdrawal-induced depression-like behaviors in rats by modulating hippocampal Nrf2/HO-1 expression[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2022, 38(10): 1803-1811.]
- [21] 李光美,王朝群,唐超,等.天麻多糖对阿尔茨海默症小鼠焦虑行为及记忆功能的影响[J].遵义医科大学学报,2023,46(3):227-233. [LI Guangmei, WANG Chaoxian, TANG Chao, et al. Effect of gastrodia elata polysaccharide on anxiety-like and learning memory behaviors in AD mouse models[J]. Journal of Zunyi Medical University, 2023, 46(3): 227-233.]
- [22] FIGUEIREDO CERQUEIRA M M, CASTRO M M L, VIEIRA A A, et al. Comparative analysis between open field and elevated plus maze tests as a method for evaluating anxiety-like behavior in mice[J]. *Heliyon*, 2023, 9(4): e14522.
- [23] 谢晓燕.基于 HPA 轴功能调节探讨调神针法抗焦虑的临床及机制研究[D].广州:广州中医药大学,2021. [XIE Xiaoyan. Discussion on the anti-anxiety effect of regulating spirit acupuncture technique based on the HPA axis neuromodulation: A clinical and mechanism research[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2021.]
- [24] 李晨浩,杨行,张勇.酒精成瘾对中枢神经系统的影响[J].神经解剖学杂志,2021,37(5):601-604. [LI Chenhao, YANG Hang, ZHANG Yong. The effects of alcohol addiction on the central nervous system.[J]. Chinese Journal of Neuroanatomy, 2021, 37(5): 601-604.]
- [25] VANAVESKI T, MPLCHANOVA S, PHAM D D, et al. PGC-1 α signaling increases GABA(A) receptor subunit α 2 expression, GABAergic neurotransmission and anxiety-like behavior in mice[J]. *Front Mol Neurosci*, 2021, 14: 588230.
- [26] 李冬雪.丙泊酚/七氟醚配伍对 MCI 大鼠 GABA_A 受体 α 1/ α 2 亚基蛋白稳态及抑郁状态的影响[D].天津:天津医科大学,2020. [LI Dongxue. Effect of the combination of propofol and sevoflurane on GABA_A receptor α 1/ α 2 subunits protein proteostasis and depressive state in MCI rats[D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2020.]
- [27] SINHA R, WEMM S, FOGELMAN N, et al. Moderation of Prazosin's efficacy by alcohol with withdrawal symptoms[J]. *Am J Psychiatry*, 2021, 178(5): 447-458.
- [28] LI Y, SHEN M, STOCKTON M E, et al. Hippocampal deficits in neurodevelopmental disorders[J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2019, 165: 106945.
- [29] ZAKHAROVA E I, PROSHIN A T, MONAKOV M Y, et al. Cholinergic internal and projection systems of hippocampus and neocortex critical for early spatial memory consolidation in normal and chronic cerebral hypoperfusion conditions in rats with different abilities to consolidation: The role of cholinergic interneurons of the hippocampus[J]. *Biomedicine*, 2022, 10, 1532: 1-28.
- [30] BIANE J S, LADOW M A, STEFANINI F, et al. Neural dynamics underlying associative learning in the dorsal and ventral hippocampus[J]. *Nature Neuroscience*, 2023, 26(5): 798-809.
- [31] TURNER V S, O'SULLIVAN R O, KHEIRBEKM A. Linking external stimuli with internal drives: A role for the ventral hippocampus[J]. *Current Opinion in Neurobiology*, 2022, 76: 102590.
- [32] LEE S E, LEE Y, LEE G H. The regulation of glutamic acid decarboxylases in GABA neurotransmission in the brain[J]. *Arch Pharm Res*, 2019, 42(12): 1031-1039.
- [33] KANAO-KANDA M, KANDA H, LIU S, et al. Viral vector-mediated gene transfer of glutamic acid decarboxylase for chronic pain treatment: A literature review[J]. *Hum Gene Ther*, 2020, 31(7-8): 405-414.
- [34] KIMOTO S, ZAKI M M, BAZMI H H, et al. Altered markers of cortical gamma-aminobutyric acid neuronal activity in schizophrenia: Role of the NARP gene[J]. *JAMA Psychiatry*, 2015, 72(8): 747-756.
- [35] AGRAWAL J, DWIVEDI Y. GABA(A) receptor subunit transcriptional regulation, expression organization, and mediated

calmodulin signaling in prefrontal cortex of rats showing testosterone-mediated impulsive behavior[J]. *Front Neurosci*, 2020, 14: 600099.

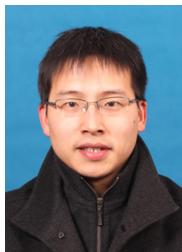
[36] ENGIN E, BENHAM R S, RUDOLPH U. An emerging circuit pharmacology of GABA(A) receptors[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2018, 39(8): 710–732.

[37] BERNARDO A, LEE P, MARCOTTE M, et al. Symptomatic and neurotrophic effects of GABAA receptor positive allosteric modulation in a mouse model of chronic stress[J]. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 2022, 47(9): 1608–1619.

[38] TIWARI V, Chopra K. Resveratrol abrogates alcohol-induced cognitive deficits by attenuating oxidative-nitrosative stress and inflammatory cascade in the adult rat brain[J]. *Neurochem Int*, 2013, 62(6): 861–869.

[39] SONG X, LONG D. Nrf2 and Ferroptosis: A new research direction for neurodegenerative diseases[J]. *Front Neurosci*, 2020, 14: 267.

客座主编



杨栩, 男, 食品科学与工程博士后, 高级工程师, 现任天津市食品安全检测技术研究院食品安全风险研究中心主任。研究方向为天然产物提取、结构表征、生物活性, 药食同源功能性食品研制和功效安全性评价。天津市医疗健康学会第一届精准检测专业委员会副主任委员、《精细化工》和《食品工业科技》青年编委、Bentham 科学出版社大使、国家市场监管总局技术保障专项、科研成果奖评审专家、天津市健康科普专家、天津市食品安全抽检监测专家。主持承担国家重点研发计划、国家科技重大专项、食品安全国家标准、天津重点研发计划、国家市场监管总局等国家/省部级项目 12 项。以第一/通讯作者在 *Food Chemistry*、*International Journal of Biological Macromolecules* 等期刊发表论文 20 余篇, 获批国家发明专利 1 项。



彭鑫, 博士, 天津大学生命科学学院副教授, 硕士生导师, 2016 年~2017 年曾在美国威斯康星大学麦迪逊分校进行公派访学。研究方向为药食同源物质中天然产物的提取分离、筛选制备与功能研究。主持国家自然科学基金、天津市自然科学基金等项目 10 余项, 以第一/通讯作者在 *Journal of Agricultural and Food Chemistry*、*Food Chemistry* 和 *Food & Function* 等期刊发表论文 30 余篇, 其中 JCR 一、二区论文 20 余篇, ESI 高被引论文 1 篇。兼任《食品工业科技》和《中国调味品》青年编委, 马来西亚硕士学位论文海外评审专家, 担任多个 SCI 高水平期刊审稿人。2016 年入选天津大学“北洋学者青年骨干教师计划”和天津市“131”人才计划第三层次人才。