



罗马洋甘菊精油的嗅闻缓解WKY大鼠的抑郁样行为

孔莺莺¹, 王婷^{1,2}, 汪容¹, 马一川¹, 宋杉杉¹, 刘娟¹, 胡伟伟¹, 李胜天^{1*}

1. 上海交通大学Bio-X研究院, 遗传发育与精神神经疾病教育部重点实验室, 上海市重性精神病重点实验室, 社会认知与行为科学研究院, 脑科学与技术研究中心, 上海 200240;

2. 花王(中国)研究开发中心有限公司, 上海 201105

* 联系人, E-mail: lstian@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2017-03-01; 接受日期: 2017-04-12; 网络版发表日期: 2017-04-18

国家自然科学基金(批准号: 31271198, 81121001, 81421061)、上海市科学技术委员会基金(批准号: 13DJ1400303, 13DZ2260500)、上海交通大学文理交叉基金(批准号: 14JCRZ01)资助

摘要 如今, 精油香薰治疗被认为是治疗抑郁症的一种可替代疗法. 检测了连续两周的罗马洋甘菊(*Anthemis nobilis*)精油香薰治疗对抑郁症模型大鼠(*Rattus norvegicus*)-WKY(Wistar-Kyoto)大鼠的抑郁样行为的影响. 发现无论是罗马洋甘菊或是其主要成分 α -萜烯的香薰治疗都能缓解WKY大鼠在强迫游泳实验中的抑郁样行为. 通过蛋白组学同位素标记相对和绝对定量(iTRAQ)技术发现, α -萜烯治疗的WKY大鼠脑内与氧化磷酸化相关的蛋白表达上升, 包括海马中的细胞色素C氧化酶6C-2亚基及7A2亚基、ATP酶抑制剂, 以及前额叶皮层中的细胞色素c氧化酶6C-2亚基、ATP合成酶c亚基、酰基载体蛋白, 以及细胞色素b-c1复合体6号亚基. 进一步应用实时定量PCR技术还发现, α -萜烯的香薰治疗使得WKY大鼠海马内小清蛋白的mRNA表达上升, 而iTRAQ分析显示, 该蛋白在海马的表达上调2.8倍. 以上结果提示, 线粒体及小清蛋白相关信号通路在 α -萜烯香薰治疗WKY大鼠的抑郁样行为中发挥作用.

关键词 重型抑郁, 精油香薰治疗, 小清蛋白, α -萜烯, 海马, iTRAQ分析

在过去10年的研究中, 通过临床研究^[1-4]或者实验动物研究^[5-10], 不同的研究团队已经发现了多种精油抗抑郁的效果, 但也有研究报告认为精油对抑郁症状没有改善作用^[11]. 洋甘菊(*Chamomilia*)是世界上最普遍的药草之一^[12,13]. 洋甘菊分为两种: 较为普遍的德国洋甘菊(*Matricaria recutita*)和罗马洋甘菊(*Anthemis nobilis*), 二者作为药物的应用可追溯到几千年前, 从古埃及、罗马到希腊. 历史上它被用于治疗焦虑、失眠

等疾病, 而大部分使用精油的人用它来缓解焦虑或帮助入眠. 一项随机抽样检验洋甘菊对焦虑作用的临床实验发现洋甘菊胶囊缓解了轻、中度焦虑症病人的焦虑症状. 一项针对8058个分娩孕妇的研究花费8年时间检测了通过皮肤吸收或者嗅闻给药10种精油的作用效果, 结果显示洋甘菊和鼠尾草精油可有效减少孕妇的焦虑、恐惧或疼痛^[14]. 另一项对睡眠失常的产后女性随机抽样研究也发现, 饮用洋甘菊茶可缓解

引用格式: 孔莺莺, 王婷, 汪容, 等. 罗马洋甘菊精油的嗅闻缓解WKY大鼠的抑郁样行为. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 377-385, doi: [10.1360/N052017-00084](https://doi.org/10.1360/N052017-00084)
英文版见: Kong Y Y, Wang T, Wang R, et al. Inhalation of Roman chamomile essential oil attenuates depressive-like behaviors in Wistar Kyoto rats. Sci China Life Sci, 2017, 47, in press, doi: [10.1007/s11427-016-9034-8](https://doi.org/10.1007/s11427-016-9034-8)

抑郁和改善睡眠质量,但是疗效只能持续两周^[15]。然而,使用实验小鼠(*Mus musculus*)研究洋甘菊作用的结果却有些矛盾:口服洋甘菊使得小鼠在开放场、高空十字架和社会交流实验中产生焦虑症状,而不是抗焦虑作用,但是在悬尾实验中减少了小鼠的不动时间^[16]。迄今为止,尽管洋甘菊的应用较为普遍,但较少有实验去研究它的作用机制。本研究探究了连续两周嗅闻罗马洋甘菊精油对抑郁模型鼠——WKY大鼠的抑郁样行为的作用。通过结合使用同位素标记相对和绝对定量(isobaric tags for relative and absolute quantification, iTRAQ)技术和实时荧光定量PCR技术分析,探讨了可能参与罗马洋甘菊精油对WKY大鼠抗抑郁作用的信号通路。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本实验从北京大学医学部实验动物科学部购买5周龄雄性WKY大鼠。在整个实验周期,大鼠接受昼夜颠倒的12h间隔昼夜循环(光源在21:00开启9:00关闭),所有精油治疗及行为学测试都在9:00~16:00,也即其夜间状态下进行,因为此时大鼠处于清醒期。环境中的温度被实时监控并维持在25℃~26℃,湿度维持在36%~37%。大鼠可自由地获得水及食物。本实验中的动物实验操作完全符合上海交通大学实验动物中心的动物伦理条款。

1.2 精油治疗

所有WKY大鼠都在治疗前进行一周的环境适应。实验时,在黑夜状态下给予大鼠每日7 h的精油嗅闻,持续14天。在治疗期间,WKY大鼠的笼子移至由树脂玻璃制成的特殊香薰治疗箱(75×57×50 cm³)内,大鼠可在其中自由移动。罗马洋甘菊精油(400 μL)或 α -萘烯(400 μL)由放置在香薰治疗箱底部的芳香石——电子喷雾器释放,不同组的香薰治疗箱放置于不同的实验动物房间内。为了增强空气流通,在香薰治疗箱的4周钻了12个空洞(直径5 cm)。对照组大鼠也饲养在同样的环境中但不给予精油香薰治疗。在每天精油治疗结束后,饲养笼被重新放回动物饲养房内。精油治疗完全结束之后,部分大鼠按以下顺序进行行为学实验:开放场实验、强迫游泳实验;剩余大鼠断头、取材,

进行蛋白组学和生化指标的分析。罗马洋甘菊精油从Robert Tisserand(英国)购得, α -萘烯从阿拉丁试剂公司(上海)购买。图1A展示了实验流程。

1.3 行为学实验

开放场实验在罗马洋甘菊或 α -萘烯连续14天香薰治疗结束后的第二天进行,用于分析大鼠常规的运动能力和焦虑样行为^[17,18]。实验系统由独立的灰色树脂玻璃箱(40×40×45 cm³)组成。大鼠移动的总距离及站立次数通过视频追踪软件(Anymaze Software, Stoelting公司,美国)记录,共5 min。每次测试结束之后都用70%酒精擦拭实验箱,并用吹风机干燥,以防留下个体的气味线索,对下一只大鼠的测试造成影响。

强迫游泳实验用来测试抑郁行为^[19]。在开放场实验结束的第二天进行,持续两天。第一天,将大鼠放置于竖直的树脂玻璃圆筒(直径30 cm、高45 cm)内,筒内水高35 cm(水温控制在25℃±1℃)。5 min后将大鼠从水中取出,用毛巾擦拭并用吹风机吹干其皮肤。第二天将大鼠放进同一个玻璃圆筒进行正式测试,时间5 min,并用摄像机记录整个过程。实验均在光线微弱的房间内进行。实验结束后由实验分析人员应用分析软件(Anymaze Software, Stoelting公司)导出其不动时间。为了漂浮在水面上大鼠的单侧或者双下肢轻微摆动记为其不动时间。

1.4 蛋白组学分析

给予连续两周的 α -萘烯嗅闻后,对照、实验两组随机挑选6只大鼠(未进行行为学实验的),用异氟烷麻醉、断头、取其海马和前额叶组织,立即用液氮速冻,放置于-80℃保存,用于iTRAQ实验。样本用iTRAQ试剂标记,所有液态色谱-质谱分析实验都使用LTQ(Thermo Fisher Scientific,美国)以及高效液相色谱法。iTRAQ的蛋白鉴定和定量均使用Mascot软件(Matrix Science,版本2.3.02)。同时也使用NCBI蛋白数据库(IPI.RAT.fasta [v3.87], <ftp://ftp.ebi.ac.uk/pub/databases/IPI/current/>),在输出结果前也用其他软件筛选检索结果。对于蛋白鉴定的结果,设置显著性水平为 $P<0.05$ (95%的可信区间)以及期望临界值 >0.05 (95%的可信区间)。蛋白定量设置选择“权重”来区分蛋白的类型,而且只选取独特肽段(unique peptide)来定量蛋白质。总密度用来进行均一化,并且自动消除异常值。

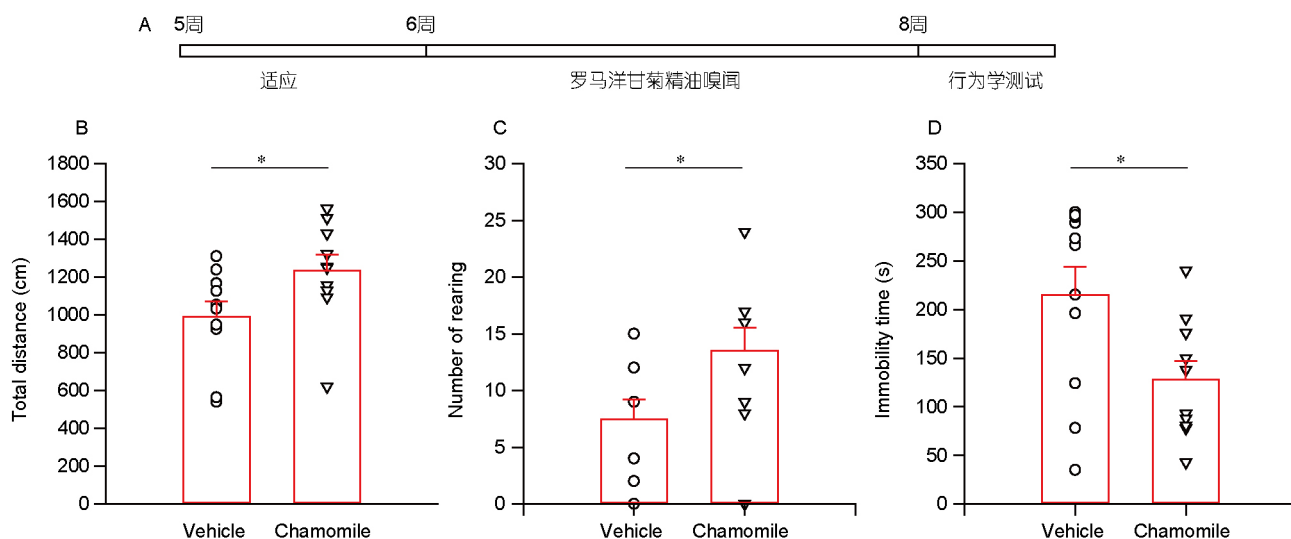


图1 罗马洋甘菊对WKY大鼠的抗抑郁作用(网络版彩图)

在开放场实验中, 罗马洋甘菊精油治疗的WKY大鼠运动距离有增加趋势(A), 站立次数显著增加(B). 在强迫游泳实验中, 罗马洋甘菊精油治疗的WKY大鼠不动时间显著增加(C). *: $P < 0.05$

1.5 实时定量反向聚合酶链反应

给予连续两周的 α -萜烯嗅闻后, 对照、实验两组随机挑选4只大鼠(未进行行为学实验的), 用异氟烷麻醉、断头、取其海马组织, 立即用液氮速冻, 放置于 -80°C 保存. 使用Trizol试剂(Life technologies, 美国)提取海马的全RNA. 每个样本使用等量的RNA进行反转录, 合成互补DNA(使用SuperScript[®] III First-Strand Synthesis SuperMix; 仪器为Veriti[®] thermal cycler (Applied Biosystems, 美国)). qPCR的数据用 $\Delta\Delta C_t$ 方法进行分析. 用于扩增实验中特定cDNA区域的引物和探针为: β 肌动蛋白, 正向引物5'-GTGAAAAGATGACCCAGATCATG-3', 反向引物5'-CACAGCCTGGATGGCTACG-3', 探针5'-TGAGACCTTCAACACCCCAGCCATG-3'; 血清蛋白, 正向引物5'-TGAGGACATCAAGAAGGCGATAG-3', 反向引物5'-CCACCATCT GGAAGAAGCTTTTG-3', 探针5'-AGCCTTTACTGCTGCAGACTCCTTCGAC C-3'. β 肌动蛋白的定量用于内参进行均一化. 所有qPCR反应都进行3个复孔重复, 并采用其平均 C_t 值.

1.6 统计分析

除了特殊标注, 所有数据都应用非配对双尾 t 检验(unpaired two-tailed t -test)进行统计学分析, 显著性水平设置为 $P < 0.05$. 数据用 $\bar{x} \pm \text{SE}$ 的方式表示.

2 结果与分析

2.1 罗马洋甘菊精油嗅闻缓解WKY大鼠的抑郁样行为

在开放场实验中, 与对照组相比, 罗马洋甘菊精油嗅闻组的WKY大鼠活动距离有增加的趋势(图1A, 对照组 990.4 ± 82.4 cm, $n = 10$; 洋甘菊组 1234.3 ± 84.7 cm, $n = 10$; $P = 0.054$), 并且其站立次数显著增加(图1B, 对照组 7.5 ± 1.8 次, $n = 10$; 洋甘菊组 13.5 ± 2.1 次, $n = 10$; $P = 0.041$). 在强迫游泳实验中, 罗马洋甘菊精油嗅闻的WKY大鼠不动时间显著减少(图1C, 对照组 215.3 ± 28.9 s, $n = 10$; 洋甘菊组 127.8 ± 19.5 s, $n = 10$; $P = 0.012$). 以上结果说明罗马洋甘菊精油的慢性嗅闻缓解了WKY大鼠的绝望行为, 但是对其探索行为的作用不是很明显.

接着验证了罗马洋甘菊主要成分之一—— α -萜烯^[20,21]在开放场和强迫游泳中对WKY大鼠的抑郁样行为的作用. 与罗马洋甘菊精油的作用类似, α -萜烯的慢性嗅闻也使得WKY大鼠在开放场中的活动距离呈现增加的趋势(图2A, 对照组, 1234.7 ± 85.9 cm, $n = 10$; α -萜烯 1376.1 ± 30.5 cm, $n = 10$; $P = 0.14$), 站立次数显著增多(图2B, 对照组 7.3 ± 2.0 次, $n = 10$; α -萜烯 15.1 ± 1.8 次, $n = 10$; $P = 0.009$). 同样, 在强迫游泳实验

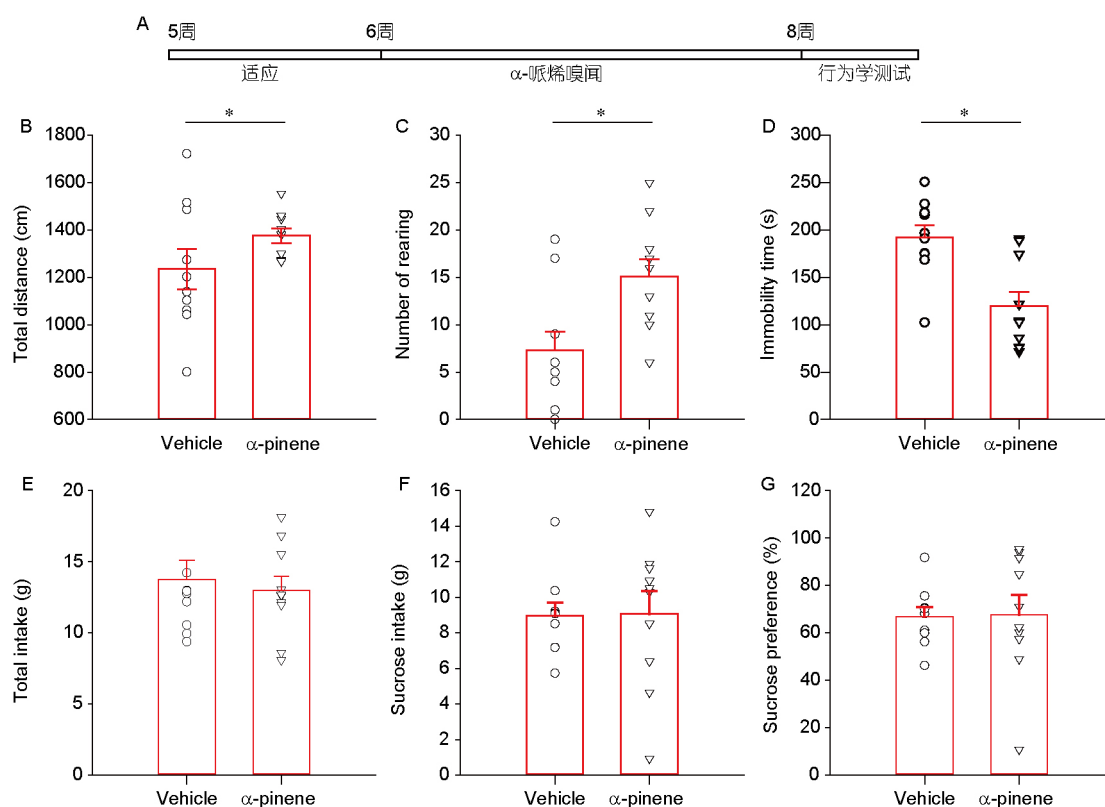


图2 α -萜烯对WKY大鼠的抗抑郁作用(网络版彩图)

在开放场实验中, α -萜烯嗅闻的WKY大鼠运动距离有增加趋势(A), 站立次数显著增多(B)。在强迫游泳实验中, α -萜烯嗅闻的WKY大鼠不动时间显著增加(C)。在糖水偏好实验中, 总摄入量(D)、糖水摄入量(E)以及糖水偏好(F)在对照组和 α -萜烯嗅闻组间无显著性差异。*: $P < 0.05$

中, α -萜烯治疗的WKY大鼠不动时间显著减少(图2C, 对照组 192.1 ± 13.0 s, $n = 10$; α -萜烯 119.5 ± 15.1 s, $n = 10$; $P = 0.002$)。此外还通过糖水偏好实验来检测了WKY大鼠的快感缺失样行为[22]。结果表明, 连续两周嗅闻 α -萜烯对WKY大鼠的糖水摄入总量(图2D, 对照组 13.8 ± 1.4 g, $n = 10$; α -萜烯 13.0 ± 1.0 g, $n = 10$; $P = 0.653$)、糖水摄入量(图2E, 对照组 9.0 ± 0.7 g, $n = 10$; α -萜烯 9.0 ± 1.3 g, $n = 10$; $P = 0.949$)以及糖水偏好(图2F $67.0\% \pm 3.9\%$, $n = 10$; α -萜烯 $67.7\% \pm 8.2\%$, $n = 10$; $P = 0.935$)均无显著影响。综上, 以上结果说明连续两周嗅闻 α -萜烯可显著缓解WKY大鼠在强迫游泳实验中的绝望样行为, 但是对其在开放场中的探索活动影响较小, 对其糖水偏好无影响。

2.2 α -萜烯治疗的WKY大鼠海马中蛋白表达的改变

为了找出在 α -萜烯的抗抑郁作用中潜在的目的蛋白, 使用iTRAQ技术[23]分析了 α -萜烯治疗的WKY大鼠

海马和前额叶皮质的蛋白表达变化。海马和前额叶是两个与抑郁症的发病机制密切相关的脑区[24]。在所有表达的1241个蛋白中, 与对照组相比, 海马上有25个蛋白表达显著上调大于1.5倍, 1个蛋白下调到60%以下(图3A, 表1)。而在前额叶组织中, 和对照组相比有26个蛋白表达显著上调大于1.5倍, 23个蛋白下调到60%以下(图3B, 表2)。而且, 其中有3个蛋白, 包括肌球蛋白1/3轻链、细胞色素c氧化酶6C-2亚基, 以及G蛋白 $\gamma 2$ 亚型1, 在海马和前额叶皮质中均表达上调(图3C)。

近年来越来越多的研究证据表明, 氧化磷酸化与重型抑郁症密切相关[25,26]。本研究组的iTRAQ结果也发现, 连续两周嗅闻 α -萜烯组使得WKY大鼠参与氧化磷酸化蛋白的表达增加, 包括海马中的细胞色素c氧化酶6C-2亚基、细胞色素c氧化酶7A2亚基以及ATP酶抑制剂(图3D, 表1), 以及前额叶皮质中细胞色素c氧化酶6C-2亚基、ATP合酶e亚基、乙酰基载体蛋白、细胞色素b-c1复合体亚基6(图3E, 表2)。这些结果提示,

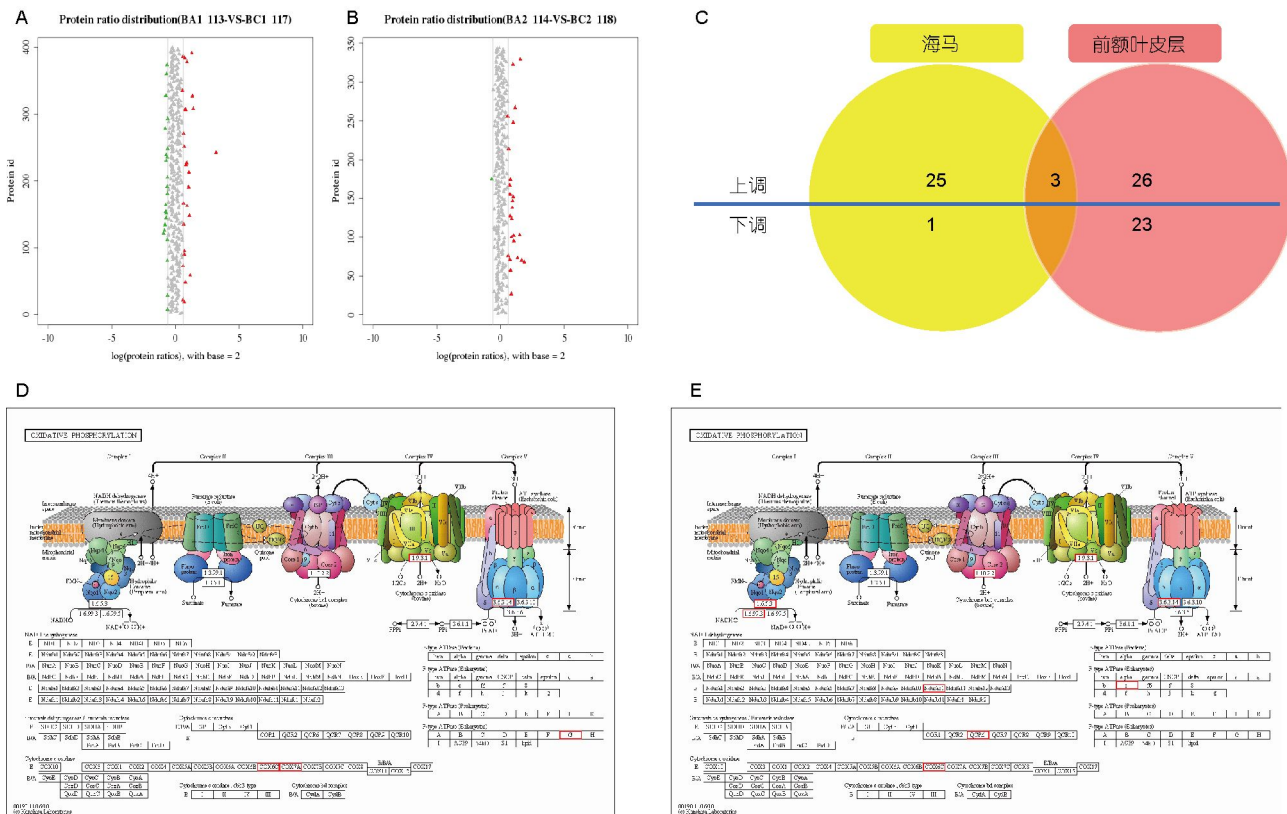


图3 α -萜烯嗅闻对前额叶皮质和海马蛋白表达的影响

A和B: iTRAQ分析结果显示, α -萜烯嗅闻的WKY大鼠在海马(A)和前额叶皮质(B)中所有检测到的蛋白的表达变化倍数。横轴表示 $\log_2$ 运算后的倍数变化, 数值大于0表示表达上调, 小于0表示表达下调。红色的点表示表达上调大于1.5倍的蛋白, 绿色的点表示表达下调到60%以下的蛋白。C: 两个维恩图分别表示在WKY大鼠的海马及前额叶皮质中表达上调或下调的蛋白数量。可见有3个蛋白在两个组织中变化一致。

D和E: α -萜烯嗅闻的WKY大鼠在海马(D)及前额叶(E)组织中表达差异蛋白的通路富集分析结果

α -萜烯的嗅闻的抗抑郁效果可能与氧化磷酸化通路相关。此外, 表达减少的蛋白主要出现在前额叶皮质中, 如生长相关蛋白43、不均质核内核糖蛋白A1、体细胞内细胞色素c、钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶IV亚型1、异染色质蛋白1结合蛋白3、组蛋白H2A等。

2.3 验证嗅闻 α -萜烯后海马中小清蛋白mRNA表达的改变

iTRAQ结果还发现, 嗅闻 α -萜烯使得海马的小清蛋白(parvalbumin, PV)水平表达上调2.8倍。因此, 进一步用qRT-PCR方法检测了海马中PV的mRNA表达水平。如图4所示, 嗅闻 α -萜烯后的WKY鼠海马PV mRNA表达显著高于对照组(对照组 ± 0.06 , $n=3$; α -萜烯 1.28 ± 0.06 , $n=3$; $P=0.013$)。这个发现进一步证明连续两周的 α -萜烯嗅闻可使得WKY鼠中PV表达上调。

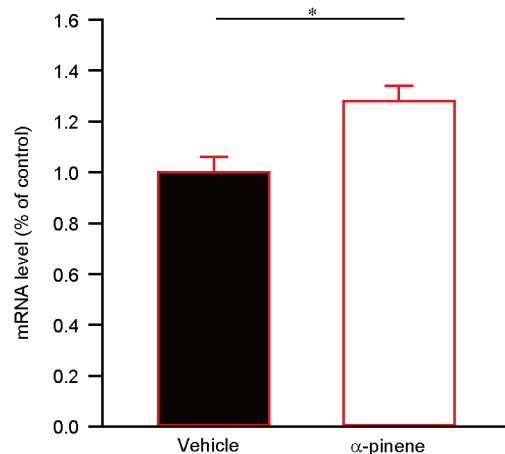


图4 α -萜烯嗅闻使得WKY大鼠海马的PV mRNA表达上调

qRT-PCR实验中, 用PV的特异性引物检测其mRNA的表达水平, 并根据 β -肌动蛋白水平进行均一化表示。每一个柱子表示4只大鼠mRNA表达量的平均值, 以差异倍数显示。*: $P<0.05$

表 1 α -萜烯对WKY大鼠海马蛋白表达的影响

IPI接入号	蛋白名	多肽数	专一性肽段数	比率(%)
IPI00189813	肌动蛋白, α 骨骼肌	10	2	3.670
IPI00204831	线粒体输出内膜转移酶亚单位Tim8A	1	1	3.189
IPI00190606	肌球蛋白轻链1/3, 骨骼肌亚型	1	1	2.976
IPI00231350	小清蛋白 α	2	2	2.853
IPI00230832	细胞色素c氧化酶亚基6C-2	2	2	2.570
IPI00359978	40S核糖体蛋白S28	2	2	2.249
IPI00212320	生长相关蛋白43, 神经调制蛋白	8	8	2.082
IPI00476111	肌球蛋白-4	17	6	2.072
IPI00231771	S100-B蛋白	1	1	2.017
IPI00392583	动力蛋白轻链抑制剂-1	1	1	2.013
IPI00231069	乙酰辅酶A结合蛋白1	1	1	1.985
IPI00195860	细胞色素c氧化酶7A2亚基, 线粒体内的	1	1	1.948
IPI00194828	细胞周期通道和神经细胞分化蛋白1	2	2	1.914
IPI00476554	G蛋白 γ 2亚型1	1	1	1.871
IPI00211317	动力蛋白轻链2, 细胞质内的	1	1	1.842
IPI00231475	组蛋白H3.3	3	3	1.831
IPI00958044	组蛋白簇1, H2ac样	10	3	1.738
IPI00199600	ATP酶, H ⁺ 转运, 溶酶体内的V1亚单位G1	1	1	1.733
IPI00209976	ATP酶抑制剂, 线粒体内的	1	1	1.712
IPI00231631	β -烯醇酶	5	2	1.699
IPI00205036	血红蛋白 α 2链	7	7	1.691
IPI00360930	碳酸酐酶1	2	2	1.670
IPI00188804	60S酸性核糖体蛋白P2	2	2	1.581
IPI00202725	40S核糖体蛋白S21	2	2	1.551
IPI00191737	血清白蛋白	20	20	1.508
IPI00188584	蛋白酶体 β 亚基2亚型	1	1	0.630

3 讨论

本研究首次揭示了连续两周的罗马洋甘菊精油嗅闻或其成分 α -萜烯嗅闻可缓解基因突变型抑郁模型鼠WKY大鼠的抑郁样行为。海马和前额叶皮质被认为是与抑郁症的发病机制相关的重要脑组织^[24]。在抑郁患者中发现这两个组织体积或活动的异常^[27]。基于模型动物的研究发现, 海马神经元再生的减少与抑郁症发病机理相关^[28-30]。因此, 本研究检测了 α -萜烯嗅闻对WKY大鼠的前额叶和海马组织蛋白表达的影响。本研究组发现PV, 这一主要出现在神经系统的GABA能中间神经元中的钙结合白蛋白, 在 α -萜烯治

疗后的WKY大鼠中表达上调2.8倍(表1)。同时也验证了其mRNA表达上调(图4)。来自临床和基础的大量研究证据表明, GABA能信号通路参与重型抑郁症发病的神经生物学过程^[31-33]。此外尸检研究也发现PV在重型抑郁症的患者表达减少^[34,35]; 而且抗抑郁治疗可以使这种减少被逆转^[32]。结合以上的文献报告, 本研究结果提示, 海马组织中PV的增加可能就是 α -萜烯嗅闻治疗抑郁的机制。因此, 对PV在罗马洋甘菊及 α -萜烯抗抑郁作用方面的研究有必要进一步深入进行。

在过去的十几年里, 越来越多的证据表明线粒体功能失调可能也是包括抑郁症在内的众多精神疾病的

表 2 α -萘烯治疗对WKY大鼠前额叶蛋白表达的影响

IPI接入号	蛋白名	多肽数	专一性肽段数	比率(%)
IPI00188921	胶原蛋白 α -2(I)链	1	1	9.227
IPI00206403	光蛋白聚糖	1	1	2.680
IPI00371792	6未知蛋白LOC294231	1	1	2.559
IPI00199861	饰胶蛋白聚糖/核心蛋白聚糖	1	1	2.471
IPI00325146	膜联蛋白A2短亚型	2	2	2.269
IPI00476554	G蛋白 γ 2亚型1	1	1	2.176
IPI00360794	未鉴定蛋白	1	1	2.103
IPI00421857	角蛋白II亚型, 细胞骨架1	3	2	2.062
IPI00324618	普遍性囊泡转移因子p115	1	1	1.908
IPI00231955	钙调蛋白	3	1	1.898
IPI00212141	不典型蛋白	1	1	1.877
IPI00560002	不典型蛋白	1	1	1.810
IPI00231978	ATP合酶e亚基, 线粒体内的	2	2	1.741
IPI00203390	丝氨酸/苏氨酸-蛋白磷酸酶PP1- β 催化亚基	4	2	1.729
IPI00190606	肌球蛋白1/3轻链MLC1亚型, 骨骼肌内的亚型	1	1	1.662
IPI00208697	CAMPS	1	1	1.661
IPI00230832	细胞色素c氧化酶6C-2亚基	2	2	1.637
IPI00371036	线粒体裂变蛋白1亚型1	1	1	1.631
IPI00357924	异柠檬酸脱氢酶(NAD) β 亚基, 线粒体内的	3	3	1.623
IPI00471889	膜联蛋白A5	4	4	1.599
IPI00369093	细胞色素 b-c1 复合体6亚基, 线粒体内的	1	1	1.580
IPI00204447	囊泡相关膜蛋白2B	4	3	1.570
IPI00200069	SFXN-3	1	1	1.548
IPI00200466	ADP/ATP转位酶2	7	2	1.539
IPI00191112	酰基载体蛋白	1	1	1.538
IPI00231126	内质网膜蛋白-1亚型RTN1-S	2	1	1.502
IPI00780927	裂变因子, 精氨酸/苏氨酸丰富型 1B	4	4	0.665
IPI00231819	髓鞘碱性蛋白S1亚型	9	9	0.662
IPI00231475	组蛋白H3.3	3	3	0.660
IPI00208058	Neurotrimin 蛋白	3	2	0.655
IPI00362587	53 kD 蛋白	4	4	0.655
IPI00382222	异质性胞核糖核蛋白Q	4	2	0.654
IPI00189061	MARCKS 相关蛋白	2	2	0.649
IPI00209446	不典型蛋白	2	2	0.649
IPI00382376	异质性胞核糖核蛋白A3亚型1	6	6	0.649
IPI00372859	组蛋白H2A	1	1	0.647
IPI00559910	异质性胞核糖核蛋白G	5	1	0.644
IPI00559583	未鉴定蛋白	5	3	0.625
IPI00373564	富含亮氨酸重复序列相互作用蛋白1	1	1	0.623
IPI00369350	位相激酶相关蛋白1	1	1	0.613
IPI00400578	异染色质蛋白1-结合蛋白3	2	2	0.611
IPI00213366	未鉴定蛋白?	2	2	0.609
IPI00210119	微管相关蛋白6亚型1	7	7	0.606
IPI00231822	钙/钙调蛋白-依赖性蛋白激酶IV亚型1	1	1	0.601
IPI00210090	SP120	4	4	0.596
IPI00370207	未鉴定蛋白	5	1	0.581
IPI00231864	细胞色素c, 体细胞	5	5	0.574
IPI00421500	不均质核内核糖蛋白A1	4	2	0.555
IPI00212320	生长相关蛋白43, 神经调制蛋白	8	8	0.530

重要病因之一^[26,36~40]。与以前的发现一样, 蛋白组学检测也发现参与线粒体氧化磷酸化的蛋白在 α -萜烯治疗后表达上调, 其中3个在海马、4个在前额叶皮质。有趣的是, 研究发现PV阳性的中间神经元的线粒体功能失调会引起社交障碍^[41], 提示PV阳性的中间神经元、线粒体功能失调, 以及 α -萜烯对WKY鼠的抗抑郁作用之间可能存在关联。因此, 今后有必要深入探究海马及前额叶皮质中, 尤其是PV阳性的神经元的线粒体功能与罗马洋甘菊精油和 α -萜烯嗅闻的抗抑郁作用的相关关系。

在行为学研究中, WKY大鼠在许多方面表现出与

人类类似的抑郁样症状, 如较少的社交活动以及焦虑症状。因此, WKY大鼠被广泛应用于人类抑郁症的神经生物学机制的研究, 以及用以检测治疗策略的有效性^[22,42,43]。本研究发现, 连续两周使用罗马洋甘菊精油或 α -萜烯嗅闻都可显著减少WKY大鼠在强迫游泳实验中的不动时间。而在开放场实验中, 尽管两者都增加了站立时间(图1B和2B), 但均未显著增加运动距离(图1A和2A)。而且本研究显示, α -萜烯的嗅闻对WKY大鼠的糖水偏好也无显著影响(图3)。以上结果说明罗马洋甘菊精油或 α -萜烯嗅闻, 都可缓解绝望样抑郁行为, 但对探索活动和糖水偏好无显著影响。

参考文献

- Louis M, Kowalski S D. Use of aromatherapy with hospice patients to decrease pain, anxiety, and depression and to promote an increased sense of well-being. *Am J Hosp Palliat Med*, 2002, 19: 381–386
- Kim M J, Nam E S, Paik S I. The effects of aromatherapy on pain, depression, and life satisfaction of arthritis patients. *J Korean Acad Nurs*, 2005, 35: 186–194
- Ji W W, Li R P, Li M, et al. Antidepressant-like effect of essential oil of *Perilla frutescens* in a chronic, unpredictable, mild stress-induced depression model mice. *Chin J Nat Meds*, 2014, 12: 753–759
- Luz D A, Pinheiro A M, Silva M L, et al. Ethnobotany, phytochemistry and neuropharmacological effects of *Petiveria alliacea* L. (Phytolacaceae): a review. *J Ethnopharmacol*, 2016, 185: 182–201
- Norte M C B, Cosentino R M, Lazarini C A. Effects of methyl-eugenol administration on behavioral models related to depression and anxiety, in rats. *Phytomedicine*, 2005, 12: 294–298
- Seol G H, Shim H S, Kim P J, et al. Antidepressant-like effect of *Salvia sclarea* is explained by modulation of dopamine activities in rats. *J Ethnopharmacol*, 2010, 130: 187–190
- Ito N, Nagai T, Oikawa T, et al. Antidepressant-like effect of *l*-perillaldehyde in stress-induced depression-like model mice through regulation of the olfactory nervous system. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 2011: 1–5
- Guzmán-Gutiérrez S L, Gómez-Cansino R, García-Zebadúa J C, et al. Antidepressant activity of *Litsea glaucescens* essential oil: identification of β -pinene and linalool as active principles. *J Ethnopharmacol*, 2012, 143: 673–679
- Mehta A K, Halder S, Khanna N, et al. The effect of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* in animal models of depression and locomotor activity. *Nutr Neurosci*, 2013, 16: 233–238
- Park H J, Lim E J, Zhao R J, et al. Effect of the fragrance inhalation of essential oil from *Asarum heterotropoides* on depression-like behaviors in mice. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 15: 43
- Graham P H, Browne L, Cox H, et al. Inhalation aromatherapy during radiotherapy: results of a placebo-controlled double-blind randomized trial. *J Clin Oncol*, 2003, 21: 2372–2376
- McKay D L, Blumberg J B. A Review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytother Res*, 2006, 20: 519–530
- Singh O, Khanam Z, Misra N, et al. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): an overview. *Phcog Rev*, 2011, 5: 82–95
- Burns E, Blamey C, Ersler S J, et al. The use of aromatherapy in intrapartum midwifery practice an observational study. *Complement Ther Nurs Midwifery*, 2000, 6: 33–34
- Chang S M, Chen C H. Effects of an intervention with drinking chamomile tea on sleep quality and depression in sleep disturbed postnatal women: a randomized controlled trial. *J Adv Nurs*, 2016, 72: 306–315
- Can Ö D, Demir Özkay Ü, Kıyan H T, et al. Psychopharmacological profile of Chamomile (*Matricaria recutita* L.) essential oil in mice. *Phytomedicine*, 2012, 19: 306–310
- Basso D M, Beattie M S, Bresnahan J C. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma*, 1995, 12:

1–21

- 18 Holmes A, Yang R J, Crawley N. Evaluation of an anxiety-related phenotype in galanin overexpressing transgenic mice. *J Mol Neurosci*, 2002, 18: 151–166
- 19 Porsolt R D, Anton G, Blavet N, et al. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol*, 1978, 47: 379–391
- 20 Farhoudi R. Chemical constituents and antioxidant properties of *Matricaria recutita* and *Chamaemelum nobile* essential oil growing wild in the south west of Iran. *J Essent Oil Bearing Plants*, 2013, 16: 531–537
- 21 Makhouloufi A, Ben L L, Moussaoui A, et al. Chemical composition and antifungal activity of *Aaronsohnia pubescens* essential oil from Algeria. *Nat Prod Commun*, 2015, 10: 149–151
- 22 Overstreet D H. Modeling depression in animal models. *Methods Mol Biol*, 2012, 829: 125–144
- 23 Xiong Y, Tang X, Meng Q, et al. Differential expression analysis of the broiler tracheal proteins responsible for the immune response and muscle contraction induced by high concentration of ammonia using iTRAQ-coupled 2D LC-MS/MS. *Sci China Life Sci*, 2016, 59: 1166–1176
- 24 Duman R S, Aghajanian G K. Synaptic dysfunction in depression: potential therapeutic targets. *Science*, 2012, 338: 68–72
- 25 Tobe E H. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and major depressive disorder. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2013, 9: 567
- 26 Ludka F K, Dal-Cim T, Binder L B, et al. Atorvastatin and fluoxetine prevent oxidative stress and mitochondrial dysfunction evoked by glutamate toxicity in hippocampal slices. *Mol Neurobiol*, 2016, in press, doi: 10.1007/s12035-016-9882-6
- 27 Khundakar A, Morris C, Thomas A J. The immunohistochemical examination of GABAergic interneuron markers in the dorsolateral prefrontal cortex of patients with late-life depression. *Int Psychogeriatr*, 2011, 23: 644–653
- 28 Becker S, Wojtowicz J M. A model of hippocampal neurogenesis in memory and mood disorders. *Trends Cogn Sci*, 2007, 11: 70–76
- 29 Kempermann G, Krebs J, Fabel K. The contribution of failing adult hippocampal neurogenesis to psychiatric disorders. *Curr Opin Psychiatry*, 2008, 21: 290–295
- 30 Snyder J S, Soumier A, Brewer M, et al. Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour. *Nature*, 2011, 476: 458–461
- 31 Holm M M, Nieto-Gonzalez J L, Vardya I, et al. Hippocampal GABAergic dysfunction in a rat chronic mild stress model of depression. *Hippocampus*, 2011, 21: 422–433
- 32 Czéh B, Varga Z K K, Henningsen K, et al. Chronic stress reduces the number of GABAergic interneurons in the adult rat hippocampus, dorsal-ventral and region-specific differences. *Hippocampus*, 2015, 25: 393–405
- 33 Varga Z, Csabai D, Miseta A, et al. Chronic stress affects the number of GABAergic neurons in the orbitofrontal cortex of rats. *Behav Brain Res*, 2017, 316: 104–114
- 34 Torrey E F, Barci B M, Webster M J, et al. Neurochemical markers for schizophrenia, bipolar disorder, and major depression in postmortem brains. *Biol Psychiatry*, 2005, 57: 252–260
- 35 Rajkowska G, O'Dwyer G, Teleki Z, et al. GABAergic neurons immunoreactive for calcium binding proteins are reduced in the prefrontal cortex in major depression. *Neuropsychopharmacology*, 2007, 32: 471–482
- 36 Gardner A, Johansson A, Wibom R, et al. Alterations of mitochondrial function and correlations with personality traits in selected major depressive disorder patients. *J Affect Disord*, 2003, 76: 55–68
- 37 Koene S, Kozicz T L, Rodenburg R J T, et al. Major depression in adolescent children consecutively diagnosed with mitochondrial disorder. *J Affect Disord*, 2009, 114: 327–332
- 38 Rezin G T, Amboni G, Zugno A I, et al. Mitochondrial dysfunction and psychiatric disorders. *Neurochem Res*, 2009, 34: 1021–1029
- 39 Bansal Y, Kuhad A. Mitochondrial dysfunction in depression. *Curr Neuropharmacol*, 2016, 14: 610–618
- 40 Yang L, Mei T, Lin X, et al. Current approaches to reduce or eliminate mitochondrial DNA mutations. *Sci China Life Sci*, 2016, 59: 532–535
- 41 Inan M, Zhao M, Manuszak M, et al. Energy deficit in parvalbumin neurons leads to circuit dysfunction, impaired sensory gating and social disability. *Neurobiol Dis*, 2016, 93: 35–46
- 42 Paré W P. Stress ulcer susceptibility and depression in Wistar Kyoto (WKY) rats. *Physiol Behav*, 1989, 46: 993–998
- 43 Paré W P. Open field, learned helplessness, conditioned defensive burying, and forced-swim tests in WKY rats. *Physiol Behav*, 1994, 55: 433–439