

白术多糖对抑郁症小鼠动物模型的作用及机制研究

伍春桃¹, 陈磊¹, 常祥兵¹, 卢杨君², 朱静坚², 田薇^{1*} (1. 浙江农林大学食品与健康学院, 杭州 311300; 2. 缙云县农业农村局, 浙江 丽水 323000)

摘要:目的 整合代谢组学技术和肠道菌群分析, 探讨白术多糖(*Atractylodes macrocephala* polysaccharide, AMP)改善慢性不可预知性刺激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)抑郁小鼠模型的作用机制。方法 建立 CUMS 抑郁小鼠模型, AMP 低、中、高剂量治疗组给药剂量分别为 0.062 5、0.125、0.250 g·kg⁻¹, 氟西汀组为 0.015 g·kg⁻¹, 对照组和模型组给予 0.9% 氯化钠溶液, 所有组给药量均为 5 mL·kg⁻¹·d⁻¹。酶联免疫法测定小鼠大脑中 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)的含量, 结合糖水偏好试验结果检验 CUMS 抑郁模型; 采用 16S rDNA 扩增子测序技术对各组小鼠粪便中肠道菌群测序分析, 液相色谱-质谱联用(LC-MS)技术对小鼠血清进行非靶向代谢组学测定。结果 与对照组比较, CUMS 模型小鼠糖水偏好率明显降低, 小鼠大脑内的 5-HT 含量显著降低($P < 0.01$), 提示 CUMS 抑郁模型建立成功。AMP 治疗后, 各组小鼠糖水偏好率和 5-HT 含量均增加($P < 0.01$); CUMS 小鼠肠道菌群丰度具有回调效果; 血清代谢物发生显著改变, 58 种代谢物显著回调; Spearman 相关性分析显示, 肠道菌群的变化与代谢物水平变化显著性相关。结论 AMP 通过调节肠道菌群稳态, 上调厚壁菌门与拟杆菌门的比值(F-B), 进而调控代谢途径, 对 CUMS 抑郁模型小鼠发挥干预效用。

关键词: 白术多糖; 慢性不可预知性刺激; 肠道菌群; 代谢组学

doi: 10.11669/cpj.2024.09.004 中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2024)09-0789-12

Effect and Mechanism of *Atractylodes macrocephala* polysaccharide on CUMS Mouse Models

WU Chuntao¹, CHEN Lei¹, CHANG Xiangbing¹, LU Yangjun², ZHU Jingjian², TIAN Wei^{1*} (1. College of Food and Health, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China; 2. Agriculture and Rural Bureau of Jinyun County, Lishui 323000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the mechanism of *Atractylodes macrocephala* polysaccharide (AMP) in improving chronic unpredictable mild stress (CUMS) depression in mice by integrating metabolomics technology and gut microbiota analysis. **METHODS** CUMS depression mouse model was established. Low, medium and high dose AMP treatment were given at 0.062 5, 0.125, 0.250 g·kg⁻¹, respectively, fluoxetine was given at the dosage of 0.015 g·kg⁻¹, control group and model group were given 0.9% saline solution, and all groups were given at 5 mL·kg⁻¹·d⁻¹ of drug. The content of 5-hydroxytryptamine(5-HT) in the brain of mice was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the CUMS depression model was tested by combining sucrose preference test (SPT) results. The 16S rDNA amplicon sequencing technology was used to analyze the gut microbiota in the feces of mice in each group. LC-MS technology was used to perform non-targeted metabolomics determination of mouse serum. **RESULTS** Compared with the control group, the sucrose preference rate of CUMS model mice was significantly lower, and the content of 5-HT in the brain of mice was significantly reduced ($P < 0.01$), indicating that the CUMS depression model was successfully established. After AMP treatment, the sucrose preference rate and 5-HT content of mice in each group increased ($P < 0.01$), the gut microbiota of CUMS mice had a regulatory effect, serum metabolites were significantly changed, and 58 metabolites were significantly adjusted. Spearman correlation analysis showed that the changes in gut microbiota were significantly associated with the changes in metabolite levels. **CONCLUSION** AMP exerts intervention effects on CUMS depression model mice by regulating the stability of gut microbiota, upregulating the F-B ratio, and thereby regulating metabolic pathways.

KEY WORDS: *Atractylodes macrocephala* polysaccharide; chronic unpredictable mild stress; intestinal flora; Metabolomics

抑郁症被认为是一种全身性疾病, 是严重危害人类身心健康和生活质量的全球性疾病^[1-2], 其发病机制非常复杂。目前, 因临床上使用的多种抗抑郁

药物存在起效缓慢、治愈率低、副作用明显等问题^[3-4], 促使人们不断地寻求安全、高效的新型抗抑郁药物^[5]。现代药理学研究表明, 抗抑郁作用是多

作者简介: 伍春桃, 女, 硕士研究生 研究方向: 中药功效成分合成生物学 * 通讯作者: 田薇, 女, 博士, 教授 研究方向: 中药学

种机制共同作用的结果,主要包括提高单胺类神经递质水平、抑制下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamo-pituitary-adrenal axis,HPA)轴亢进、增加神经营养因子(neurotrophic factor,NTF)表达、调节免疫炎症反应和调节肠道微生物-肠-脑轴等。研究发现肠道微生物组的破坏与几种神经性疾病相关,包括帕金森病、孤独症、精神分裂症和抑郁症^[6-8]。

随着对脑-肠轴的探究更深入,也有更多的研究表明脑-肠-微生物轴紊乱可能是抑郁症的病理机制^[9-10],Zhang等^[11]发现巴戟天寡糖可能通过影响肠道菌群代谢从而发挥抗抑郁作用。此外,临床研究还发现,抑郁症患者的肠道微生物群失调与脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor,BDNF)水平降低有关,例如,在益生菌介入后,抑郁症患者肠道中菌群*Faecalibacterium*丰度降低的症状得到改善^[12]。现代药理研究发现巴戟天寡糖^[11]、远志寡糖酯^[13]、茯苓多糖^[14]、石菖蒲多糖^[15]、白芍多糖^[15]、银杏叶多糖^[16]、枸杞多糖^[17]、百合多糖^[18]、黄芪多糖^[19]、刺五加多糖^[20]及金银花多糖^[21]等中药寡糖与多糖均具有显著的抗抑郁活性,可以通过提高脑内单胺类神经递质水平、抑制HPA轴亢进、增加NTF表达、调节免疫炎症反应以及肠道微生物-肠-脑轴等多途径发挥抗抑郁作用。中药寡糖与多糖因作用途径/靶点多样、来源丰富等优势,成为抗抑郁药物开发的重要源泉。

白术(*Atractylodes macrocephala* Koidz.)属于菊科植物,在中药古方中常作为健脾养心药对抑郁症发挥治疗作用。白术对抑郁症^[22]、阿尔茨海默病^[23]和脑缺血损伤性疾病^[24]发挥多方面的治疗作用,但其发挥作用的机制长期以来研究未果^[25]。本研究发现白术多糖(*Atractylodes macrocephala* polysaccharide,AMP)对慢性不可预知性刺激(CUMS)模型小鼠具有显著的干预作用,但其确切机制尚不明确。以往的研究表明,中药寡糖与多糖抗抑郁作用机制主要有以下几类:提高脑内单胺类神经递质水平^[11,15,18]、调节神经可塑性,提高BDNF水平^[13,18]、调节肠道菌群结构^[16]、调节免疫炎症反应^[14,19,21]、降低皮质酮水平^[17]、对抗海马神经元损伤^[21]、调节氧化应激水平^[19-20]等。AMP是一种在肠内难以被吸收的天然多糖物质,揭示它在抗抑郁方面是否存在新的作用机制,将为白术抗抑郁药物的开发提供理论基础和科学依据。本研究整合代谢组学和肠道菌群,探讨AMP改善CUMS小鼠失调的肠道菌群和血清代谢物的潜在作用机制,从而解析AMP通过

体内代谢产物-肠道菌群介导的改善CUMS小鼠抑郁症状的机制。研究结果对AMP作为抗抑郁药物的开发和按照循证证据来科学探究我国传统中药具有重要意义。

1 材料

1.1 实验动物

108只SPF级雄性美国癌症研究所(Institute of Cancer Research,ICR)小鼠,体质量18~20g(浙江省医学科学院实验动物中心),动物生产许可证号为SCXK(浙)2019-0002。动物饲养于温度23~25℃、相对湿度50%~70%及通风良好的动物房里,每日光照12h,自由进食饮水,适应性饲养1周后开始实验。动物饲养管理均严格按照中华人民共和国国务院批准的《实验动物管理条例》执行。

1.2 药品与试剂

白术来源于浙江省丽水市缙云县新建镇,经浙江农林大学食健学院田薇教授鉴定为菊科植物白术(*Atractylodes macrocephala* Koidz.)的干燥根茎。

无水乙醇(批号20201210)、氟西汀(批号100513-201602)、乙酸铵(批号20210225)(国药集团化学试剂有限公司);色谱级甲醇(批号20125179)、乙腈(批号AS112-001)(美国天地有限公司);过氧化氢(批号130518,武汉博士德生物工程有限公司);粪便基因组DNA快速提取试剂盒(批号RK02011,北京百泰克生物科技有限公司);AxyPrep DNA凝胶回收试剂盒(爱思进生物技术,美国);QuantusTM荧光剂(普洛麦尔,美国);DNA建库试剂盒(上海普迈生物科技)。

1.3 仪器

Sephadex G-100柱(上海源叶生物科技有限公司);Prestige-21型傅立叶变换红外光谱仪(日本岛津);Nanodrop2000型核酸检测仪(美国Bio-Rad公司);BioRad CHEF型凝胶电泳仪(美国BioTke公司);Agilent 6545型UPLC-QTOF-MS仪(美国安捷伦科技公司);Miseq PE300平台(美国Illumina公司);BEH酰胺柱(2.1mm×100mm,1.7μm,美国Waters公司);SIMCA多元数据分析软件(版本14.1,瑞典Umetrics公司)。

2 方法

2.1 AMP的制备

将白术根茎粉碎成粉末(过100目筛),然后

用超纯水在 90℃ 下提取 3 h, 提取 2 次, 过滤后旋转蒸发浓缩, 然后加入 4 倍体积的乙醇沉淀多糖。静置 4 h 后, 收集沉淀, 体积分数 95% 乙醇洗脱, 真空干燥, 干燥后用 Sevag 法和过氧化氢除去蛋白质和色素。然后将上清浓缩并冻干, 得到粗多糖。用 Sephadex G-100 柱与蒸馏水进一步分离得到 AMP。最后对溶液进行 400 ~ 200 nm 扫描, 检测蛋白是否被完全去除。用傅里叶变换红外光谱仪测定 AMP 的结构。

2.2 动物分组与给药

将 108 只小鼠随机分为 6 组 ($n = 18$): 对照 (Con)、模型组 (CUMS)、AMP 低剂量组 (AL)、AMP 中剂量组 (AM)、AMP 高剂量组 (AH)、氟西汀治疗组 (Flx), 其中 AMP 治疗组低、中、高剂量组给药剂量分别为 0.062 5、0.125、0.250 g · kg⁻¹, Flx 组为 0.015 g · kg⁻¹, Con 组和 CUMS 组给予 0.9% 氯化钠溶液, 所有组给药量均为 5 mL · kg⁻¹ · d⁻¹。除 Con 组小鼠外的所有动物进行 60 d 的 CUMS 应激。

2.3 CUMS 模型的构建

按照文献[26]方法进行 CUMS 应激刺激。对小鼠每天进行两种不同的刺激, 且连续两天不能给予同种刺激, 应激刺激持续 60 d。CUMS 方法包含不可预知性的温和刺激: 禁食 (24 h)、禁水 (24 h)、束缚 (12 h)、湿笼 (12 h)、夹尾 (5 min)、45° 倾斜 (6 h)、摇晃 (5 min)、冰水游泳 (5 min)、昼夜颠倒等。

2.4 糖水偏好试验

糖水偏好试验前 48 h, 训练大鼠适应质量分数 1% 蔗糖水, 第 1 天给小鼠放入两瓶质量分数 1% 蔗糖水, 第 2 天换为 1 瓶质量分数 1% 蔗糖溶液和 1 瓶纯饮水, 两瓶质量一致。适应结束后, 进行 24 h 的禁水、禁食, 给予小鼠事先定量好的两瓶水: 1 瓶质量分数 1% 蔗糖水, 1 瓶为纯饮水, 记录 2 h 内小鼠摄入的质量分数 1% 蔗糖水和纯水体积, 时间间隔为 7 d。糖水偏好率计算见公式 1。

$$\text{糖水偏好率}(\%) = \frac{\text{糖水消耗量}}{\text{总液体消耗量}} \times 100\% \quad \text{公式(1)}$$

2.5 样本收集

CUMS 抑郁小鼠造模后, 在无菌环境下收集药物治疗前 1 天及治疗后第 14 天的小鼠粪便样品。经液氮速冻后保存在 -80℃ 备用。通过眼球取血, 将血液收集至干净离心管中, 37℃ (或室温) 静置凝固分层 1 h, 后经 3 000 r · min⁻¹ 室温离心 10 min, 吸取上清液转至干净的离心管中, 再 12 000 r · min⁻¹

4℃ 离心 10 min, 小心吸取上清液分装至干净的 1.5 mL 离心管中, 每管 0.2 mL, 液氮速冻后于 -80℃ 保存备用。小鼠解剖后取大脑, 用预冷的磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 清洗, 用滤纸擦干后装入离心管内, 液氮冷冻后置于 -80℃ 下保存。

2.6 大脑中五羟色胺 (5-HT) 的测定

采用酶联免疫法对小鼠大脑中 5-HT 含量进行测定。供试品溶液的制备: 测定前, 取大脑组织放入玻璃匀浆器中, 按质量分数 10% 比例加入 0.01 mol · L⁻¹ PBS, 在冰上研磨匀浆, 然后置于 4℃ 离心机中, 2 500 r · min⁻¹ 条件下离心 20 min, 取上清液, -20℃ 下保存待上机。按试剂盒说明书的操作进行表达水平测定。绘制 5-HT 的标准曲线, 得回归方程 $y = -4.3662 + 132.7239x$ ($r^2 = 0.9964$)。

2.7 肠道菌群分析

使用粪便基因组 DNA 快速提取试剂盒对第 0 天和第 14 天的小鼠粪便样本中细菌提取总 DNA。将同一样本的聚合酶链式反应 (PCR) 产物混合后使用质量分数 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 利用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒进行回收产物纯化, 质量分数 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 并用 QuantusTM 荧光剂对回收产物进行检测定量。使用 DNA 文库试剂盒进行建库: ① 接头链接; ② 使用磁珠筛选去除接头自连片段; ③ 利用 PCR 扩增进行文库模板的富集; ④ 磁珠回收 PCR 产物得到最终的文库。利用 MiseqPE300 平台进行测序。

2.8 代谢组学检测

用 400 μL 预冷的甲醇沉淀血清 (100 μL), 然后在 -80℃ 下孵育 2 h。随后将样品在 4℃ 下以 14 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 将上清液冷冻干燥并使用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法 (UPLC-Q-TOF/MS) 进行代谢组学分析。使用安捷伦 1290 Infinity 系统在 ACQUITY UPLC Glycan BEH 酰胺色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm) 上对处理后的血清进行液相色谱分离。流动相 A 由体积分数 0.3% 氨水 - 15 mmol · L⁻¹ 乙酸铵组成, 流动相 B 为乙腈 (A: B = 9: 1)。流速设定为 0.3 mL · min⁻¹。流动相 A 的梯度变化如下: 首先, 梯度在 8 min 内从 10% 上升到 50%, 并保持 2 min, 然后在 0.5 min 内从 50% 恢复到 10%, 并保持 6.5 min。进样体积为 3 μL。

使用 ESI⁺ 和 ESI⁻ 模式在 6545 Q/TOF-MS 系统上进行质谱分析, 检测参数设置如下: 毛细管电压

3 500 V;喷嘴电压 120 V;雾化器 241 kPa;干燥气体流量,8 L · min⁻¹;气体温度 350 °C。使用高分辨率模式(扩展动态范围 2 GHz)在 *m/z* 50 ~ 1 200 的质量范围内执行全面扫描。使用定性工作流程和 Profinder 10.0 处理代谢组学数据,然后引入 SIMCA (版本 14.1)进行偏最小二乘判别分析(PLS-DA)。处理变量重要性指标(VIP) >1 和 *P* < 0.05 的潜在标志物用以下数据库:Metabo Analyst 5.0(<https://www.metaboanalyst.ca/>)和京都基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)(<http://www.kegg.com/>)。

2.9 统计学分析

使用 SPSS 16.0 软件对数据进行统计分析,所有数据均表示为平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)。*P* < 0.05 被认为是具有统计学意义的差异。使用 GraphPad Prism 8 进行统计分析。

3 结果

3.1 AMP 的纯化和结构

AMP 反复去除蛋白后,用分光光度计在 400 ~ 200 nm 处扫描纯化的 AMP。结果表明,在 260 和 280 nm 处没有出现吸收峰,见图 1A,说明 AMP 中蛋白质已被去除,总多糖含量达到 95.16%,蛋白质含量占 1.36%,其中总糖中醛酸含量占 15.47%。

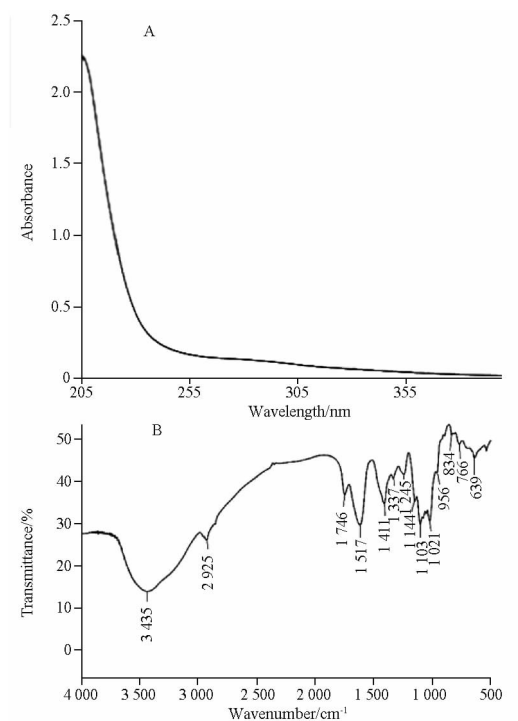
红外光谱仪在 400 ~ 4 000 cm⁻¹ 范围内对 AMP 进行扫描,见图 1B。结果表明,AMP 具有典型的多糖结构。具体表现为:O-H 在 3 435 cm⁻¹ 处的伸缩振动、C-H 在 2 925 cm⁻¹ 处的伸缩振动、C=O 在 1 746 和 1 617 cm⁻¹ 处的不对称振动、C-O-C 在 1 144 和 1 103 cm⁻¹ 处的伸缩振动。

3.2 糖水偏好实验测试结果

造模 60 d 后,CUMS 模型组小鼠糖水偏好率降低,且显著低于 Con 组小鼠,经 AMP 治疗 14 d 后,各组小鼠糖水偏好率均增加,接近于 Con 组,其中 AM 组和 AH 组显示出较 Flx 组更好的效用(*P* < 0.01),见图 2。结果表明,CUMS 造模后小鼠出现抑郁样行为症状,表现为糖水偏好率显著降低,提示 CUMS 抑郁模型建立成功,分别给予 AM、AH 和 Flx 组治疗 14 d 后,显著减轻 CUMS 小鼠模型的抑郁样行为。综上所述,AMP 对 CUMS 小鼠模型具有干预作用,其中 AM 组表现出最好效用。

3.3 各组小鼠大脑中 5-HT 含量的变化

现代医学认为抑郁症与脑内单胺类物质显著

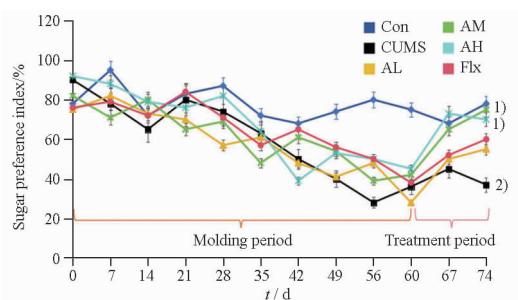


A - 以超纯水为参比溶液,在 200 ~ 400 nm 范围内扫描 AMP 的紫外光谱;B - AMP 的红外光谱。

A - the UV spectrum of purified AMP was scanned in the range of 200 to 400 nm for spectral analysis, the purified water as the reference solution; B - infrared spectrum of AMP.

图 1 白术多糖(AMP)的结构表征

Fig. 1 Structural characterization of *Atractylodes macrocephala* polysaccharide



与对照组(Con)相比,¹⁾*P* < 0.01;与模型组(CUMS)相比,²⁾*P* < 0.01。

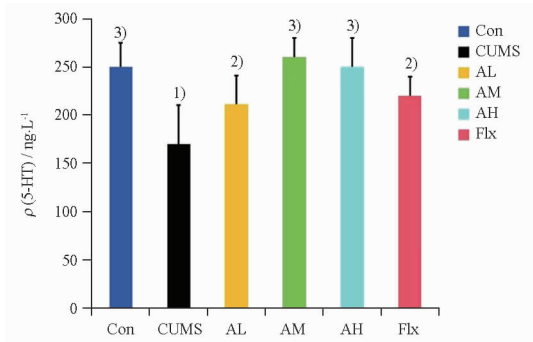
¹⁾*P* < 0.01, vs Con; ²⁾*P* < 0.01, vs CUMS.

图 2 造模后和治疗后各组小鼠的糖水偏好指数。n = 18, $\bar{x} \pm s$

Fig. 2 Sugar and water preference index of each group of mice after modeling and treatment. n = 18, $\bar{x} \pm s$

相关,采用酶联免疫法对小鼠大脑中 5-HT 含量进行测定,结果见图 3。CUMS 造模组小鼠大脑内 5-HT 含量显著降低,治疗 14 d 后,AMP 治疗组和 Flx 组均可调节小鼠 5-HT 的水平。其中 AL 组的 5-HT 水平与 Flx 组相近,AM 组和 AH 组的 5-HT 含量显著高于 CUMS 组,且与 Con 组没有明显差异,表示这两

组对 5-HT 的回调程度更显著。由此可知,AMP 可以调节抑郁小鼠大脑中 5-HT 含量,改善抑郁小鼠单胺类物质的异常变化。



与 Con 组相比, ¹⁾ $P < 0.05$; 与 CUMS 组相比, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.05$ 。

¹⁾ $P < 0.05$, vs Con; ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.05$, vs CUMS.

图 3 ELISA 测定 Con 组、CUMS 模型组和各治疗组小鼠大脑中五羟色胺(5-HT)的含量. $n = 5, \bar{x} \pm s$

Fig. 3 Levels of 5-HT in the brain of mice in control group, CUMS model group and each treatment group was determined by ELISA. $n = 5, \bar{x} \pm s$

3.4 16S rDNA 测序结果与分析

通过对各组小鼠的粪便 DNA 进行微生物测序,探究 AMP 通过调节肠道菌群对抑郁模型小鼠的干预作用。各组小鼠粪便菌群中的优势菌门丰度进行对比,厚壁菌门和拟杆菌门为微生物群组成的主要菌门,诱发慢性不可预知温和应激抑郁后,抑郁小鼠的厚壁菌门和放线菌门丰度明显降低,拟杆菌门的丰度明显升高,厚壁菌门(Firmicutes)与拟杆菌门(Bacteroidetes)的比值,即 F-B 比值(Con: CUMS = 3.82: 1.96)显著降低,与 CUMS 组相比,AL 组和 AM 组的菌群丰度没有显著变化,AH 组中小鼠拟杆菌门的丰度显著降低,放线菌门的丰度升高,达到一定程度的回调。见图 4。

各组小鼠菌群在属水平上的丰度进行对比,与 Con 组相比,双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、罗姆布茨菌属(*Romboutsia*)丰度显著降低,而 *Lachnospiraceae_NK4A136_group*、拟杆菌属(*Bacteroides*)、*Unclassified_f_Oscillospiraceae*、拟普雷沃菌属(*Alloprevotella*)、*Eubacterium_xylanophilum_group* 相对丰度有上升趋势。相比 CUMS 组, *Bifidobacterium*、*Romboutsia* 在 AH 治疗组中丰度升高,恢复至 Con 相同水平,而 AM 组和 Flx 组相对恢复了 *Romboutsia* 的菌属丰度,AL 组丰度没有显著改变。在 CUMS 组丰度上升的菌属中,AL 组相对降低了

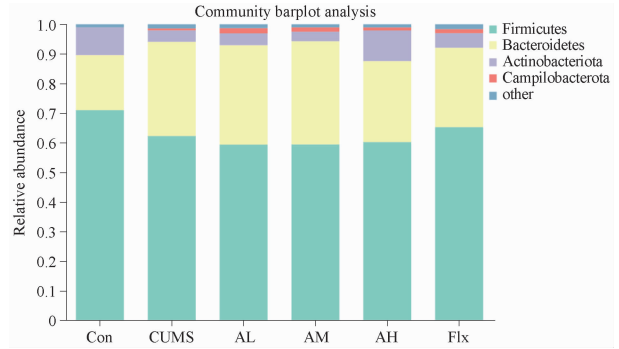


图 4 16S rDNA 测定 Con 组、CUMS 模型组和各治疗组小鼠优势菌门的相对丰度. $n = 5$

Fig. 4 Relative abundance of dominant microphyta in control group, CUMS model group and treatment groups was determined by 16S rDNA. $n = 5$

Bacteroides、*Alloprevotella* 的丰度,Flx 组相对降低了 *Alloprevotella*、*Eubacterium_xylanophilum_group* 的丰度,而 AH 组对 *Lachnospiraceae_NK4A136_group*、*Bacteroides*、*Unclassified_f_Oscillospiraceae*、*Alloprevotella*、*Eubacterium_xylanophilum_group* 均有所降低,使菌属分布恢复趋近于 Con 组相似水平,见图 5。这些结果表明 AMP 可以通过调节小鼠的肠道菌改善抑郁。Con、CUMS 和 AH 组中 *Rikenellaceae_RC9_gut_group*、*Romboutsia*、*Alistipes*、*Prevotellaceae_UCG-001* 菌属的相对丰度变化,见图 6。相比 Con 组,其中 *Rikenellaceae_RC9_gut_group*、*Alistipes*、*Prevotellaceae_UCG-001* 在 CUMS 抑郁造模后显著升高,在 AH 组回调,相反变化的 *Romboutsia* 在 CUMS 抑郁模型中的丰度显著降低,AH 给药后与 Con 组无差异。

3.5 小鼠血清样品的代谢组学分析

为了鉴定与抑郁相关的潜在生物标志物,使用 UPLC-Q-TOF/MS 对小鼠血清进行了非靶向代谢组学分析。正负两种模式下血清代谢物相对定量的 PCA 分析见图 7。结果显示,CUMS 抑郁模型组小鼠和 Con 组小鼠的代谢组存在明显差异,AL、AM、AH 组都趋近于正常 Con 组小鼠。为筛选出与 CUMS 抑郁模型相关的潜在生物标志物,采用 OPLS-DA 对 Con 组和 CUMS 组的代谢物进一步分析,由正负离子两种模式下 OPLS-DA 得分图(图 8A、B)可以看出两组的代谢特征存在明显差异,S-plot 载荷图(图 8C、D)显示抑郁引起代谢物变化,CUMS 组有 71 种代谢物被明显上调、46 种被抑制。当使用 AMP 干预后,有 68 种代谢物被观察到发生显著变化,其中 58 种差异代谢物在 AMP 干预后显著回调,见表 1。

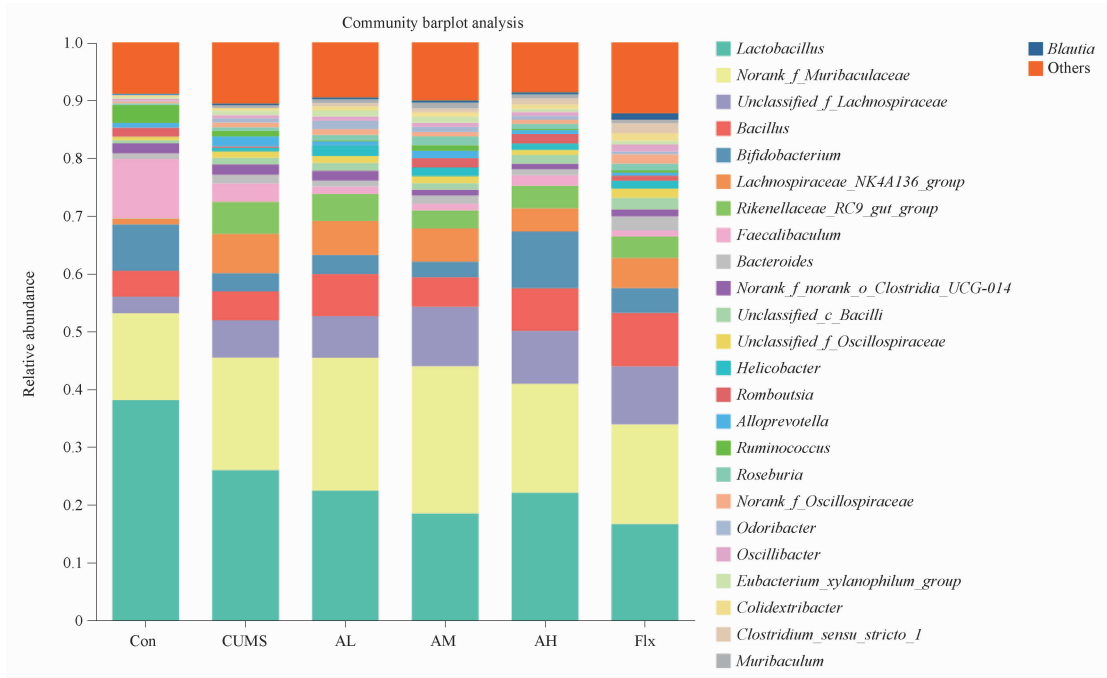
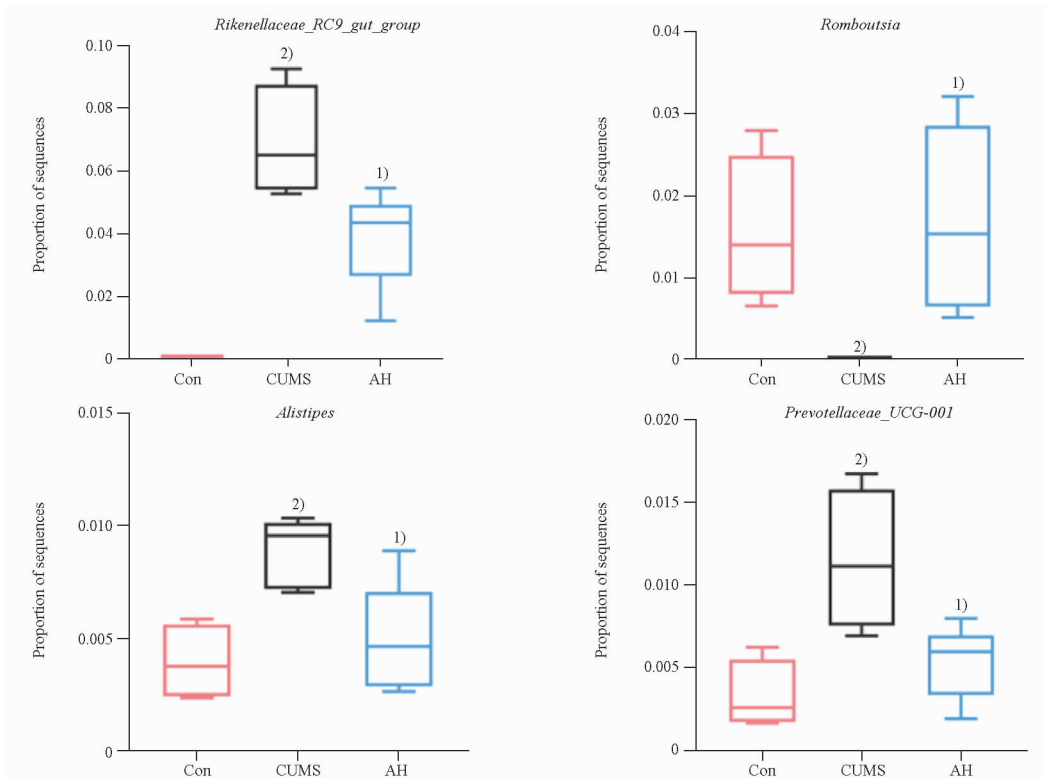


图5 16S rDNA 测定 Con 组、CUMS 模型组和各治疗组小鼠优势属的相对丰度。n = 5

Fig. 5 Relative abundance of dominant genus in control group, CUMS model group and each treatment group was determined by 16S rDNA. n = 5

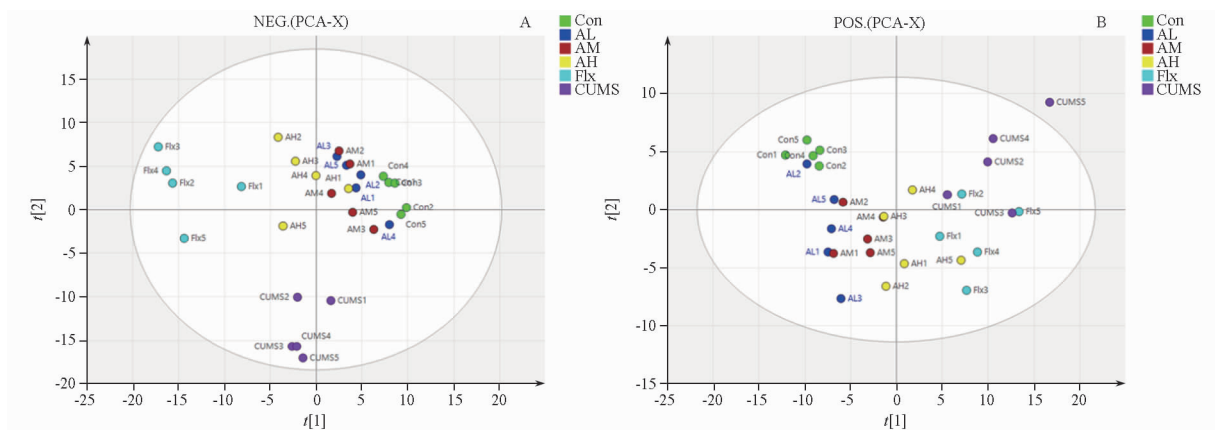


与 Con 组相比, ¹⁾P < 0.05; 与 CUMS 组相比, ²⁾P < 0.05。

¹⁾P < 0.05, vs Con; ²⁾P < 0.05, vs CUMS.

图6 Con 组、CUMS 模型组和 AH 组中 *Rikenellaceae_RC9_gut_group*、*Romboutsia*、*Alistipes*、*Prevotellaceae_UCG-001* 属的相对丰度变化。n = 5, $\bar{x} \pm s$

Fig. 6 Changes in the relative abundance of the genera *Rikenellaceae_RC9_gut_group*, *Romboutsia*, *Alistipes*, *Prevotellaceae_UCG-001* in the Con, CUMS and AH groups. n = 5, $\bar{x} \pm s$

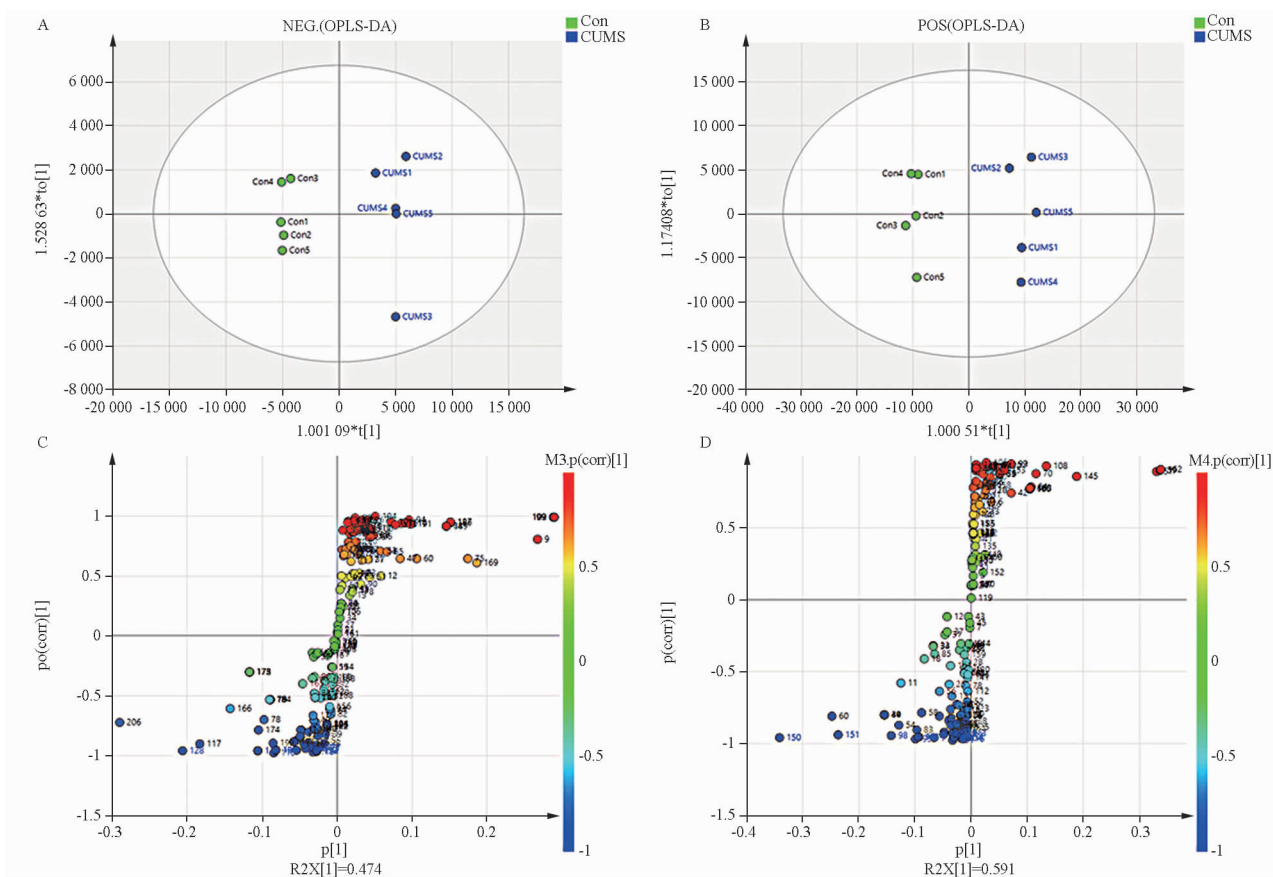


A - 负离子模式; B - 正离子模式。

A - negative ion mode; B - positive ion mode.

图7 Con组、CUMS模型组和各治疗组小鼠血清代谢物相对定量结果的主成分分析(PCA)

Fig. 7 PCA analysis of the relative quantification of metabolites in serum samples from various groups of mice



A、B - 正负离子模式的正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)散点图; C、D - 根据 OPLS-DA 得到的 S-plot 图。

A、B - OPLS-DA score plots; C、D - S-plot plots.

图8 Con组和CUMS模型组差异代谢物的多元统计分析

Fig. 8 Multivariate statistical analysis of differential metabolites in the Con and CUMS groups

为评估 58 种差异代谢物的意义,使用 Metabo Analyst 5.0进行了通路拓扑分析。差异代谢物共富集了 36 种代谢途径,主要包括氨酰-tRNA (aminoacyl-tRNA biosynthesis)、丙氨酸、天门冬氨酸和谷氨酸代谢 (alanine, aspartate and

glutamate metabolism)、精氨酸生物合成 (arginine biosynthesis)、丁酸代谢 (butanoate metabolism)、组氨酸代谢 (histidine metabolism)、精氨酸和脯氨酸代谢 (arginine and proline metabolism) 等,见图 9。

表 1 正负离子模式下 AH 组、Con 组和 CUMS 模型组间共同差异代谢物的变化. $n = 5$

Tab. 1 Changes in co-differential metabolites between AH, Con and CUMS groups in positive and negative ion patterns. $n = 5$

No.	Metabolite	Fold Change	<i>P</i> value	VIP	AH vs CUMS	CUMS vs Con
M1	(+/-)-Potassium citramalate monohydrate	4.186	0.000 0	1.357 4	↑	↓
M2	Acetyl CoA	0.056	0.000 0	1.348 4	↓	↑
M3	L-Threonine	0.068	0.000 0	1.720 0	↓	↑
M4	L-Proline	0.071	0.000 0	1.718 0	↓	↑
M5	L-Homoserine	0.074	0.000 0	1.717 6	↓	↑
M6	DL-Methionine sulfoxide	0.046	0.000 0	1.334 3	↓	↑
M7	L-Hydroxyproline	0.035	0.000 1	1.327 2	↓	↑
M8	Glycine	0.194	0.000 1	1.320 6	↓	↑
M9	Hypotaurine	0.045	0.000 1	1.315 5	↓	↑
M10	L-Histidine	2.511	0.000 1	1.308 1	↑	↓
M11	D-2-Hydroxyglutaric acid	8.174	0.000 1	1.309 5	↑	↓
M12	DL-2-Aminoadipic acid	3.832	0.000 1	1.309 6	↑	↓
M13	L-2-Aminoadipic acid	4.262	0.000 2	1.298 4	↑	↓
M14	3-Methyl-L-histidine	0.154	0.000 2	1.656 9	↓	↑
M15	<i>O</i> -Acetyl-L-serine hydrochloride	2.402	0.000 2	1.304 9	↑	↓
M16	Succinic acid	3.182	0.000 3	1.237 2	↑	↓
M17	<i>N</i> -Methyl-D-aspartic acid	2.453	0.000 3	1.296 5	↑	↓
M18	1-Methyl-L-histidine	0.164	0.000 3	1.644 7	↓	↑
M19	Methylmalonic acid	3.188	0.000 3	1.283 9	↑	↓
M20	Dodecanoic acid	0.354	0.000 3	1.307 1	↓	↑
M21	D-Alanine	0.329	0.000 5	1.257 5	↓	↑
M22	Sarcosine	0.370	0.000 6	1.234 0	↓	↑
M23	Alanine	0.374	0.000 7	1.230 9	↓	↑
M24	Ophthalmic acid	0.379	0.000 8	1.598 2	↓	↑
M25	Malic acid	2.809	0.000 9	1.238 6	↑	↓
M26	Citraconic acid	0.393	0.001 7	1.207 4	↓	↑
M27	D-Glucuronic acid sodium salt monohydrate	2.985	0.001 7	1.171 8	↑	↓
M28	(3-Carboxypropyl) trimethylammonium chloride	3.700	0.002 3	1.526 6	↑	↓
M29	Fumaric acid	2.209	0.003 5	1.178 3	↑	↓
M30	<i>cis</i> -4-Hydroxy-D-proline	0.280	0.003 6	1.166 7	↓	↑
M31	<i>d</i> -Desthiobiotin	0.492	0.003 9	1.150 3	↓	↑
M32	Methylguanidine hydrochloride	3.859	0.004 9	1.464 9	↑	↓
M33	<i>sn</i> -Glycerol 3-phosphate bis(cyclohexylammonium) salt	2.519	0.004 9	1.161 3	↑	↓
M34	<i>O</i> -Acetyl-L-carnitine hydrochloride	0.374	0.005 2	1.149 7	↓	↑
M35	Stachyose hydrate from <i>Stachys tubrifera</i>	0.496	0.005 4	1.467 7	↓	↑
M36	L-Citrulline	2.088	0.005 4	1.456 8	↑	↓
M37	Citrulline	2.125	0.005 8	1.449 9	↑	↓
M38	D-Lactose monohydrate	2.529	0.006 3	1.424 8	↑	↓
M39	Shikimic acid	2.588	0.006 5	1.431 1	↑	↓
M40	D-(+)-Trehalose dihydrate	2.395	0.006 8	1.416 4	↑	↓
M41	Uridine 5'-diphospho- <i>N</i> -acetylgalactosamine disodium salt	0.156	0.006 9	1.438 6	↓	↑
M42	D-(+)-Maltose monohydrate	2.423	0.006 9	1.414 5	↑	↓
M43	Sucrose	2.489	0.007 6	1.404 7	↑	↓
M44	Palatinose hydrate	2.414	0.007 9	1.400 8	↑	↓
M45	D-(+)-Cellobiose	2.452	0.008 1	1.397 7	↑	↓
M46	D-(+)-Raffinose pentahydrate	0.447	0.010 5	1.014 3	↓	↑
M47	D-Glucosamine 6-sulfate	2.765	0.011 4	1.350 4	↑	↓
M48	L-Glutamic acid	2.308	0.014 2	1.340 2	↑	↓
M49	2,3-Pyridinedicarboxylic acid	2.715	0.014 7	1.322 1	↑	↓
M50	<i>N</i> -Acetyl-DL-serine	2.278	0.015 4	1.329 4	↑	↓
M51	L-Anserine nitrate salt	2.493	0.016 0	1.332 0	↑	↓
M52	Glycerophosphate disodium salt hydrate	2.043	0.017 2	1.311 4	↑	↓
M53	L-Methionine sulfoximine	0.451	0.018 5	1.310 5	↓	↑
M54	D-Allose	0.475	0.023 4	1.277 0	↓	↑
M55	D-(+)-Galactose	0.477	0.023 6	1.275 8	↓	↑
M56	<i>N</i> -Methyl-L-alanine	0.479	0.024 2	1.272 1	↓	↑
M57	D-(+)-Mannose	0.480	0.024 3	1.271 2	↓	↑
M58	Glutaryl-L-carnitine lithium salt	2.186	0.027 6	1.245 5	↑	↓

注:箭头代表代谢物丰度;↑ - 上调;↓ - 下调;VIP - 变量重要性投影。

Note: Arrows represent metabolite abundance; ↑ - up-regulated; ↓ - down-regulated; VIP - variable importance projection.

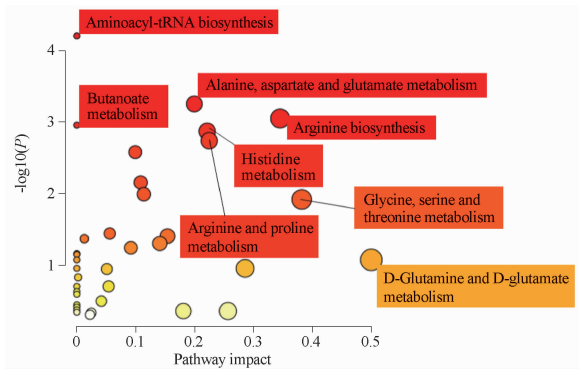


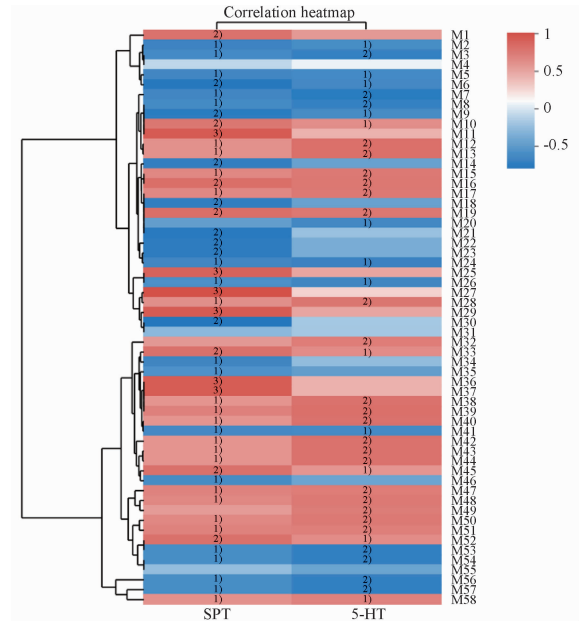
图9 AMP 治疗后影响的代谢通路

Fig. 9 Metabolic pathways affected by AMP treatment

3.6 Spearman 相关性分析

为探究血清中代谢物的变化与小鼠生理指标和肠道菌群变化的相关性,采用表 1 的 58 种差异代谢物与生理指标和高丰度菌属分别进行 Spearman 相关性分析。抑郁相关生理指标与 58 种差异代谢物都有一定的相关性,见图 10。例如,在 CUMS 抑郁模型小鼠中显著上调的代谢物 L-苏氨酸(M3)、甘氨酸(M8)、亚牛磺酸(M9)、D-丙氨酸(M21)等,与小鼠糖水偏好、5-HT 的表达呈负相关;相反地,在 CUMS 抑郁模型中显著下调的代谢物 L-组氨酸(M10)、乙酰丝氨酸盐酸盐(M15)、N-甲基-D-天冬氨酸(M17)、D-葡萄糖醛酸(M27)、瓜氨酸(M37)、L-谷氨酸(M48)、N-乙酰基-DL-丝氨酸(M50)等与小鼠糖水偏好呈显著正相关,其中 L-组氨酸(M10)、乙酰丝氨酸盐酸盐(M15)、N-甲基-D-天冬氨酸(M17)、L-谷氨酸(M48)、N-乙酰基-DL-丝氨酸(M50)与 5-HT 的变化呈正相关。

除 *Bacteroides* 和 *Blautia* 外,其他进行相关性分析的小鼠肠道菌属与差异代谢物都有一定的相关性,见图 11。例如,在 CUMS 抑郁小鼠中显著上调的代谢物 L-苏氨酸(M3)、L-高半胱氨酸(M5)、甘氨酸(M8)、亚牛磺酸(M9)与 *Rikenellaceae_RC9_gut_group*、*Prevotellaceae_UCG-001*、*Alistipes* 的丰度变化呈正相关,相反地,与 *Faecalibaculum* 和 *Romboutsia* 呈负相关;在 CUMS 抑郁小鼠中显著下调的代谢物乙酰丝氨酸盐酸盐(M15)、N-甲基-D-天冬氨酸(M17)、蔗糖(M43)、L-谷氨酸(M48)、N-乙酰基-DL-丝氨酸(M50)与 *Faecalibaculum*、*Coriobacteriaceae_UCG-002* 呈正相关,而与 *Rikenellaceae_RC9_gut_group*、*Prevotellaceae_UCG-001*、*Alistipes* 呈负相关。这些代谢物的丰度在 AMP 治疗后均得到回调,分析结果说明这些差异代谢物与抑郁生理指标和小鼠肠道菌群都显著相关。

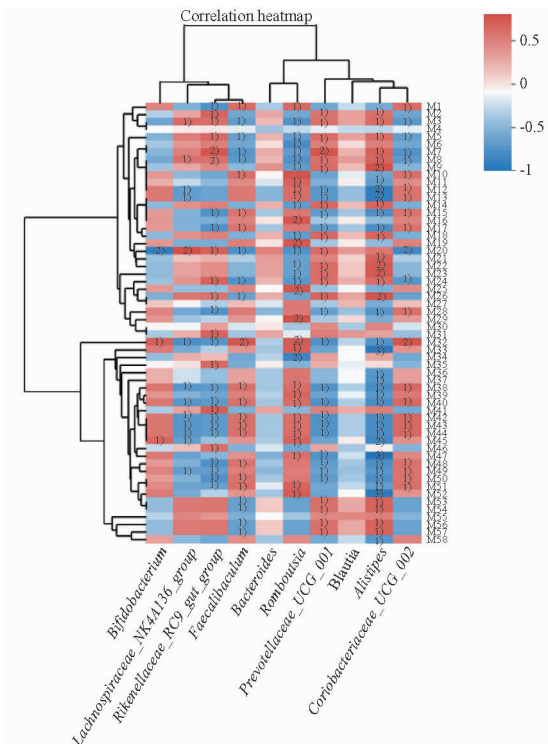


相关程度, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$ 。

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$, degree of correlation.

图10 小鼠血清差异代谢物与生理指标的 Spearman 相关性分析

Fig. 10 Spearman correlation analysis of serum differential metabolites and physiological indexes in mice



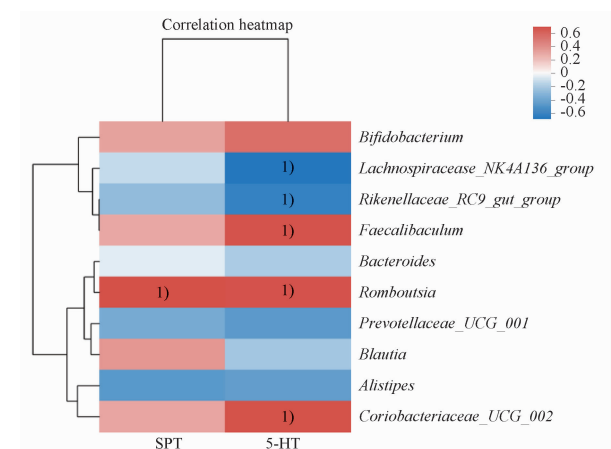
相关程度, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$ 。

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$, degree of correlation.

图11 小鼠血清差异代谢物与高丰度菌属的 Spearman 相关性分析

Fig. 11 Spearman correlation analysis of serum differential metabolites and high abundance bacteria in mice

为进一步探究肠道菌群与抑郁样症状的关系,将高丰度的 10 类菌属与小鼠的生理指标进行 Spearman 相关性分析,见图 12。*Bifidobacterium*、*Bacteroides*、*Blautia* 与生理指标显示没有相关性。只有 *Romboutsia* 的丰度变化与小鼠的糖水偏好呈显著正相关。与 5-HT 变化显著相关的菌属中 *Faecalibaculum*、*Romboutsia*、*Coriobacteriaceae_UCG-002* 的丰度变化与 5-HT 呈正相关, *Lachnospiraceae_NK4A136_group*、*Rikenellaceae_RC9_gut_group* 丰度变化与 5-HT 呈负相关。这些结果说明小鼠肠道菌属丰度的变化与生理指标的变化也具有一定的相关性。



相关程度, ¹⁾ $P < 0.05$ 。

¹⁾ $P < 0.05$, degree of correlation.

图 12 小鼠肠道微生物与生理指标的 Spearman 相关性分析
Fig. 12 Spearman correlation analysis of intestinal microbiome and physiological indexes in mice

4 讨论

4.1 AMP 改善肠道菌群

厚壁菌门是肠道微生物的主要组成部分,其中的大多数菌属成员属于有益菌,可帮助生物体的能量吸收。本研究中 CUMS 模型小鼠厚壁菌门和双歧杆菌丰度显著降低,AMP 治疗显著上调了 *Bifidobacterium*、*Romboutsia* 等有益菌丰度,这与 Zhu 等^[27]、Aizawa 等^[28] 的研究结果一致。新的研究表明 *Rikenellaceae*、拟杆菌门和谱氏菌科的相对丰度与焦虑和抑郁的严重程度呈正相关^[29-31],AMP 治疗后调节了 CUMS 抑郁小鼠肠道菌稳态,下调了 *Rikenellaceae_RC9_gut_group*、*Alistipes*、*Prevotellaceae_UCG-001* 等有害菌丰度。

4.2 AMP 调控代谢通路

研究发现,在抑郁患者中精氨酸和脯氨酸代谢、

谷胱甘肽代谢通路是主要的差异代谢途径,其中谷氨酸可以在醛脱氢酶 18 家族成员 A1 (ALDH18A1) 的调控下代谢为 1-吡咯烷-5-羧酸盐,再由吡咯啉-5-羧酸还原酶-1 (PYCR1) 代谢为脯氨酸,且抑郁模型中检测到 PYCR1 和 ALDH18A1 的水平显著上调,说明可能是由于酶活性增强使谷氨酸更多地代谢为脯氨酸,从而造成抑郁组中谷氨酸水平降低而脯氨酸水平升高。本研究还发现 CUMS 抑郁模型小鼠脯氨酸显著上调,谷氨酸显著下调,与以往研究结果一致^[32]。精氨酸先代谢为瓜氨酸,再由瓜氨酸代谢为琥珀酸^[33]。本研究检测到 CUMS 抑郁小鼠中瓜氨酸和琥珀酸的显著下调,与以往的研究在抑郁患者和 CUMS 大鼠中发现精氨酸显著上调不同,抑郁模型小鼠的精氨酸代谢通路发生了异常。本研究检测到 CUMS 造模后 D-葡萄糖醛酸显著下调,D-葡萄糖醛酸的代谢来源为 D-葡萄糖,与先前报道的抑郁症患者体内 D-葡萄糖异常升高一致^[34]。在 AMP 的干预下 D-葡萄糖醛酸在小鼠血清中其水平显著上调,说明 AMP 可能参与调控 CUMS 抑郁小鼠的糖代谢。总之,AMP 可能通过调节代谢物水平来调节相关代谢通路,从而改善小鼠抑郁症状。

4.3 AMP 通过改善肠道菌群调控代谢物水平

本研究显示 CUMS 模型组小鼠中 L-苏氨酸、甘氨酸、亚牛磺酸、D-丙氨酸等水平显著上调与抑郁症状(糖水偏好)的严重性呈负相关,与 Geng 等^[35] 报道的结果一致。AMP 干预下调了这些氨基酸代谢物水平,糖水偏好率上调。肠道菌与代谢组的相关性分析显示氨基酸水平与肠道菌 *Rikenellaceae_RC9_gut_group*、另枝菌属 (*Alistipes*)、*Prevotellaceae_UCG-001* 的丰度呈正相关,与肠道菌 *Romboutsia* 的丰度呈负相关,与 Wang 等^[36]、Bojović K 等^[37] 报道的结果一致。AMP 干预后增加了 *Romboutsia* 丰度,从而回调上述代谢物水平。另外,本研究还发现, *Alistipes*、*Prevotellaceae_UCG-001*、*Rikenellaceae_RC9_gut_group* 与代谢物乙酰辅酶 A 呈正相关,而与延胡索酸呈负相关。研究表明大部分氨基酸是通过乙酰辅酶 A 和延胡索酸进入三羧酸循环中,CUMS 模型动物体内处于能量代谢高水平状态时,会导致三羧酸循环出现障碍,中间代谢产物显著降低^[38]。AMP 的干预可能通过上调延胡索酸水平,下调乙酰辅酶 A 代谢水平,从而干预三羧酸循环障碍。AMP 可能通过影响肠道菌群进而回调血清中氨基酸和 5-HT 以及与能量代谢的相关代谢物水平,对小鼠的抑郁症状发挥干预作用。

4.4 AMP可能参与调控能量代谢

大脑是一个能量需求极高的器官,大脑能量代谢的微小扰动均可能会造成其功能活动的改变进而导致情绪或精神障碍。三羧酸循环是能量代谢的核心代谢通路,葡萄糖等能量底物主要在线粒体内通过三羧酸循环和氧化磷酸化产生ATP,参与应激反应过程^[39]。本研究发现CUMS模型组小鼠延胡索酸、L-谷氨酸水平显著降低。L-谷氨酸作为细胞内多个代谢途径的枢纽参与能量代谢,Rong等^[40]发现重度抑郁患者血浆的谷氨酸显著降低,认为谷氨酸可能是抑郁症的临床特征标志物。来自人类代谢组、蛋白组学的研究已经发现大脑皮层如前额叶以及外周血样本中三羧酸循环过程相关代谢产物如延胡索酸、枸橼酸、异枸橼酸等的水平降低,提示能量代谢损伤可能是抑郁症临床症状产生的神经生物学基础^[41]。L-谷氨酸水平显著降低,可能会导致三羧酸循环障碍,ATP生成不足,能量供应匮乏。AMP治疗后上述代谢物的水平显著上调,推测AMP可能改善抑郁小鼠能量代谢紊乱的状态,干预CUMS模型小鼠的抑郁状态。

5 结论

白术在中药古方中常作为主要配方药用于治疗抑郁症^[22,42]。AMP是白术中的有效成分,目前的研究发现它具有降血糖^[43]、降血脂^[44]、抗炎^[45]、抗肿瘤^[46]及治疗胃肠道疾病的作用^[47],对神经系统^[23]和免疫系统^[48]均有广泛的影响,但未见治疗抑郁症的作用机制报道。

本研究表明,抑郁与细胞糖代谢异常和ATP生成减少密切相关,结合能量状态与肠道菌和代谢组的研究结果,认为AMP可能会成为一个“脑-肠对话”调节能量变化的化学物质。而AMP通过调节肠道菌群的稳态,改善能量代谢障碍,可能成为一种抗抑郁作用的新机制。

REFERENCES

[1] LIM G Y, TAM W W, LU Y X, *et al.* Prevalence of depression in the community from 30 countries between 1994 and 2014 [J]. *Sci Rep-uk*, 2018, 8(1):1-10.

[2] CHIRITA A L, GHEORMAN V, BONDARI D, *et al.* Current understanding of the neurobiology of major depressive disorder [J]. *Rom J Morphol Embryo*, 2015, 56(2):651-658.

[3] HANSEN R, GAYNES B, THIEDA P, *et al.* Meta-analysis of major depressive disorder relapse and recurrence with second-generation antidepressants [J]. *Psychiat Serv*, 2008, 59(10):1121-1130.

[4] ZHOU X, TENG T, ZHANG Y, *et al.* Comparative efficacy and

acceptability of antidepressants, psychotherapies, and their combination for acute treatment of children and adolescents with depressive disorder; a systematic review and network meta-analysis [J]. *Lancet Psychiat*, 2020, 7(7):581-601.

[5] QIN Y, SONG W Y, LIANG Z H, *et al.* Progress in research on signal pathway related to antidepressant action of ketamine [J]. *Chin Pharm J (中国药学杂志)*, 2021, 56(22):1791-1795.

[6] BACKHED F, DING H, WANG T, *et al.* The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage [J]. *PNAS*, 2004, 101(44):15718-15723.

[7] FAN Y, PEDERSEN O. Gut microbiota in human metabolic health and disease [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2021, 19(1):55-71.

[8] XU R, WU B, LIANG J, *et al.* Altered gut microbiota and mucosal immunity in patients with schizophrenia [J]. *Brain Behav Immun*, 2020, 85:120-127.

[9] KLÜNEMANN M, ANDREJEV S, BLASCHEE S, *et al.* Bioaccumulation of therapeutic drugs by human gut bacteria [J]. *Nature*, 2021, 597(7877):533-538.

[10] WOUW M, BOEHME M, LYTE J M, *et al.* Short-chain fatty acids: Microbial metabolites that alleviate stress-induced brain-gut axis alterations [J]. *J Physiol*, 2018, 596(20):4923-4944.

[11] ZHANG Z W, GAO C S, ZHANG H, *et al.* *Morinda officinalis* oligosaccharides increase serotonin in the brain and ameliorate depression via promoting 5-hydroxytryptophan production in the gut microbiota [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(8):3298-3312.

[12] JIANG H, LING Z, ZHANG Y, *et al.* Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder [J]. *Brain Behav Immun*, 2015, 48:186-194.

[13] HU Y, LIAO H B, GUO D H, *et al.* Antidepressant-like effects of 3, 6'-disinapoyl sucrose on hippocampal neuronal plasticity and neurotrophic signal pathway in chronically mild stressed rats [J]. *Neurochem Int*, 2010, 56(3):461-465.

[14] CHEN K Z, CHEN S, REN J, *et al.* Study on the antidepressant effect of acidic polysaccharide of *Poria Cocos* and its regulation of neurotransmitter and NLRP3 pathway [J]. *China J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2019, 46(19):5088-5095.

[15] ZHANG W X, CHEN L, DUAN J Y. Study on antidepressant activity and mechanism of polysaccharides from three traditional Chinese medicines [J]. *J Shanxi Agric Univ Nat Sci Ed(山西农业大学学报 自然科学版)*, 2017, 37(12):905-912.

[16] CHEN P, HEI M, KONG L, *et al.* One water-soluble polysaccharide from *Ginkgo biloba* leaves with antidepressant activities via modulation of the gut microbiome [J]. *Food Funct*, 2019, 10(12):8161-8171.

[17] CHU S. Study on the protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on depression in rats with post-traumatic stress disorder [J]. *Mod Prev Med(现代预防医学)*, 2019, 46(14):2622-2625.

[18] LIU J L, WANG Y L, ZHAO H, *et al.* Effects of *Lilium* polysaccharide combined with *Astragalus* polysaccharide on depressive behavior in chronic stress mice and its mechanism [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志)*, 2022, 28(5):62-70.

[19] SHU H J, WANG D M, ZHANG T, *et al.* Effects of *Astragalus* polysaccharides on Nrf2-ARE pathway in hippocampus of depressed rats [J]. *Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报)*, 2019, 37(6):839-843.

[20] DING J H, JIANG C Y, YANG L, *et al.* Effect of *Acanthopanax* polysaccharide on regulating PI3K/Akt/mTOR pathway and improving depressive behavior in rats [J]. *Sci Technol Food Ind(食品工业科技)*, 2022, 43(11):369-375.

[21] LIU P, BAI X, ZHANG T, *et al.* The protective effect of *Lonice-*

- ra japonica* polysaccharide on mice with depression by inhibiting NLRP3 inflammasome [J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(24): 811. DOI: 10. 21037/atm. 2019. 12. 64.
- [22] GAO H, ZHU X, XI Y, *et al.* Anti-depressant-like effect of *atractylenolide* I in a mouse model of depression induced by chronic unpredictable mild stress [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(2):1574-1579.
- [23] HU Q, LIU Y C, MAO S Y, *et al.* Exploring the mechanism of *Atractylodes macrocephala* treating Alzheimer's disease based on network pharmacology [J]. *Cent South Pharm* (中南药学), 2020, 18(3):427-434.
- [24] GAO Q. Study on the neuroprotective effect of *Atractylodes macrocephala* Koidz. in rats with focal cerebral ischemia/reperfusion [J]. *J Med Theory Pract* (医学理论与实践), 2017, 30(15): 2185-2186,2189.
- [25] ZHAO Y J, GAO Y, ZHOU Y Z, *et al.* Research progress on pharmacological effect and mechanism of *Atractylodes macrocephala* in nervous-mental system diseases [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2017, 48: 4546-4551.
- [26] ZHANG C, LU H Q, HU C X, *et al.* Effect of icariin on behavior and monoamine neurotransmitters in rats with depression induced by chronic unpredicted mild stress [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2018, 53(15): 1280-1284.
- [27] ZHU H, LIANG Y, MA Q, *et al.* Xiaoyaosan improves depressive-like behavior in rats with chronic immobilization stress through modulation of the gut microbiota [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112: 108621. DOI: 10. 1016/j. biopha. 2019. 108621.
- [28] AIZAWA E, TSUJI H, ASAHARA T, *et al.* Possible association of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in the gut microbiota of patients with major depressive disorder [J]. *J Affect Disorders*, 2016, 202: 254-257.
- [29] YANG J Q, ZHANG Z Y, XIE Z R, *et al.* Metformin modulates microbiota-derived inosine and ameliorates methamphetamine-induced anxiety and depression-like withdrawal symptoms in mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 149: 112837. DOI: 10. 1016/j. biopha. 2022. 112837.
- [30] NASERIBAFROUEI A, HESTAD K, AVERSHINA E, *et al.* Correlation between the human fecal microbiota and depression [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2014, 26(8): 1155-1162.
- [31] ROSENBERG E. *The Family Prevotellaceae*. In *The Prokaryotes: Other Major Lineages of Bacteria and The Archaea* [M]. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2014: 825-827.
- [32] RADJABZADEH D, BOSCH J A, UITTERLINDEN A G, *et al.* Gut microbiome-wide association study of depressive symptoms [J]. *Nat Commun*, 2022, 13: 7128. DOI: 10. 1038/s 41467-022-34502-3.
- [33] UMAR S, LAARSE A. Nitric oxide and nitric oxide synthase isoforms in the normal hypertrophic, and failing heart [J]. *Mol Cell Biochem*, 2010, 333(1-2):191-201.
- [34] ZHENG H, ZHENG P, ZHAO L C, *et al.* Predictive diagnosis of major depression using NMR-based metabolomics and least-squares support vector machine [J]. *Clin Chim Acta*, 2017, 464: 223-227.
- [35] GENG C, GUO Y, WANG C, *et al.* Systematic impacts of chronic unpredictable mildstress on metabolomics in rats [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 700. DOI: 10. 1038/s41598-020-57566-x.
- [36] WANG R, CHEN T, WANG Q, *et al.* Total flavone of *Abelmoschus manihot* ameliorates stress-induced microbial alterations drive *Intestinal* barrier injury in DSS colitis [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2021, 15: 2999-3016.
- [37] BOJOVIĆ K, LGNJATOVIĆ DI, SOKOVIĆ BAJIĆ S, *et al.* Gut Microbiota dysbiosis associated with altered production of short chain fatty acids in children with neurodevelopmental disorders [J]. *Front Cell Infect Mi*, 2020, 10: 223. DOI: 10. 3389/fcimb. 2020. 00223.
- [38] WANG C S, CUI C M, XU P F, *et al.* Targeting PDK2 rescues stress-induced impaired brain energy metabolism [J]. *Mol Psychiatry*, 2023, 28(10):4138-4150. DOI: 10. 1038/s41380-023-02098-9.
- [39] JAVADOV S, KOZLOV A V, CAMARA A K. Mitochondria in health and diseases [J]. *Cells*, 2020, 9(5):1177. DOI: 10. 3390/cells9051177.
- [40] LU Y R, FU X Y, SHI L G, *et al.* Decreased plasma neuroactive amino acids and increased nitric oxide levels in melancholic major depressive disorder [J]. *BMC Psychiatry*, 2014, 14(1): 123. DOI: 10. 1186/1471-244X-14-123.
- [41] ZHENG P, FANG Z, XU X, *et al.* Metabolite signature for diagnosing major depressive disorder in peripheral blood mononuclear cells [J]. *J Affect Disorders*, 2016, 195: 75-81.
- [42] GU S H, KONG W S, ZHANG T, *et al.* Chemical constituents, pharmacological effects and clinical application of Baizhu [J]. *Chin Archives Tradit Chin Med* (中华中医药学刊), 2019, 38(1):69-73.
- [43] ZHANG W Y, LI Z M, WU L Y. Study on hypoglycemic effect and mechanism of extract of *Atractylodes macrocephala* Koidz. on db/db mice [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中药药理与临床), 2022, 38(6):120-125.
- [44] PENG M, GU S J, JIANG L J, *et al.* Study on the effective parts of extract of *Rhizoma Albus* for lowering blood lipids [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2011, 22(10): 2363-2365.
- [45] HAN K H, PARK J M, JEONG M, *et al.* Heme Oxygenase-1 induction and anti-inflammatory actions of *Atractylodes macrocephala* and *Taraxacum* herba extracts prevented colitis and was more effective than sulfasalazine in preventing relapse [J]. *Gut Liver*, 2017, 11(5):655-666.
- [46] WANG Q. *Atractylodes* lactone anti malignant tumor research progress [J]. *J Med The Pract* (医学理论与实践), 2023, 4(5): 753-755.
- [47] SI X H, LI D N, LI H J, *et al.* Current situation of pharmacological action and clinical compatibility of *Atractylodes macrocephala* in treating slow transit constipation [J]. *World Chin Med* (世界中医药), 2023, 18(21):3143-3148.
- [48] LIN Z, LIU Y F, QU Y, *et al.* Characterisation of oligosaccharides from Baizhu by HILIC-MS [J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29(13):1194-1200.

(收稿日期:2023-11-10)