

麻黄附子细辛汤对慢性不可预见性应激诱导抑郁小鼠肠道菌群和小胶质细胞的影响

邵千枫^{1,2}, 李悦³, 金琳⁴, 付晓微⁵, 陈澈⁶, 刘彤^{1,2}, 卢言琪⁷, 杜少辉^{1,2*}
(1. 深圳市中医院, 广东 深圳 518033; 2. 广州中医药大学第四临床医学院, 广东 深圳 518033; 3. 深圳市宝安区中医院转化医学中心, 广东 深圳 518100; 4. 北京中医药大学生命科学院, 北京 102488; 5. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510405; 6. 宁夏医科大学中医学院, 宁夏 银川 750004; 7. 深圳市宝安纯中医治疗医院, 广东 深圳 518101)

摘要: **目的** 探讨麻黄附子细辛汤 (MFJ) 对慢性不可预见性应激 (CUS) 诱导的抑郁行为的影响。**方法** 60 只雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为正常组、模型组、氟西汀组 (2.6 mg/kg) 和 MFJ 高、中、低剂量组 (3.24、1.62、0.81 g/kg), 每组 10 只。除正常组外, 其余各组建立 CUS 抑郁小鼠模型。糖水偏爱、悬尾和旷场实验评价抑郁小鼠行为学改变, 免疫荧光技术检测小鼠海马齿状回区小胶质细胞活化数量和 Iba-1 表达; 16S rDNA 基因测序检测肠道菌群组成。**结果** 与正常组比较, 模型组小鼠糖水偏爱率降低 ($P<0.01$), 悬尾不动时间延长 ($P<0.01$), 总移动总距离、中央区域停留时间减少 ($P<0.01$), 小胶质细胞过度活化数量增多 ($P<0.01$), Iba-1 染色面积增加 ($P<0.01$), 肠道菌群丰富度和群落结构发生变化 ($P<0.05$, $P<0.01$), *Bacteroidota*、*Bacteroidales*、*Muribaculaceae*、*Bacteroidia* 相对丰度升高 ($P<0.05$), *Firmicutes*、*Erysipelotrichaceae*、*Dubosiella*、*Lactobacillus* 相对丰度降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 氟西汀组和 MFJ 高、中剂量组小鼠糖水偏爱率升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 氟西汀组和 MFJ 高剂量组悬尾不动时间缩短 ($P<0.01$), 总移动总距离、中央区域停留时间增加 ($P<0.05$, $P<0.01$), MFJ 高剂量组小胶质细胞过度活化数量、Iba-1 染色面积减少 ($P<0.01$), *Bacteroidota*、*Bacteroidales*、*Muribaculaceae*、*Bacteroidia* 相对丰度降低 ($P<0.05$), *Firmicutes*、*Erysipelotrichaceae*、*Dubosiella*、*Lactobacillus* 相对丰度升高 ($P<0.05$)。Spearman 结果显示, 肠道细菌 *Firmicutes*、*Lactobacillus* 相对丰度与 Iba-1 表达、悬尾不动时间呈负相关, 与旷场实验和糖水偏好实验活动总路程呈正相关。**结论** 麻黄附子细辛汤可以减轻 CUS 诱导的抑郁行为, 其机制可能是调节肠道菌群组成和抑制小胶质细胞激活。改变的肠道菌群与行为异常、神经炎症之间存在强烈的关联。

关键词: 麻黄附子细辛汤; 抑郁症; 肠道菌群; 小胶质细胞; 慢性不可预见性应激

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)08-2767-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.046

世界卫生组织确认抑郁症是导致残疾的主要原因之一^[1], 影响全球约 2.8 亿人, 占总人口的 3.8%^[2]。传统抗抑郁药物如选择性五羟色胺再摄取抑制剂等虽在临床中广泛使用, 但存在不良反应多、无反应率高、效果延迟等问题^[3-4]。因此, 寻找有效的干预措施以预防抑郁症的发生和发展变得迫切。中药复方具有多成分、多靶点的特点, 长期服用安全性高, 且能多角度调节身体机能。近年来, 肠道菌群与抑郁症之间的关系受到研究者的关注, 抑郁症患者的肠道菌群与健康人群存在显著差异^[5-7]。肠道菌群通过产生神经递质影响大脑功能^[8]。此外, 小胶质细胞活化是抑郁症的关键标志, 与神经炎症反应相关^[9-11]。

在中医理论中, 抑郁症与阳气不足有关, 《黄帝内经》记载: “阳主动, 一身动力之源也”, 阳气不足则会致情绪

低落、消极悲观、活力减弱等抑郁症状。《伤寒论》中的麻黄附子细辛汤 (Mahuang Fuzi Xixin Decoction, MFJ) 主要功效为助阳解表、壮阳补肾。现代研究证实, β -细辛脑通过减轻神经元损伤, 附子多糖通过促进海马神经元再生来发挥抑郁效果^[12-13]。因此, 本研究采用干预慢性不可预见性应激 (chronic unpredictable stress, CUS) 诱导的抑郁小鼠, 探讨麻黄附子细辛汤通过肠道菌群、小胶质细胞活化对抑郁的作用机制, 以期对麻黄附子细辛汤在临床治疗抑郁症的应用提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 60 只雄性 C57BL/6J 小鼠, 6 周龄, 体质量 20~22 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2016-0006], 饲养于北京迈

收稿日期: 2024-12-24

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金 (81960917, 82105050); 宁夏自然科学基金 (2021AAC03161)

作者简介: 邵千枫 (1989—), 女, 博士, 主治医师, 从事扶阳法治疗老年病研究。Tel: 13312991354, E-mail: zm655622@126.com

* 通信作者: 杜少辉 (1965—), 男, 博士, 主任医师, 从事扶阳法治疗老年病研究。Tel: 18610344202, E-mail: shaohuizg@126.com

德康纳生物技术有限公司 SPF 级动物实验室中心 [实验动物使用许可证号 SYXK (京) 2023-0062], 温度 (22 ± 1) ℃ , 相对湿度 (60 ± 5) % 。所有小鼠给予充足的水和饲料, 12 h/12 h 明暗交替, 适应性饲养 7 d 。本研究经宁夏医科大学医学伦理审查委员会审批 (伦理审批号宁医大伦理第 2019112 号) 。

1.2 药物 麻黄附子细辛汤由麻黄 3 g 、附子 15 g 、细辛 3 g 组成, 购自中国北京同仁堂 (集团) 有限责任公司, 经专家鉴定为正品。盐酸氟西汀胶囊购自礼来苏州制药有限公司。

1.3 试剂 二抗辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记山羊抗兔免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) (H+L) 、HRP 标记的山羊抗鼠 IgG (H+L) (北京中杉金桥生物技术有限公司) ; 抗离子钙接头蛋白分子-1 (ionized calcium binding adaptor molecule-1, Iba-1) 兔多克隆抗体 (武汉赛维尔生物科技有限公司) ; QIAamp DNA 粪便小型试剂盒 (德国 Qiagen 公司) 。

1.4 仪器 电子天平 (型号 BS224S, 德国 Sartorius 公司) ; 旷场实验设备 (型号 ZS-KC, 北京众实迪创科技发展有限公司) ; 正置荧光显微镜 (型号 Nikon Eclipse C1, 日本 Nikon 公司) ; 扫描仪 (型号 Panoramic MIDI, 匈牙利 3DHISTECH 公司) ; 热循环仪 (型号 T100, 美国 Bio-Rad 公司) ; 电泳仪 (型号 DDY-6C, 北京市六一仪器厂有限公司) ; 荧光分光光度计 (型号 Qubit 2.0, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司) ; 高通量测序平台 (型号 NovaSeq 6000, 美国 Illumina 公司) 。

2 方法

2.1 造模、分组与给药 60 只雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为正常组、模型组、氟西汀组 (2.6 mg/kg) 和 MFX 高、中、低剂量组 (3.24、1.62、0.81 g/kg) , 每组 10 只。除正常组外, 其余各组建立 CUS 小鼠模型, 方法见表 1, 7 d 为 1 个循环, 持续 28 d, 每天给予小鼠 2~3 种应激源, 时间点不固定, 并且连续 2 d 不给予相同的应激源。造模同时正常组、模型组小鼠灌胃给予生理盐水, 各给药组小鼠灌胃给予相应药物, 剂量为 0.1 mL/g, 每天 1 次, 持续 28 d 。

表 1 CUS 模型制备方法

周期	应激源 1	应激源 2	应激源 3
1	束缚 3 h	减少生活空间	噪音 30 min
2	轻摇鼠笼 30 min	夹尾 3 min	电击 1 min
3	打湿垫料 24 h	昼夜颠倒	夜间频闪 12 h
4	撤去垫料 24 h	笼位倾斜 45°	轻摇鼠笼 30 min
5	吹风 5 min	噪音 30 min	昼夜颠倒
6	禁水 12 h	禁食 12 h	打湿垫料 24 h
7	新奇物体应激	单笼饲养	夹尾 3 min

2.2 行为学实验

2.2.1 糖水偏好实验 在造模过程中每 7 d 进行一次糖水实验。小鼠单独置于笼中, 第 1 天适应性地饮用 2 瓶 1% 蔗糖水。次日将其其中 1 瓶蔗糖水替换为纯水, 每 4 h 更换 2 瓶

位置。24 h 禁食后, 给予小鼠 2 瓶预先称定质量的 1% 蔗糖水和纯水。2 h 后测定蔗糖水和纯水饮用率, 计算糖水偏爱率, 公式为糖水偏爱率= [蔗糖水饮用量 / (蔗糖水饮用量 + 饮用水饮用量)] × 100% 。

2.2.2 悬尾实验 采用自制箱进行实验, 小鼠取悬挂姿势, 尾部固定在距离地面 40 cm 的杆子上, 实验持续 6 min, 小鼠适应 1 min 后, 开始记录不动时间, 测试结束后使用 Labmaze 软件 V3.0 评估不动时间。清除地面上的粪便, 并用 75% 乙醇擦拭地面以消除气味。

2.2.3 旷场实验 小鼠在安静的实验环境中适应 5 min, 选择长、宽、高分别为 50 cm×50 cm×40 cm 的旷场实验箱, 划分为 9 个方格, 中心方格定义为中心, 其余 8 个方格被视为周边。小鼠被放置在底部中心的开放式现场反应箱中, 并设置摄像头和计时设备, 观察每只小鼠在 5 min 内的所有运动轨迹以及进入中心区域的运动, Tracking Master V3.1.62 软件自动记录小鼠在场内移动的总距离和在中心区域停留的时间。每次实验后用 75% 乙醇擦拭设备, 避免残留气味对实验造成影响。

2.3 检测指标与方法

2.3.1 样本采集和处理 每组取 3 只小鼠在行为实验后用 10% 戊巴比妥麻醉, 断头法处死。收集脑组织, 4% 多聚甲醛固定 24 h, 室温下保存, 用于免疫荧光染色分析。收集小鼠粪便放入液氮中, -80 ℃ 冰箱保存备用。

2.3.2 免疫荧光染色 将固定后的脑组织进行乙醇梯度脱水, 石蜡包埋, 切片 (4 μm) , 室温下封闭液 (10% 山羊血清和 3% BSA) 封闭 30 min, 加入 Iba-1 抗体 (1 : 500) , 4 ℃ 下孵育过夜, 次日加入二抗 (1 : 300) 室温孵育 50 min, DAPI 染色, 避免光照。PBS 洗涤, 脱色, 自荧光抑制剂 B 显色, 封片。正荧光显微镜、显微镜数字相机拍照, Image J 软件分析 Iba-1 染色面积。

2.3.3 粪便微生物 16S rDNA 分析 按照相关试剂盒说明书操作处理各组小鼠粪便, CTAB 方法提取总基因组 DNA。通过特定引物对 16S rRNA、18S rRNA 和内转录间隔区 (internal transcribed spacer, ITS) 基因进行 PCR 扩增。Illumina MiSeq 平台测序, 通过 QIIME、DADA2、Mothur 软件分析微生物的分类学归属, MUSCLE 软件分析操作分类单元 (operational taxonomic units, OTUs) 之间的系统发育关系, 通过 R 语言中的 SVG 函数和 microeco 包计算相对丰度, 热图和 VennDiagram 函数进行可视化展示。

通过 Qiime 1.7.0 软件计算微生物群落的 α-多样性指数, 加权 Unifrac 距离评估 β-多样性, 通过 R 软件中的主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA) 进行可视化。Adonis 测试评估分组意义。LEfSe 1.0 软件识别生物标志物, MetaStat 方法分析物种丰度差异。使用 R 软件 psych 包进行 Spearman 相关性测试, 以计算和展示肠道微生物群与类似抑郁行为和抑郁相关指标在分类学水平上的相关性。

2.4 统计学分析 通过 SPSS 20.0 软件进行处理, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两

比较采用 LSD 检验或非参数 Kruskal-Wallis 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 行为学实验结果

表 2 麻黄附子细辛汤对小鼠糖水偏爱率的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	糖水偏爱率/%				
	造模前	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天
正常组	0.88±0.04	0.85±0.04	0.80±0.12	0.85±0.05	0.86±0.06
模型组	0.87±0.04	0.82±0.08	0.70±0.15	0.56±0.18 ^{△△}	0.46±0.05 ^{△△}
氟西汀组	0.91±0.04	0.76±0.05	0.74±0.08	0.75±0.12	0.82±0.04 ^{**}
MFX 高剂量组	0.88±0.05	0.75±0.06	0.72±0.07	0.75±0.10	0.83±0.10 ^{**}
MFX 中剂量组	0.90±0.05	0.75±0.09	0.72±0.07	0.68±0.15	0.72±0.08 [*]
MFX 低剂量组	0.87±0.03	0.71±0.16	0.72±0.09	0.60±0.08	0.55±0.03

注：与正常组比较，^{△△} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

3.1.2 麻黄附子细辛汤对小鼠悬尾不动时间的影响 与正常组比较，模型组小鼠悬尾不动时间延长 ($P<0.01$)；与模型组比较，氟西汀组和 MFX 高剂量组小鼠悬尾不动时间缩短 ($P<0.01$)，见表 3。

表 3 麻黄附子细辛汤对小鼠悬尾实验和旷场实验结果的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	悬尾实验	旷场实验	
	不动时间/s	运动总距离/cm	中央区域停留时间/s
正常组	28.63±16.86	1 926.03±417.53	11.62±5.91
模型组	176.24±25.43 ^{△△}	1 060.22±330.96 ^{△△}	1.96±1.10 ^{△△}
氟西汀组	95.66±12.88 ^{**}	1 689.69±360.32 [*]	5.62±4.81
MFX 高剂量组	70.86±9.57 ^{**}	1 715.21±165.54 ^{**}	7.15±3.10 ^{**}
MFX 中剂量组	113.12±11.79	1 448.62±164.86	4.43±1.16
MFX 低剂量组	137.66±19.10	1 310.84±187.67	3.37±1.12

注：与正常组比较，^{△△} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

3.1.3 麻黄附子细辛汤对小鼠旷场实验结果的影响 与正常组比较，模型组小鼠运动总距离、中央区域停留时间减少 ($P<0.01$)；与模型组比较，氟西汀组和 MFX 高剂量组小鼠运动总距离增加 ($P<0.05$, $P<0.01$)，MFX 高剂量组小鼠中央区域停留时间延长 ($P<0.01$) 见表 3、图 1。

杂性降低，树突分支减少且形态简单；与模型组比较，各给药组 Iba1 染色面积减少 ($P<0.01$)，MFX 高剂量组海马齿状回区域小胶质细胞数量减少 ($P<0.05$)，平均交点数增加 ($P<0.05$)，见表 4。故选择 MFX 高剂量组进行后续实验。

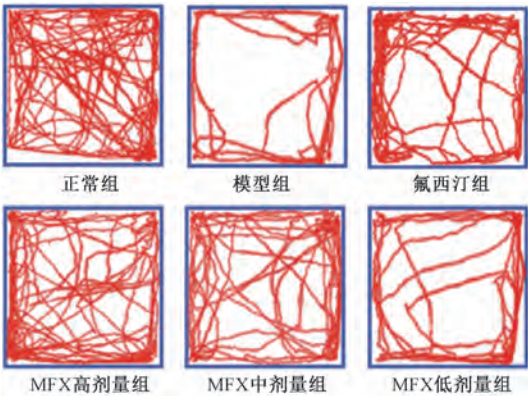


图 1 各组小鼠旷场实验行动轨迹图

3.2 麻黄附子细辛汤对小鼠海马齿状回区域小胶质细胞的影响 正常组中海马齿状回区域小胶质细胞数量较少，且形态呈不活跃分支状；模型组小胶质细胞大多数呈现出变形特征，细胞体膨胀且突触回缩；各给药组小胶质细胞形态得到改善，见图 2。与正常组比较，模型组海马齿状回区域小胶质细胞数量、Iba1 染色面积增加 ($P<0.01$)，小胶质细胞平均交点数减少 ($P<0.01$)，表明小胶质细胞的复

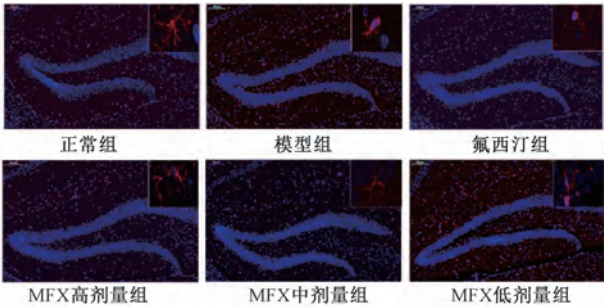


图 2 各组小鼠海马齿状回区 Iba-1 标记的小胶质细胞形态

表 4 麻黄附子细辛汤对小鼠海马齿状回区域小胶质细胞的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	小胶质细胞	Iba-1 染色	平均交点
	总数/(个·mm ⁻²)	面积/%	数/个
正常组	401.32±104.17	1.06±0.07	3.60±1.10
模型组	974.78±112.23 ^{△△}	5.98±0.64 ^{△△}	0.81±0.20 ^{△△}
氟西汀组	527.24±137.89	2.84±0.39 ^{**}	1.53±0.36
MFX 高剂量组	493.02±48.49 [*]	1.49±0.38 ^{**}	2.21±0.99 [*]
MFX 中剂量组	625.74±167.70	3.03±0.54 ^{**}	1.68±0.35
MFX 低剂量组	695.73±62.12	4.41±0.62 ^{**}	0.93±0.35

注：与正常组比较，^{△△} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

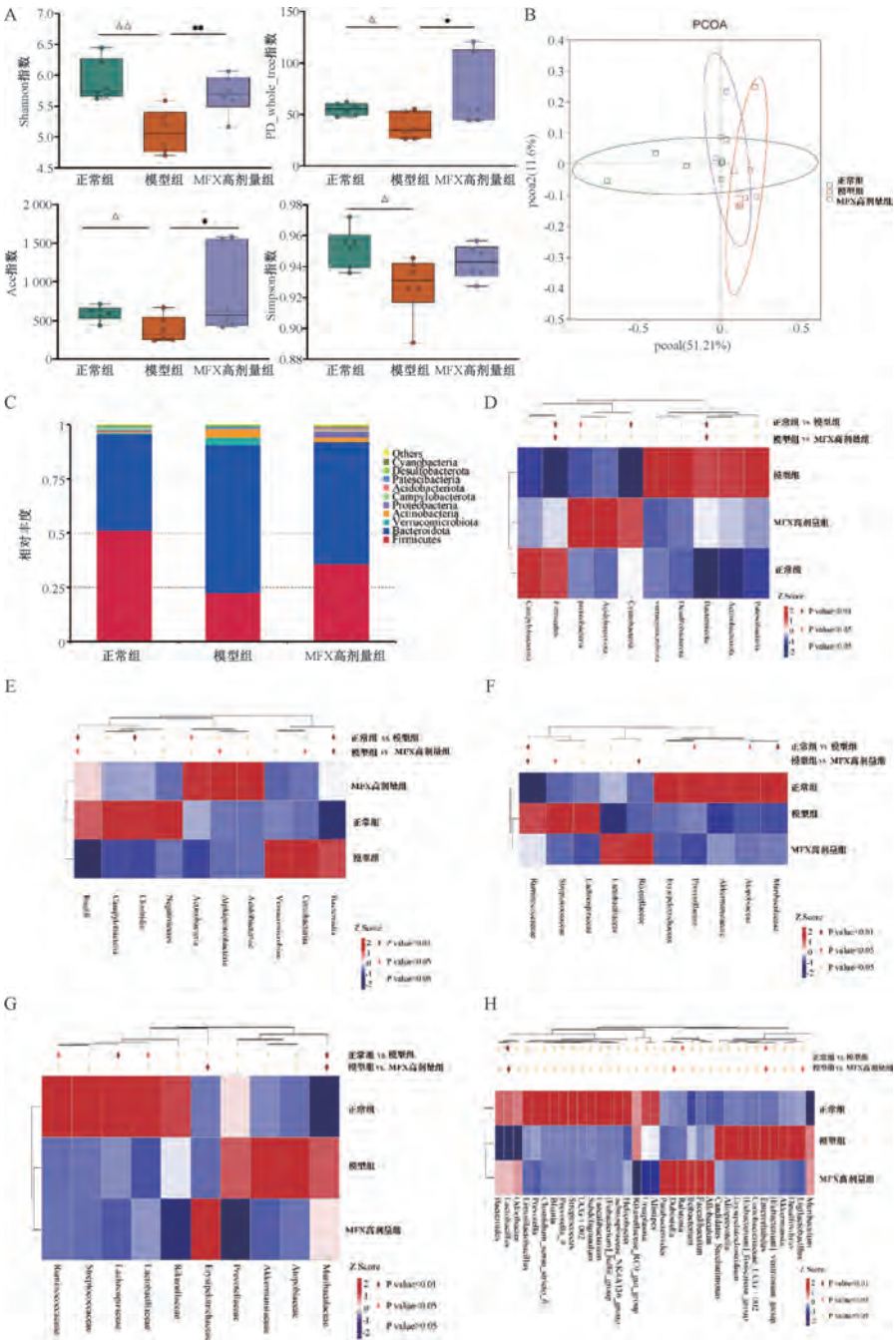
3.3 麻黄附子细辛汤对 CUS 诱导的肠道微生物的影响 与正常组比较, 模型组小鼠粪便微生物群 Shannon 指数、Simpson 指数、Ace 指数、PD_ whole_ tree 指数降低 ($P<0.05$, $P<0.01$); 与模型组比较, MFX 高剂量组 Shannon 指数、Ace 指数、PD_ whole_ tree 指数升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 见图 3A。表明 CUS 诱导抑郁小鼠的粪便微生物群丰富度降低, 高剂量麻黄附子细辛汤干预后丰富度升高。

在第一主成分轴上, 模型组与正常组、MFX 高剂量组之间存在分离, 见图 3B。表明 CUS 诱导抑郁小鼠微生物群落结构改变, 高剂量麻黄附子细辛汤可逆转这一改变。

正常组、模型组、MFX 高剂量组的 *Firmicutes* 和

Bacteroidota 相对丰度之分别为 96%、91%、92%, 见图 3C。与正常组比较, 模型组 *Firmicutes* 相对丰度降低 ($P<0.01$), *Bacteroidota* 相对丰度升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, MFX 高剂量组 *Firmicutes* 相对丰度升高 ($P<0.01$), *Bacteroidota* 相对丰度降低 ($P<0.01$), 见图 3D。

与正常组比较, 模型组 *Lactobacillales*、*Lachnospiraceae*、*Bacilli*、*Ruminococcaceae*、*Clostridia*、*Lactobacillus* 相对丰度降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), *Bacteroidia* 相对丰度升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, MFX 高剂量组 *Lactobacillus*、*Bacilli* 相对丰度升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 见图 3E~3H、表 5。



注: 与正常组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$; 与模型组比较, $* P<0.05$, $** P<0.01$ 。

图 3 各组小鼠肠道菌群组成的多样性变化和组间菌群种类差异

表 5 各组小鼠肠道菌群相对丰度 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	<i>o_Lactobacillales</i>	<i>f_Lachnospiraceae</i>	<i>c_Bacilli</i>	<i>f_Ruminococcaceae</i>	<i>c_Clostridia</i>	<i>g_Lactobacillus</i>	<i>c_Bacteroidia</i>
正常组	0.28±0.10	0.08±0.05	0.32±0.09	0.03±0.03	0.19±0.09	0.10±0.05	0.44±0.17
模型组	0.13±0.08 ^{△△}	0.03±0.03 ^{△△}	0.16±0.08 ^{△△}	0.00±0.00 [△]	0.06±0.05 ^{△△}	0.01±0.02 ^{△△}	0.68±0.08 ^{△△}
MFX 高剂量组	0.15±0.08	0.02±0.01	0.26±0.09 [*]	0.00±0.00	0.09±0.08	0.08±0.06 ^{**}	0.56±0.06 ^{**}

注：与正常组比较，[△] $P<0.05$ ，^{△△} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

与正常组比较，模型组小鼠主导肠道菌群物种 *Bacteroidota*、*Muribaculaceae*、*Bacteroidales* 相对丰度升高 ($P<0.01$)，*Firmicutes* 相对丰度降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，MFX 高剂量组小鼠 *Bacteroidota*、*Muribaculaceae*、*Bacteroidales* 相对丰度降低 ($P<0.01$)，*Firmicutes*、*Erysipelotrichaceae*、*Dubosiella* 相对丰度升高 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)，见图 4、表 6。

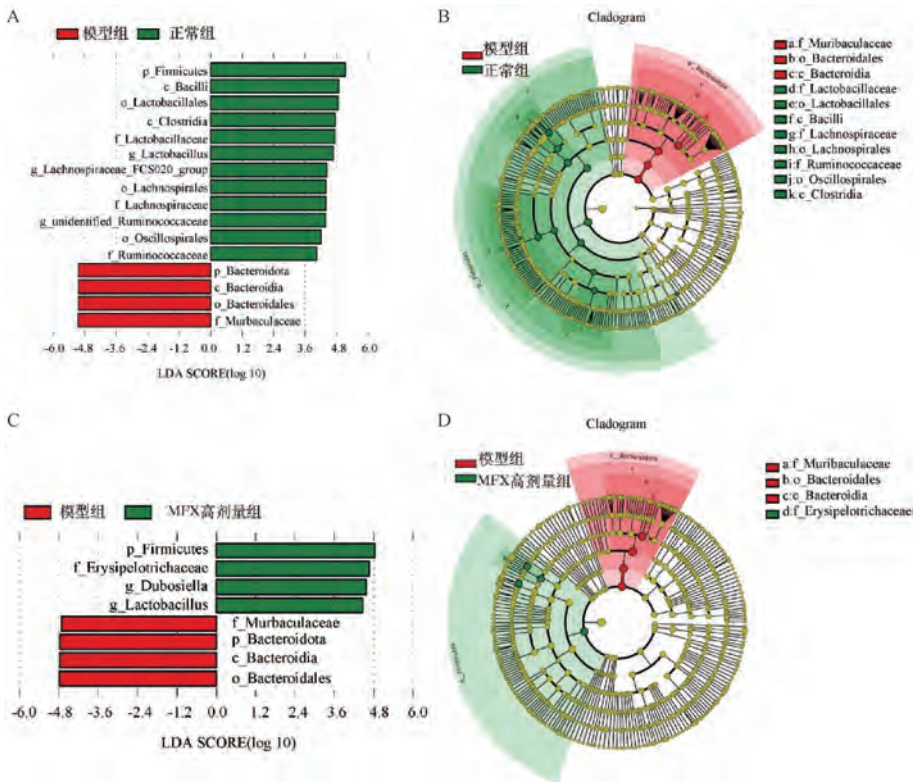


图 4 各组优势菌群丰度差异

表 6 各组主导菌群相对丰度 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

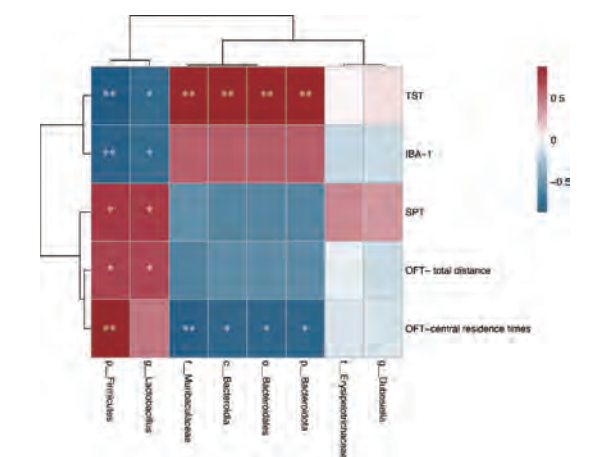
组别	<i>p_Bacteroidota</i>	<i>f_Muribaculaceae</i>	<i>o_Bacteroidales</i>	<i>p_Firmicutes</i>	<i>f_Erysipelotrichaceae</i>	<i>g_Dubosiella</i>
正常组	0.44±0.17	0.36±0.18	0.44±0.17	0.51±0.18	0.03±0.03	0.02±0.03
模型组	0.68±0.08 ^{△△}	0.60±0.07 ^{△△}	0.68±0.08 ^{△△}	0.22±0.07 ^{△△}	0.02±0.03	0.02±0.03
MFX 高剂量组	0.56±0.06 ^{**}	0.50±0.04 ^{**}	0.56±0.07 ^{**}	0.36±0.06 ^{**}	0.11±0.07 ^{**}	0.08±0.07 [*]

注：与正常组比较，^{△△} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

3.4 肠道菌群变化与抑郁行为的关系 *Firmicutes* 相对丰度与所有抑郁相关指标相关，而 *Lactobacillus* 相对丰度除旷场实验中心区域停留时间外与所有抑郁相关指标相关。在门水平上，*Firmicutes* 相对丰度与悬尾不动时间、Iba-1 表达呈负相关 ($P<0.01$)，与糖水偏爱率、旷场实验活动总距离和中心区域停留时间呈正相关 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)。在属水平上，*Lactobacillus* 相对丰度与悬尾不动时间、Iba-1 表达呈负相关 ($P<0.05$)，与糖水偏爱率、旷场实验活动总距离呈正相关 ($P<0.05$)。*Muribaculaceae*、*Bacteroidota*、*Bacteroidia*、*Bacteroidales* 相对丰度与旷场实验中心区域停留时间呈负相关，与悬尾不动时间呈正相关。*Erysipelotrichaceae*、*Dubosiella* 相对丰度与任何抑郁相关行为、Iba-1 表达均无相关性。结果见图 5。

4 讨论

肠道菌群在塑造大脑功能和免疫反应中具有重要作用^[14]。抑郁症也被视为一种小胶质细胞有关疾病^[15]。小胶质细胞作为大脑内的免疫细胞，其过度活化通过分泌炎症介质破坏神经元功能，增加个体对压力的敏感性并可能促进抑郁的发生^[16-18]。在这一过程中，海马区是大脑中容易受到促炎介质不良影响的区域之一^[19]。研究发现，微生物



注：蓝色表示抑郁相关指标与受干扰的肠道细菌分类群呈负相关，红色表示正相关。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 5 主导菌群与抑郁行为和小胶质细胞标记物 Iba-1 的 Spearman 相关性

群-肠道-免疫-胶质轴可能参与抑郁症的发展^[20]。本研究发
现，28 d 的 CUS 诱导引起小鼠抑郁样行为，并导致肠道菌
群失衡，还诱发了海马齿状回区小胶质细胞的过度活化。
这与抑郁症的病理特征相符。海马齿状回中的小胶质细胞
数量在基础状态和激活状态下存在显著差异，提示活化
的小胶质细胞是抑郁症的重要标志^[21]。本研究表明，麻黄
附子细辛汤能改善抑郁行为，抑制海马小胶质细胞的过度
活化，并调节肠道微生物群的平衡，可能通过恢复肠道微
生物的丰富度和多样性来缓解 CUS 诱导失调。这些发现与
先前的研究结果一致^[22]。

本研究发现，在门水平上，模型组小鼠 *Firmicutes* 相对
丰度降低和 *Bacteroidota* 相对丰度升高，与重度抑郁障碍患
者肠道微生物的变化一致^[23]。麻黄附子细辛汤能逆转上述变
化。与健康个体比较，重度抑郁障碍患者在其粪便
Lactobacillaceae、*Ruminococcaceae*、*Lachnospiraceae*、*Lactobacillus*
相对丰度减少，与应激引起的行为变化相关^[24-26]。此外，
抑郁症患者通常 C 反应蛋白水平升高，而与其与
Lactobacillales 相对丰度在抑郁风险中存在因果联系^[27]。本
研究中，28 d 的 CUS 会诱导类似微生物群变化，成功模拟
抑郁症状。此外，相关性分析结果显示 *Firmicutes*、
Lactobacillus 相对丰度的变化与抑郁行为表现及小胶质细胞
活化标志物 Iba-1 表达相关，支持了肠道微生物与抑郁症之
间的潜在联系。

既往研究显示，*Erysipelotrichaceae* 中的未培养菌种可能
与 *Lactobacillus* 共同作用，对抗抑郁有积极影响^[28]。本研
究揭示了类似的结果，发现麻黄附子细辛汤能升高 CUS 小
鼠中 *Erysipelotrichaceae*、*Lactobacillus* 相对丰度。此外，CUS
能降低 *Lactobacillus* 相对丰度，但麻黄附子细辛汤干预可恢
复。*Lactobacillus* 相对丰度对中枢神经系统有有益影响，并
有潜力缓解抑郁。重度抑郁障碍患者肠道中 *Lactobacillus* 相
对丰度降低^[29-30]，而口服 *Lactobacillus* 可以改善激诱导的行
为和轻度抑郁^[31-33]。以上报道与本研究结果一致。此外，

Lactobacillus 对于增强肠道微生物的多样性和丰富度具有积
极作用^[28]。*Erysipelotrichaceae* 和 *Lactobacillus* 能产生短链脂
肪酸^[34-35]，通常在重度抑郁障碍患者中减少^[36-37]。短链脂
肪酸作为肠-脑连接的关键分子，有助于减轻中枢神经系统的
炎症^[38-40]。表明麻黄附子细辛汤通过调节上述类群的相
对丰度尤其是 *Lactobacillus* 而发挥抗炎效果。在抑郁症患者
中，*Bacteroidales* 相对丰度升高^[41]，此发现与本研究一致。
焦虑患者及大鼠抑郁模型中 *Muribaculaceae* 相对丰度降低，
可能与情绪调节相关^[42-43]。而麻黄附子细辛汤干预后，以
上菌种相对丰度均得到有益改善。

麻黄附子细辛汤通过调节肠道菌群结构，升高
Firmicutes 和 *Lactobacillus* 相对丰度，降低 *Bacteroidota* 相对
丰度，有效改善 CUS 诱导的小鼠抑郁行为，并可能通过抑
制小胶质细胞过度活化发挥作用。尽管本研究初步证实了
麻黄附子细辛汤的抗抑郁潜力，但也存在样本量限制和对
小胶质细胞活化机制理解不足的问题。未来的工作将扩大
样本规模，并深化对麻黄附子细辛汤影响小胶质细胞通路
的研究，以阐明其抗抑郁效果的分子机制。

参考文献：

[1] Alli S R, Gorbvskaya I, Liu J C W, et al. The gut microbiome in depression and potential benefit of prebiotics, probiotics and synbiotics: a systematic review of clinical trials and observational studies[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 4494.

[2] Zhou M F, Fan Y C, Xu L T, et al. Microbiome and tryptophan metabolomics analysis in adolescent depression: roles of the gut microbiota in the regulation of tryptophan-derived neurotransmitters and behaviors in human and mice[J]. *Microbiome*, 2023, 11(1): 145.

[3] Horowitz M, Wilcock M. Newer generation antidepressants and withdrawal effects: reconsidering the role of antidepressants and helping patients to stop[J]. *Drug Ther Bull*, 2021, 60(1): 7-12.

[4] Hoyer D. Targeting the 5-HT system: potential side effects[J]. *Neuropharmacology*, 2020, 179: 108233.

[5] Liu L X, Wang H Y, Chen X Y, et al. Gut microbiota and its metabolites in depression: from pathogenesis to treatment[J]. *EBioMedicine*, 2023, 90: 104527.

[6] Simpson C A, Diaz-Arteche C, Eliby D, et al. The gut microbiota in anxiety and depression—a systematic review[J]. *Clin Psychol Rev*, 2021, 83: 101943.

[7] Averina O V, Poluektova E U, Zorkina Y A, et al. Human gut microbiota for diagnosis and treatment of depression[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(11): 5782.

[8] Wei Y, Chang L J, Hashimoto K. Molecular mechanisms underlying the antidepressant actions of arketamine: beyond the NMDA receptor[J]. *Mol Psychiatry*, 2022, 27(1): 559-573.

[9] Zhu H J, Pan H N, Fang Y L, et al. Apoptosis-induced decline in hippocampal microglia mediates the development of

depression-like behaviors in adult mice triggered by unpredictable stress during adolescence[J]. *Eur J Pharmacol*, 2024, 978: 176763.

[10] Jawaid A, Krajewska J, Pawliczak F, *et al.* A macro role for microglia in poststroke depression[J]. *J Am Geriatr Soc*, 2016, 64(2): 459-461.

[11] Zhang J R, Shen S Y, Zhai M Y, *et al.* Augmented microglial endoplasmic reticulum-mitochondria contacts mediate depression-like behavior in mice induced by chronic social defeat stress[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 5199.

[12] Dong H Y, Cong W L, Guo X W, *et al.* β -asarone relieves chronic unpredictable mild stress induced depression by regulating the extracellular signal-regulated kinase signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(5): 3767-3774.

[13] 龙亚秋, 谢文源, 李 华, 等. 附子多糖对抑郁大鼠模型的影响[J]. *河北医学*, 2017, 23(6): 1029-1031.

[14] Fung T C. The microbiota-immune axis as a central mediator of gut-brain communication[J]. *Neurobiol Dis*, 2020, 136: 104714.

[15] Wang H X, He Y, Sun Z L, *et al.* Microglia in depression: an overview of microglia in the pathogenesis and treatment of depression[J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1): 132.

[16] Xu X X, Xiao X, Yan Y X, *et al.* Activation of liver X receptors prevents emotional and cognitive dysfunction by suppressing microglial M1-polarization and restoring synaptic plasticity in the hippocampus of mice[J]. *Brain Behav Immun*, 2021, 94: 111-124.

[17] Yan Y X, Xu X X, Chen R W, *et al.* Down-regulation of MST1 in hippocampus protects against stress-induced depression-like behaviours and synaptic plasticity impairments[J]. *Brain Behav Immun*, 2021, 94: 196-209.

[18] Li S S, Fang Y Q, Zhang Y H, *et al.* Microglial NLRP3 inflammasome activates neurotoxic astrocytes in depression-like mice[J]. *Cell Rep*, 2022, 41(4): 111532.

[19] Reverchon F, de Concini V, Larrigaldie V, *et al.* Hippocampal interleukin-33 mediates neuroinflammation-induced cognitive impairments[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 268.

[20] Yao H, Zhang D L, Yu H, *et al.* The microbiota-gut-brain axis in pathogenesis of depression: a narrative review[J]. *Physiol Behav*, 2023, 260: 114056.

[21] Yirmiya R, Rimmerman N, Reshef R. Depression as a microglial disease[J]. *Trends Neurosci*, 2015, 38 (10): 637-658.

[22] Xu Q, Sun L H, Chen Q, *et al.* Gut microbiota dysbiosis contributes to depression-like behaviors *via* hippocampal NLRP3-mediated neuroinflammation in a postpartum depression mouse model[J]. *Brain Behav Immun*, 2024, 119: 220-235.

[23] Zhang W J, Qu W, Wang H, *et al.* Antidepressants fluoxetine and amitriptyline induce alterations in intestinal microbiota and gut microbiome function in rats exposed to chronic unpredictable mild stress[J]. *Transl Psychiatry*, 2021, 11(1): 131.

[24] Dong Z Q, Shen X L, Hao Y N, *et al.* Gut microbiome: a potential indicator for predicting treatment outcomes in major depressive disorder[J]. *Front Neurosci*, 2022, 16: 813075.

[25] Maes M, Vasupanrajit A, Jirakran K, *et al.* Exploration of the gut microbiome in thai patients with major depressive disorder shows a specific bacterial profile with depletion of the ruminococcus genus as a putative biomarker[J]. *Cells*, 2023, 12(9): 1240.

[26] Ng Q X, Lim Y L, Yaow C Y L, *et al.* Effect of probiotic supplementation on gut microbiota in patients with major depressive disorders: a systematic review[J]. *Nutrients*, 2023, 15(6): 1351.

[27] Chen Y J, Meng P L, Cheng S Q, *et al.* Assessing the effect of interaction between C-reactive protein and gut microbiome on the risks of anxiety and depression[J]. *Mol Brain*, 2021, 14(1): 133.

[28] Hashikawa-Hobara N, Otsuka A, Okujima C, *et al.* *Lactobacillus paragasseri* OLL2809 improves depression-like behavior and increases beneficial gut microbes in mice[J]. *Front Neurosci*, 2022, 16: 918953.

[29] Sanada K, Nakajima S, Kurokawa S, *et al.* Gut microbiota and major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Affect Disord*, 2020, 266: 1-13.

[30] Cang W H, Wu J R, Ding R X, *et al.* Potential of probiotics as an adjunct for patients with major depressive disorder[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2022, 66(10): e2101057.

[31] Gao K, Farzi A, Ke X Q, *et al.* Oral administration of *Lactococcus lactis* WHH2078 alleviates depressive and anxiety symptoms in mice with induced chronic stress[J]. *Food Funct*, 2022, 13(2): 957-969.

[32] Xie R N, Jiang P, Lin L, *et al.* Oral treatment with *Lactobacillus reuteri* attenuates depressive-like behaviors and serotonin metabolism alterations induced by chronic social defeat stress[J]. *J Psychiatr Res*, 2019, 122: 70-78.

[33] Schaub A C, Schneider E, Vazquez-Castellanos J F, *et al.* Clinical, gut microbial and neural effects of a probiotic add-on therapy in depressed patients: a randomized controlled trial[J]. *Translational Psychiatry*, 2022, 12(1): 227.

[34] Fielding C R, Frank T D, McLoughlin S, *et al.* Age and pattern of the southern high-latitude continental end-Permian extinction constrained by multiproxy analysis[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 385.

[35] Chen X J, Meng S J, Yu Y L, *et al.* The role of probiotic intervention in regulating gut microbiota, short-chain fatty acids and depression-like behavior in lead-exposed rats[J]. *Int J Occup Med Environ Health*, 2022, 35(1): 95-106.

[36] Mp R. Urinary citrate and butyric acid as early biomarkers for diagnosing post stroke depression in T2DM[J]. *J Assoc Physicians India*, 2022, 70(4): 11-12.

[37] Cheng Y W, Liu J M, Ling Z X. Short-chain fatty acids-producing probiotics: a novel source of psychobiotics[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2022, 62(28): 7929-7959.

[38] Lu S W, Zhao Q Q, Guan Y, *et al.* The communication mechanism of the gut-brain axis and its effect on central nervous system diseases; a systematic review[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 178: 117207.

[39] Guo C, Huo Y J, Li Y, *et al.* Gut-brain axis: focus on gut metabolites short-chain fatty acids[J]. *World J Clin Cases*, 2022, 10(6): 1754-1763.

[40] O’Riordan K J, Collins M K, Moloney G M, *et al.* Short chain fatty acids: microbial metabolites for gut-brain axis signalling[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2022, 546: 111572.

[41] Khaledi M, Sameni F, Gholipour A, *et al.* Potential role of gut microbiota in major depressive disorder: a review[J]. *Heliyon*, 2024, 10(12): e33157.

[42] Chen Y H, Bai J, Wu D, *et al.* Association between fecal microbiota and generalized anxiety disorder: severity and early treatment response[J]. *J Affect Disord*, 2019, 259: 56-66.

[43] Wang J, Fan L, Teng T, *et al.* Adolescent male rats show altered gut microbiota composition associated with depressive-like behavior after chronic unpredictable mild stress: differences from adult rats[J]. *J Psychiatr Res*, 2024, 173: 183-191.

基于网络药理学和代谢组学探讨青梅感冒颗粒治疗 SARS-CoV-2 假病毒感染的作用

张希宁¹, 吴振起^{2,3*}, 刘光华^{1*}, 唐 思², 杨 瑞², 张天宇¹, 武美彤¹, 于雪洁¹, 赵奚玉¹, 赵 烜¹

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110032; 2. 辽宁中医药大学附属第二医院, 辽宁 沈阳 110034; 3. 沈阳市中医外感病重点实验室, 辽宁 沈阳 110034)

摘要：**目的** 利用网络药理学联合 LC-MS 代谢组学技术探讨青梅感冒颗粒干预 SARS-CoV-2 假病毒感染 hACE2 转基因小鼠的调控机制。**方法** 基于青梅感冒颗粒的活性成分及其调控 SARS-CoV-2 假病毒感染的潜在靶点进行生物信息学方法预测，将 hACE2 转基因小鼠分为正常组、模型组和青梅感冒颗粒低、中、高剂量组（1.95、3.90、5.85 g/kg）进行干预，HE 染色观察肺组织形态，ELISA 法检测血清白细胞介素（IL）-6、IL-10、肿瘤坏死因子 α （TNF- α ）水平。通过 PLS-DA 对小鼠血清代谢组学进行分析，筛选差异代谢物及富集通路，联合网络药理学和分子对接技术，进行关联分析，选取 PI3K/Akt 信号通路进行验证。**结果** 筛选出青梅感冒颗粒干预 SARS-CoV-2 感染的交集靶点共 96 个，KEGG 富集得到 177 条通路。动物实验发现，与正常组比较，模型组 IL-6、TNF- α 水平升高（ $P<0.01$ ），IL-10 水平降低（ $P<0.01$ ），肺泡形态不完整，有炎性渗出；与模型组比较，青梅感冒颗粒干预后肺组织病变均有不同程度减轻，高剂量组 IL-6、TNF- α 水平降低（ $P<0.01$ ），IL-10 水平升高（ $P<0.01$ ）。代谢组学 PCA 与 PLS-DA 结果显示，正常组、模型组与青梅感冒颗粒高剂量组之间代谢物有差异（ $P<0.01$ ），差异代谢物中共有 28 种下调，15 种上调，网络药理学及代谢组学富集到 PI3K/Akt 等信号通路。实验验证发现，与正常组比较，模型组肺组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 蛋白表达与 *PI3K*、*Akt* mRNA 表达均升高（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，青梅感冒颗粒高剂量组 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 蛋白表达与 *PI3K*、*Akt* mRNA 表达均降低（ $P<0.01$ ）。**结论** 青梅感冒颗粒具有抗 SARS-CoV-2 感染的作用，其可能通过调控 PI3K/Akt 信号通路抑制炎症反应，影响机体代谢，发挥免疫调节作用。

关键词：青梅感冒颗粒；SARS-CoV-2 感染；网络药理学；代谢组学；炎症反应；免疫调节；PI3K/Akt 信号通路

中图分类号：R285.5；R966 **文献标志码：**B **文章编号：**1001-1528(2025)08-2774-09

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.047

新型冠状病毒（SARS-CoV-2）感染是一种急性呼吸道
传染性疾病，大多表现为咳嗽、发热、鼻塞、咽痛、乏力
等症状，严重或将引起急性呼吸窘迫综合征、休克等危及
生命^[1]，在世界范围内暂无方法对 SARS-CoV-2 免疫^[2]。
SARS-CoV-2 通过 ACE2 受体侵入靶细胞^[3-4]，使炎性细胞

积聚，机体各器官出现缺氧、高凝和微血栓状态，易出现
疲劳、乏力、呼吸困难等后遗症^[5]。SARS-CoV-2 感染的治
疗一般以抗病毒、抗感染、对症处理等为主，但疗效有限
且存在一定不良反应^[6]。

中医药具有多组分、多靶点等优势^[7]。SARS-CoV-2 感

收稿日期：2024-11-07

基金项目：国家自然科学基金面上项目（81373687，81874490，82074494）

作者简介：张希宁（1998—），女，硕士生，研究方向为中医药防治感染性疾病。Tel: 15841339043, E-mail: 815081891@qq.com

* 通信作者：吴振起（1974—），男，博士，研究方向为中医药防治感染性疾病。Tel: 18102456617, E-mail: zhenqiwu@163.com