

越鞠丸干预 CUMS 小鼠对抑郁样行为、功能性消化不良及 PACAP/PAC1-R 表达的影响

王艳¹, 高田田¹, 王子颖², 陈刚², 陶伟伟¹

(1. 南京中医药大学中西医结合学院, 江苏 南京 210023; 2. 暨南大学中医学院, 广东 广州 510632)

摘要:目的 探讨越鞠丸对抑郁共病功能性消化不良小鼠抑郁样行为和胃肠功能的影响。方法 将 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、模型组、越鞠丸低剂量组、越鞠丸高剂量组和阳性药组, 采用慢性不可预知温和应激 (CUMS) 构建共病模型, 通过行为学检测、尼氏染色评估小鼠抑郁样行为和神经元损伤; 胃肠组织病理、胃排空率、小肠推进率评估胃肠功能; ELISA 法检测 PACAP、VIP、IL-6、TNF- α 、BDNF 表达; Western blot 检测 PAC1-R、Vipr1、Vipr2 蛋白表达。结果 模型组小鼠表现出抑郁样行为, 海马尼氏体数量减少, 胃肠运动减慢, 血清炎症因子 IL-6、TNF- α 水平升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), PACAP、VIP、BDNF 表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 海马、胃窦、十二指肠组织 PAC1-R、Vipr1、Vipr2 表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较, 越鞠丸低、高剂量组可改善除 Vipr1、Vipr2 之外的其他上述指标 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 越鞠丸可通过 PACAP/PAC1-R 降低炎症因子, 升高 BDNF 水平, 改善 CUMS 小鼠抑郁样行为和功能性消化不良。

关键词:越鞠丸; PACAP; PAC1-R; 抑郁; 功能性消化不良

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-0482(2024)03-0261-07

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2024.0261

引文格式: 王艳, 高田田, 王子颖, 等. 越鞠丸干预 CUMS 小鼠对抑郁样行为、功能性消化不良及 PACAP/PAC1-R 表达的影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2024, 40(3): 261-267.

Effects of Yueju Pill on Depressive Behavior, Functional Dyspepsia and PACAP/PAC1-R Expression in CUMS Mice

WANG Yan¹, GAO Tiantian¹, WANG Ziyang², CHEN Gang², TAO Weiwei¹

(1. School of Integrated Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. School of Traditional Chinese Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the effects of Yueju Pill on depression and gastrointestinal function in depressed co-morbid functional dyspepsia mice. **METHODS** C57BL/6J mice were randomly divided into control group, model group, Yueju Pill low-dose group, Yueju Pill high-dose group and positive drug group. A co-morbidity model was constructed using chronic unpredictable mild stress (CUMS), and the mice were assessed for depression-like behaviour and neuronal damage by behavioural tests and Nissl staining; gastrointestinal function was assessed by HE staining of gastric and intestinal tissues, gastric emptying rate, and small intestinal propulsive rate; PACAP, VIP, IL-6, TNF- α , and BDNF expression were detected by ELISA; PAC1-R, Vipr1, and Vipr2 protein expression were detected by protein immunoblotting. **RESULTS** Mice in the model group showed depression-like behaviour, reduced number of hippocampal nidus, slowed gastrointestinal motility, elevated serum inflammatory factors IL-6 and TNF- α ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and reduced expression of PACAP, VIP, and BDNF ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The PAC1-R, VPAC1-R, VPAC2-R expression decreased in the hippocampus and gastric sinus, duodenal tissue ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, the low and high dose groups of Yueju Pill improved the above indexes except for Vipr1 and Vipr2 ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **CONCLUSION** Yueju Pill can reduce inflammatory factors through PACAP/PAC1-R, increase the level of BDNF, and improve the depression-like behaviour and gastrointestinal dysfunction in CUMS mice.

KEYWORDS: Yueju Pill; PACAP; PAC1-R; depression; functional dyspepsia

抑郁症是一种以持久的心境低落、快感缺失为主要临床表现的精神疾患, 我国发病率为 3.4%^[1], WHO 预测 2030 年抑郁症将成为全球疾病负担第一位的疾病。除精神症状外, 69% 的抑郁患者具有明显的躯体症状, 其中胃肠道症状是其常见症状之

一^[2]。同时研究发现抑郁症是许多胃肠道疾病的常见合并症, 胃肠道疾病患者具有更高的抑郁发病率^[2]。两种疾病经常共存, 彼此加重, 因此, 阐明抑郁患者胃肠道症状的发病机制, 寻找有效的治疗靶点, 对临床诊治具有重要意义。

收稿日期: 2023-11-09

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82274241)

第一作者: 王艳, 女, 博士研究生, E-mail: 20180931105@bucm.edu.cn

通信作者: 陶伟伟, 男, 教授, 主要从事中医药防治抑郁症研究, E-mail: tw845@163.com

抑郁症属中医学“郁证”范畴,《金匱钩玄·六郁》记载:“凡郁皆在中焦”,中焦升降失常致六郁,而越鞠丸是治疗六郁的代表方剂,具有散郁结,畅中焦之功效,临床常用于胃肠疾病及抑郁症的治疗^[3-4]。前期研究发现,越鞠丸可通过调节海马垂腺苷酸环化酶激活多肽(PACAP)发挥抗抑郁作用^[5],但其对胃肠功能的影响尚未明确。

PACAP 是血管活性肠肽(VIP)、促胰液素、胰高血糖素家族的成员,在整个中枢、外周和胃肠神经系统中表达,可调节神经发育新陈代谢、胃肠运动、情绪和某些应激反应^[6]。因此,本研究应用慢性不可预知温和应激(CUMS)方法构建抑郁和功能性消化不良小鼠共病模型,探讨越鞠丸对抑郁合并功能性消化不良的作用机制。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 65 只,6~8 周龄,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2021-0006。在(22±2)℃恒温恒湿环境、自由饮食、12 h 昼夜交替的环境下饲养。

1.2 实验药物

越鞠丸组方川芎、苍术、香附、神曲、栀子购于南京中医药大学国医堂,上述 5 味药,各 10 g,加入 8 倍量水煎煮 1 h,过滤,加 6 倍量水再次煎煮 1 h,合并 2 次药液,旋蒸浓缩,保存至-20℃备用。氟西汀(上海麦克林生化科技有限公司,批号:F844356),多潘立酮(上海麦克林生化科技有限公司,批号:D969490)。

1.3 仪器与试剂

1645050 型蛋白电泳及转膜系统(Bio-Rad),Tanon-4600 型凝胶成像系统(天能公司),X71 型生物倒置显微镜(OLYMPUS)。VIP、IL-6、TNF-α、BDNF ELISA 试剂盒(茁彩,货号:ZC-38836、ZC-37988、ZC-39024、ZC-38512),PACAP 试剂盒(酶联,货号:ml002234),Vipr1(Proteintech,货号:14878-1-AP),Vipr2(Affinity,货号:DF5173),PAC1-R(Affinity,货号:DF7197),GAPDH(Proteintech,货号:10494-1-AP),Anti-rabbit IgG(H+L)(CST,货号:14708)。

2 方法

2.1 模型制备、分组及给药

小鼠适应性喂养 1 周,采用随机数字表法分为

对照组(Sham)、模型组(Model)、越鞠丸低剂量组(YJ-L)、越鞠丸高剂量组(YJ-H)和阳性药组(Positive),每组 12 只。空白组小鼠正常饲养,其他组小鼠采用 CUMS 刺激 5 周建立抑郁合并消化不良模型^[7-8],应激因素包括:禁食 24 h,禁水 24 h,45°斜笼,昼夜颠倒,夹尾,摇笼,噪音,潮湿垫料。每天 2~3 个应激因素且相邻 3 d 的刺激不相同。造模 5 周后进行蔗糖偏好实验及胃肠病理组织学观察以判断模型是否成功。造模成功后,空白组和模型组每 10 g 小鼠灌胃 0.1 mL 生理盐水,越鞠丸低、高剂量则以 6.75、13.5 g·kg⁻¹灌胃,阳性药组则以多潘立酮 4 mg·kg⁻¹与氟西汀 10 mg·kg⁻¹联用。每日灌胃 1 次,共 3 周。

2.2 行为学检测

2.2.1 蔗糖偏好实验(SPT) 饮食禁食 12 h,小鼠单笼饲养,给予 1%的蔗糖溶液和纯水各 1 瓶,测试 12 h,其中 6 h 更换 1 次两水瓶位置。蔗糖偏好率=蔗糖消耗量/(蔗糖消耗量+纯水消耗量)×100%。

2.2.2 旷场实验(OFT) 敞箱规格为 50 cm×50 cm×40 cm,将小鼠放入旷场中央,开始记录其 5 min 内的运动轨迹。实验结束后取出小鼠,并使用 75%酒精擦拭旷场。

2.2.3 悬尾试验(TST) 将小鼠悬挂至离地面 30 cm 处 6 min,记录后 4 min 中小鼠的不动时间。

2.2.4 强迫游泳实验(FST) 将小鼠放入水深约 15 cm 的玻璃圆柱容器内,水温 24~26℃,使小鼠游泳 6 min,记录后 4 min 中小鼠的不动时间。

2.3 胃排空率及小肠推进率

小鼠禁食不禁水 24 h,灌胃 0.3 mL 黑色半固体营养物质(含 10 g 羧甲基纤维素钠、250 mL 蒸馏水、16 g 奶粉、8 g 糖、8 g 淀粉和 2 g 活性炭粉),30 min 后处死小鼠,剖腹,结扎贲门、幽门,去除全胃并称质量。沿胃大弯剪开,生理盐水冲洗,滤纸吸干水分后称量胃净质量,胃排空率=[1-(胃全质量-胃净质量)/半固体营养物质质量]×100%。测量幽门至黑色半固体营养物的距离,及幽门至回肠的距离,小肠推进率=半固体营养物质推进距离/小肠全长×100%。

2.4 胃肠组织 HE 染色

取小鼠胃、十二指肠组织,脱水、包埋,切片,采用 HE 染色,透明,封片,显微镜下观察并拍照。

2.5 ELISA 检测细胞因子及神经肽水平

依据 ELISA 试剂盒说明书,检测各组小鼠中 IL-6、TNF-α、VIP、PACAP、BDNF 水平。

2.6 尼氏染色

脑组织包埋后,切片,脱蜡,1%甲苯胺蓝 60 °C 染色 30 min,经洗涤,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性胶封片。最后,在显微镜下观察海马体内尼氏体的染色并拍照。

2.7 Western blot 检测海马、胃窦、十二指肠组织 Vpr1、Vpr2、PAC-1R 表达

收集组织,裂解离心,取上清进行蛋白定量,然后进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,转膜,封闭,加入稀释后的一抗 Vpr1 (1 : 1 000)、Vpr2 (1 : 1 000)、PAC1-R (1 : 1 000)、GAPDH (1 : 5 000),4 °C 过夜,洗涤,二抗孵育 1 h,显色成像。

2.8 统计学分析

采用 GraphPad Prism 7 软件分析数据,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 One way ANOVA 进行多组间检验,组间比较采用 Tukey 事后检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 越鞠丸改善小鼠抑郁样行为

行为学结果显示,造模后,模型组小鼠蔗糖偏好率降低,悬尾实验和强迫游泳实验中的不动时间增加($P < 0.01$),而给予低、高剂量越鞠丸及阳性药干预后,可增加小鼠的蔗糖偏好率,减少不动时间,差异具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。旷场实验结果显示各组小鼠运动距离没有差异。结果见图 1。

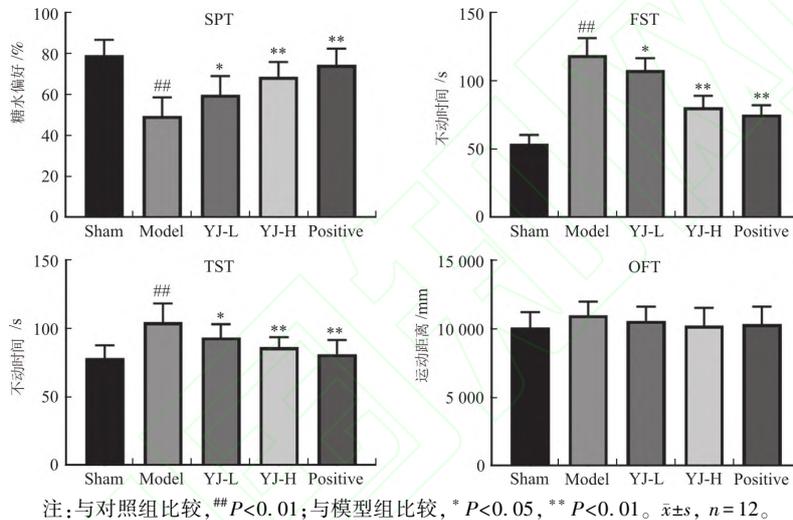


图 1 越鞠丸对小鼠抑郁样行为的影响

Fig. 1 Effects of Yueju Pill on depressive-like behavior in mice

3.2 越鞠丸改善小鼠胃肠功能

HE 染色结果显示各组小鼠胃窦组织病理形态基本正常,黏膜层完整,腺体结构清晰,排列紧密有序,形态正常,未见炎性细胞及明显器质性改变。对照组小鼠十二指肠组织结构完整,形态清晰,杯状细胞排列整齐,而模型组部分小鼠肠黏膜损伤,绒毛排列无序,甚至出现倒伏、脱落,杯状细胞排列紊乱,伴有炎症细胞浸润。而越鞠丸高剂量组及阳性药组小鼠十二指肠黏膜结构恢复正常,肠绒毛结构完整,细胞排列规则,见图 2。

对于胃肠功能,我们检测了各组小鼠的胃排空

率及小肠推进率,结果显示,与对照组比较,模型组小鼠胃排空率及小肠推进率降低($P < 0.01$),与模型组比较,越鞠丸及阳性药干预后可升高小鼠胃排空率及小肠推进率,见图 3。

3.3 越鞠丸增加模型小鼠海马组织尼氏体数量

对照组小鼠神经元排列整齐,轮廓清晰,胞质中可见蓝紫色尼氏小体,模型组小鼠神经元体积变小,细胞核固缩,尼氏体减少、皱缩。越鞠丸及阳性药组小鼠海马神经元排列规则,结构完整,尼氏体数量较模型组增加,见图 4。

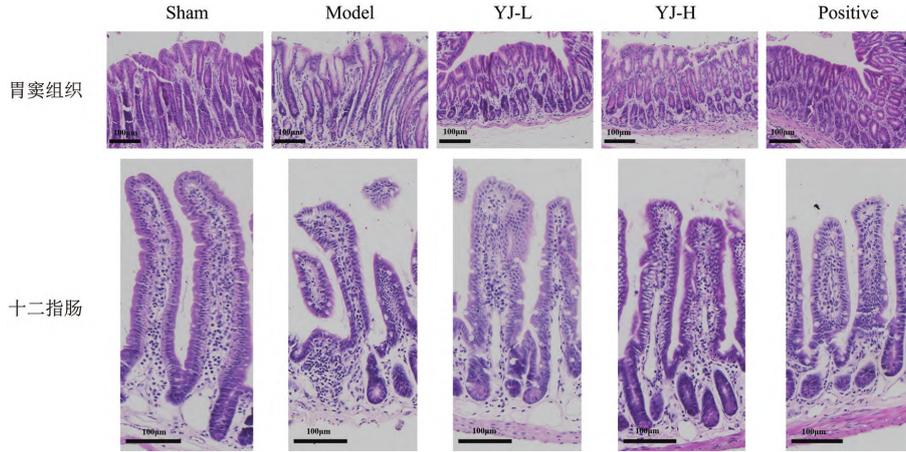
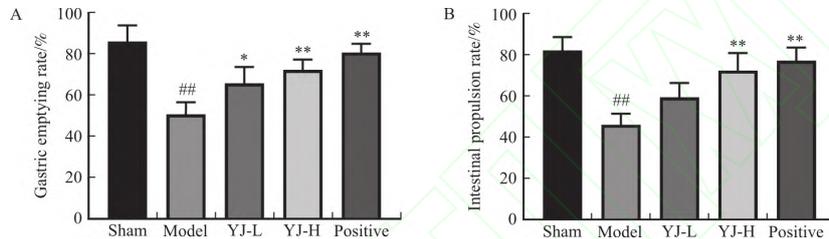


图 2 越鞠丸对小鼠胃窦组织、十二指肠组织形态的影响

Fig. 2 Effects of Yueju Pill on gastric antrum tissue and duodenal tissue morphology in mice



注:A. 胃排空率;B. 小肠推进率。与对照组比较,## $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。 $\bar{x}\pm s, n=3$ 。

图 3 越鞠丸对小鼠胃排空率及小肠推进率的影响

Fig. 3 Effects of Yueju Pill on gastric emptying rate and small intestinal propulsion rate in mice

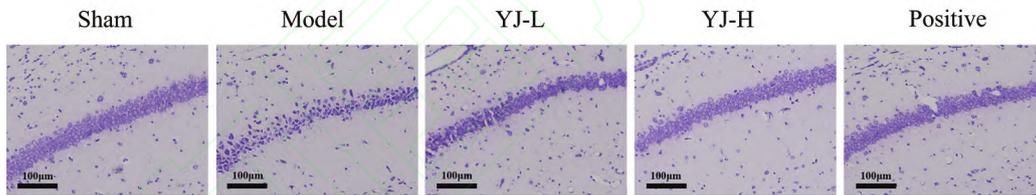


图 4 尼氏染色结果

Fig. 4 Nissl staining results

3.4 越鞠丸增加模型小鼠海马及胃、肠组织 PAC-AP、VIP 含量

与对照组相比,模型组小鼠海马、胃窦、十二指肠组织中 PACAP、VIP 含量均降低($P<0.01$),而越鞠丸低、高剂量治疗后可逆转 PACAP 的降低,且均具有统计学差异($P<0.05, P<0.01$),见图 5。

3.5 越鞠丸对小鼠 IL-6、TNF- α 、BDNF 含量的影响

ELISA 结果显示,与对照组相比,模型组小鼠血清 IL-6、TNF- α 显著升高($P<0.01$),血清及海马组织中 BDNF 显著降低($P<0.01$),越鞠丸及阳性药干预后,可逆转这种改变,差异具有统计学意义($P<$

$0.05, P<0.01$),见图 6。

3.6 越鞠丸增加 Vipr1、Vipr2、PAC1-R 受体蛋白的表达

Western blot 结果显示:与对照组比较,模型组小鼠海马、胃窦和十二指肠组织中的 Vipr1、Vipr2、PAC1-R 蛋白表达明显降低($P<0.01$)。与模型组相比,越鞠丸低、高剂量组及阳性药组小鼠海马、胃窦、十二指肠组织中 Vipr1、Vipr2、PAC1-R 蛋白表达上升,其中越鞠丸低、高剂量组干预后的 PAC1-R 受体表达升高具有统计学意义($P<0.05, P<0.01$),见图 7。

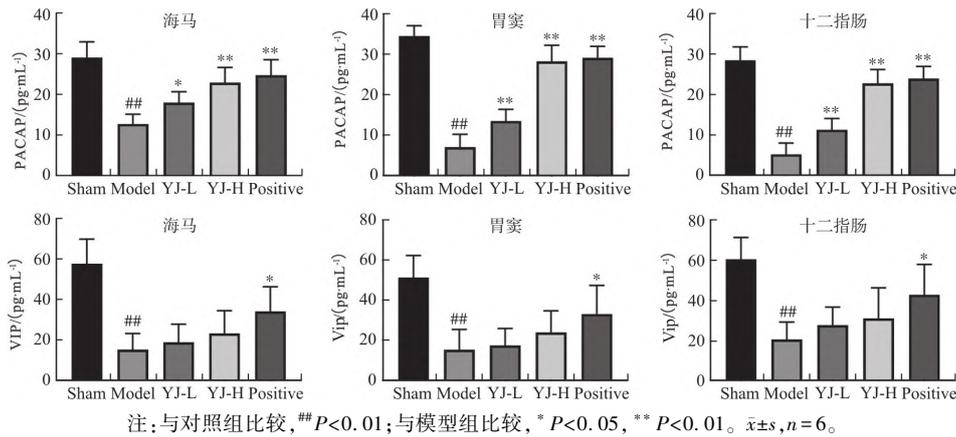
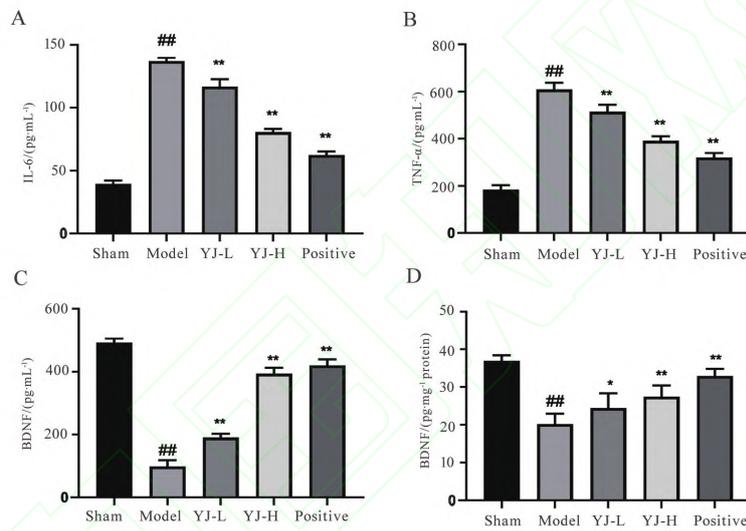


图 5 越鞠丸对小鼠海马、胃窦、十二指肠组织中 PACAP、VIP 含量的影响

Fig. 5 Effects of Yueju Pill on PACAP and VIP contents in the hippocampus, gastric antrum, and duodenum tissues of mice



注: A. 血清 IL-6; B. 血清 TNF-α; C. 血清 BDNF; D. 海马组织 BDNF。与对照组比较, ##*P*<0.01; 与模型组比较, **P*<0.05, ***P*<0.01。x̄±s, n=6。

图 6 越鞠丸对 IL-6、TNF-α、BDNF 表达的影响

Fig. 6 Effects of Yueju Pill on the expression of serum IL-6, TNF-α and BDNF in mice

4 讨论

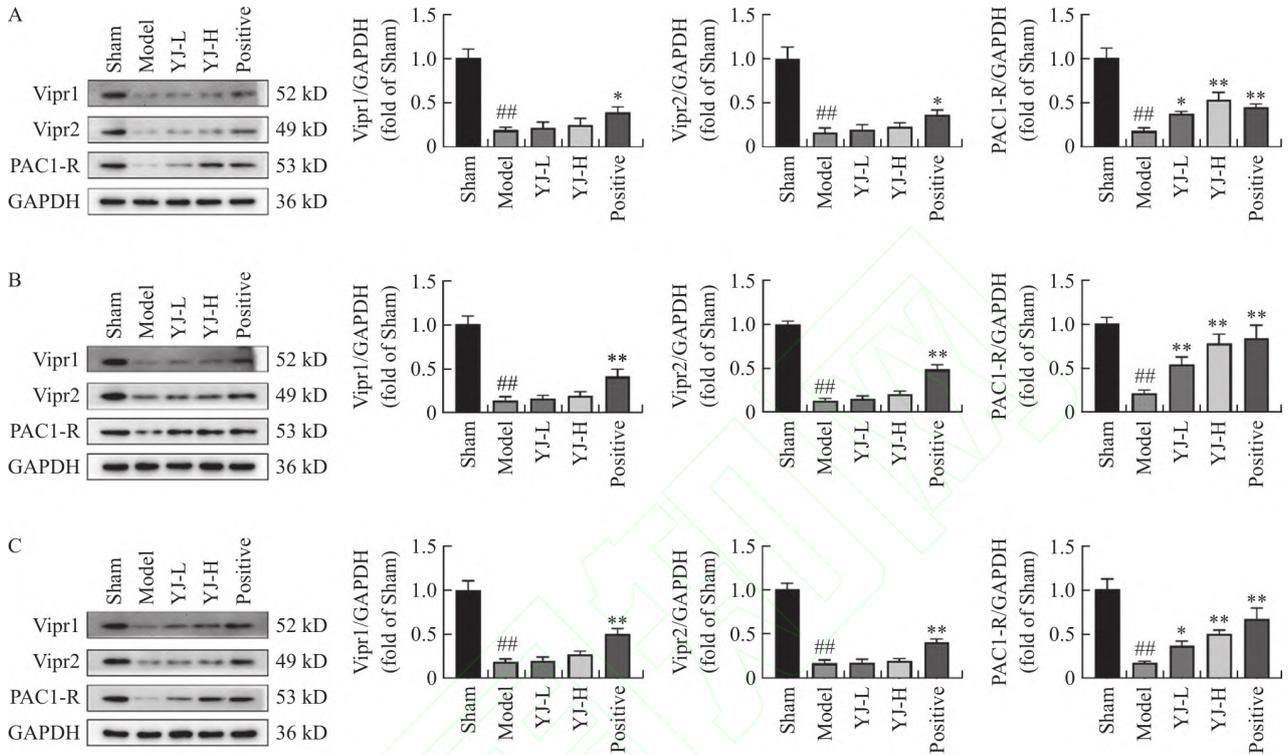
抑郁症是一种长期持续的情绪障碍,并且与胃肠道疾病高度共病。研究显示慢性应激可影响中枢神经系统及消化系统^[9],模拟相似的病因是复制动物模型的理论基础,CUMS 可模拟抑郁和消化不良发生过程中复杂的病因,同时符合慢性起病的特点^[10]。因此我们采用该方法复制抑郁合并功能性消化不良动物模型,并采用行为学实验、胃肠排空率及病理组织学染色对模型进行评价。模型组小鼠蔗糖偏好率降低,悬尾实验和强迫游泳实验中的不动时间增加,体现出其快感缺失和绝望行为,符合抑郁症的表现。功能性胃肠病是抑郁症的常见合并症,

我们的研究结果显示模型组小鼠胃排空率和小肠推进率降低,表明其胃肠运动减弱,而胃窦组织病理并无明显异常,符合功能性消化不良诊断,十二指肠病理改变可能是由于十二指肠低度炎症导致的黏膜完整性丧失。

越鞠丸出自《丹溪心法》,治疗六郁见症之胸膈痞满、心腹疼痛、吞酸嘈杂等疾病,临床研究发现越鞠丸可用于治疗功能性消化不良^[11],同时发现其对抑郁症患者具有快速起效的抗抑郁作用^[12]。本研究探讨越鞠丸的抗抑郁及调控胃肠运动作用,结果显示,越鞠丸干预后可改善小鼠抑郁样行为,增加海马神经元尼氏体数量,恢复神经元损伤。除此之外,

应激可影响局部炎症和肠道渗透性,大量临床研究表明抑郁症和功能性胃肠道疾病患者均伴有促炎因子水平升高,这与我们的研究结果一致,而越鞠丸治疗后,可改善十二指肠绒毛结构,降低血清炎症因子

IL-6、TNF- α 水平,增加胃肠运动,进而缓解功能性消化不良症状。越鞠丸的抗抑郁样作用和改善胃肠动力障碍,其机制被认为与脑肠轴的调节有关。



注:A. 海马组织;B. 胃窦组织;C. 十二指肠组织。与对照组比较, # $P < 0.01$;与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。 $\bar{x} \pm s, n = 6$ 。

图 7 越鞠丸对 Vipr1、Vipr2、PAC1-R 蛋白表达的影响

Fig. 7 Effect of Yueju Pill on the expression of Vipr1, Vipr2 and PAC1-R proteins

脑肠轴是大脑与肠道之间联系的双向通路,为我们研究精神心理因素导致胃肠生理病理改变提供了基础^[7]。近年来随着研究的深入,更多的学者关注脑肠轴在精神疾病及胃肠疾病中的作用。脑肠肽是一类分布于胃肠道及脑组织的多肽类物质,可通过与其受体结合,调控脑部功能及胃肠感觉和运动。PACAP 和 VIP 是众所周知的神经肽,它们通过激活不同的信号传导途径和转录遗传活性发挥有效的神经保护作用^[13]。PACAP 和 VIP 通过 2 种常见受体 VPAC1 (Vipr1) 和 VPAC2 (Vipr2) 发挥作用,而 PACAP 还有一个最具亲和力的特异性受体 PAC1-R。在神经细胞中,PACAP 通过 PAC1-R 受体,增强神经元细胞中神经营养蛋白的表达,减少神经元的损伤,促进神经元存活、增殖和分化,发挥对神经元的保护作用^[14-15]。而 VIP 系统主要通过调节星形胶质细胞和小胶质细胞间接发挥其神经保护作用^[15]。

在胃肠道中,PACAP 和 VIP 两种肽在肠神经系统和肠内分泌细胞中大量表达,影响分泌、运动和反射^[16]。PACAP 通过刺激 PAC1-R 而增加胃酸分泌,通过迷走神经调节胃运动和胃排空等^[17]。本研究通过检测小鼠海马、胃窦、十二指肠中 PACAP、VIP 及其受体水平,结果显示越鞠丸可升高 PACAP、VIP 含量,增加 PAC1-R、Vipr1 和 Vipr2 水平,其中对 PAC1-R 的调节作用最显著,表明其通过 PACAP/PAC1-R 发挥作用。

BDNF 广泛表达于中枢神经系统、肠道和其他组织中,在神经元存活和生长中发挥重要作用,并参与突触发生和突触可塑性^[18],在成人胃肠道中,BDNF 可调控胃肠运动,黏膜屏障功能等^[19-20]。体内外研究表明,PACAP 及 PAC1-R 可增加海马及肠道 BDNF 的转录和表达,增加肠道蠕蠕^[21],PAC1-R 缺陷小鼠中 BDNF 表达降低^[22]。因此,BDNF 表达增

加被认为是 PACAP/PAC1-R 刺激诱导神经保护和胃肠运动的关键机制。我们的研究显示,模型组小鼠血清及海马组织中 BDNF 含量降低,而越鞠丸治疗后可升高 BDNF 水平。因此,越鞠丸可能通过 PACAP/PAC1-R 调控 BDNF 表达,进而改善小鼠抑郁样行为及胃肠功能障碍。

综上所述,本研究结果表明越鞠丸具有抗抑郁及改善胃肠运动作用,其机制可能与增加 PACAP 及其受体 PAC1-R 表达有关,同时初步探究 PACAP 参与抑郁合并功能性消化不良的病理过程,为临床治疗提供新的研究思路。

参考文献:

- [1] HUANG J, CAI Y Y, SU Y S, et al. Gastrointestinal symptoms during depressive episodes in 3256 patients with major depressive disorders: Findings from the NSSD [J]. *J Affect Disord*, 2021, 286: 27-32.
- [2] KOP W J. Somatic depressive symptoms, vital exhaustion, and fatigue: Divergent validity of overlapping constructs [J]. *Psychosom Med*, 2012, 74(5): 442-445.
- [3] 张煜萱, 崔博, 邹之璐, 等. 越鞠丸治疗气郁体质抑郁症患者及改善血清 BDNF 水平的临床对照研究 [J]. *辽宁中医杂志*, 2018, 45(5): 960-963.
- [4] ZHANG Y X, CUI B, ZOU Z L, et al. Clinical observation on effect of Yueju pill in treating qi-stagnation constitution depression patients [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2018, 45(5): 960-963.
- [5] 李劲亮. 越鞠丸辅治肝胃不和型功能性消化不良的临床效果观察 [J]. *临床合理用药杂志*, 2018, 11(23): 40-41.
- [6] LI J L. Clinical observation of Yueju Pill in adjuvant treatment of functional dyspepsia with disharmony between liver and stomach [J]. *Chin J Clin Ration Drug Use*, 2018, 11(23): 40-41.
- [7] REN L, ZHANG H L, TAO W W, et al. Hippocampal pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide mediates rapid antidepressant-like effects of Yueju pill [J]. *Neuropeptides*, 2023, 101: 102350.
- [8] 杜鹃, 柯道平, 孔德虎. 垂体腺苷酸环化酶激活肽对胃肠道分泌与运动的影响 [J]. *四川生理科学杂志*, 2003(1): 1-4.
- [9] DU J, KE D P, KONG D H. Effects of pituitary adenylate cyclase activating peptide on gastrointestinal secretion and motility [J]. *Sichuan J Physiol Sci*, 2003(1): 1-4.
- [10] 郑劫, 许一凡, 陈艳燕, 等. 甘麦大枣汤联合氟西汀通过调控肠道菌群改善慢性应激小鼠抑郁症状的研究 [J]. *南京中医药大学学报*, 2020, 36(5): 667-674.
- [11] ZHENG J, XU Y F, CHEN Y Y, et al. Ganmai Dazao Decoction combined with fluoxetine treatment alleviates depressive symptoms in chronic stress mice by modulating intestinal microbiota [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*, 2020, 36(5): 667-674.
- [12] 陶伟伟, 白子君, 岳启予, 等. 栀子豉汤对慢性应激诱导的抑郁模型小鼠脑组织神经炎症和突触可塑性的影响 [J]. *中医杂志*, 2022, 63(11): 1073-1079.
- [13] TAO W W, BAI Z J, YUE Q Y, et al. Effect of zhizhichi decoction on neuroinflammation and synaptic plasticity in brain tissue of chronic stress-induced depression model mice [J]. *J Tradit Chin Med*, 2022, 63(11): 1073-1079.
- [14] WANG T, YAN Y F, YANG L, et al. Effects of Zuojin pill on depressive behavior and gastrointestinal function in rats with chronic unpredictable mild stress; Role of the brain-gut axis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 254: 112713.
- [15] 赵静怡, 郑金粟, 曹锐. 肝郁脾虚型功能性消化不良中医病证结合模型的研究进展 [J]. *北京中医药*, 2023, 42(10): 1156-1160.
- [16] ZHAO J Y, ZHENG J S, CAO R. Research progress of functional dyspepsia disease and syndrome combination model with liver depression and spleen deficiency [J]. *Beijing J Tradit Chin Med*, 2023, 42(10): 1156-1160.
- [17] 吴仁军. 越鞠丸加减治疗功能性消化不良 142 例 [J]. *光明中医*, 2014, 29(3): 519-520.
- [18] WU R J. 142 cases of functional dyspepsia treated by Yueju pill [J]. *Guangming J Chin Med*, 2014, 29(3): 519-520.
- [19] WU R Y, ZHU D D, XIA Y C, et al. A role of Yueju in fast-onset antidepressant action on major depressive disorder and serum BDNF expression; A randomly double-blind, fluoxetine-adjunct, placebo-controlled, pilot clinical study [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2015, 11: 2013-2021.
- [20] VAUDRY D, FALLUEL-MOREL A, BOURGAULT S, et al. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and its receptors: 20 years after the discovery [J]. *Pharmacol Rev*, 2009, 61(3): 283-357.
- [21] 李喜龙, 赵兴绪. 垂体腺苷酸环化酶激活肽的研究概况 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2001, 28(2): 140-144.
- [22] LI X L, ZHAO X X. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide [J]. *Prog Biochem Biophys*, 2001, 28(2): 140-144.
- [23] SOLES-TARRES I, CABEZAS-LLOBET N, VAUDRY D, et al. Protective effects of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and vasoactive intestinal peptide against cognitive decline in neurodegenerative diseases [J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 221.
- [24] REGLODI D, ILLES A, OPPER B, et al. Presence and effects of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide under physiological and pathological conditions in the stomach [J]. *Front Endocrinol*, 2018, 9: 90.
- [25] 岳双明, 周安国, 王之盛, 等. 垂体腺苷酸环化酶激活多肽 (PACAP) 的研究概况 [J]. *饲料工业*, 2007, 28(11): 12-16.
- [26] YUE S M, ZHOU A G, WANG Z S, et al. Research advance of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide [J]. *Feed Ind*, 2007, 28(11): 12-16.
- [27] BATHINA S, DAS U N. Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications [J]. *Arch Med Sci*, 2015, 11(6): 1164-1178.
- [28] LIU S M. Neurotrophic factors in enteric physiology and pathophysiology [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2018, 30(10): e13446.
- [29] LI C, CAI Y Y, YAN Z X. Brain-derived neurotrophic factor preserves intestinal mucosal barrier function and alters gut microbiota in mice [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2018, 34(3): 134-141.
- [30] AL-QUDAH M, ALKAHTANI R, AKBARALI H I, et al. Stimulation of synthesis and release of brain-derived neurotrophic factor from intestinal smooth muscle cells by substance P and pituitary adenylate cyclase-activating peptide [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2015, 27(8): 1162-1174.
- [31] ZINK M, OTTO C, ZORNER B, et al. Reduced expression of brain-derived neurotrophic factor in mice deficient for pituitary adenylate cyclase activating polypeptide type-I-receptor [J]. *Neurosci Lett*, 2004, 360(1/2): 106-108.

(编辑:董宇)