

陈泽海,芮书文,丁园晨,等. 基于代谢组学探讨两种慢性应激相关干眼大鼠的表型和中医证候差异 [J]. 中国实验动物学报, 2026, 34(3): 313-325.

CHEN Z H, RUI S W, DING Y C, et al. Metabolomics-based investigation of phenotypic and traditional Chinese medicine syndrome differences in rat models of chronic stress-related dry eye [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2026, 34(3): 313-325.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2026.03.001

## 基于代谢组学探讨两种慢性应激相关干眼大鼠的表型和中医证候差异

陈泽海,芮书文,丁园晨,裴昱,王畅畅,施炜\*,杨颖\*

(南京中医药大学附属医院,南京 210029)

**【摘要】 目的** 构建慢性不可预测轻度约束 (chronic unpredictable mild restraint, CUMR) 与慢性不可预测节律干预 (chronic unpredictable rhythm disturbance, CURD) 两种慢性应激相关干眼模型,比较两种模型的表型和代谢组学特征以及与中医证候的关联。**方法** SPF 级健康雄性大鼠分为空白组、CUMR 组、CURD 组, CUMR 组每天施加单笼饲养 + 行为约束, CURD 组每天施加随机节律干预。造模 6 周后,筛选出郁证相关干眼大鼠,评估一般情况、行为学、干眼指标;苏木素-伊红 (HE) 染色观察结膜、角膜、泪腺病理变化;ELISA 法检测血清 5-羟色胺 (5-HT)、皮质醇 (cortisol) 和角膜组织肿瘤坏死因子 (TNF)- $\alpha$ 、白介素 (IL)-1 $\beta$  指标水平;超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用系统 (UPLC-QTOF-MS) 技术进行血清代谢组学分析。**结果** (1) CUMR 组和 CURD 组外观和行为学有显著性差异;(2) CUMR 组、CURD 组与空白组相比,角膜荧光染色 (CFS) 显著增加,泪流量 (TF)、泪膜破裂时间 (BUT) 显著减少,且 CUMR 组改变更为明显;(3) CUMR 组、CURD 组角膜未见明显炎症细胞浸润。与空白组相比, CUMR 组、CURD 组结膜杯状细胞数量显著降低、泪腺空泡化面积显著增加,且 CUMR 组改变更为明显;(4) CUMR 组与 CURD 组 ELISA 检测比较, CUMR 组血清 5-HT 显著降低, cortisol 显著升高、角膜组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  无统计学意义;(5) 血清代谢组学分析提示, CUMR 组和 CURD 组样本中鉴定出 235 个差异代谢物,呈现显著的分离趋势。**结论** 不同的应激造模会影响大鼠代谢,从而造成不同的中医证候和干眼表型。CUMR 组表现为“肝郁脾虚型”干眼,其病理进程可能与色氨酸代谢有关; CURD 组表现为“肝经郁热型”干眼,其生物学基础可能涉及三羧酸循环。

**【关键词】** 干眼;抑郁;慢性应激;大鼠;中医证候;代谢组学

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2026) 03-0313-13

### Metabolomics-based investigation of phenotypic and traditional Chinese medicine syndrome differences in rat models of chronic stress-related dry eye

CHEN Zehai, RUI Shuwen, DING Yuanchen, PEI Yu, WANG Changchang, SHI Wei\*, YANG Ying\*

(Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

Corresponding author: SHI Wei. E-mail: shiwei-1218@163.com; YANG Ying. E-mail: yingyang1985@163.com

**【基金项目】** 国家自然科学基金 (82405488), 江苏省中医药科技发展计划项目 (QN202315)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China (82405488), Jiangsu Province Science and Technology Development Program for Traditional Chinese Medicine (QN202315).

**【作者简介】** 陈泽海,男,在读硕士研究生,研究方向:中西医结合治疗眼病。Email:1473449625@qq.com

**【通信作者】** 施炜,男,博士,副教授,博士生导师,主任医师,研究方向:中西医结合治疗眼病。Email:shiwei-1218@163.com;

杨颖,女,硕士,硕士生导师,副主任医师,研究方向:中西医结合治疗眼病。Email:yingyang1985@163.com。

\* 共同通信作者

**【Abstract】 Objective** To establish and characterize two chronic stress-related dry-eye models using chronic unpredictable mild restraint (CUMR) and chronic unpredictable rhythm disturbance (CURD), respectively, and to compare their phenotypic presentations, metabolomic profiles, and correlations with traditional Chinese medicine syndrome patterns. **Methods** Healthy male specific-pathogen-free rats were divided into control, CUMR, and CURD groups. Rats in the CUMR group underwent single-cage housing combined with behavioral restraint daily, while CURD rats received random daily rhythm interventions. After 6 weeks of modeling, dry-eye rats associated with Yu syndrome were assessed for general conditions, behavioral performance, and dry-eye parameters. Histopathological alterations in the conjunctiva, cornea, and lacrimal gland were examined by hematoxylin-eosin staining. Serum concentrations of 5-hydroxytryptamine (5-HT) and cortisol, and cornea levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), were quantified by enzyme-linked immunosorbent assay. Serum metabolomic profiling was conducted using ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Results** (1) There were significant differences in appearance and behavior between the CUMR and CURD groups. (2) Compared with the control group, cornea fluorescein staining (CFS) was significantly increased in the CUMR and CURD groups, while tear flow and tear-film breakup time (BUT) were significantly decreased, especially in the CUMR group. (3) There was no obvious inflammatory cell infiltration in the cornea in the CUMR or CURD group. Compared with the control group, there were significantly fewer conjunctival goblet cells in the CUMR and CURD groups, and the area of lacrimal gland vacuolation was significantly increased. (4) Serum 5-HT was significantly decreased and cortisol was significantly increased in the CUMR group compared with the CURD group, but there were no significant differences in cornea tissue TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  levels. (5) Serum metabolomic analysis revealed 235 differential metabolites in the CUMR and CURD groups, demonstrating a significant separation trend. **Conclusions** Distinct stress-modeling paradigms differentially impact host metabolism, culminating in divergent TCM syndrome manifestations and dry-eye phenotypes. The CUMR model exemplifies a dry-eye phenotype consistent with “Liver Depression and Spleen Deficiency,” potentially mediated by perturbations in tryptophan metabolism, while the CURD model aligns with “Stagnation Heat in the Liver Channel,” likely arising from disruptions in the tricarboxylic acid cycle.

**【Keywords】** dry eye; depression; chronic stress; rats; traditional Chinese medicine syndrome; metabolomics  
**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

干眼是一种以泪膜稳态失衡为核心的多因素眼表疾病,国内发病率达 21% ~ 52.4%<sup>[1]</sup>,约 25% 的眼科患者主诉与干眼症状相关<sup>[2]</sup>。近年来横断面研究证实,焦虑症、抑郁症等精神障碍在干眼的发生发展中具有重要影响<sup>[3-5]</sup>。CHANG 等<sup>[6]</sup>通过整合荟萃分析、遗传学关联研究和孟德尔随机化分析的多模式研究方法,系统揭示了干眼与抑郁症之间密切的相关性,但其内在机制还有待探究。

抑郁相关性干眼的基础研究需要成熟可靠的动物模型支持。现有抑郁动物模型主要包括生物因子诱导(如利血平、皮质醇(cortisol)干预)、基因缺陷模型(如 FH 突变大鼠)及心理应激模型<sup>[7-10]</sup>。其中,慢性不可预测轻度应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)更接近自然发病状态,是抑郁研究中常用的一种造模方式。国内

不少学者在 CUMS 的基础上构造干眼模型,进行抑郁相关干眼的机制研究<sup>[11-12]</sup>。

本课题组此前的造模研究发现增加 CUMS 中的约束性刺激,会使大鼠更容易表现出情绪低落、蔗糖偏好度降低及自主活动减少等典型抑郁样表现。而增加节律干预措施,则会使大鼠表现出狂躁样行为,包括自主活动增加、攻击性以及惊跳反射增强。这与 LI 等<sup>[13]</sup>的研究结果相一致,即不同应激模式可能诱导特征性精神障碍表型。那么,不同应激造模的干眼表型是否会有差异,内在机制如何?

因此本研究通过构建慢性不可预测轻度约束(chronic unpredictable mild restraint, CUMR)与慢性不可预测节律干预(chronic unpredictable rhythm disturbance, CURD)两种应激模型,比较其一般情况、行为学特征、干眼表型、组织病理改变

及相关生化指标,并基于代谢组学分析两种应激模式的差异,探讨不同应激造模与干眼中医证候的相关性,为郁证相关干眼的中医模型评价提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

36 只 SPF 级雄性 SD 大鼠,8 周龄,体质量约为 230 g,购于苏州斯贝福生物技术有限公司【SCXK(苏)2022-0006】。饲养于南京中医药大学附属医院实验动物中心【SYXK(苏)2022-070】。饲养期间各组大鼠自由饮水,饲喂普通维持饲料,饲料由南京中医药大学附属医院实验动物中心提供。饲养环境:昼夜各半循环照明,湿度 50% ~ 60%,温度控制在 22 ~ 25 ℃。本实验方案经南京中医药大学附属医院伦理委员会批准(2023DW-019-01)。

#### 1.1.2 主要试剂与仪器

甲醇(Merck, 1.06035)、乙晴(Merck, 1.00029)、氨水(Merck, 105426)、乙酸铵(Sigma, 73594)、甲酸胺(Sigma, 70221)、甲酸(Millipore, 111670)、大鼠 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)ELISA 检测试剂盒(上海源桔, YJ028308)、大鼠 cortisol ELISA 检测试剂盒(上海源桔, YJ002874)、大鼠白介素(interleukin, IL)-1 $\beta$  ELISA 检测试剂盒(上海源桔, YJ037361)、大鼠肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- $\alpha$  ELISA 检测试剂盒(上海源桔, YJ002859)、苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(Sigma, C0105M)。

质谱仪(Thermo Scientific, Q Exactive Plus, 美国)、可见紫外分光光度计(Thermo Scientific, MultiSkan FC, 美国)、超高压液相色谱仪(Shimadzu, Nexera X2 LC-30AD, 日本)、超声波系统(Diagenode, 比利时)、色谱柱(Waters, 美国)、真空离心浓缩仪(Eppendorf, Concentrator Plus, 德国)、离心机(Eppendorf, 5430R; Centrifuge 5424R, 德国)、手持式裂隙灯(苏州六六仪器厂, LS-1A)、酚红棉线(天津晶明技术有限公司, 20230901)、荧光染色试纸(天津晶明技术有限公司, 20220412)、旷场反应箱(上海欣软信息科技有限公司, XR-XZ301)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 实验动物与分组

SD 大鼠于标准实验环境中开展实验,随机分为 3 组:空白组( $n = 10$ )、CUMR 组( $n = 13$ )和 CURD 组( $n = 13$ )。根据以往造模经验,郁证相关干眼的造模成功率约为 80%<sup>[12]</sup>,因此 CUMR 组和 CURD 组动物数量是空白组的 1.3 倍。CUMR 组每天施予单笼饲养 + 随机一种应激源(包括 12 h 笼体倾斜、3 h 躯体束缚、24 h 潮湿垫料);CURD 组每天随机施加两种昼夜节律干预(包括 6 h 昼/18 h 夜的光周期颠倒、6 h 夜/18 h 昼的光周期颠倒、12 h 频闪刺激、24 h 禁水、24 h 禁食)<sup>[13]</sup>。所有应激干预均采用随机时间序列实施,各组干预持续 6 周。造模 6 周后,CUMR 组与 CURD 组大鼠与空白组相比,旷场活动、糖水偏好度、2 h 糖水消耗量、体质量出现显著性差异则视为抑郁造模成功<sup>[12-13]</sup>,再根据酚红棉线测试泪流量(tear flow, TF) < 7 mm 筛选出郁证相关性干眼<sup>[12,14]</sup>。

#### 1.2.2 一般情况

实验开始前 24 h 及实验结束当日,评估大鼠精神状态、被毛状态、静息体态、耳廓颜色、粪便性状。

#### 1.2.3 抑郁行为学及体质量观察

旷场实验:将摄像机置于旷场反应箱上,通过 SMARTv3.0-Panlab 动物行为分析系统进行数据采集。系统自动记录大鼠在 5 min 内的运动轨迹,重点分析中央区域持续时间、进入中央区次数及总运动距离(mm)等行为学参数。

糖水偏好实验:实验前进行 3 d 适应性训练:每日 9:00 ~ 11:00 给予 1%蔗糖水。正式实验前禁食禁水 24 h,在标准化代谢笼中同时提供预称质量的 1%蔗糖水瓶和纯净水瓶,自由饮用 2 h 后重新称量。糖水偏好指数计算公式为:糖水偏好百分比(%) = [蔗糖水消耗量/(蔗糖水 + 纯水消耗量)]  $\times$  100%<sup>[15-16]</sup>。

2 h 糖水饮用量:正式实验前禁食禁水 2 h,在标准化代谢笼中同时提供预称质量的 5%蔗糖水瓶,自由饮用 2 h 后重新称量。

体质量:每周定时测量每组大鼠体质量。

#### 1.2.4 干眼指标

TF:采用显微镊固定标准酚红棉线,置于结

膜下,停留 20 s 后取出,立即使用标尺测量棉线被泪液浸染的红色区域长度<sup>[17]</sup>。

泪膜破裂时间 (tear film break-up time, BUT):于结膜下滴注 2% 荧光素钠溶液 3  $\mu$ L,在裂隙灯钴蓝光照射下,实验者手动诱导大鼠瞬目。自末次完全瞬目后开始计时,记录首个角膜干燥斑出现的时间间隔,连续测量 3 次取平均值。

角膜荧光染色 (cornea fluorescein staining, CFS):于结膜下滴注 2% 荧光素钠溶液 3  $\mu$ L,在裂隙灯钴蓝光照射下,实验者手动诱导实验大鼠完成 3 次自主瞬目动作。采用改良 Oxford 分级法:以角膜中心为原点作垂直与水平十字交叉线,将角膜划分为四个象限。各象限评分标准如下:0 分:无染色点;1 分:散在点状染色 ( $\leq 30$  个);2 分:密集点状染色 ( $> 30$  个)但无融合;3 分:斑片状染色或条索状。着色总分为四象限分值之和 (0 ~ 12 分)。

#### 1.2.5 光学显微镜观察

大鼠异氟烷气体麻醉处死后立即取部分角膜、结膜、泪腺在多聚甲醛溶液中固定。24 h 石蜡包埋切片 HE 染色后,光学显微镜下观察。采用 20 倍光学显微镜对结膜、泪腺随机选取 10 个视野,人工计数结膜杯状细胞数量,采用 Image J (Version 1.54p) 软件,定量分析腺泡区域空泡面积占比 (空泡面积/腺泡区域总面积  $\times 100\%$ )。

#### 1.2.6 血清和角膜 ELISA 检测

严格按照试剂盒说明书操作,检测大鼠血清中 5-HT、cortisol 以及角膜组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 。反应终止后,立即使用酶标仪于 450 nm 波长下测定各孔吸光度 (OD) 值。依据试剂盒提供的标准品浓度梯度及相应 OD 值建立标准曲线,通过回归方程计算各组样本浓度。所有样本均设 2 个复孔,检测结果取平均值作为最终定量值。

#### 1.2.7 代谢组学分析

样本制备:冷冻干燥的组织样本经称量质量后,置于含钨珠的离心管中研磨粉碎。代谢物用预冷甲醇:乙腈:水 (2:2:1) 提取,冰浴超声 1 h,随后 -20  $^{\circ}$ C 孵育 1 h,4  $^{\circ}$ C 14 000 r/min 离心 20 min。上清液真空干燥后,复溶于冷甲醇:乙腈 (1:1),再次进行冰浴超声 1 h,-20  $^{\circ}$ C 孵育 1 h 及相同条件的离心。最终上清液真空干燥,溶解于 50% 乙腈,经 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤,转移至进样

瓶并于 -80  $^{\circ}$ C 保存待测。

超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用系统 (ultra performance liquid chromatography-quadrupole time of flight-mass spectrometry, UPLC-QTOF-MS) 分析:代谢组分析在配备 ACQUITY UPLC<sup>®</sup> HSS T3 色谱柱的 UPLC-ESI-Q-Orbitrap-MS 系统上进行。流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A) 和乙腈 (B),梯度洗脱。质谱采集采用正负离子模式电喷雾电离 (electrospray ionization, ESI),设定特定源参数,在 Full MS 模式和 MS/MS 模式下采集数据。

数据预处理和过滤:原始数据经 MS-DIAL 进行峰提取、对齐及保留时间校正,代谢物通过精确质量数 (MS 偏差  $< 10$  ppm, MS/MS 偏差  $< 0.02$  Da) 匹配公共数据库 (HMDB, MassBank) 及自建库鉴定。保留在至少一个组别中非零值比例  $> 50\%$  的特征峰。随后使用 R v4.0.3 软件进行多元统计分析:数据经 Pareto 缩放后,构建主成分分析 (principal component analysis, PCA)、偏最小二乘判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA) 和正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) 模型,并通过置换检验 ( $n = 200$ ) 评估模型性能 ( $R^2X$ ,  $R^2Y$ ,  $Q^2$ ) 及过拟合。差异代谢物筛选标准为 OPLS-DA 的变量重要性投影 (variable importance in the projection, VIP) 值  $> 1.0$  且  $t$  检验/单因素方差分析 (ANOVA)  $P < 0.05$ ,并计算 Fold Change。最后,对显著差异代谢物进行京都基因与基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析 (超几何检验, FDR 校正,  $P < 0.05$  为差异具有显著性)。

#### 1.3 统计学分析

统计分析采用 GraphPad Prism 8.0 和 SPSS 21.0 软件完成。计量资料采用平均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示;对数据进行 ANOVA 和 Tukey 多重比较检验,  $P < 0.05$  表示差异具有显著性。

## 2 结果

#### 2.1 大鼠一般情况

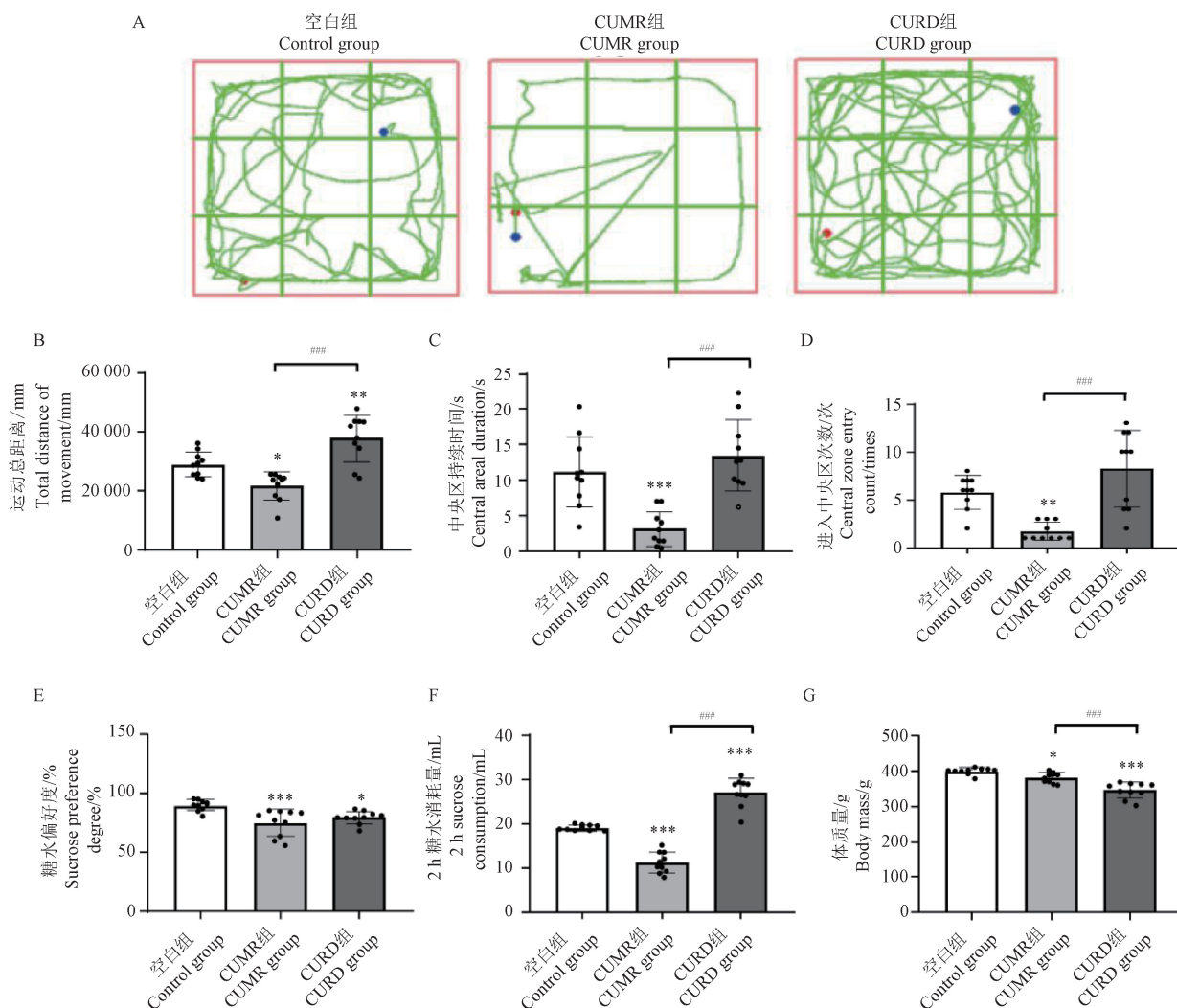
造模 6 周后,肉眼观察可见空白组大鼠精神饱满,毛发洁净、浓密且有光泽,自主活动正常且

协调,耳廓色泽红润,粪便呈颗粒状。CUMR 组大鼠精神萎靡、毛发脏乱、粗糙蓬松、自主活动减少、运动迟滞、耳廓色泽暗淡、粪便呈糊状。CURD 组大鼠精神亢奋、毛发枯槁、易激惹性增高、活动增多、耳廓潮红、粪便呈粟粒状。

## 2.2 大鼠抑郁行为学指标

造模前,3 组大鼠在糖水偏好度、2 h 糖水消耗量、旷场实验指标及体质量组间比较无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。造模后 3 组旷场轨迹热图分析显示动物活动模式存在显著空间分布差异(图 1A)。与空白组相比,CUMR 组运动总距离显

著减少(图 1B),中央区持续时间显著缩短(图 1C),中央区进入频次显著降低(图 1D);糖水偏好度显著降低(图 1E);2 h 糖水消耗量显著减少(图 1F);体质量明显下降(图 1G)。CURD 组运动总距离显著增多、中央区持续时间显著增长、中央区进入频次显著增加;糖水偏好度显著降低;2 h 糖水消耗量显著增多;体质量显著下降。CUMR 组与 CURD 组相比,CUMR 组旷场实验总距离、中央区持续时间以及进入中央区次数显著降低;2 h 糖水消耗量显著减少;体质量也显著减少。



注:A:运动轨迹;B:运动总距离;C:中央区持续时间;D:进入中央区次数;E:糖水偏好度;F:2 h 糖水消耗量;G:体质量;与空白组相比, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ ;与 CURD 组相比, ###  $P < 0.001$ 。(下同)

图 1 抑郁行为学及体质量指标

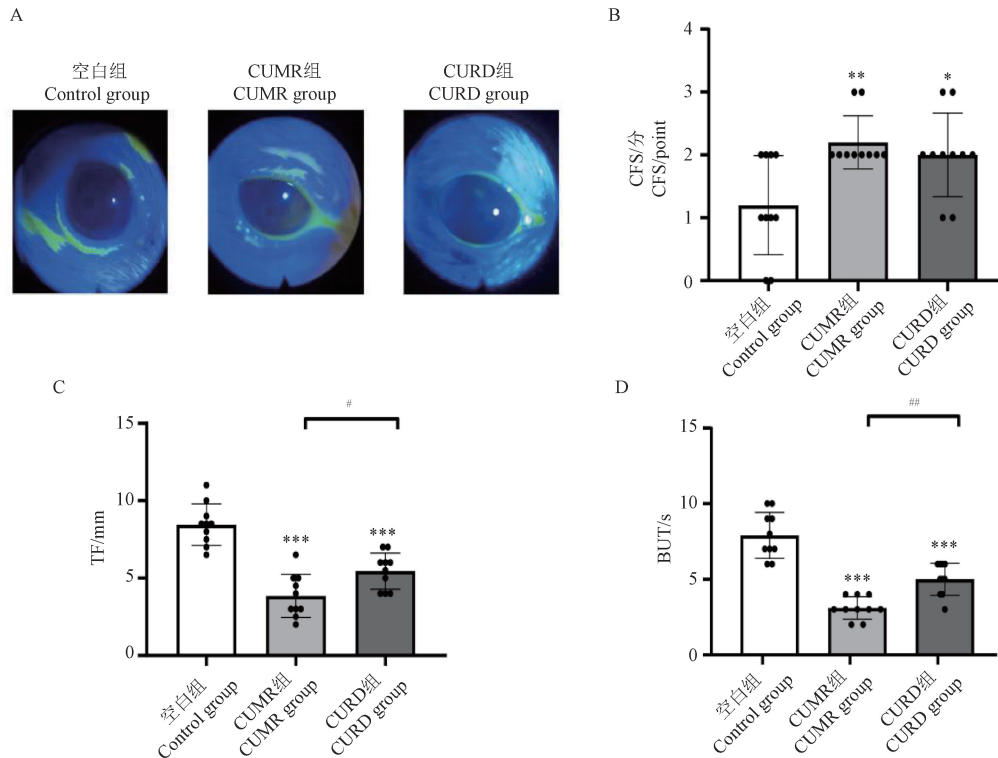
Note. A. Representative tracks. B. Total distance of movement. C. Central areal duration. D. Central zone entry count. E. Sucrose preference degree. F. 2 h sucrose consumption. G. Body mass. Compared with control group, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ . Compared with CURD group, ###  $P < 0.001$ . (The same in the following figures)

Figure 1 Depressive behavioral indicators and body mass indicator

### 2.3 大鼠干眼指标

造模前,3 组大鼠 CFS 评分、TF、BUT 均无统计学意义( $P > 0.05$ )。造模后,据 TF  $< 7$  mm 选出 CUMR 组郁证相关干眼 10 只、CURD 组郁证相

关于干眼 10 只。与空白组比,CUMR 组与 CURD 组 CFS 评分显著增高(图 2A,图 2B),TF 显著降低(图 2C),BUT 显著缩短(图 2D);而 CUMR 组与 CURD 组相比,TF 和 BUT 减少,具有显著性差异。



注:A:角膜荧光素染色;B:CFS 评分;C:TF;D:BUT;与 CURD 组相比,  $^{\#}P < 0.05$ ,  $^{\#\#}P < 0.01$ 。

图 2 干眼指标结果

Note. A. Fluorescein staining of the cornea. B. CFS scoring. C. TF. D. BUT. Compared with CURD group,  $^{\#}P < 0.05$ ,  $^{\#\#}P < 0.01$ .

Figure 2 Dry eye index results

### 2.4 病理切片结果

HE 染色显示,3 组角膜、结膜、泪腺组织均未见明显炎症细胞浸润(图 3)。结膜 HE 染色显示,CUMR 组和 CURD 组结膜杯状细胞数量较空白组呈减少趋势(图 3B)。定量统计结果显示,3 组间具有统计学意义,且 CUMR 组显著低于 CURD 组(图 4A)。泪腺 HE 染色显示,CUMR 组和 CURD 组泪腺空泡样改变较空白组呈增加趋

势(图 3C)。进一步对空泡化面积进行定量分析发现,3 组间具有统计学意义,且 CUMR 组显著高于 CURD 组(图 4B)。

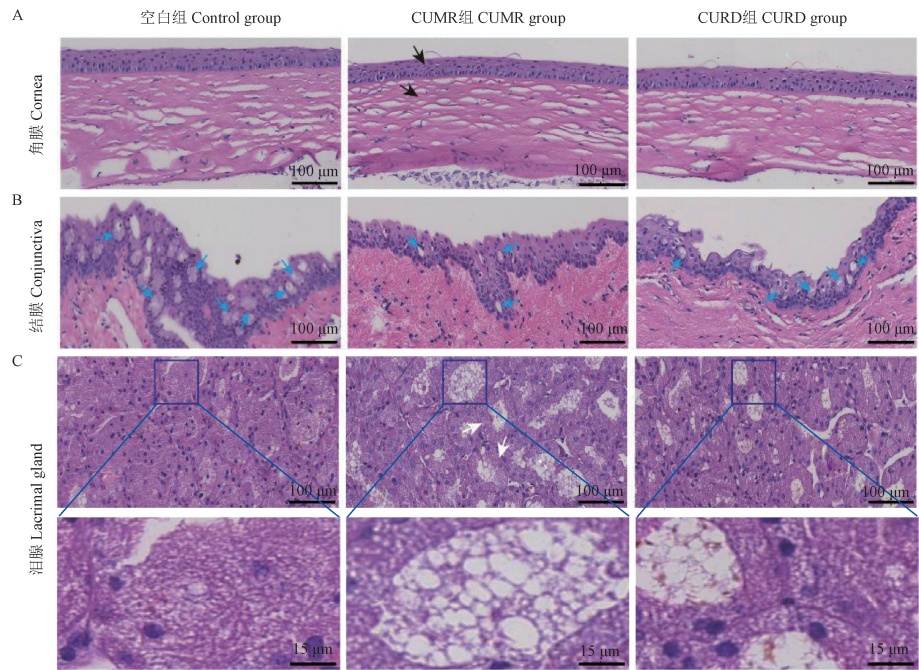
### 2.5 大鼠血清、角膜组织 ELISA 检测指标结果

与 CURD 组相比,CUMR 组血清中 5-HT 水平显著降低,而 cortisol 水平则显著升高(表 1)。此外,两组间角膜组织 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  含量无统计学意义(表 1)。

表 1 CUMR 组与 CURD 组 ELISA 检测指标对比( $\bar{x} \pm s, n = 10, \text{ng/mL}$ )

Table 1 Comparison of ELISA-detected indicators between CUMR group and CURD group( $\bar{x} \pm s, n = 10, \text{ng/mL}$ )

| 组别<br>Groups      | 5-HT                | Cortisol           | TNF- $\alpha$      | IL-1 $\beta$       |
|-------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| CUMR 组 CUMR group | 4.2480 $\pm$ 0.3371 | 13.460 $\pm$ 2.166 | 14.680 $\pm$ 3.062 | 137.80 $\pm$ 11.92 |
| CURD 组 CURD group | 5.0210 $\pm$ 0.6911 | 8.191 $\pm$ 1.151  | 13.610 $\pm$ 1.959 | 136.10 $\pm$ 13.39 |
| T 值 T value       | 3.178               | 6.7880             | 0.9519             | 0.3227             |
| P 值 P value       | 0.0052              | $< 0.001$          | 0.3525             | 0.7502             |



注:黑色箭头:角膜上皮;蓝色箭头:结膜杯状细胞;白色箭头:泪腺腺泡。

图 3 大鼠角膜、结膜、泪腺 HE 染色结果

Note. Black arrow. Cornea epithelium. Blue arrow. Conjunctiva goblet cells. White arrow. Lacrimal gland acini.

Figure 3 HE staining results of the cornea, conjunctiva and lacrimal gland in rats

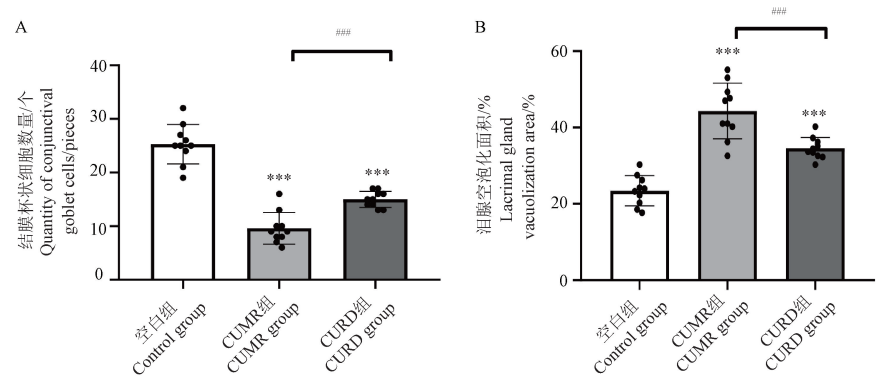


图 4 杯状细胞数量、泪腺空泡化面积定量分析

Figure 4 Quantitative analysis of goblet cell number and lacrimal gland vacuolization area

2.6 差异代谢物多元统计分析

基于 PCA 结果显示,CUMR 组与 CURD 组之间有明显的分离趋势(图 5A)。OPLS-DA 进一步证实,CUMR 组与 CURD 组的血清代谢物在得分图上呈现明显分离,表明建模后两组大鼠的血清代谢物整体表达模式发生了显著改变。OPLS-DA 模型验证结果中  $R^2Y = 0.993$ ,  $Q^2 = 0.792$ ,  $P < 0.05$ ,  $Q^2$  值显著  $> 0.5$ ,表明模型具有优异的预测能力和解释效力(图 5B)。依据 VIP 值  $\geq 1$ ,  $P < 0.05$ ,  $\log_2(FC) \geq 0.58$ (对应  $FC \geq 1.5$  或  $FC \leq$

0.75) 筛选并鉴定出 235 个显著性差异表达的血清代谢物。其中,与 CUMR 组比,CURD 组中 191 个代谢物表达上调,44 个代谢物表达下调(表 2)。

2.7 差异代谢物的 KEGG 代谢通路富集分析

对血清样本 235 个差异代谢物进行 KEGG 通路富集分析,其相关代谢通路主要有氨基酸生物合成、苯丙氨酸/酪氨酸/色氨酸生物合成、色氨酸代谢、蛋白质消化吸收、甘油磷脂代谢、癌症中的胆碱代谢、癌症中的中心碳代谢、2-氧羧酸代谢等(表 2)。

表 2 CUMR 组与 CURD 组大鼠血清主要差异代谢物含量变化及富集通路

**Table 2** Changes in serum levels of major differential metabolites and enriched pathways in rats between CUMR group and CURD group

| 差异代谢物<br>Differential<br>metabolites                                                       | 物质分类<br>Substance<br>classification         | 代谢通路<br>Metabolic<br>pathway                                                            | VIP            | P 值<br>P value | 含量变化<br>Content<br>change |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|---------------------------|
| L-色氨酸<br>L-tryptophan                                                                      |                                             |                                                                                         | 1. 749 955 038 | 0. 001 608 432 | ↑                         |
| 甲状腺素<br>Thyroxine                                                                          |                                             | 氨基酸生物合成、<br>苯丙氨酸/酪氨<br>酸/色氨酸生物合<br>成、色氨酸代谢、<br>蛋白质消化吸收                                  | 1. 814 757 716 | 0. 000 663 252 | ↑                         |
| N-乳酰缬氨酸<br>N-lactoyltyrosine                                                               |                                             |                                                                                         | 1. 967 406 276 | 0. 000 005 140 | ↓                         |
| 焦谷氨酸-缬氨酸<br>Pyroglu-val                                                                    | 氨基酸及<br>小肽类                                 | Amino acid<br>biosynthesis,                                                             | 1. 738 929 387 | 0. 002 874 241 | ↓                         |
| 辛酰甘氨酸<br>Capryloyl glycine                                                                 | Amino acids<br>and small<br>peptides        | phenylalanine、<br>tyrosine、tryptophan<br>biosynthesis,                                  | 1. 731 513 323 | 0. 002 620 779 | ↓                         |
| 2-苯基乙酰胺<br>2-phenylethanamide                                                              |                                             | tryptophan<br>metabolism, protein<br>digestion and<br>absorption                        | 1. 791 979 328 | 0. 000 908 449 | ↑                         |
| 4-乙炔基苯胺<br>4-ethynylaniline                                                                |                                             |                                                                                         | 1. 739 509 835 | 0. 001 831 309 | ↑                         |
| γ-谷氨酰丙氨酸<br>γ-glutamylphenylalanine                                                        |                                             |                                                                                         | 1. 730 881 632 | 0. 002 595 935 | ↑                         |
| 溶血磷脂酰乙醇胺 (18 : 1 (9Z)/0 : 0)<br>Lys phosphatidylethanolamine (18 : 1 (9Z)/0 : 0)           |                                             |                                                                                         | 1. 965 912 380 | 0. 000 008 160 | ↑                         |
| 溶血磷脂酰胆碱 (16 : 0/0 : 0)<br>Lys phosphatidylcholine (16 : 0/0 : 0)                           |                                             |                                                                                         | 1. 855 265 465 | 0. 000 222 529 | ↑                         |
| 溶血磷脂酰胆碱 (P-16 : 0/0 : 0)<br>Lys phosphatidylcholine (P-16 : 0/0 : 0)                       |                                             |                                                                                         | 1. 787 702 960 | 0. 000 823 516 | ↑                         |
| 溶血磷脂酰胆碱 (18 : 1/0 : 0)<br>Lys phosphatidylcholine (18 : 1/0 : 0)                           |                                             |                                                                                         | 1. 719 019 842 | 0. 002 002 780 | ↑                         |
| 溶血磷脂酰胆碱 (20 : 3 (8Z,11Z,14Z)/0 : 0)<br>Lys phosphatidylcholine (20 : 3 (8Z,11Z,14Z)/0 : 0) | 磷脂及其<br>衍生物                                 | 甘油磷脂代谢、癌<br>症中的胆碱代谢                                                                     | 1. 779 463 294 | 0. 001 055 228 | ↑                         |
| 溶血磷脂酰胆碱 (18 : 3 (6Z,9Z,12Z)/0 : 0)<br>Lys phosphatidylcholine (18 : 3 (6Z,9Z,12Z)/0 : 0)   | Phospholipids<br>and their<br>derivatives   | Glycerophospholipid<br>metabolism、choline<br>metabolism<br>in cancer                    | 1. 871 848 797 | 0. 000 181 443 | ↑                         |
| 溶血磷脂酰乙醇胺 (16 : 0/0 : 0)<br>Lys phosphatidylethanolamine (16 : 0/0 : 0)                     |                                             |                                                                                         | 1. 935 550 434 | 0. 000 008 140 | ↑                         |
| 磷脂酰胆碱 (17 : 1 (10Z)/0 : 0)<br>Phosphatidylcholine (17 : 1 (10Z)/0 : 0)                     |                                             |                                                                                         | 1. 811 836 374 | 0. 000 757 427 | ↑                         |
| 磷酰胆碱<br>Phosphocholine                                                                     |                                             |                                                                                         | 1. 826 369 564 | 0. 000 394 688 | ↑                         |
| 单油酸甘油酯<br>Glyceryl monooleate                                                              |                                             |                                                                                         | 1. 838 774 861 | 0. 000 391 268 | ↑                         |
| 柠檬酸<br>Citric acid                                                                         | 中心碳与能<br>量代谢物                               | 癌症中的中心碳<br>代谢、2-氧羧酸代<br>谢通路                                                             | 1. 796 169 925 | 0. 000 593 749 | ↑                         |
| 对苯二甲酸<br>Terephthalic acid                                                                 | Central carbon<br>and energy<br>metabolites | Central carbon<br>metabolism in<br>cancer、2-<br>oxocarboxylic acid<br>metabolic pathway | 1. 785 015 140 | 0. 001 020 946 | ↓                         |

注: ↑: 上调; ↓: 下调。  
Note. ↑. Upregulated. ↓. Downregulated.

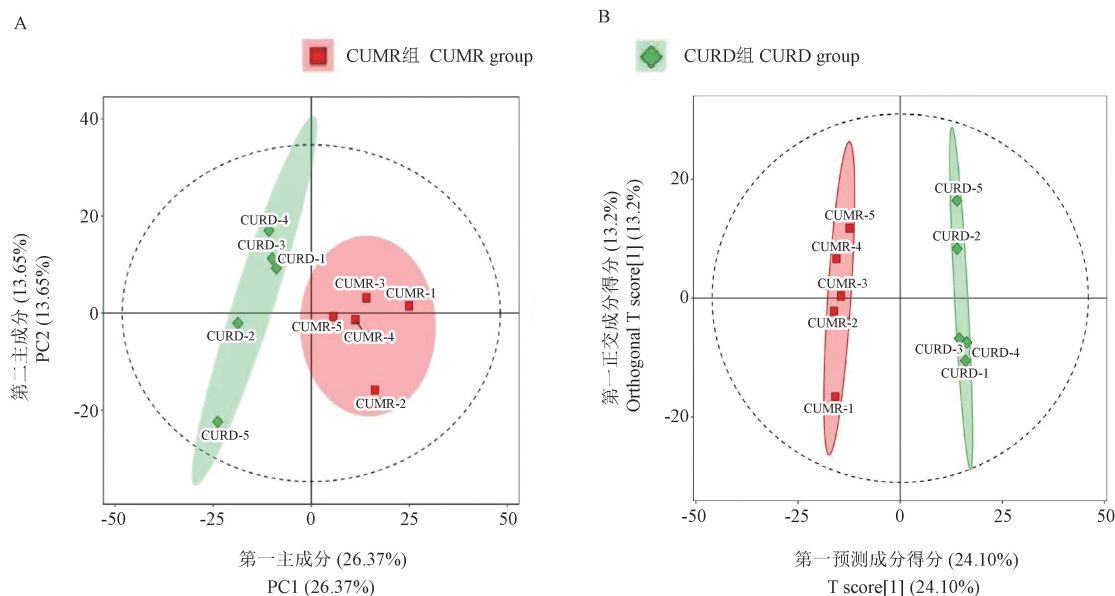


图5 差异代谢物多元统计分析

Figure 5 Multivariate statistical analysis of differential metabolites

### 3 讨论

干眼是一种多因素相关的复杂疾病,抑郁症是其发生发展过程中的重要危险因素<sup>[18]</sup>。在抑郁相关性干眼的机制研究中,建立有效且可重复的动物模型至关重要。CUMS 模型作为当前抑郁研究领域的经典造模方式,其理论构建可追溯至 KATZ 等<sup>[19]</sup>提出的慢性不可预测性应激干预方案。随后由 WILLNER 等<sup>[20]</sup>在此基础上进行系统性改良,使该模型更精确地模拟抑郁症在长期低强度应激状态下的病理演进规律。本课题组此前的研究以及 LI 等<sup>[13]</sup>的研究发现不同的应激模式可以造成不同的精神表型,因此,本研究在 CUMS 造模的基础上,通过构建 CUMR 与 CURD 两种独立应激模型,系统比较了两种慢性应激模式下大鼠一般情况、行为学、干眼表型、组织病理改变以及代谢组的异质性。

CUMR 组和 CURD 组在行为学方面表现出显著性差异,CUMR 组大鼠表现出中央区探索行为减少、糖水偏好率降低等典型抑郁样行为;而 CURD 组则表现为总运动距离增加、2 h 糖水消耗量升高、体质量下降及易激惹行为。行为学观察作为抑郁造模成功的关键评价指标,对于郁证相关干眼造模也是必要条件,这些行为学差异验证了不同应激方式对精神状态和活动的不同影响,

CUMR 组表现为懒动,而 CURD 组则表现为激惹好动。研究人员首先是在造模中发现了行为学的差异,从而进一步设想除了行为学以外,不同应激干预下的干眼表型是否会有差异或规律可循。尽管两种造模方式均能导致干眼,但 CUMR 组干眼表现出更严重的泪液分泌损伤,对泪液分泌的主要结构泪腺和结膜进行病理观察,发现 CUMR 组泪腺空泡化及结膜杯状细胞数量的减少更加明显。因此除了行为学表现不同,两种应激模式可能也会导致不同程度的干眼和靶器官结构差异<sup>[12-13,21-22]</sup>。

从中医理论观之,抑郁症属情志病范畴。《素问·灵兰秘典论》言:“肝者,将军之官,谋虑出焉”<sup>[23]</sup>。即肝为情志之枢,主疏泄,调气机;肝气郁结,则情志抑郁。《灵枢·脉度》又云:“肝气通于目,肝和则目能辨五色矣”<sup>[23]</sup>。肝开窍于目,在液为泪,故抑郁相关性干眼的中医本质为肝郁目躁。那么能否将本研究中的两种郁证相关干眼模型和具体的中医证型相对应呢?

当前动物模型中医证候评价方法包括宏观辨证、客观指标、以方测证 3 种核心方法<sup>[24]</sup>,本研究采用宏观辨证法进行观察。CUMR 大鼠中医宏观体征表现为精神萎靡、毛发脏乱、粗糙蓬松、自主活动减少、运动迟滞等表现。正如《医宗金鉴》所云:“郁则气滞,气滞则血凝,神为之消”<sup>[25]</sup>。

国内多项动物实验表明,糖水偏好率降低、旷场总距离及中央区探索行为下降等行为学表现与中医肝郁气滞证的肝失疏泻,气机不畅相吻合<sup>[26-29]</sup>。《金匱要略》有云:“见肝之病,知肝传脾”<sup>[30]</sup>。此理论在动物模型研究中得到印证,薛茜尹等<sup>[28]</sup>发现 CUMS 模型小鼠存在从肝郁气滞向肝郁脾虚的证候动态转化。这为解释本研究中 CUMR 大鼠出现的食欲减退、体质量下降、大便溏泄等继发症状提供了理论依据。从中医病机角度分析,《证治准绳》指出:“脾虚则津液不升,目无所养而干涩”<sup>[31]</sup>。《医宗金鉴》又言:“肝郁脾伤,化源不足,目睛失养则干涩”<sup>[25]</sup>。综合上述宏观体征、行为学表现、继发症状及经典理论分析,本研究推测 CUMR 干眼模型应为肝郁脾虚型干眼。CURD 模型诱导的宏观体征与 CUMR 模型存在本质差异:表现为精神亢奋、毛发枯槁、易激惹性增高、活动增多、耳廓潮红、粪便呈粟粒状等。正如《西溪书屋夜话录》所云:“肝火燔灼,游行于三焦,一身上下内外皆能为病”<sup>[32]</sup>。如目红颧赤,痉厥狂躁,淋秘疮疡,善饥烦渴,呕吐不寐,上下血溢皆是<sup>[32]</sup>”。研究发现,肝经郁热型干眼小鼠会表现出体质量下降以及旷场实验水平垂直得分升高等,这与本研究 CURD 大鼠的体质量变化及行为学表现相一致。综合分析表明 CURD 干眼模型可能归属于肝郁化火、肝经郁热型干眼<sup>[33-34]</sup>。

尽管 CUMR 与 CURD 均能成功构建干眼模型,但两组在行为学、表观体征都存在显著差别,且对应的中医证候也不同。这种差异产生的内在机制是什么?齐景馨等<sup>[35]</sup>采用代谢组学技术分析慢性萎缩性胃炎肝郁脾虚证大鼠,发现血清差异代谢物主要富集于癌症的中心碳代谢以及蛋白质的消化与吸收等代谢途径。洪银洁等<sup>[36]</sup>对肝郁脾虚型慢性萎缩性胃炎大鼠大脑皮质、下丘脑和胃多个组织进行了代谢组检测,结果揭示柴芍六君汤可能通过纠正氨基酸代谢紊乱从而发挥对模型大鼠的中枢调节作用。还有一项临床研究对肝经郁热型干眼患者的泪液进行代谢组分析发现其主要差异代谢产物包括有机酸及其衍生物,脂类及类脂类分子并表现为缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸合成途径的抑制<sup>[37]</sup>。本研究结果显示 CUMR 组与 CURD 组差异代谢物主要

为氨基酸及其小肽类、磷脂及其衍生物、中心碳与能量代谢物。其中 CURD 组与 CUMR 组相比,表现为色氨酸、磷脂及其衍生物、柠檬酸显著上调,缬氨酸相关代谢产物明显下降。这些差异代谢物涉及的通路主要有氨基酸生物合成、苯丙氨酸/酪氨酸/色氨酸生物合成、色氨酸代谢、蛋白质消化吸收、甘油磷脂代谢、癌症中的胆碱代谢、癌症中的中心碳代谢、2-氧羧酸代谢等。代谢组学的改变可能是两种应激模型差异的本质原因。

色氨酸是人体的一种必需氨基酸,也是神经递质 5-HT 的唯一前体<sup>[38]</sup>。5-HT 是抑郁发病的主要机制之一,也是抗抑郁药 5-HT 再摄取抑制剂(selective serotonin reuptake inhibitor, SSRIs)作用的靶点<sup>[39-40]</sup>。本研究 CUMR 组与 CURD 组相比,大鼠血清中 5-HT 水平显著降低,与代谢组学结果一致,即 CUMR 组 L-色氨酸(人体中色氨酸最主要的存在形式)显著下调,而同时 cortisol 水平则显著升高。长期慢性应激会导致 cortisol 水平升高,升高的 cortisol 通过结合糖皮质激素受体,可以直接激活吲哚胺 2,3-双加氧酶和色氨酸 2,3-双加氧酶的转录,促进色氨酸向犬尿氨酸代谢途径偏移,从而造成色氨酸耗竭<sup>[28,41]</sup>。说明不同应激状态可能影响体内激素和神经递质代谢,造成不同行为学和证候表现,同时影响干眼表型。

国外学者研究发现双相情感障碍与线粒体功能障碍相关<sup>[42]</sup>。而线粒体功能障碍,能量缺陷会导致干眼发生<sup>[43-44]</sup>。柠檬酸是三羧酸循环的起始底物,其浓度动态反映线粒体功能状态,其代谢通量直接决定 ATP 的生成效率<sup>[45-46]</sup>。本研究结果揭示 CURD 组存在柠檬酸堆积的情况。而柠檬酸堆积可以直接抑制线粒体三羧酸循环中的关键酶(如异柠檬酸脱氢酶)的产生,导致线粒体代谢效率下降、进而削弱电子传递链活性并降低 ATP 合成能力<sup>[47-48]</sup>。因而线粒体功能障碍可能是 CURD 组干眼产生的原因。

值得注意的是本研究结膜、角膜、泪腺的病理切片并没有发现明显的炎症细胞浸润,且角膜组织的 ELISA 检测也没有发现炎症因子的显著上调。

综上,本研究认为两种不同的应激造模会影响大鼠代谢,从而导致不同的中医证候和干眼表型。CUMR 组大鼠表现为“肝郁脾虚型”干眼,其

病理进程可能与色氨酸代谢有关;而 CURD 组大鼠表现为“肝经郁热型”干眼,其生物学基础可能涉及三羧酸循环受阻以及线粒体功能障碍。本研究对于郁证相关干眼的中医证型研究有一定启发作用,但仍存在一定局限性,比如模型和中医证候的对应主要通过体征观察,后续将加入与证型相对应的中药,进行方药验证。接下来将在本研究代谢组学的基础上,着眼具体的分子信号通路,进行更加深入的机制探讨。

#### 参 考 文 献(References)

- [ 1 ] 中华医学会眼科学分会角膜病学组,中国医师协会眼科医师分会角膜病学组. 中国干眼临床诊疗专家共识(2024)[J]. 中华眼科杂志, 2024, 60(12): 968-976.  
Cornea Group of Ophthalmology Branch of Chinese Medical Association, Cornea Group of Chinese Ophthalmologist Association. Chinese expert consensus on the diagnosis and treatment of dry eye (2024) [J]. Chin J Ophthalmol, 2024, 60(12): 968-976.
- [ 2 ] SHEPPARD J, LEE B S, PERIMAN L M. Dry eye disease: identification and therapeutic strategies for primary care clinicians and clinical specialists [J]. Ann Med, 2023, 55(1): 241-252.
- [ 3 ] GALOR A, BRITTEN-JONES A C, FENG Y, et al. TFOS lifestyle: impact of lifestyle challenges on the ocular surface [J]. Ocul Surf, 2023, 28: 262-303.
- [ 4 ] WRÓBEL-DUDZIŃSKA D, OSIAŁ N, STĘPIEŃ P W, et al. Prevalence of dry eye symptoms and associated risk factors among university students in Poland [J]. Int J Environ Res Public Health, 2023, 20(2): 1313.
- [ 5 ] ROLANDO M, ARNALDI D, MINERVINO A, et al. Dry eye in mind: exploring the relationship between sleep and ocular surface diseases [J]. Eur J Ophthalmol, 2024, 34(4): 1128-1134.
- [ 6 ] CHANG K J, WU H Y, CHIANG P H, et al. Decoding and reconstructing disease relations between dry eye and depression: a multimodal investigation comprising meta-analysis, genetic pathways and Mendelian randomization [J]. J Adv Res, 2025, 69: 197-213.
- [ 7 ] PARK B K, KIM N S, KIM Y R, et al. Antidepressant and anti-neuroinflammatory effects of bangpungtongsung-San [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 958.
- [ 8 ] HU B, DAS P, LV X, et al. Effects of ‘healthy’ fecal microbiota transplantation against the deterioration of depression in fawn-hooded rats [J]. mSystems, 2022, 7(3): e00218-e00222.
- [ 9 ] YANG L, AO Y, LI Y, et al. *Morinda officinalis* oligosaccharides mitigate depression-like behaviors in hypertension rats by regulating Mfn2-mediated mitophagy [J]. J Neuroinflammation, 2023, 20(1): 31.
- [ 10 ] ZHANG K, WANG F, ZHAI M, et al. Hyperactive neuronal autophagy depletes BDNF and impairs adult hippocampal neurogenesis in a corticosterone-induced mouse model of depression [J]. Theranostics, 2023, 13(3): 1059-1075.
- [ 11 ] ZHANG X, YIN Y, YUE L, et al. Selective serotonin reuptake inhibitors aggravate depression-associated dry eye via activating the NF- $\kappa$ B pathway [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2019, 60(1): 407-419.
- [ 12 ] 杨颖, 张嘉之, 姬慧杰, 等. 基于 5-HT/TRPV4/AQP5 探讨抑郁相关干眼的发病机制 [J]. 国际眼科杂志, 2025, 25(3): 372-377.  
YANG Y, ZHANG J Z, JI H J, et al. Mechanism of depression-related dry eye based on 5-HT/TRPV4/AQP5 [J]. Int Eye Sci, 2025, 25(3): 372-377.
- [ 13 ] LI X, CHEN B, ZHANG D, et al. A novel murine model of mania [J]. Mol Psychiatry, 2023, 28(7): 3044-3054.
- [ 14 ] WAN M M, FU Z Y, JIN T, et al. Electroacupuncture regulates the P2X<sub>7</sub>R-NLRP3 inflammatory cascade to relieve decreased sensation on ocular surface of type 2 diabetic rats with dry eye [J]. Purinergic Signal, 2025, 21(4): 651-666.
- [ 15 ] ZHAO W, JI C, ZHENG J, et al. Effects of Xiaoyao San on exercise capacity and liver mitochondrial metabolomics in rat depression model [J]. Chin Herb Med, 2024, 16(1): 132-142.
- [ 16 ] LIU H, ZHANG Y, HOU X, et al. CRHR1 antagonist alleviated depression-like behavior by downregulating p62 in a rat model of post-stroke depression [J]. Exp Neurol, 2024, 378: 114822.
- [ 17 ] XIE M, LONG H, TIAN S, et al. Saikosaponin F ameliorates depression-associated dry eye disease by inhibiting TRIM8-induced TAK1 ubiquitination [J]. Int Immunopharmacol, 2024, 130: 111749.
- [ 18 ] YANG W, YANG K, PAN Y, et al. A literature-derived dataset on risk factors for dry eye disease [J]. Sci Data, 2023, 10: 21.
- [ 19 ] KATZ R J, HERSH S. Amitriptyline and scopolamine in an animal model of depression [J]. Neurosci Biobehav Rev, 1981, 5(2): 265-271.

- [20] WILLNER P, TOWELL A, SAMPSON D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant [J]. *Psychopharmacology*, 1987, 93(3): 358–364.
- [21] ZHOU Y, MURROUGH J, YU Y, et al. Association between depression and severity of dry eye symptoms, signs, and inflammatory markers in the DREAM study [J]. *JAMA Ophthalmol*, 2022, 140(4): 392–399.
- [22] POLETTI S, MAZZA M G, BENEDETTI F. Inflammatory mediators in major depression and bipolar disorder [J]. *Transl Psychiatry*, 2024, 14: 247.
- [23] 唐王冰. 黄帝内经 [M]. 北京: 中医古籍出版社; 1994. TANG W B. The Yellow Emperor's inner canon [M]. Beijing: Publishing House of Chinese Medicine Ancient Books; 1994.
- [24] 王笑铭, 孟晨晨, 范鹿, 等. 中医证候类动物模型构建方法概述 [J]. *实验动物与比较医学*, 2025, 45(5): 596–610. WANG X M, MENG C C, FAN L, et al. An overview of strategies for constructing animal models of traditional Chinese medicine syndromes [J]. *Lab Anim Comp Med*, 2025, 45(5): 596–610.
- [25] 郑金生. 医宗金鉴 [M]. 北京: 人民卫生出版社; 2023. ZHENG J S. The golden mirror of the medical tradition [M]. Beijing: People's Medical Publishing House; 2023.
- [26] 杨铭, 张文军, 于德伟, 等. 柴芍乳增胶囊对肝郁气滞型乳腺增生大鼠神经递质和胃肠激素的影响 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2024, 26(7): 1811–1818. YANG M, ZHANG W J, YU D W, et al. Effects of Chaishao Ruzeng capsule on neurotransmitter and gastrointestinal hormone in rats with liver depression and qi stagnation mammary hyperplasia [J]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med*, 2024, 26(7): 1811–1818.
- [27] 韦理萍, 秦明芳, 何乾超, 等. 柴胡疏肝汤对氟西汀抵抗的癫痫相关性抑郁大鼠 HPA 轴及中缝-海马通路 5-HT 转运的影响 [J]. *中药新药与临床药理*, 2019, 30(7): 771–778. WEI L P, QIN M F, HE Q C, et al. The Effect of Chaihu Shugan decoction on HPA axis and raphe-hippocampus serotoninergic transmission in epileptic rats with depressive-like behavior resistant to fluoxetine [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol*, 2019, 30(7): 771–778.
- [28] 薛茜尹, 吴淑雅, 许婧余, 等. 慢性心理应激模型小鼠中医证型变化规律研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2025, 33(2): 180–189. XUE Q Y, WU S Y, XU J Y, et al. Study on patterns of traditional Chinese medicine syndrome changes in mouse models of chronic psychological stress [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2025, 33(2): 180–189.
- [29] YAJING L I, WANG B, SHAO W, et al. Quantitative proteomic analysis of the brain reveals the potential antidepressant mechanism of Jiawei Danzhi Xiaoyao San in a chronic unpredictable mild stress mouse model of depression [J]. *J Tradit Chin Med*, 2025, 45(1): 22–31.
- [30] 黄树曾, 杨燕妮, 黄炎芳. 金匱要略释义 [M]. 天津: 天津科学技术出版社; 2023. HUANG S Z, YANG Y N, HUANG Y F. "Jingui Yaolue" with explanatory notes [M]. Tianjing: Tianjin Science and Technology Press; 2023.
- [31] 王肯堂. 证治准绳(上中下) [M]. 北京: 人民卫生出版社; 2001. WANG K T. Standards of diagnosis and treatment (Volumes I, II and III) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House; 2001.
- [32] 刘渡舟, 程昭寰. 肝病证治概要 [M]. 北京: 人民卫生出版社; 2024. LIU D Z, CHENG Z H. Essentials of pattern identification and treatment for liver diseases [M]. Beijing: People's Medical Publishing House; 2024.
- [33] 刘培, 蒋鹏飞, 彭俊, 等. 干眼肝经郁热证小鼠模型的建立与评价 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(3): 302–309. LIU P, JIANG P F, PENG J, et al. Establishment and evaluation of mouse model of dry eye with liver meridian stagnation heat syndrome [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2023, 31(3): 302–309.
- [34] 刘婷婷, 陈彦坤, 刘培, 等. 润目逍遥散对干眼肝经郁热证模型小鼠角膜、泪腺组织 miR-146a-5p 与 IRAK1/TRAF6/NF- $\kappa$ B 信号通路的影响 [J]. *中医杂志*, 2024, 65(18): 1915–1924. LIU T T, CHEN Y K, LIU P, et al. Effects of Runmu Xiaoyao Powder for dry eyes mice with liver-meridian constraint-heat syndrome on miR-146a-5p and IRAK1/TRAF6/NF- $\kappa$ B signalling pathway in cornea and lacrimal gland tissue [J]. *J Tradit Chin Med*, 2024, 65(18): 1915–1924.
- [35] 齐景馨, 黄凯悦, 罗文谦, 等. 慢性萎缩性胃炎肝郁脾虚证大鼠的代谢组学研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(7): 3650–3657. QI J X, HUANG K Y, LUO W Q, et al. Metabolomics

- study on chronic atrophic gastritis rats with liver depression and spleen deficiency syndrome [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2024, 39(7): 3650–3657.
- [36] 洪银洁, 涂文玲, 朱景茹, 等. 基于代谢组学探讨柴芍六君汤对肝郁脾虚型慢性萎缩性胃炎大鼠的中枢调节作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(2): 148–155.
- HONG Y J, TU W L, ZHU J R, et al. Exploring central regulatory effect of chaishao liujuntang on chronic atrophic gastritis rats with liver depression and spleen deficiency syndrome based on metabolomics [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2024, 30(2): 148–155.
- [37] 谢明霞, 蔡增韞, 李俊瑶, 等. 基于泪液代谢组学研究气阴两虚型与肝经郁热型干眼的代谢特征 [J]. 数字中医药 2024, 7(3): 274–283.
- XIE M X, CAI Z W, LI J Y, et al. Metabolic characteristics of Qi-Yin deficiency and heat stagnation in liver meridian patterns of dry eye based on tear metabolomics [J]. Digit Chin Med, 2024, 7(3): 274–283.
- [38] ROTH W, ZADEH K, VEKARIYA R, et al. Tryptophan metabolism and gut-brain homeostasis [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(6): 2973.
- [39] ZHAO H, YIN Y, LIN T, et al. Administration of serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors tends to have less ocular surface damage in a chronic stress-induced rat model of depression than selective serotonin reuptake inhibitors [J]. Exp Eye Res, 2023, 231: 109486.
- [40] ISMAYILOV A S, CELIKEL G. Effects of tricyclic antidepressants, selective serotonin reuptake inhibitors, and selective serotonin-norepinephrine reuptake inhibitors on the ocular surface [J]. Arquivos Brasileiros De Oftalmol, 2023, 86(5): e20230068.
- [41] HÖGLUND E, ØVERLI Ø, WINBERG S. Tryptophan metabolic pathways and brain serotonergic activity: a comparative review [J]. Front Endocrinol, 2019, 10: 158.
- [42] SCAINI G, ANDREWS T, LIMA C N C, et al. Mitochondrial dysfunction as a critical event in the pathophysiology of bipolar disorder [J]. Mitochondrion, 2021, 57: 23–36.
- [43] ZHANG J, LIN L, CHEN X, et al. Conjunctival fluid secretion impairment via CaCC-CFTR dysfunction is the key mechanism in environmental dry eye [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(22): 14399.
- [44] OUYANG W, YAN D, HU J, et al. Multifaceted mitochondrial as a novel therapeutic target in dry eye: insights and interventions [J]. Cell Death Discov, 2024, 10(1): 398.
- [45] MARTÍNEZ-REYES I, CHANDEL N S. Mitochondrial TCA cycle metabolites control physiology and disease [J]. Nat Commun, 2020, 11: 102.
- [46] ARNOLD P K, JACKSON B T, PARAS K I, et al. A non-canonical tricarboxylic acid cycle underlies cellular identity [J]. Nature, 2022, 603(7901): 477–481.
- [47] ARNOLD P K, FINLEY L W S. Regulation and function of the mammalian tricarboxylic acid cycle [J]. J Biol Chem, 2023, 299(2): 102838.
- [48] SAHU U, VILLA E, RECZEK C R, et al. Pyrimidines maintain mitochondrial pyruvate oxidation to support de novo lipogenesis [J]. Science, 2024, 383(6690): 1484–1492.

[收稿日期] 2025-09-16