

基于蛋白质组学探讨百事乐加味方对卒中后抑郁症大鼠 JAK2/STAT6 信号通路的影响

王鑫^{1,2}, 刘志恒², 刘羽¹, 刘瑜², 陈雨立², 张攀², 刘林^{1*}

(1. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410007; 2. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208)

摘要: **目的** 采用蛋白质组学联合生物信息学技术探讨百事乐加味方对脑卒中后抑郁 (PSD) 大鼠的保护作用。

方法 采用脑中动脉阻塞 (MCAO) +慢性不可预知温和性应激 (CUMS) +孤养法构建 PSD 大鼠模型, 造模成功后分为模型组和百事乐加味方组 (23.5 g/kg); 另取正常大鼠为对照组, 除栓线不插入颈总动脉外, 其他操作同造模大鼠, 造模的同时给药。给药 28 d 后进行行为学实验 (Morris 水迷宫、旷场及强迫游泳实验)。行为学实验后取材, 采用蛋白质组学筛选百事乐加味方干预前后海马组织差异表达蛋白, 生物信息学方法分析其中关键蛋白和分子机制。ELISA 法检测海马组织炎症因子 (IL-1 β 、IL-6、TNF- α) 水平; Western blot 法检测海马组织 PRL、JAK2、p-JAK2、STAT6、p-STAT6 蛋白表达。**结果** 蛋白质组学筛选得到差异表达蛋白 (DEPs) 553 个; 通过 GO、KEGG 分析得出差异蛋白涉及神经退行性疾病、免疫疾病以及 JAK-STAT 信号通路、坏死性凋亡等途径; 通过 PPI 分析得到 PRL、JAK2、STAT6 等关键靶点蛋白位点。与对照组比较, 模型组大鼠目标象限停留时间缩短 ($P < 0.01$), 穿越平台次数、爬格次数、直立次数减少 ($P < 0.01$), 强迫游泳不动时间延长 ($P < 0.01$); 海马组织 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平升高 ($P < 0.01$), PRL、JAK2、p-JAK2 蛋白表达升高 ($P < 0.01$), STAT6、p-STAT6 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 百事乐加味方组大鼠目标象限停留时间延长 ($P < 0.01$), 穿越平台次数、爬格次数、直立次数增加 ($P < 0.01$), 强迫游泳不动时间缩短 ($P < 0.01$); 海马组织 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平降低 ($P < 0.01$), PRL、JAK2、p-JAK2 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), p-STAT6 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)。**结论** 百事乐加味方可能通过调控 PRL/JAK2/STAT6 通路, 减轻神经炎症, 进而发挥抗 PSD 的作用。

关键词: 百事乐加味方; 脑卒中后抑郁; 神经炎症; 蛋白质组学; JAK2/STAT6 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)06-2051-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.06.044

脑卒中后抑郁症 (post-stroke depression, PSD) 是指发生于卒中后, 表现除卒中症状以外的一系列以情绪低落、兴趣缺失为主要特征的情感障碍综合征, 影响着大约三分之一的中风患者, 且 PSD 患者通常有功能恢复延迟以及中风复发和死亡的严重风险^[1]。PSD 发病机制复杂, 现代医学治疗包括药物、心理和物理等, 以西药治疗为主, 但治疗效果不理想, 存在低血压、嗜睡、消化系统功能受损等不良反应^[2]。因此, 筛选生物标志物和新的药物靶点有望改善 PSD 的诊断和治疗。百事乐加味方由姜黄、贯叶连翘等多味中药组成, 改善 PSD 症状^[3]。尽管目前已对 PSD 进行了大量研究, 但其发病机制仍未完全确定。蛋白质组学可通过对比不同群组, 获得多个特异性潜在生物标志物信息, 以反映整体功能和代谢变化, 确定具有复杂生物学机制的 PSD 分子谱。因此, 本研究以蛋白质组学联合生物信息学、分子生物学验证筛选百事乐加味方干预 PSD 的关键

靶点, 为该方临床运用及探索 PSD 发病机制提供新思路。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 SD 大鼠, 雄性, 体质量 (265 \pm 15) g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司 [实验动物生产许可证 SCXK (湘) 2019-0004], 饲养于湖南中医药大学第一附属医院实验动物中心 [实验动物使用许可证号 SYXK (湘) 2020-0010], 环境温度 22~26 $^{\circ}$ C, 相对湿度 45%~55%, 自由进食进水, 适应性饲养 7 d 后开始正式实验。实验获湖南中医药大学第一附属医院动物伦理委员会批准 (伦理审查批号: 伦审科第 202303004 号)。

1.2 药物 百事乐加味方由姜黄 (批号 2303145)、贯叶连翘 (批号 2305210062)、人参 (批号 HH23090402)、生黄芪 (批号 CK23091802)、川芎 (批号 SL23091803)、柴胡 (批号 CK23091201)、石菖蒲 (批号 230301) 组成, 饮片由湖南中医药大学第一附属医院中药房提供, 经湖南中

收稿日期: 2024-11-27

基金项目: 湖南省自然科学基金 (2023JJ60488); 湖南省重点研发项目 (2023DK2005, 2024JK2121); 湖南省中医药科研项目 (B2023129); 湖南中医药大学重点学科建设项目 (4906-0001003006)

作者简介: 王鑫 (1999—), 女, 硕士生, 从事中药临床药理的研究。Tel: 19397862914, E-mail: 1911543119@qq.com

* **通信作者:** 刘林 (1984—), 男, 博士, 研究员, 从事中药创新药物研究及中医药防治心脑血管疾病的研究。Tel: 13974906701, E-mail: 286410883@qq.com

医药大学第一附属医院药学部左亚杰主任药师鉴定为正品，符合2020年版《中国药典》一部相关规定。常规煎煮2次，合并药液，浓缩至生药量2.35 g/mL，4℃保存。

1.3 试剂 BCA蛋白浓度测定试剂盒(批号P0012,上海碧云天生物技术股份有限公司); β -actin(批号YM3028,美国Immunoway公司); JAK2、p-JAK2、STAT6、p-STAT6一抗(批号17670-1-AP、WL02997、66717-1-AP、510821-AP,美国Proteintech公司); IL-1 β 、IL-6、TNF- α 试剂盒(批号FY2923-A、FY3066-A、FY3056-A,江苏菲亚生物科技有限公司)。

1.4 仪器 Enspire多功能酶标仪(美国Perkinelmer公司); HZ32HK高速冷冻离心机(德国Hermle公司); FluorChemR多功能成像系统(美国ProteinSimple公司); Orbitrap Fusion Lumos质谱仪(美国Thermo公司)。

2 方法

2.1 模型建立

2.1.1 局灶性脑缺血模型建立 采用大脑中动脉闭塞(MCAO)手术建立卒中大鼠模型,麻醉固定后,剃除大鼠颈部毛发并消毒,颈部正中纵向切口,钝性分离右侧颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)、颈内动脉(ICA),分离ICA和ECA分叉处的迷走神经。分别结扎CCA主干和ECA近心端,在CCA主干远端和ICA根部穿线备用;使用微动脉夹暂时夹闭ICA远端,在距CCA分叉部3 mm处剪一小口,将线栓插入ICA并轻推,插入长度约为1.8~2.0 cm(从CCA分叉处计算),线栓到达大脑中动脉(MCA)起始段,用手术线结扎CCA主干远端及ICA根部,松开ICA的微动脉夹,术后逐层缝合并消毒。

2.1.2 PSD模型建立 MCAO大鼠模型建立后,单笼孤养,术后恢复7 d,再给予28 d的慢性不可预知温和性应激(CUMS),包括①禁食禁水;②噪音;③束缚;④冰浴;⑤昼夜颠倒;⑥倾笼;⑦夹尾,每种方法重复4次,随机分布于4个应激周期中,见表1。

表1 CUMS安排表

刺激时间	第1天	第3天	第4天	第5天	第6天	第7天
第1周	①	③	④	⑤	⑥	⑦
第2周	②	①	⑥	③	⑦	⑤
第3周	④	②	⑤	⑦	①	⑥
第4周	⑤	⑥	⑦	④	②	③

2.2 分组及给药 适应性饲养7 d后,随机选取12只大鼠建立PSD模型,造模后按随机数字法分为模型组和百事乐加味方组,每组6只;另取6只大鼠作为对照组,除栓线不插入颈总动脉外,其他操作同MCAO大鼠,应激造模期间灌胃蒸馏水。造模的同时给药,对照组和模型组灌胃蒸馏水;百事乐加味方组灌胃23.5 g/kg百事乐加味方水煎液,灌胃体积均为10 mL/kg,每天1次,连续28 d。

2.3 行为学实验

2.3.1 Morris水迷宫实验 在水迷宫中放入自来水(24±

1)℃,连续4 d按照象限顺序将大鼠放入水池中,计时90 s,记录大鼠找到并停留在平台的时间点;若90 s内未能找到平台,则引导至平台,停留10 s。在第5 d进行空间探索实验,将平台撤离,将大鼠面向池壁放入水中,记录大鼠3 min内在平台所在象限的活动时间和穿越平台次数。

2.3.2 旷场实验 在一个高40 cm、长宽均为100 cm的无盖黑色敞箱中进行。把敞箱底部等分成25个正方形,从中心放入大鼠,适应1 min后,记录4 min内大鼠穿越底面的格数(水平活动)和直立次数(垂直活动)。实验结束后通过录像分析软件统计结果。

2.3.3 强迫游泳实验 将各组大鼠依次放入高56 cm,直径20 cm,水深35 cm的透明玻璃圆桶,适应1 min,视频录像记录3 min内各组大鼠在桶内的强迫游泳不动时间。

2.4 蛋白质组学

2.4.1 蛋白质提取 模型组和百事乐加味方组各选取4只大鼠,麻醉后断头取出全脑,置于低温冷冻台上,分离海马组织,加入裂解缓冲液,涡旋混匀,研磨,组织匀浆4℃、16 000×g离心20 min,BCA法测定蛋白浓度。

2.4.2 蛋白质酶解 样本加入50 μ L赖氨酸缓冲液,95℃、1 000 r/min混匀10 min,冷却至室温后加入胰蛋白酶消化缓冲液,37℃、500 r/min振荡孵育2 h。按照iST试剂盒说明书,使用推荐的洗涤缓冲液进行样品净化和脱盐。肽用洗脱缓冲液(2×100 μ L)洗脱,SpeedVac冻干。

2.4.3 DIA数据采集分析 各样品加入30 μ L 0.1%甲酸水溶液制成悬浮液,取9 μ L加入1 μ L 10×iRT肽段,混合后用nano-HPLC-MS/MS分离,经在线电喷雾串联质谱分析。共上样3 μ L(色谱柱Acclaim PepMap C₁₈,75 μ m×25 cm),以120 min梯度分离,柱流量200 nL/min,电喷雾电压2 kV。通过1% Q值截止的肽用MaxLFQ方法计算主要基团的量。原始数据(蛋白质名称、肽序列、片段离子、峰面积和Q值)导入到R统计软件(Version3.2.3)进行进一步数据分析及图表绘制。P值由Benjamini&Hochberg方法进行调整,倍数变化(FC)≥1.2和P值<0.05被认为是差异表达蛋白(DEPs)具有生物学效应的阈值。

2.5 生物信息学分析

2.5.1 GO、KEGG富集分析 利用生物学信息注释数据库DAVID数据库(<http://david.ncifcrf.gov/>)进行基因本体(GO)、京都基因和基因组百科全书(KEGG)富集分析,预测百事乐加味方治疗卒中后抑郁的生物过程(BP)、分子功能(MF)、细胞组成(CC)及信号通路富集情况。

2.5.2 Reactome信号通路富集分析 在Reactome Pathway数据库(<https://reactome.org/>)中导入潜在作用靶点信息,限定物种为“Rattus”,进行通路富集分析。

2.5.3 蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络构建 在STRING平台(<https://string-db.org/>)导入潜在作用靶点,限定物种“Rattus”,选择最高置信度0.900,隐藏游离节点,获得潜在作用靶点蛋白的互作关系,导出为tsv格式文件,并导入Cytoscape 3.8.2软件,构建PPI网络图。

2.6 分子生物学

2.6.1 ELISA 法检测海马组织 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平 将海马组织和相应检测试剂盒从冰箱中取出，在室温下自然平衡 30 min，制成组织匀浆，按照试剂盒说明书操作，检测各组大鼠海马组织 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平。

2.6.2 Western blot 法检测海马组织 PRL、JAK2、p-JAK2、STAT6、p-STAT6 蛋白表达 取海马组织，经组织裂解液裂解后，14 000~16 000 $\times g$ 离心 1~2 min，取上清液，BCA 法测定总蛋白浓度。依次对蛋白进行变性、凝胶电泳、湿法转膜，脱脂牛奶室温封闭 1 h，加入一抗（1：1 000）4 $^{\circ}C$ 孵育过夜，缓冲液洗涤，加入二抗（1：5 000）室温孵育 1 h，显影、曝光，采用凝胶成像系统拍照，通过 Image J 软件对条带进行分析，计算 PRL、JAK2、p-JAK2、STAT6、p-STAT6 蛋白与内参蛋白 β -actin 灰度值的比值，作为各目的蛋白的相对表达量。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 25.0 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。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 百事乐加味方对 PSD 大鼠行为学的影响

3.1.1 Morris 水迷宫实验 与对照组比较，模型组大鼠目标象限停留时间和穿越平台次数减少 ($P<0.01$)；与模型组比较，百事乐加味方组大鼠目标象限停留时间和穿越平台次数增加 ($P<0.01$)，见表 2、图 1。

表 2 各组大鼠水迷宫实验比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	目标象限停留时间/s	穿越平台次数/次
对照组	69.8 \pm 8.7	4.33 \pm 0.82
模型组	42.9 \pm 4.6**	0.83 \pm 0.75**
百事乐加味方组	55.4 \pm 3.32###	3.17 \pm 1.47###

注：与对照组比较，** $P<0.01$ ，与模型组比较，### $P<0.01$ 。

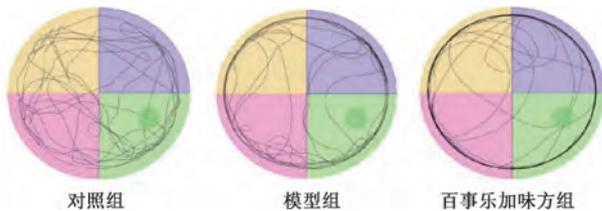


图 1 各组大鼠 Morris 水迷宫实验轨迹图

3.1.2 旷场实验 与对照组比较，模型组大鼠爬格次数和直立次数减少 ($P<0.01$)；与模型组比较，百事乐加味方组大鼠爬格次数和直立次数增加 ($P<0.01$)，见表 3、图 2。

表 3 各组大鼠旷场实验比较 (次, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	爬格次数	直立次数
对照组	75.2 \pm 13.3	20.2 \pm 1.6
模型组	33.7 \pm 8.8**	7.5 \pm 1.0**
百事乐加味方组	62.5 \pm 12.7###	13.3 \pm 3.1###

注：与对照组比较，** $P<0.01$ ，与模型组比较，### $P<0.01$ 。

3.1.3 强迫游泳实验 与对照组比较，模型组大鼠强迫游泳不动时间延长 ($P<0.01$)；与模型组比较，百事乐加味

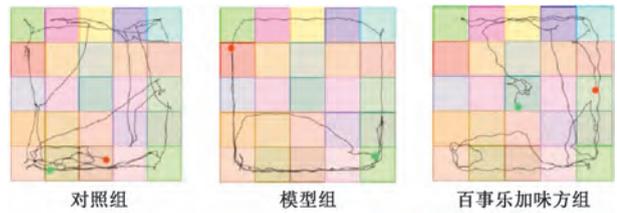


图 2 各组大鼠旷场实验轨迹图

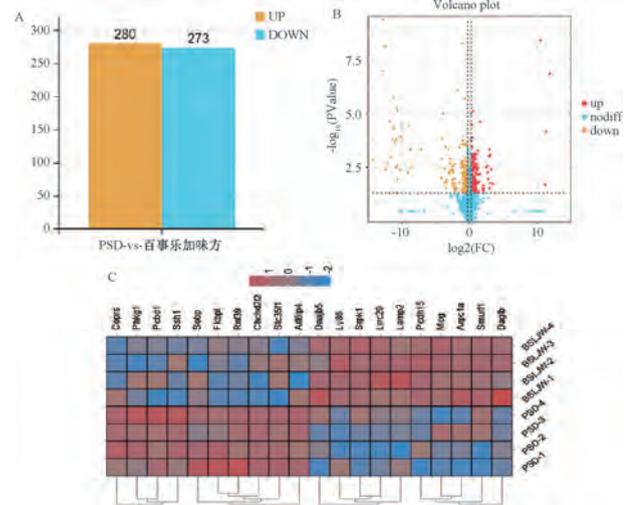
方组大鼠不动时间缩短 ($P<0.01$)，见表 4。

表 4 各组大鼠强迫游泳实验比较 (s, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	强迫游泳不动时间
对照组	31.63 \pm 8.90
模型组	62.92 \pm 11.27**
百事乐加味方组	44.83 \pm 9.37###

注：与对照组比较，** $P<0.01$ ，与模型组比较，### $P<0.01$ 。

3.2 海马组织蛋白谱变化 模型组与百事乐加味方组共筛选出 7 869 个蛋白，按照表达倍数变化上调>1.2 倍或者下调<0.83 倍且 $P<0.05$ 的标准筛选出 553 种差异表达蛋白。与模型组比较，百事乐加味方组大鼠海马组织有 280 个蛋白上调，273 个蛋白下调，提示这些蛋白可能是百事乐加味方防治 PSD 的靶点，见图 3。



注：A 为差异表达蛋白柱状图，B 为差异蛋白火山图，C 为部分差异表达蛋白热图。

图 3 海马组织蛋白谱变化

3.3 海马组织差异蛋白的生物信息学分析

3.3.1 GO 分析 对差异表达进行 GO 分析，从 BP、MF、CC 三方面对相关基因及基因表达产物进行注释，确定百事乐加味方干预后 PSD 大鼠海马组织的蛋白变化。在 GO 分类中的 BP、MF 和 CC 中分别有 25、17 和 2 个，其中富集前 20 的 GO 注释为 AP-4 适配器复合体、核小体、DNA 包装复合体、 β -连环蛋白 TCF 复合体、染色体、中间纤维、透明质酸结合、整合素结合、异型细胞-细胞粘附、蛋白质酰化、轴突延伸的正调控、蛋白质定位到突触后特化、突触后神经递质受体定位、轴突生成的正调控、硫酸素代谢过程、硫酸素二磷酸代谢过程、含硫酸素的化合物代谢过

程、趋化因子 (C-X-C 基序) 配体 2 的产生、细胞成熟的正向调控、趋化因子 (C-X-C 基序) 配体 2 产生的调控等

重要生物学过程, 见图 4~5。

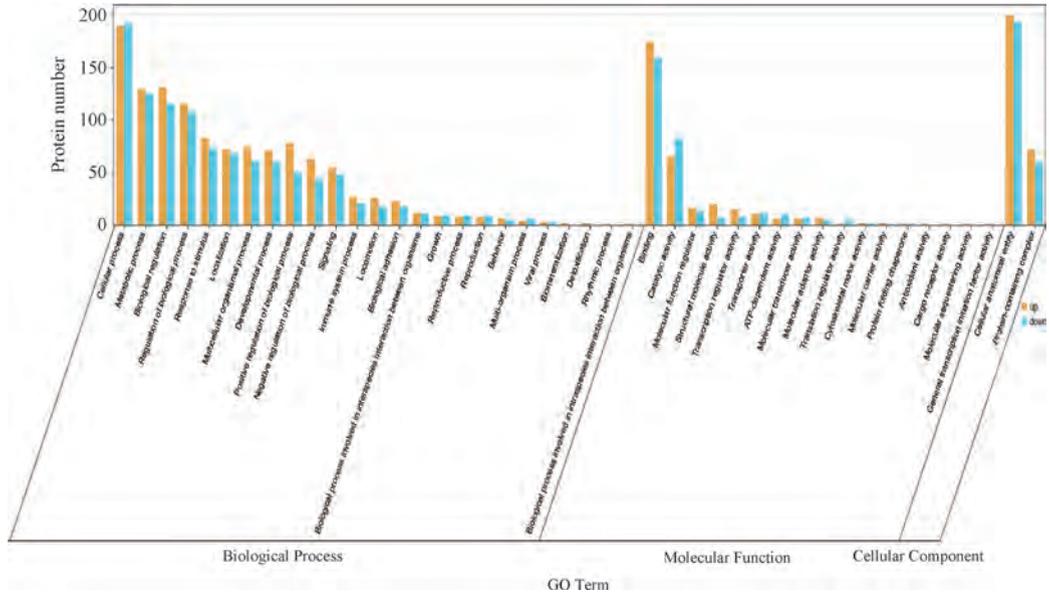


图 4 GO 分析二级分类柱状图

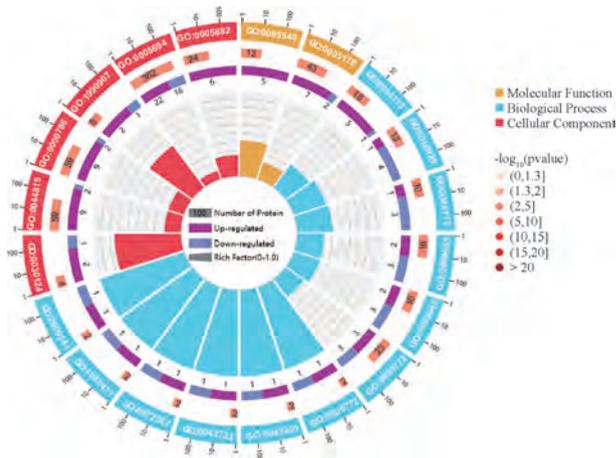


图 5 GO 分析富集环形图

3.3.2 KEGG 分析 通过 KEGG 分析对差异蛋白进行系统分析, 对所有发现的蛋白质序列进行归类, 明确蛋白质之间的相互关系及功能联系, 最后获得差异蛋白参与的信号通路的相关信息。差异表达蛋白在一级水平中明显富集于神经退行性疾病、免疫疾病以及与免疫系统相关, 并在二级水平上有 12 条途径被明显富集 ($P < 0.05$), 分别为自身免疫性甲状腺疾病、移植物排斥、移植物抗宿主病、真核生物核糖体的生物发生、硫酸代谢、DNA 复制、细胞粘附因子、JAK-STAT 信号通路、神经活性配体-受体相互作用、粘蛋白型 O-聚糖生物合成、坏死性凋亡、收集导管酸分泌, 见图 6。

3.3.3 Reactome 分析 Reactome 是一个生物分子通路知识数据库, 其目标是为生物分子通路知识的可视化、解释和分析提供直观的生物信息学工具, 以支持基础研究、基因组分析、系统生物学的便利开展。Reactome 信号通路富集

共得到富集通路 145 条 ($P < 0.01$), 位于前列的分别为 P1r1 与 STAT5 的结合、P1r1 的酪氨酸磷酸化、P1r1-Stat5 复合体磷酸化、JAK2 磷酸化等, 见图 7, 表明 JAK2/STAT5 信号通路的激活可能在百事乐加味方治疗 PSD 中发挥重要作用。

3.3.4 PPI 网络 将差异蛋白导入 STRING 数据库获得 PPI 网络, 见图 8。

3.4 百事乐加味方对 PSD 大鼠海马组织炎症因子水平的影响 与对照组比较, 模型组大鼠海马组织 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 水平升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 百事乐加味方组海马组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平降低 ($P < 0.01$), 见表 5。

表 5 各组大鼠海马组织 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	IL-1 β	IL-6	TNF- α
对照组	132.7 \pm 4.2	105.2 \pm 4.5	254.5 \pm 8.4
模型组	164.5 \pm 5.1**	143.4 \pm 3.8**	290.4 \pm 5.1**
百事乐加味方组	141 \pm 9.1##	118.6 \pm 4.5##	262.1 \pm 4.4##

注: 与对照组比较, ** $P < 0.01$, 与模型组比较, ## $P < 0.01$ 。

3.5 百事乐加味方对 PSD 大鼠海马组织 PRL、JAK2、p-JAK2、STAT6、p-STAT6 蛋白表达的影响 与对照组比较, 模型组大鼠海马组织 PRL、JAK2、p-JAK2 蛋白表达升高 ($P < 0.01$), STAT6、p-STAT6 蛋白表达降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 百事乐加味方组大鼠海马组织 PRL、JAK2、p-JAK2 蛋白表达降低 ($P < 0.01$), STAT6、p-STAT6 蛋白表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 见表 6、图 9。

4 讨论

通过不同群组组学之间的对比, 获得多个特异性潜在生物标志物信息, 反映整体功能变化。蛋白质是细胞功能的执行者, 其水平变化与疾病和证候的变化密切相关。蛋

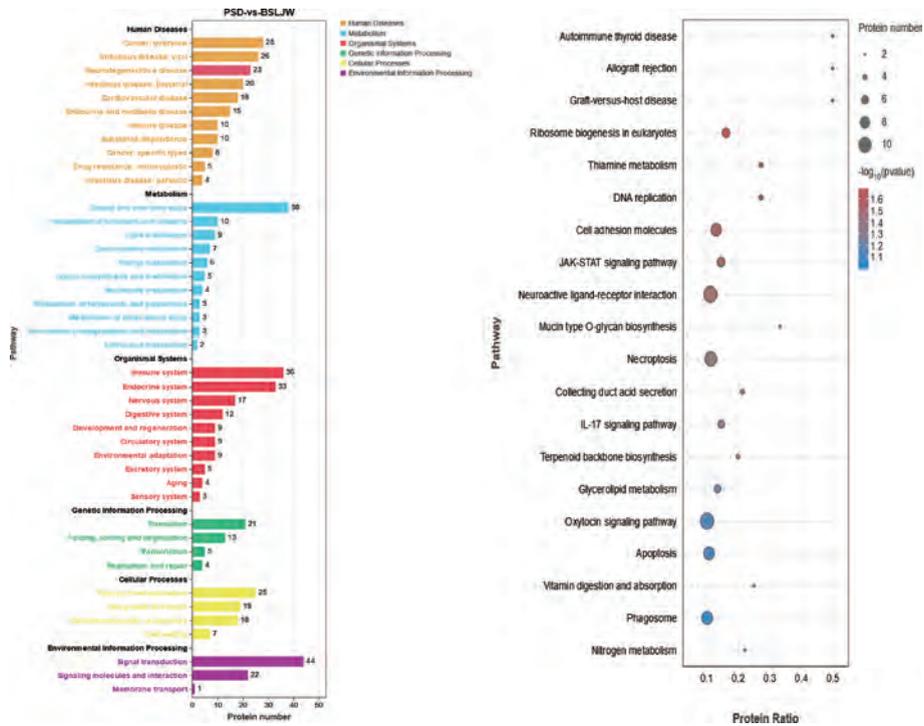


图6 KEGG分析一级(A)、二级(B)图

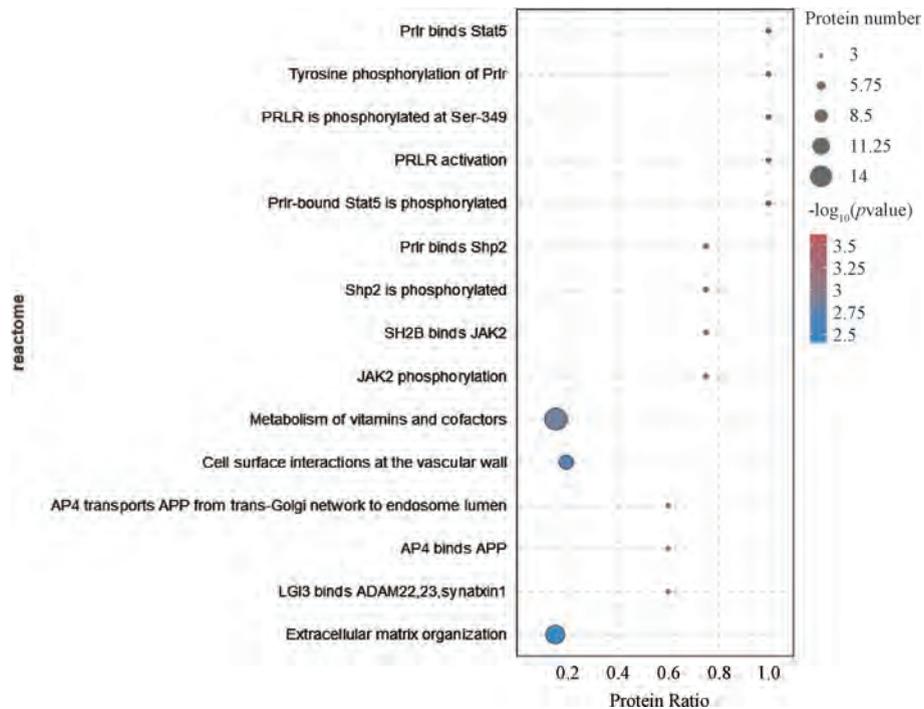


图7 海马差异蛋白 Reactome 分析富集气泡图

蛋白质组学有助于识别多种疾病的病理学潜在治疗生物标记物。海马是学习、记忆和调节情绪的重要大脑区域，容易在慢性长期的应激下受损^[4]。在抑郁症的发生过程中，海马在可塑性和神经化学物质等方面发生改变^[5]。因此通过蛋白质组学结合生物信息学分析筛选海马差异表达蛋白有助于揭示百事乐加味方防治 PSD 的靶标。

GO 分析显示，神经突触相关功能的改善可能是百事乐加味方治疗 PSD 的重要机制。神经元功能与环境刺激、情

绪、损伤等密切相关，且神经功能的建立和实现是基于神经元突触网络连接和信息传递^[6]。炎症是造成海马突触损伤的重要因素，是缺血性脑卒中及抑郁症病理过程的重要环节^[7-8]。神经炎症可导致脑卒中患者神经元凋亡、突触可塑性受损和兴奋性降低等损伤，诱发内环境紊乱，从而诱发抑郁^[9-10]。Mao 等^[11]研究发现，促炎因子 IL-1 β 通过 STAT 途径诱导神经元凋亡。IL-6 可降低神经元突触可塑性，引起神经元功能异常，诱发抑郁^[12-13]。同时，炎症反

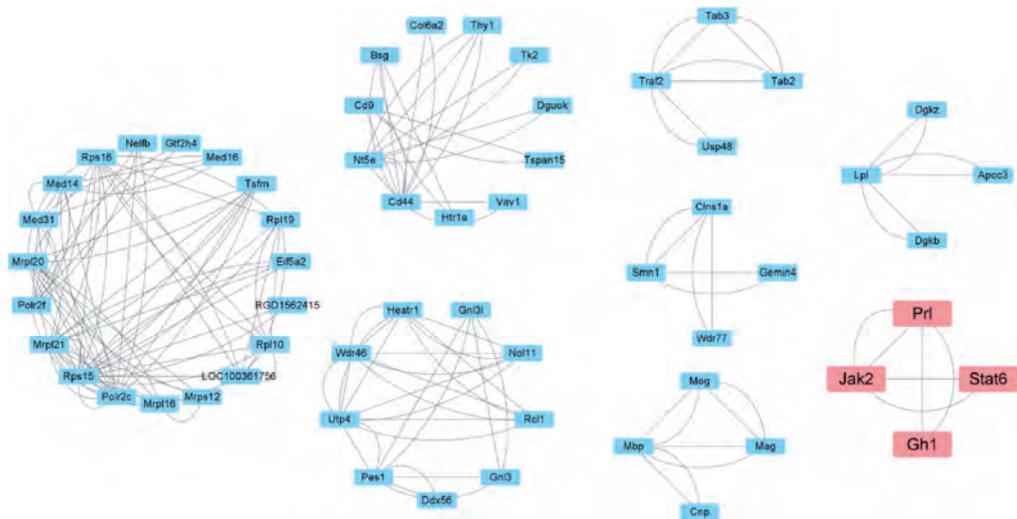
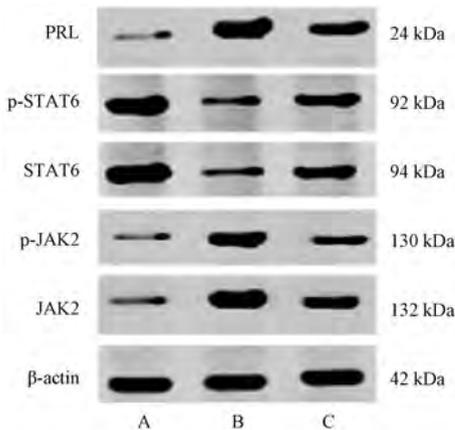


图8 差异蛋白 PPI 网络图

表6 各组大鼠海马组织 PRL、JAK2、p-JAK2、STAT6、p-STAT6 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	PRL	JAK2	p-JAK2	STAT6	p-STAT6
对照组	0.38±0.02	0.30±0.04	0.24±0.004	0.99±0.2	0.89±0.09
模型组	0.94±0.05**	0.91±0.15**	0.88±0.1**	0.46±0.07**	0.5±0.14**
百事乐加味方组	0.65±0.01#	0.57±0.06##	0.64±0.06##	0.65±0.08	0.79±0.09#

注：与对照组比较，** $P < 0.01$ ，与模型组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。



注：A 为对照组，B 为模型组，C 为百事乐加味方组。

图9 各组大鼠海马组织 PRL、p-STAT6、STAT6、p-JAK2、JAK2 蛋白印迹图

应是抑郁症等精神疾病的核心反应，可以激活外周免疫系统，促进炎症细胞因子释放，炎症因子进入中枢神经系统，从而影响与行为相关的脑功能^[14]。Mu 等^[15]发现 PSD 患者血清 IL-6、TNF- α 水平高于非 PSD 患者，且与抑郁程度呈正相关。在卒中的发生过程中，在炎症、代谢紊乱、细胞凋亡等关键条件下，发生突触可塑性损伤^[16]。因此，百事乐加味方可能通过减轻神经炎症缓解神经元突触可塑性损伤进而发挥治疗作用。

KEGG 分析显示，JAK2/STAT6 是一条与神经炎症相关的重要信号通路，可能是 PSD 发生发展的重要机制。JAK2 在全身组织均有表达，与炎症反应密切关联，在脑卒中发生后，大脑缺血缺氧介导炎症相关因子表达，加剧核心梗

死区及缺血半暗带内神经元损伤，并释放炎症细胞因子，从而激活 JAK/STAT 通路^[17]。Chen 等^[18]研究发现 JAK2 抑制剂 AG490 下调促炎细胞因子 (IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6) 的表达，对 MCAO 大鼠产生神经保护和减轻神经炎症的作用；促红细胞生成素可以通过抑制 JAK2 表达，减轻神经炎症，重塑突触可塑性^[19]。JAK2 蛋白上共有 4 个功能结构域，其中假激酶结构域主要参与 JAK2 与 STAT6 的结合相互作用^[20]。STAT6 在动物身上主要与产生抗炎性细胞因子有关。有研究表明，MCAO 大鼠大脑组织 STAT6 依赖性 M2 型小胶质细胞极化失活，促进神经炎症，加重卒中后神经损伤^[21]；STAT6 蛋白表达升高，可抑制 M1 型小胶质细胞极化，减轻 MCAO 大鼠神经炎症损伤^[21-22]。因此，百事乐加味方可能通过 JAK2/STAT6 通路调控神经炎症在 PSD 的临床实践中发挥治疗作用。

经 Reactome 分析和 PPI 网络图验证得到，PRL 与 JAK/STAT 通路调控作用密切相关。在胰岛素抵抗模型体内，PRL/PRLR 信号通路可通过激活 JAK2/STAT5 信号通路，增加 TGs 沉积来促进胰岛素抵抗^[23]。在非妊娠和妊娠状态下，体内 PRL 激素水平表达异常，PRL 水平的改变影响了育龄雌性小鼠的短期和长期突触可塑性，但在性未成熟的雌性小鼠和成年雄性小鼠则不然^[24]。PRL 与 JAK2/STAT6 通路有明确关联，但 JAK2/STAT6 通路在神经系统疾病中研究较少。

因此，本研究从海马蛋白质组学结合生物信息学分析靶向 PRL/JAK2/STAT6 通路探讨百事乐加味方对 PSD 的治疗作用，为 PSD 发生发展的病理机制提供了新思路。

参考文献：

[1] Guo J, Wang J, Sun W, et al. The advances of post-stroke

- depression: 2021 update[J]. *J Neurology*, 2022, 269(3): 1236-1249.
- [2] Ding C, Xu M, Gao L, *et al.* Clinical efficacy of Danzhi Xiaoyao Powder in the treatment of post-stroke depression: A protocol for randomized, double-blind clinical study[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(42): e27318.
- [3] 刘林, 袁霞红, 易亚乔, 等. 百事乐加味方通过 P2X7R/NLRP3 调节卒中后抑郁脑-肠轴炎症反应的实验研究[J]. *时珍国医国药*, 2022, 33(5): 1051-1055.
- [4] Zhang W J, Guo Z X, Wang Y D, *et al.* From perspective of hippocampal plasticity: Function of antidepressant Chinese medicine Xiaoyaosan[J]. *Chin J Integr Med*, 2024, 30(8): 747-758.
- [5] Liu W, Ge T, Leng Y, *et al.* The role of neural plasticity in depression: From hippocampus to prefrontal cortex[J]. *Neural Plast*, 2017, 2017: 6871089.
- [6] Rodríguez-moreno C B, Cañeque-rufó H, Flor-garcía M, *et al.* Azithromycin preserves adult hippocampal neurogenesis and behavior in a mouse model of sepsis[J]. *Brain Behav Immun*, 2024, 117: 135-148.
- [7] Evrensel A, Ünsalver B Ö, Ceylan M E. Neuroinflammation, gut-brain axis and depression[J]. *Psychiatry Investig*, 2020, 17(1): 2-8.
- [8] Gao L, Lin Z, Xie G, *et al.* The effects of P2X7 receptor knockout on emotional conditions over the lifespan of mice[J]. *Neuroreport*, 2018, 29(17): 1479-1486.
- [9] Liegey J S, Sagnier S, Debruxelles S, *et al.* Influence of inflammatory status in the acute phase of stroke on post-stroke depression[J]. *Rev Neurol (Paris)*, 2021, 177(8): 941-946.
- [10] Shao R, Tan X, Pan M, *et al.* Inulin alters gut microbiota to alleviate post-stroke depressive-like behavior associated with the IGF-1-mediated MAPK signaling pathway[J]. *Brain Behav*, 2024, 14(1): e3387.
- [11] Mao J, Yang J, Zhang Y, *et al.* Arsenic trioxide mediates HAPI microglia inflammatory response and subsequent neuron apoptosis through p38/JNK MAPK/STAT3 pathway[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2016, 303: 79-89.
- [12] Stampanoni B M, Buttari F, Nicoletti C G, *et al.* Interleukin-1 β alters hebbian synaptic plasticity in multiple sclerosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19): 6982.
- [13] Wang J, Hodes G E, Zhang H, *et al.* Epigenetic modulation of inflammation and synaptic plasticity promotes resilience against stress in mice[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 477.
- [14] Rohleder N. Stress and inflammation—The need to address the gap in the transition between acute and chronic stress effects[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2019, 105: 164-171.
- [15] Mu Y, Wang Z, Zhou J, *et al.* Correlations of post-stroke depression with inflammatory response factors[J]. *Iran J Public Health*, 2018, 47(7): 988-993.
- [16] Bahr-hosseini M, Saver J L. Mechanisms of action of acute and subacute sphenopalatine ganglion stimulation for ischemic stroke[J]. *Int J Stroke*, 2020, 15(8): 839-848.
- [17] Zhong Y, Yin B, Ye Y, *et al.* The bidirectional role of the JAK2/STAT3 signaling pathway and related mechanisms in cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Exp Neurol*, 2021, 341: 113690.
- [18] Chen X, Shen J, Zhou Q, *et al.* Astragaloside VI ameliorates post-stroke depression via upregulating the NRG-1-mediated MEK/ERK pathway[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, 15(12): 1551.
- [19] Luo Y, Ali T, Liu Z, *et al.* EPO prevents neuroinflammation and relieves depression via JAK/STAT signaling[J]. *Life Sci*, 2023, 333: 122102.
- [20] Perner F, Perner C, Ernst T, *et al.* Roles of JAK2 in aging, inflammation, hematopoiesis and malignant transformation[J]. *Cells*, 2019, 8(8): 854.
- [21] Im J H, Yeo I J, Park P H, *et al.* Deletion of chitinase-3-like 1 accelerates stroke development through enhancement of neuroinflammation by STAT6-dependent M2 microglial inactivation in chitinase-3-like 1 knockout mice[J]. *Exp Neurol*, 2020, 323: 113082.
- [22] Yao G, Bai Z, Niu J, *et al.* Astragaloside attenuates depression-like behaviors and memory deficits and promotes M2 microglia polarization by regulating IL-4R/JAK1/STAT6 signaling pathway in a murine model of perimenopausal depression[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2022, 239(8): 2421-2443.
- [23] Wang P Y, Jin C C, Liu C, *et al.* PRL/PRLR can promote insulin resistance by activating the JAK2/STAT5 signaling pathway[J]. *Comput Math Methods Med*, 2022, 2022: 1456187.
- [24] Zamora-moratalla A, Martín E D. Prolactin enhances hippocampal synaptic plasticity in female mice of reproductive age[J]. *Hippocampus*, 2021, 31(3): 281-293.