

加减逍遥散通过 Drp1/PINK1/Parkin 信号通路调控线粒体质量 控制缓解心梗后抑郁的大鼠神经功能损伤

钟震^{1,2,3}, 魏东升^{1,4}, 熊馨月¹, 李琳¹, 姚明利¹, 石薪暖¹, 姜幼明^{1*}

(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 北京中医药大学教育部中医养生学重点实验室, 北京 100029;

3. 北京中医药大学中医养生学北京市重点实验室, 北京 100029;

4. 辽宁中医药大学中医脏象理论及应用教育部重点实验室, 沈阳 110847)

【摘要】 目的:探讨加减逍遥散对心肌梗死后抑郁(PMD)大鼠行为学异常及海马线粒体质量控制(MQC)的改善作用,并初步阐明其潜在机制。方法:采用左冠状动脉前降支结扎联合慢性不可预见性温和应激(CUMS)建立心肌梗死抑郁大鼠模型。将大鼠随机分为假手术组、模型组、氟西汀组(FLX, 10 mg·kg⁻¹)及加减逍遥散低、中、高剂量组(JJXYS-L/M/H, 分别为1.12、2.24、4.48 g·kg⁻¹)。通过体质量监测、糖水偏好实验、旷场实验及强迫游泳实验评估抑郁样行为;苏木素-伊红(HE)染色和尼氏小体染色观察海马组织形态学及神经元变化;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清5-羟色胺(5-HT)、多巴胺(DA)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平。采用实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测海马组织中MQC相关基因过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α (PGC-1 α)、核因子E₂相关因子1(Nrf1)、线粒体转录因子A(TFAM)的mRNA表达水平,采用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测动力蛋白相关蛋白1(Drp1)/PTEN诱导的假定激酶1(PINK1)/帕金蛋白(Parkin)信号通路相关蛋白的表达情况。结果:与假手术组比较,模型组大鼠体质量增长受限,抑郁样行为明显加重,血清5-HT、DA水平明显降低,海马组织神经元损伤及尼氏小体减少,线粒体质量控制相关基因和蛋白表达明显下调($P<0.05$)。与模型组比较,FLX组及JJXYS干预均可不同程度改善上述改变,其中JJXYS-M/H组效果更为明显,可明显改善行为学表现,恢复5-HT、DA水平,减轻海马组织病理损伤,并上调PGC-1 α /Nrf1/TFAM mRNA及Drp1/PINK1/Parkin信号通路相关蛋白的表达($P<0.05$)。结论:加减逍遥散可明显改善PMD大鼠的抑郁样行为和神经递质失衡,其作用可能与调控海马线粒体质量控制、上调Drp1/PINK1/Parkin相关信号通路有关,为加减逍遥散干预PMD提供了实验依据。

【关键词】 加减逍遥散; 心肌梗死后抑郁; 动力蛋白相关蛋白1(Drp1)/PTEN诱导的假定激酶1(PINK1)/帕金病相关蛋白2(Parkin); 线粒体质量控制

[中图分类号] R541;R285;R289 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2026)13-0020-12

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20260518

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260423.1055.002>

[网络出版日期] 2026-04-23 14:13:47 [增强出版附件] 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Modified Xiaoyaosan Alleviates Neuronal Dysfunction in Rat Model of Post-myocardial Infarction Depression by Regulating Mitochondrial Quality Control Through Drp1/PINK1/Parkin Signaling Pathway

ZHONG Zhen^{1,2,3}, WEI Dongsheng^{1,4}, XIONG Xinyue¹, LI Lin¹, YAO Mingli¹,
SHI Xinnuan¹, JIANG Youming^{1*}

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. Key Laboratory of Health Cultivation of the Ministry of Education,

Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

3. Key Laboratory of Health Cultivation of Beijing, Beijing University of Chinese Medicine,

[收稿日期] 2026-01-18

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82074330);北京中医药大学揭榜挂帅项目(2025-JYB-JBGS-020)

[第一作者] 钟震, 硕士, 从事情绪障碍的中医证候研究及方药治疗的生物学基础研究, E-mail: 1226130317@qq.com

[通信作者] *姜幼明, 博士, 副研究员, 从事情绪障碍的中医证候研究及方药治疗的生物学基础研究, E-mail: 115636520@qq.com

Beijing 100029, China; 4. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine (TCM)
Zangxiang Theory and Application, Liaoning University of TCM, Shenyang 110847, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effects of modified Xiaoyaosan (JJXYS) on behavioral abnormalities and hippocampal mitochondrial quality control (MQC) in the rat model of post-myocardial infarction depression (PMD) and preliminarily explore its potential mechanism. **Methods:** A rat model of PMD was established by left anterior descending coronary artery ligation combined with chronic unpredictable mild stress (CUMS). Rats were randomized into a control group, a model group, a fluoxetine (FLX, 10 mg·kg⁻¹) group, and low-, medium-, and high-dose JJXYS (JJXYS-L/M/H, 1.12, 2.24, 4.48 g·kg⁻¹, respectively) groups. Depressive-like behaviors were evaluated by body weight monitoring, sucrose preference test, open field test, and forced swimming test. Hematoxylin-eosin staining and Nissl staining were used to observe hippocampal histomorphology and neuronal changes. Enzyme-linked immunosorbent assay was conducted to determine the serum levels of 5-hydroxytryptamine (5-HT), dopamine (DA), interleukin-1 beta (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α). The mRNA levels of MQC-related genes including peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 alpha (PGC-1 α), nuclear respiratory factor 1 (Nrf1), and transcription factor A, mitochondrial (TFAM) in the hippocampal tissue were measured by real-time PCR. The expression of proteins related to the dynamin-related protein 1 (Drp1)/PTEN-induced putative kinase 1 (PINK1)/Parkin signaling pathway was determined by Western blot. **Results:** Compared with the control group, the model group showed restricted body weight gain, aggravated depressive-like behaviors, declined serum 5-HT and DA levels, evident hippocampal neuronal damage and reduced Nissl bodies, as well as downregulated expression of MQC-related genes and proteins ($P<0.05$). Compared with the model group, both FLX and JJXYS alleviated the above changes to varying degrees. Moreover, the JJXYS-M and JJXYS-H groups showed more pronounced effects, improving behavioral performance, restoring 5-HT and DA levels, alleviating hippocampal pathological injury, and upregulating the expression of PGC-1 α /Nrf1/TFAM mRNA and Drp1/PINK1/Parkin signaling pathway-related proteins ($P<0.05$). **Conclusion:** JJXYS can significantly alleviate depressive-like behaviors and neurotransmitter imbalance in the rat model of PMD by regulating hippocampal MQC and upregulating the Drp1/PINK1/Parkin-related pathway. This study provides experimental evidence for the intervention of PMD with JJXYS.

[Keywords] modified Xiaoyaosan; post-myocardial infarction depression; dynamin-related protein 1 (Drp1)/PTEN-induced putative kinase 1 (PINK1)/Parkin; mitochondrial quality control

随着人口老龄化进程加快及居民生活方式的改变,心肌梗死(MI)的发病率逐年上升,其远期并发症日益受到关注。流行病学研究显示,MI后20%~30%的患者可出现抑郁相关症状或抑郁障碍^[1-2]。作为MI后常见的精神心理并发症,MI后抑郁(PMD)不仅与再发MI及心血管死亡风险升高相关,还会增加疾病负担、延缓康复并明显降低生活质量^[3-4]。因此,PMD已成为临床与基础研究亟需关注的重要问题^[5]。目前临床对PMD的干预仍以抗抑郁药物治疗为主,但在疗效一致性与长期安全性方面仍存在局限^[6-7]。因此,亟需探索更安全、有效的干预策略。

近年来大量研究表明,MI后持续的全身炎症反应和氧化应激可通过破坏血脑屏障、激活小胶质细胞和星形胶质细胞,诱导中枢神经炎症反应,从而损害海马等脑区神经元的线粒体稳态及功能^[8-9]。线粒体功能受损进一步导致活性氧(ROS)过量产生、三磷酸腺苷(ATP)合成下降及线粒体膜电位降低,影响单胺类神经递质代谢与突触可塑性,进而参与抑郁样行为的发生发展^[10]。在线粒体稳态维持过程中,线粒体质量控制(MQC)通过调控线粒体

生物合成、动力学及线粒体自噬,维持线粒体结构与功能稳定;当该调控失衡时,受损线粒体不能被有效清除,可持续放大氧化应激和能量代谢障碍,加重神经炎症和神经功能损伤^[11-12],因此,MQC功能障碍被认为是连接MI后系统性炎症应激与中枢神经功能损伤、抑郁样行为发生的重要病理枢纽,其调控机制可能成为干预PMD的关键靶点。

中医认为,PMD的发生与情志失调、气机郁滞及血脉瘀阻密切相关,其核心病机为“气郁血瘀,心脑失养”^[13]。《灵枢·大惑论》提出“心者,君主之官也,神明出焉”^[14],《素问》有“脑为髓海”之论,均强调心脑相通、神志共调。心气郁结、血行不畅可致脑失濡养、神志失司,从而出现抑郁、焦虑、失眠等精神症状,提示心脑功能失调在PMD发生发展中具有重要作用^[15]。加减逍遥散(JJXYS)是在经典名方逍遥散(出自《太平惠民和剂局方》)基础上,根据PMD“气郁血瘀、心脑失养”的核心病机,加用川芎、丹参、红花以增强活血化瘀,佐以桔梗宣畅气机、载药上行而成。其组方契合中医“从肝论治、心脑共调”的治则,方中柴胡、白芍疏肝养血,丹参、川芎、红花活血通络,桔梗引药上行、开宣气机,共奏疏肝解

郁、活血通络、养心安神之效”。现代研究提示,该方及其组成药物在抗炎、抗氧化、改善能量代谢及保护线粒体功能方面具有明确生物学活性^[16-17],但其是否通过调控线粒体质量控制关键通路,从而改善MI后中枢神经功能障碍并缓解抑郁样行为,尚缺乏系统研究。基于此,本研究拟从MQC的关键分子轴——动力蛋白相关蛋白1(Drp1)、PTEN诱导的假定激酶1(PINK1)及帕金森蛋白(Parkin)介导的Drp1/PINK1/Parkin信号通路入手,探讨JJXYS对PMD大鼠情绪行为及海马线粒体稳态的调控作用及其潜在机制。

1 材料

1.1 动物 选用SD雄性大鼠,6~8周龄,体质量(200±20)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号SCXK(京)2019-0010。饲养于北京中医药大学实验动物中心,使用许可证号SYXK(京)2025-0051。实验前适应性饲养7d,温度(20±2)℃,相对湿度45%~50%,12h光/暗交替,自由饮食饮水。所有实验操作符合《关于善待实验动物的指导性意见》。

1.2 伦理 实验方案经北京中医药大学实验动物伦理委员会批准,动物伦理编号为21000062024104。

1.3 药物及试剂 JJXYS由柴胡、白芍、当归、茯苓、薄荷、炙甘草、川芎、丹参、红花及桔梗组成。所有中药饮片均购自北京中医药大学第三附属医院方剂房,经北京中医药大学副研究员姜幼明鉴定质量符合2025年版《中华人民共和国药典》相关标准。盐酸氟西汀胶囊(FLX,齐鲁制药有限公司,国药准字H20000089,规格20mg)。免冰浴快速转膜缓冲液(10×)、RIPA裂解液、TBS/Tween缓冲液(10×)、蛋白上样缓冲液(非还原型5×)、无蛋白快速封闭液、三色预染蛋白Marker、脱脂奶粉(雅酶生物科技有限公司,货号分别为PS201、PC101、PS103、LT101S、PS108P、WJ107、PS112L);血清5-羟色胺(5-HT)、多巴胺(DA)、白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6和肿瘤坏死因子(TNF)- α 酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,货号分别为E-EL-0033、E-EL-0046、E-EL-R0012、E-EL-R0015、E-EL-R2856);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号G1120);尼氏染色液(Nissl,北京兰杰柯科技有限公司,货号BL999A)。SDS-PAGE快速电泳液(碧云天生物技术有限公司,货号P0561);ECL化学发光检测试剂

(上海天能科技有限公司,货号180-5001);Drp1、线粒体融合蛋白2(Mfn2)、视神经萎缩蛋白1(Opa1)、超氧化物歧化酶2(SOD2)、Parkin、PINK1、微管相关蛋白1轻链3(LC3)、自噬受体蛋白p62/多泛素结合蛋白1(SQSTM1/p62)、自噬相关蛋白Beclin-1、 β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体、离子钙结合衔接分子-1(IBA-1)抗体、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)抗体、荧光标记山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G二抗、荧光标记山羊抗小鼠IgG二抗(武汉三鹰生物科技有限公司,货号分别为12957-1-AP、12186-1-AP、27733-1-AP、24127-1-AP、14060-1-AP、23274-1-AP、14600-1-AP、18420-1-AP、11306-1-AP、66009-1-Ig、10904-1-AP、16825-1-AP、SA00013-2、SA00013-2)。4%多聚甲醛固定液(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号G1005),总RNA提取试剂、一步法cDNA第一链合成预混试剂、通用型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)预混试剂(雅酶生物科技有限公司,货号分别为YY101、MH102、MH101)。

1.4 仪器 SA209型大小鼠强迫游泳实验系统型及SA215型大小鼠旷场实验箱(江苏赛昂斯生物科技有限公司),配套动物行为学视频分析系统;CM1950型冰冻切片器(德国Leica Microsystems公司);CKX53型倒置荧光显微镜(日本Olympus公司);LSM880型激光共聚焦显微镜(德国Carl Zeiss公司);H-7650型透射电子显微镜(日本Hitachi公司);ChemiDoc XRS+化学发光成像系统、PROTEAN IEF型SDS-PAGE电泳仪及转膜仪(美国Bio-Rad公司);ELx800型酶标仪(美国BioTek公司);Avanti J-26S XPI型低温高速离心机(美国Beckman Coulter公司);NanoDrop 2000型蛋白定量仪(美国Thermo Fisher Scientific公司)。

2 方法

2.1 JJXYS有效成分与靶点的收集 以JJXYS中的10味药为关键词在中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)中检索潜在的生物活性成分,依据筛选标准为口服生物利用度(OB) \geq 30%,类药性(DL) \geq 0.18^[18]。在TCMSP数据库中收集上述药物的化学成分靶点,并使用通用蛋白质资源库(UniPort)数据库对靶点名称标准化,利用Cytoscape 3.8.0绘制“JJXYS-活性成分-靶点”网络图。

2.2 JJXYS抗PMD的靶点预测 以“Myocardial infarction”和“Depression”为关键词,分别从在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)、GeneCards数据库和

治疗靶点数据库(TTD)中检索并收集相关疾病靶点,经去重及人工核对后获得MI靶点集和抑郁靶点集。随后对两类疾病靶点取交集,筛选得到PMD的潜在共同靶点。在此基础上,将上述PMD与JJXYS的作用靶点进行交集分析,并通过韦恩图软件可视化,最终获得JJXYS干预PMD的潜在作用靶点。

2.3 JJXYS抗PMD的蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建 将JJXYS抗PMD的靶点导入STRING数据库,用于PPI分析,选择Multiple proteins功能,将分析得到的PPI结果保存为tsv格式,进而导入Cytoscape 3.8.0软件,选择网络拓扑分析功能进行可视化。

2.4 基因本体(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 将JJXYS抗PMD的靶点导入DAVID数据库中选择Functional Annotation功能,以Homo sapiens为筛选条件进行GO功能富集分析和KEGG通路富集分析,以 $P < 0.05$ 为筛选条件运用R语言制作柱状图及气泡图。

2.5 药物的制备 JJXYS处方由当归15 g、白芍10 g、柴胡15 g、茯苓12 g、薄荷12 g、丹参10 g、桔梗12 g、红花10 g、川芎12 g、炙甘草10 g组成。将饮片粉碎成粗粉,按生药量10倍体积加水浸泡30 min,煎煮30 min,过滤;药渣再加8倍体积水煎煮20 min,过滤,合并2次滤液,于45~60℃水浴浓缩至生1.5 g·mL⁻¹,4℃避光保存,FLX以蒸馏水配制1 g·L⁻¹悬液,10 mg·kg⁻¹·d⁻¹剂量灌胃给药^[19],4℃冷藏保存并于短期内使用。

2.6 动物模型制备和给药 共选用SD雄性大鼠80只,采用随机数字表法分为假手术组12只,造模组68只。假手术组仅行相同麻醉和开胸操作,不予结扎处理。适应性饲养1周后,对造模组大鼠行冠状动脉左前降支结扎建立MI模型。参照既往PMD动物模型研究及左冠状动脉前降支(LAD)结扎造模相关文献,术中以结扎远端心肌颜色变苍白为MI造模成功标志;术后给予肌内注射青霉素抗感染处理。随后联合慢性不可预见性温和应激(CUMS)4周建立PMD模型^[20]。术后共50只大鼠存活,采用随机数字表法将成模大鼠分为模型组、FLX组、JJXYS-L组、JJXYS-M组及JJXYS-H组,采用蒸馏水将母液梯度稀释为低、中、高剂量工作液。各组均按固定灌胃体积2.5 mL/只给药,并根据大鼠体重调整给药浓度,使JJXYS低、中、高剂量组实际给

药剂量分别为1.12、2.24、4.48 g·kg⁻¹^[21]。给药浓度计算公式为 $C(\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}) = D(\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}) \times W(\text{kg}) / V(\text{mL})$ 。术后适应性饲养1周,第8天起开始给药干预,各组均采用灌胃方式,每日1次,连续给药28 d,各组灌胃体积均为2.5 mL/只。给药期间同步进行一般状态观察及后续行为学和组织学检测。

2.7 旷场实验 旷场实验采用SA215型大小鼠旷场箱,装置为底部黑色、四周蓝色的长方体敞箱(100 cm×100 cm×50 cm),底面划分为4×4共16个方格,其中正中央2×2方格定义为中心区域。安静环境下轻握大鼠尾根放入旷场箱中心,适应30 s后,动物运动轨迹跟踪系统软件同步记录5 min内大鼠水平活动(运动总格数)、垂直活动(直立次数)、移动总距离。测试结束后,捡拾粪粒,用纯净水擦拭晾干后测定下一只大鼠。

2.8 强迫游泳实验 向直径30 cm、高50 cm的圆柱形塑料游泳桶中注入约30 cm深的清水,水温控制在(25±1)℃。将大鼠从距水面约15 cm处垂直放入桶中,使其自由游泳1 min作为适应期,随后记录其后5 min内的累计不动时间。大鼠漂浮于水面、停止主动游动或仅以轻微肢体活动维持漂浮状态时判定为不动。实验结束后,立即用干燥毛巾擦干大鼠体表水分,并置于温暖环境中恢复。

2.9 糖水消耗实验 于第28天对大鼠进行糖水偏好适应性训练。第1天每笼放置2个装有1%蔗糖水的水瓶;第2天将其中1瓶蔗糖水更换为等体积双蒸水。随后禁食禁水24 h后,为每只大鼠同时提供外观及体积相同的1%蔗糖水和双蒸水各1瓶,自由饮用1 h。实验结束后取走水瓶并称质量,根据前后质量差计算糖水和清水的摄入量。糖水消耗率=糖水消耗量/(糖水消耗量+清水消耗量)×100%。

2.10 海马组织HE染色 固定后的脑组织常规脱水、透明、石蜡包埋。切片脱蜡至水后进行HE染色,梯度乙醇脱水、透明、中性树胶封片。采用光学显微镜观察海马组织形态学改变。

2.11 海马组织尼氏小体染色 石蜡切片脱蜡至水后进行尼氏小体染色,染色完成后分化、脱水、透明并封片。光学显微镜下观察海马神经元尼氏小体分布及染色强度变化,采集代表性图像并观察组织形态学改变。

2.12 血清5-HT、DA、IL-1β、IL-6、TNF-α的ELISA检测 ELISA法测定大鼠5-HT、DA、IL-1β、IL-6、TNF-α水平,按试剂盒步骤操作,酶标仪在450 nm波长处测定各孔的吸光度A。

2.13 实时荧光定量聚合酶链反应(Real-time PCR)检测 TRIzol法提取总核糖核酸(RNA),反转录为cDNA,以互补脱氧核糖核酸(cDNA)为模板定量扩增目的基因与内参基因。Real-time PCR仪上机检测,扩增条件,预变性95℃30s;扩增95℃10s、60℃30s,共40个循环;延伸72℃2min。以目的基因与甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)的相对比值作为其表达量,用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算相对比值。引物由北京六合华大基因科技有限公司提供。引物序列见表1。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物	序列(5'-3')	长度/bp
PGC-1 α	上游 TGTGGAAAGGTCGGAGTCAA	94
	下游 GGAGGTTGTTGCTGGTGTAG	
Nrf1	上游 TCCTGGAAGATGTGGTGAGA	57
	下游 GCTGCTGTTGGTGATGATGT	
TFAM	上游 AGGACCTGGTGAGTTGTGA	93
	下游 TCTGCTTCTTTGCCATCTCC	
GAPDH	上游 TCTCTGCTCCTCCCTGTTCT	104
	下游 TACGGCCAAATCCGTTTACA	

注:PGC-1 α . 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α ; Nrf1. 核因子E₂相关因子1; TFAM. 线粒体转录因子A

2.14 海马组织 IBA-1、GFAP 免疫荧光染色 固定组织常规脱水、包埋并切片。切片进行抗原修复、封闭后加入一抗 IBA-1、GFAP(1:50)4℃孵育过夜,次日加入荧光二抗(1:100)避光孵育,4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)复染细胞核后封片。使用荧光显微镜采集图像。采用 Image J 软件对阳性表达面积进行定量分析。

2.15 海马组织线粒体功能相关指标检测 采用5,5',6,6'-四氯-1,1',3,3'-四乙基苯并咪唑羰花青碘化物(JC-1)荧光染色法检测海马组织线粒体膜电位变化;采用 ATP 含量检测试剂盒测定海马组织 ATP 水平;采用 ROS 荧光探针法检测海马组织中 ROS 水平。具体操作均严格按照相应试剂盒说明书进行。

2.16 海马组织 Drp1/PINK1/Parkin 通路相关蛋白的 Western blot 检测 取海马组织约 50 mg,加入 RIPA 裂解液匀浆裂解,12 500 r·min⁻¹ 4℃离心(半径 15 min)取上清测定蛋白浓度。等量蛋白经 SDS-PAGE 电泳后转膜至聚偏氟乙烯(PVDF)膜,5%脱脂奶粉封闭 1 h,加入一抗 Drp1(1:2 000)、Mfn2(1:

5 000)、Opa1(1:5 000)、SOD2(1:5 000)、PARK2/Parkin(1:1 000)、PINK1(1:1 000)、LC3(1:2 000)、SQSTM1/p62(1:5 000)、Beclin-1(1:1 000)、 β -actin(1:10 000)4℃孵育过夜。次日用辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(1:10 000)孵育 1 h 后显色,使用凝胶成像系统拍照,Image J 软件分析灰度值,以 β -actin 为内参。

2.17 统计学分析 使用 SPSS 26 软件进行数据统计,数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用最小显著差异 *t* 检验(LSD-*t*)检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 JJXYS 有效成分及靶点筛选 JJXYS 有效成分及靶点筛选通过 TCMSP 平台及补充的化合物共收集到 JJXYS 中潜在的有效成分 109 个,删除重复目标后获得的作用靶点为 224 个, JJXYS 成分靶点网络图见增强出版附加材料。

3.2 JJXYS 抗 PMD 靶点收集 从 OMIM 数据库、GeneCards 数据库和 TTD 数据库中获取 PMD 靶点 2 156 个,将 JJXYS 的靶点与 PMD 的靶点导入韦恩图在线软件中,获取 JJXYS 抗 PMD 靶点 224 个。见增强出版附加材料。

3.3 PPI 网络图构建 进一步评估共同靶点的表达特性,将 224 个共同靶点导入相互作用基因/蛋白质检索工具(String)数据库完成相同靶点的 PPI 图,见增强出版附加材料。结果以 TSV 格式保存,导入 Cytoscape 3.8.0 利用 CytoNCA 插件对 PPI 网络进行拓扑学分析,其中以度中心性(DC)作为核心评价指标,用于筛选网络中的关键靶点。结果显示,PRKN、PINK1 及 Drp1 在 PPI 网络中具有较高的 DC,提示其可能为关键靶点。

3.4 JJXYS 抗 PMD 的 GO、KEGG 富集分析 对共同靶点进行 GO 功能富集分析,共获得 5 717 个显著条目,其中生物过程(BP)4 758 个,主要富集于线粒体膜电位调控、氧化应激反应、活性氧应答、自噬调控及氧化应激诱导的细胞死亡等过程。分子功能(MF)共 616 个条目,主要涉及抗氧化活性、过氧化物酶活性、谷胱甘肽过氧化物酶活性及泛素蛋白连接酶结合等。细胞组成(CC)共 343 个条目,主要定位于线粒体外膜、线粒体膜间隙、溶酶体腔、多泡体及内体-溶酶体系统等结构。以 *P*<0.05 为筛选条件,选取 BP、MF 和 CC 中富集程度排名前 5 的条目进行可视化分析。基于 DAVID 数据库共获得 206 条显著富集的 KEGG 通路。进一步筛选 *P*<0.05

的前15条通路进行分析,结果显示差异靶点主要富集于线粒体自噬、自噬、腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)、叉头框蛋白O(FoxO)、缺氧诱导因子-1(HIF-1)、核转录因子- κ B(NF- κ B)、TNF及凋亡等信号通路。共同靶点主要集中于线粒体自噬及能量稳态相关通路,提示JJXYS可能通过参与MQC调控发挥神经保护作用。见增强出版附加材料。

3.5 JJXYS对PMD大鼠一般情况及体质量的影响

各组大鼠初始体质量总体接近,差异无统计学意义。第28天,与假手术组比较,模型组大鼠体质量明显降低($P<0.05$);与模型组比较,FLX组、JJXYS-L组、JJXYS-H组体质量均明显升高($P<0.05$)。与FLX组比较,JJXYS-L组体质量明显降低($P<0.05$);与JJXYS-L组比较,JJXYS-M组体质量明显升高($P<0.05$)。上述结果表明,加减逍遥散能够改善PMD大鼠体质量增长受限,其中JJXYS-M组作用相对较优。见表2。

3.6 JJXYS对PMD大鼠行为学指标的影响

各组大鼠基线行为学指标总体可比。与假手术组比较,模型组第28天糖水消耗率明显降低,旷场实验中运动总格数、直立次数及移动总距离均明显减少,强迫游泳静止时间明显延长($P<0.05$),提示PMD大鼠出现明显快感缺失、自主活动减少及行为绝望。与模型组比较,FLX组及JJXYS-M、JJXYS-H组糖水消耗率明显升高($P<0.05$),其中JJXYS-M组较JJXYS-L组进一步升高($P<0.05$),而JJXYS-L组仅呈改善趋势。旷场实验中,与模型组比较,FLX组及JJXYS-L、JJXYS-M、JJXYS-H组运动总格数、直

表2 JJXYS对PMD模型大鼠体质量变化的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of JJXYS on change of body mass in PMD model rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	第0天	第28天
假手术组		196.19±10.03	340.65±20.18
模型组		201.51±8.74	254.64±11.81 ¹⁾
FLX组	0.01	204.43±9.07	313.61±13.73 ²⁾
JJXYS-L组	1.12	200.87±10.42	295.05±11.86 ^{2,3)}
JJXYS-M组	2.24	202.72±12.31	320.50±16.83 ^{2,4)}
JJXYS-H组	4.48	195.80±9.98	318.50±19.55 ²⁾

注:与假手术组比较¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$;与FLX组比较³⁾ $P<0.05$;与JJXYS-L比较⁴⁾ $P<0.05$ (表3-表10同)

立次数和移动总距离均明显增加($P<0.05$);与JJXYS-L组比较,JJXYS-M、JJXYS-H组均明显升高($P<0.05$)。强迫游泳实验中,与模型组比较,FLX组及JJXYS-M、JJXYS-H组静止时间均明显缩短($P<0.05$),JJXYS-L组改善不明显。上述结果表明,加减逍遥散可改善PMD大鼠抑郁样行为,其中JJXYS-M、JJXYS-H剂量组作用更为明显。结果见表3、表4。

表3 JJXYS对PMD大鼠糖水消耗率的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effect of JJXYS on consumption rate of sugar water in PMD rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	第0天	第28天
假手术组		63.63±10.03	64.75±11.21
模型组		65.51±10.44	40.23±9.21 ¹⁾
FLX组	0.01	66.73±9.94	55.35±9.95 ²⁾
JJXYS-L组	1.12	66.65±8.25	45.46±10.43
JJXYS-M组	2.24	65.37±9.59	56.44±12.37 ^{2,4)}
JJXYS-H组	4.48	63.28±11.33	55.71±11.25 ²⁾

表4 JJXYS对PMD大鼠旷场实验行为学变化及各组大鼠强迫游泳静止时间的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 4 Effect of JJXYS on behavioral changes of PMD rats in open field experiment and static time of forced swimming in each group of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	运动总格数/频率/5 min		直立次数/频率/5 min		移动总距离/cm·5 min ⁻¹		静止时间/s·5 min ⁻¹	
		第0天	第28天	第0天	第28天	第0天	第28天	第0天	第28天
假手术组		152.55±14.34	145.99±12.99	29.00±4.00	31.80±5.14	3 066.86±210.66	3 044.39±177.41	96.76±15.43	98.59±17.89
模型组		135.49±13.59	69.74±7.12 ¹⁾	30.40±4.53	14.60±0.97 ¹⁾	3 000.86±210.01	1 983.94±177.79 ¹⁾	103.99±14.34	249.25±17.84 ¹⁾
FLX组	0.01	148.47±9.67	128.46±8.51 ²⁾	30.10±3.54	28.30±1.06 ²⁾	3 071.19±211.07	2 787.95±185.36 ²⁾	102.59±13.76	163.20±19.54 ²⁾
JJXYS-L组	1.12	140.42±15.27	110.81±8.95 ^{2,3)}	27.90±4.68	18.70±0.82 ^{2,3)}	3 253.70±228.07	2 297.70±183.28 ^{2,3)}	106.13±20.78	226.17±18.11 ³⁾
JJXYS-M组	2.24	145.90±11.68	131.15±8.35 ^{2,4)}	29.50±4.30	27.00±0.82 ^{2,4)}	2 991.93±211.27	2 885.92±182.03 ^{2,4)}	94.24±14.57	161.06±19.46 ²⁾
JJXYS-H组	4.48	151.12±11.40	130.11±7.87 ^{2,4)}	30.70±5.50	27.80±0.79 ^{2,4)}	3 054.47±211.99	2 970.38±187.72 ^{2,4)}	97.48±11.39	158.57±19.43 ²⁾

3.7 JJXYS对PMD大鼠脑组织学及脑神经元变化

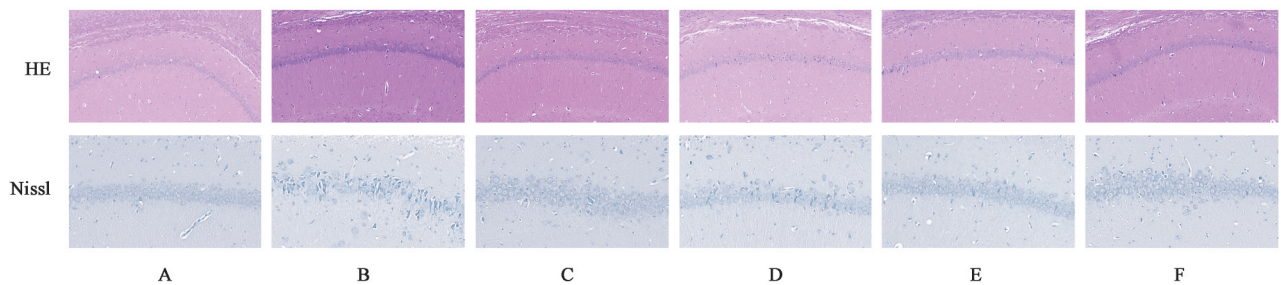
各组大鼠海马HE染色结果显示,假手术组脑组织

结构清晰,层次分明,神经元排列规整,细胞形态完整,核染色均匀。与假手术组比较,模型组脑组织

结构紊乱,神经元排列疏松不规则,部分神经元胞体缩小、核固缩或深染,提示存在明显脑组织损伤。与模型组相比,FLX组脑组织病理改变有所改善,神经元排列较为规整。JJXYS-L组改善程度有限,仍可见局部结构异常;JJXYS-M组改善进一步增强,组织结构趋于完整。JJXYS-H组改善最为明显,神经元排列较为规则,病理损伤明显减轻,但部分区域仍残留结构异常,提示对既有脑组织损伤的修复作用仍较为有限。

各组大鼠海马尼氏小体染色结果显示,假手术组大鼠海马组织中神经元尼氏小体分布丰富,染色

清晰,呈均匀颗粒状,提示神经元蛋白合成与功能状态良好。与假手术组比较,模型组大鼠脑组织中尼氏小体染色明显减弱,数量减少,部分神经元尼氏小体呈碎裂或消失状态,提示神经元合成代谢功能受损。与模型组相比,FLX组尼氏小体染色强度及分布范围明显增加,神经元功能状态得到一定改善。JJXYS-L尼氏小体较模型组有所恢复,但仍存在局部染色减弱现象;JJXYS-M/H组尼氏小体染色明显增强,分布较为均匀,神经元功能状态明显改善,整体水平接近空白组。JJXYS对PMD大鼠海马组织的影响。见图1。



注:A.假手术组;B.模型组;C.FLX组;D.JJXYS-L组;E.JJXYS-M组;F.JJXYS-H组(图2、图3同)

图1 JJXYS对PMD大鼠海马组织的影响(HE,Nissl,×200)

Fig. 1 Effect of JJXYS in hippocampus of PMD rats (HE, Nissl, ×200)

3.8 JJXYS对PMD大鼠5-HT及DA水平的影响

与假手术组比较,模型组大鼠血清5-HT和DA水平均明显降低($P<0.05$)。与模型组比较,FLX组及JJXYS-L、JJXYS-M、JJXYS-H组血清5-HT和DA水平均明显升高($P<0.05$)。进一步比较显示, JJXYS-L组DA水平明显低于FLX组($P<0.05$); JJXYS-M组5-HT水平明显高于FLX组和JJXYS-L组($P<0.05$); JJXYS-M组和JJXYS-H组DA水平均明显高于JJXYS-L组($P<0.05$)。结果提示, JJXYS可改善PMD大鼠单胺类神经递质异常,其中JJXYS-M组对5-HT和DA的改善较为明显, JJXYS-H组对DA的提升作用亦较突出。见表5。

表5 JJXYS对PMD大鼠抑郁相关指标变化($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 5 Change in depression-related indicators in rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	5-HT	DA
假手术组		155.79±6.68	147.17±5.16
模型组		102.07±4.37 ¹⁾	91.94±2.64 ¹⁾
FLX组	0.01	125.43±13.03 ²⁾	126.11±7.90 ²⁾
JJXYS-L组	1.12	119.86±8.93 ²⁾	115.89±7.88 ^{2,3)}
JJXYS-M组	2.24	137.53±12.25 ^{2,3,4)}	131.16±8.11 ^{2,4)}
JJXYS-H组	4.48	125.92±9.11 ²⁾	128.20±9.14 ^{2,4)}

3.9 JJXYS对PMD大鼠IL-1β、IL-6、TNF-α水平的影响

与假手术组比较,模型组大鼠血清IL-1β、IL-6及TNF-α水平均明显升高($P<0.05$)。与模型组比较,FLX组及JJXYS-L、JJXYS-M、JJXYS-H组上述炎症因子水平均明显降低($P<0.05$)。进一步比较显示, JJXYS-L组IL-1β和IL-6水平均明显高于FLX组($P<0.05$); JJXYS-M组IL-1β和IL-6水平均明显低于JJXYS-L组($P<0.05$),且TNF-α水平明显低于FLX组和JJXYS-L组($P<0.05$); JJXYS-H组IL-1β水平明显低于FLX组和JJXYS-L组($P<0.05$), IL-6水平明显低于JJXYS-L组($P<0.05$), TNF-α水平明显低于FLX组($P<0.05$)。结果提示, JJXYS可减轻PMD大鼠炎症反应,其中JJXYS-M组对TNF-α的改善较明显, JJXYS-H组对IL-1β的降低作用较突出。见表6。

3.10 JJXYS对PMD大鼠海马组织IBA-1、GFAP表达的影响

与假手术组比较,模型组大鼠海马组织IBA-1和GFAP阳性表达面积均明显增加($P<0.05$),提示小胶质细胞及星形胶质细胞明显活化。与模型组比较,FLX组及JJXYS-L、JJXYS-M、JJXYS-H组IBA-1和GFAP表达水平均明显降低($P<0.05$)。进一步比较显示, JJXYS-L组IBA-1和GFAP表达均

表6 JJXYS对PMD大鼠炎症相关指标的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 6 Effect of JJXYS on inflammatory indexes in PMD rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	IL-1 β	IL-6	TNF- α
假手术组		100.39 \pm 6.89	182.48 \pm 9.82	567.18 \pm 32.09
模型组		169.73 \pm 5.59 ¹⁾	295.74 \pm 6.67 ¹⁾	921.66 \pm 15.33 ¹⁾
FLX组	0.01	126.11 \pm 4.24 ²⁾	228.22 \pm 6.69 ²⁾	755.01 \pm 14.94 ²⁾
JJXYS-L组	1.12	140.96 \pm 4.38 ^{2,3)}	279.44 \pm 7.60 ^{2,3)}	726.21 \pm 8.47 ²⁾
JJXYS-M组	2.24	127.75 \pm 3.39 ^{2,4)}	218.30 \pm 9.62 ^{2,4)}	604.68 \pm 28.83 ^{2,3,4)}
JJXYS-H组	4.48	118.23 \pm 3.38 ^{2,3,4)}	220.22 \pm 4.18 ^{2,4)}	713.38 \pm 38.53 ^{2,3)}

明显高于FLX组 ($P<0.05$); JJXYS-M组和JJXYS-H组 IBA-1和GFAP表达均明显低于JJXYS-L组 ($P<0.05$)。结果提示, JJXYS可减轻PMD大鼠海马胶

质细胞异常活化, 抑制神经炎症反应, 其中中、高剂量组改善作用较为明显。见表7、图2。

表7 JJXYS对PMD大鼠海马组织IBA-1、GFAP荧光表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 7 Effect of JJXYS on fluorescence expression of IBA-1 and GFAP in hippocampus of PMD rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	IBA-1	GFAP
假手术组		0.22 \pm 0.04	2.75 \pm 0.35
模型组		1.42 \pm 0.06 ¹⁾	9.01 \pm 0.38 ¹⁾
FLX组	0.01	0.63 \pm 0.08 ²⁾	4.60 \pm 0.31 ²⁾
JJXYS-L组	1.12	1.11 \pm 0.13 ^{2,3)}	7.28 \pm 0.35 ^{2,3)}
JJXYS-M组	2.24	0.61 \pm 0.12 ^{2,4)}	4.71 \pm 0.90 ^{2,4)}
JJXYS-H组	4.48	0.67 \pm 0.11 ^{2,4)}	5.31 \pm 0.74 ^{2,4)}

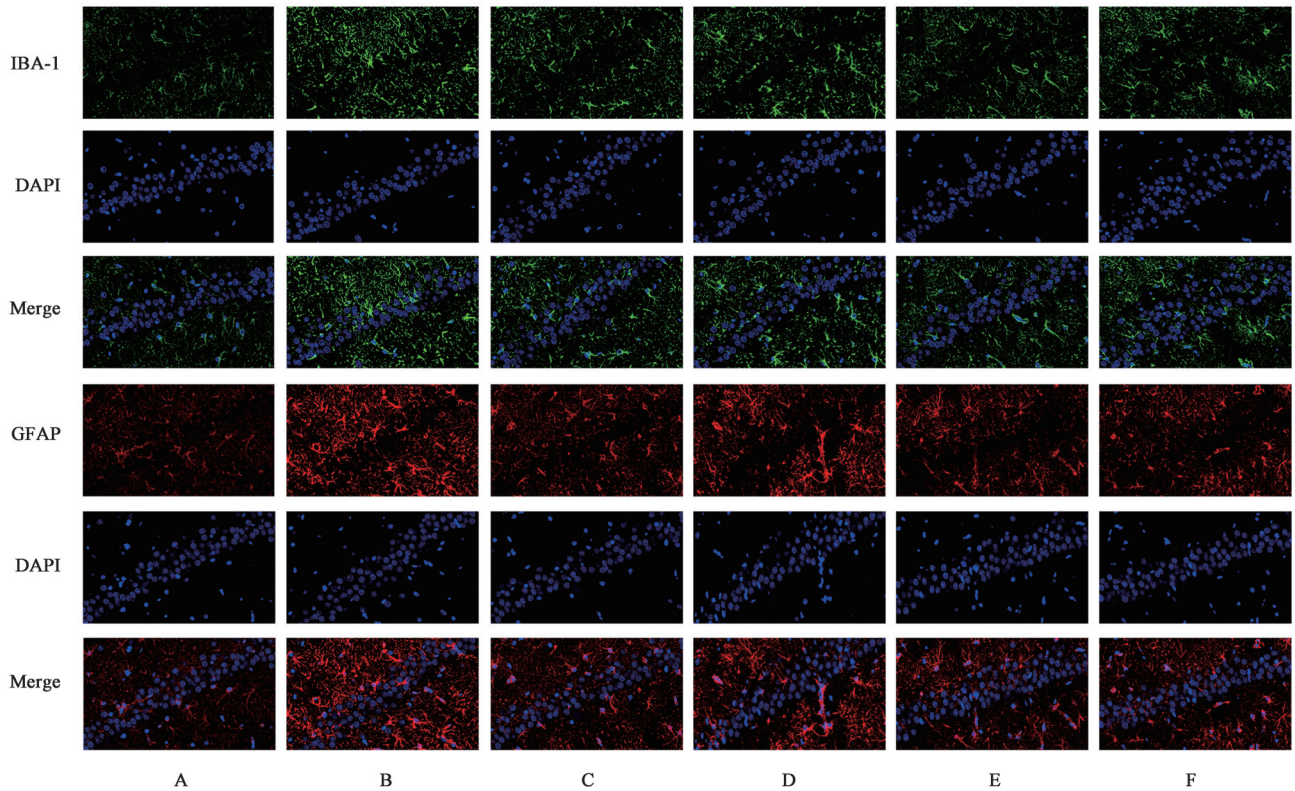


图2 JJXYS对PMD大鼠海马组织IBA-1、GFAP荧光染色的影响 (IF, $\times 600$)

Fig. 2 Effect of JJXYS on fluorescence staining of IBA-1 and GFAP in hippocampus of PMD rats (IF, $\times 600$)

3.11 JJXYS对PMD大鼠MQC相关基因mRNA表达水平变化 与假手术组比较, 模型组大鼠海马组织PGC-1 α 、Nrf1和TFAM mRNA表达水平均明显降低 ($P<0.05$)。与模型组比较, FLX组上述指标均明显升高 ($P<0.05$); JJXYS-L组仅TFAM mRNA表达明显升高 ($P<0.05$), PGC-1 α 和Nrf1虽有上升趋势, 但差异无统计学意义; JJXYS-M组和JJXYS-H组PGC-1 α 、Nrf1和TFAM mRNA表达均明显升高

($P<0.05$)。进一步比较显示, JJXYS-L组Nrf1和TFAM水平均明显低于FLX组 ($P<0.05$); JJXYS-M组PGC-1 α 明显高于FLX组, 且PGC-1 α 、Nrf1和TFAM均明显高于JJXYS-L组 ($P<0.05$); JJXYS-H组PGC-1 α 、Nrf1和TFAM亦均明显高于JJXYS-L组 ($P<0.05$)。结果提示, JJXYS可改善PMD大鼠海马组织MQC相关基因表达异常, 其中JJXYS-M、JJXYS-H组作用较为明显。见表8。

表 8 JJXYS 对 PMD 大鼠海马组织 PGC-1 α 、Nrf1、TFAM 的 mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 8 Effect of JJXYS on mRNA expression of PGC-1 α , Nrf1 and TFAM in hippocampus of PMD rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	PGC-1 α	Nrf1	TFAM
假手术组		1.00±0.11	1.00±0.10	1.00±0.26
模型组		0.52±0.14 ¹⁾	0.46±0.15 ¹⁾	0.40±0.08 ¹⁾
FLX 组	0.01	0.83±0.10 ²⁾	0.87±0.16 ²⁾	1.01±0.04 ²⁾
JJXYS-L 组	1.12	0.69±0.11	0.60±0.15 ³⁾	0.75±0.21 ^{2,3)}
JJXYS-M 组	2.24	1.08±0.13 ^{2,3,4)}	1.11±0.12 ^{2,4)}	1.03±0.15 ^{2,4)}
JJXYS-H 组	4.48	0.94±0.12 ^{2,4)}	0.85±0.21 ^{2,4)}	0.97±0.08 ^{2,4)}

3.12 JJXYS 对 PMD 大鼠海马组织 ATP 及线粒体功能状态 与假手术组比较,模型组大鼠海马组织 ATP 含量及 JC-1 红/绿荧光比值均明显降低,ROS 水

平明显升高 ($P<0.05$),提示 PMD 大鼠海马组织线粒体能量代谢受损、膜电位下降并伴有氧化应激增强。与模型组比较,FLX 组 ATP 含量和 JC-1 比值均明显升高,ROS 水平明显降低 ($P<0.05$);JJXYS-L 组 ATP 含量明显升高、ROS 水平明显降低 ($P<0.05$),但 JC-1 比值改善差异无统计学意义;JJXYS-M 组和 JJXYS-H 组 ATP 含量及 JC-1 比值均明显升高,差异具有统计学意义 ($P<0.05$),其中 ATP 含量均高于 FLX 组和 JJXYS-L 组,JC-1 比值亦均高于 FLX 组和 JJXYS-L 组 ($P<0.05$);JJXYS-H 组 ROS 水平除较模型组明显降低外,亦低于 FLX 组和 JJXYS-L 组,差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。结果提示, JJXYS 可改善 PMD 大鼠海马组织线粒体功能障碍,其中 JJXYS-M 组和 JJXYS-H 组作用较为明显。见表 9 和增强出版附加材料。

表 9 JJXYS 对 PMD 大鼠海马组织线粒体功能指标的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 9 Effect of JJXYS on mitochondrial function index in hippocampus of PMD rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ATP/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$	JC-1(红/绿荧光比值)	ROS
假手术组		4 776.04±115.99	4.19±0.25	8 230±1 020
模型组		2 377.75±108.21 ¹⁾	1.33±0.12 ¹⁾	19 680±2 140 ¹⁾
FLX 组	0.01	3 400.72±104.14 ²⁾	1.81±0.18 ²⁾	14 260±1 480 ²⁾
JJXYS-L 组	1.12	3 873.16±113.17 ^{2,3)}	1.59±0.15	15 830±1 920 ²⁾
JJXYS-M 组	2.24	4 626.06±111.38 ^{2,3,4)}	2.69±0.22 ^{2,3,4)}	11 740±1 360 ²⁾
JJXYS-H 组	4.48	4 527.98±117.95 ^{2,3,4)}	3.40±0.28 ^{2,3,4)}	9 480±1 080 ^{2,3,4)}

3.13 JJXYS 对 PMD 大鼠 Drp1/PINK1/Parkin 通路的影响 与假手术组比较,模型组大鼠海马组织 Drp1 和 p62 蛋白表达明显升高,而 Mfn2、Opa1、SOD2、Parkin、PINK1、LC3 和 Beclin-1 蛋白表达明显降低 ($P<0.05$)。与模型组比较,FLX 组 Drp1 和 p62 明显降低, Mfn2、SOD2、LC3 和 Beclin-1 明显升高 ($P<0.05$); JJXYS-L 组 Drp1、Opa1、SOD2、PINK1、LC3 及 Beclin-1 表达明显升高, p62 明显降低 ($P<0.05$); JJXYS-M 组 Drp1、Mfn2、Opa1、SOD2、

Parkin、PINK1、LC3 及 Beclin-1 表达明显升高, p62 明显降低 ($P<0.05$); JJXYS-H 组 Drp1、Mfn2、Opa1、SOD2、Parkin、PINK1、LC3 及 Beclin-1 明显升高, p62 明显降低,差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。进一步比较显示, JJXYS-M 组和 JJXYS-H 组多数指标较 JJXYS-L 组进一步改善。结果提示, JJXYS 可调节 PMD 大鼠海马组织 MQC 相关蛋白表达,其中 JJXYS-M、JJXYS-H 剂量组作用较为明显。见表 10、图 3。

表 10 JJXYS 对 PMD 大鼠海马组织 Drp1/PINK1/Parkin 通路蛋白表达水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 10 Protein expression levels of Drp1/PINK1/Parkin pathway in hippocampal tissues of rats from each group ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Drp1 / βactin	Mfn2 / βactin	Opa1 / βactin	SOD2 / βactin	Parkin / βactin	PINK1 / βactin	LC3 / βactin	p62 / βactin	Beclin-1 / βactin
假手术组		1.13±0.03	1.21±0.22	1.01±0.08	1.03±0.06	1.30±0.04	1.03±0.04	1.00±0.05	1.60±0.05	1.01±0.06
模型组		2.23±0.04 ¹⁾	0.63±0.20 ¹⁾	0.70±0.16 ¹⁾	0.66±0.09 ¹⁾	0.60±0.08 ¹⁾	0.65±0.09 ¹⁾	0.58±0.07 ¹⁾	1.83±0.10 ¹⁾	0.39±0.11 ¹⁾
FLX 组	0.01	0.92±0.03 ²⁾	0.96±0.24 ²⁾	0.45±0.19 ²⁾	0.90±0.06 ²⁾	0.41±0.07 ²⁾	0.53±0.08 ²⁾	0.89±0.13 ²⁾	1.41±0.04 ²⁾	0.61±0.07 ²⁾
JJXYS-L 组	1.12	2.67±0.06 ^{2,3)}	0.75±0.20	0.85±0.09 ^{2,3)}	1.51±0.07 ^{2,3)}	0.59±0.08 ³⁾	0.78±0.11 ^{2,3)}	0.91±0.11 ²⁾	0.93±0.11 ^{2,3)}	1.10±0.05 ^{2,3)}
JJXYS-M 组	2.24	3.74±0.06 ^{2,3,4)}	1.12±0.25 ^{2,4)}	1.69±0.06 ^{2,3,4)}	2.02±0.11 ^{2,3,4)}	0.81±0.06 ^{2,3,4)}	1.42±0.07 ^{2,3,4)}	0.89±0.11 ²⁾	1.50±0.05 ^{2,3,4)}	1.51±0.09 ^{2,3,4)}
JJXYS-H 组	4.48	2.92±0.4 ^{2,3,4)}	1.20±0.25 ^{2,4)}	1.20±0.09 ^{2,3,4)}	1.50±0.05 ^{2,3)}	0.80±0.05 ^{2,3,4)}	1.38±0.14 ^{2,3,4)}	1.72±0.05 ^{2,3,4)}	1.01±0.05 ^{2,3,4)}	1.50±0.08 ^{2,3,4)}

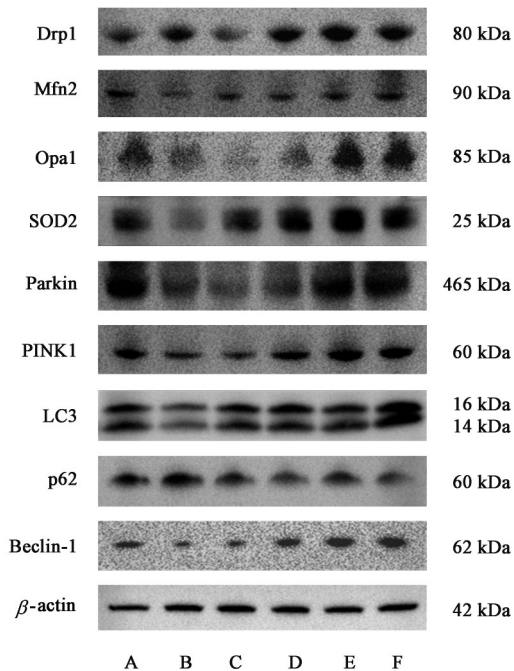


图3 各组大鼠海马组织Drp1/PINK1/Parkin通路蛋白表达电泳
Fig. 3 Protein bands of Drp1/PINK1/Parkin pathway in hippocampal tissues of rats from each group

4 讨论

越来越多的研究表明, PMD的发生与外周炎症反应持续激活、中枢神经炎症、神经递质代谢紊乱及线粒体功能障碍密切相关^[22]。MI后释放的大量炎症介质和氧化应激产物可通过血脑屏障诱发海马体胶质细胞活化, 破坏神经元线粒体稳态, 进而影响能量代谢和突触功能, 是PMD形成的重要病理基础^[23]。本研究结果表明, JJXYS可明显改善PMD大鼠的抑郁样行为和神经元损伤, 恢复5-HT、DA水平并抑制炎症反应, 其作用机制可能与激活PGC-1 α /Nrf1/TFAM轴和Drp1/PINK1/Parkin通路、增强海马MQC有关。

MQC通过协同调控线粒体生物合成、动力学重塑、抗氧化防御及选择性自噬清除等环节, 维持线粒体群体的结构完整性与能量稳态, 是神经元在应激和损伤状态下保持功能稳定的关键分子基础^[24]。PGC-1 α 作为线粒体生物发生与能量代谢的上游主调控因子, 其转录激活后协同转录因子Nrf1上调下游线粒体转录因子TFAM的表达, 为线粒体数量更新和功能维持提供物质基础^[25]; 在此基础上, 线粒体网络的结构与功能稳态依赖于动力学调控, 其中Drp1介导线粒体裂变, Mfn2和Opa1介导线粒体融合, 三者共同决定受损线粒体能否从线粒体网络中被有效分离并进入质量控制通路, 同时SOD2作为

线粒体基质内的关键抗氧化酶, 反映线粒体清除ROS、抵御氧化应激的能力; 当线粒体发生功能受损并出现去极化时, PINK1在外膜稳定积聚并招募、激活Parkin, 对外膜蛋白进行泛素化标记, 进而启动选择性线粒体自噬过程, 其下游由Beclin-1介导自噬起始, LC3参与自噬体膜形成, 而p62作为泛素化底物受体连接受损线粒体与LC3, 反映自噬通量状态^[26]。由此构成从线粒体生物合成到线粒体动力学重塑, 再到受损线粒体识别与清除, 并以SOD2表征抗氧化防御水平的完整MQC级联调控通路。

在PMD状态下, 持续的外周炎症负荷和中枢神经炎症激活构成神经元损伤的病理背景, 炎症应激首先作用于能量代谢最为敏感的线粒体系统, 表现为线粒体生物合成轴PGC-1 α /Nrf1/TFAM下调、抗氧化防御因子SOD2降低及动力学调控蛋白Drp1、Mfn2、Opa1紊乱, 提示线粒体更新能力、网络稳态及抗氧化能力整体受损^[27-28]; 与此同时, PINK1、Parkin、LC3、Beclin-1及p62的异常表达反映Drp1/PINK1/Parkin介导的线粒体自噬通量不足, 受损线粒体清除受阻, 导致能量代谢障碍和氧化应激持续放大^[29]。在这一线粒体质量控制失衡的背景下, 海马神经元蛋白合成能力下降、结构受损, 神经递质代谢功能受抑, 最终在整体水平上表现为快感缺失、活动减少和绝望行为加重。

JJXYS干预后, 上述改变得到系统性逆转。行为学上, JJXYS-M/H组明显改善快感缺失和运动抑制; 生化上, 5-HT、DA回升, 炎症因子下降; 形态学上, 神经元结构与尼氏小体分布恢复, 胶质细胞活化程度降低。分子层面, JJXYS明显上调PGC-1 α /Nrf1/TFAM, 提示线粒体生物合成能力恢复; 同时激活Drp1/PINK1/Parkin通路, 提高Parkin、PINK1、LC3、Beclin-1水平并改善p62周转, 表明线粒体自噬通量增强, 受损线粒体得以有效清除。综上所述, JJXYS可通过上调Drp1/PINK1/Parkin通路相关分子的表达, 增强线粒体质量控制和线粒体自噬水平, 改善海马神经元线粒体功能稳态, 从而减轻炎症反应和氧化应激, 促进神经递质代谢恢复, 最终缓解PMD大鼠的神经功能损伤与抑郁样行为。

本研究仍存在一定局限性, 首先, 动物模型难以完全反映人类PMD的复杂病程, 因此, 由动物实验结果向人类疾病机制的外推仍需谨慎, 相关结论有待结合临床研究进一步验证; 其次, 本研究主要依据相关分子及通路蛋白表达水平的变化, 对Drp1/PINK1/Parkin信号通路在PMD中的潜在作用

进行推测,尚未通过通路特异性的遗传学或药理学干预手段对其因果关系和必要性进行直接验证。后续研究有必要在此基础上,引入针对 Drp1/PINK1/Parkin 信号通路的靶向干预实验,从因果层面进一步完善其在 PMD 发生发展中的作用机制。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] CHONG R J, HAO Y, TAN E W Q, et al. Prevalence of depression, anxiety and post-traumatic stress disorder (PTSD) after acute myocardial infarction: A systematic review and Meta-analysis[J]. *J Clin Med*, 2025, 14(6): 1786.

[2] FLYGARE O, BOBERG J, et al. Association of anxiety or depression with risk of recurrent cardiovascular events and death after myocardial infarction: A nationwide registry study [J]. *Int J Cardiol*, 2023, 381: 120-127.

[3] BERTOLÍN-BORONAT C, MARCOS-GARCÉS V, et al. Depression, anxiety, and quality of life in a cardiac rehabilitation program without dedicated mental health resources post-myocardial infarction [J]. *J Cardiovasc Dev Dis*, 2025, 12(3): 92.

[4] GARRELS E, KAINTH T, SILVAET B, et al. Pathophysiological mechanisms of post-myocardial infarction depression: A narrative review[J]. *Front Psychiatry*, 2023, 14: 1225794.

[5] 徐嘉唯, 刘剑刚, 陈露莹, 等. 急性心肌梗死合并焦虑抑郁中医证素分布及相关临床特征回顾性研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2025, 45(2): 162-168.

XU J W, LIU J G, CHEN L Y, et al. Retrospective study on the distribution of Chinese medicine syndrome elements and related clinical characteristics in patients with acute myocardial infarction combined with anxiety and depression [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2025, 45(2): 162-168.

[6] LEVINE G N, CARNEY R M, COHEN B E, et al. Post-myocardial infarction psychological distress: A scientific statement from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2025, 152(16): e298-e310.

[7] WAN H, LI H, LUAN S, ZHANG C. Efficacy and safety of antidepressants in post-myocardial infarction-associated depression: A Meta-analysis and systematic review[J]. *BMC Psychiatry*, 2025, 25(1): 416.

[8] EL-SAMADI L, ZAHREDDINE R, et al. Impact of myocardial infarction on cerebral homeostasis: Exploring the protective role of estrogen [J]. *Cardiovasc Aging*, 2025, 5(2): 13.

[9] 刘祥, 施晓军, 赵海滨. 从肠道菌群-线粒体稳态探讨心肌梗死后抑郁病机[J]. *中医学报*, 2025, 40(1): 69-74.

LIU X, SHI X J, ZHAO H B. Exploring pathogenesis of depression after myocardial infarction from perspective of intestinal flora-mitochondrial homeostasis [J]. *Acta Chin Med*, 2025, 40(1): 69-74.

[10] SHI X N, LIU C Y, LI L, et al. The role and therapeutic potential of mitophagy in major depressive disorder[J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1564276.

[11] LIU T, SUN W, GUO S, et al. Role of mitochondrial quality control in neurodegenerative disease progression [J]. *Front Cell Neurosci*, 2025, 19: 1588645.

[12] YU H, REN K, JIN Y, et al. Mitochondrial DAMPs: Key mediators in neuroinflammation and neurodegenerative disease pathogenesis [J]. *Neuropharmacology*, 2025, 264: 110217.

[13] 宁博, 罗成, 葛腾, 等. 基于脑源性神经营养因子探讨“畅络调神”论治双心疾病的理论内涵及病理机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(14): 240-248.

NING B, LUO C, GE T, et al. Theoretical connotation and mechanism of regulating mental activity by dredging collaterals in treatment of psycho-cardiological diseases via brain-derived neurotrophic factor[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2024, 30(14): 240-248.

[14] 王雅, 徐惠梅. 中医药文化中的心理健康理论研究[J]. *交叉科学快报*, 2024, 8(3): 345-352.

WANG Y, XU H M. Theoretical research on mental health in traditional Chinese medicine culture[J]. *Interdiscip Sci Lett*, 2024, 8(3): 345-352.

[15] 张玉婷, 秦珊, 王晓秋, 等. “心脑共主神明”的科学内涵及其在针灸治疗失眠症中的应用[J]. *南京中医药大学学报*, 2025, 41(2): 181-188.

ZHANG Y T, QIN S, WANG X Q, et al. The scientific connotation of "heart and brain co-dominating the mind" and its application in the treatment of insomnia by acupuncture [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*, 2025, 41(2): 181-188.

[16] 刘文雯, 木本荣, 钟馨, 等. 基于网络药理学和生物信息学探索逍遥散和柴胡疏肝散“同病异治”抑郁症的作用机制[J]. *中医学*, 2021, 10(2): 200-215.

LIU W W, MU B R, ZHONG X, et al. Study on mechanism of Xiaoyao powder and Chaihu Shugan powder for treating depression in "the same disease with different treatments" based on network pharmacology and bioinformatics[J]. *Trad Chin Med*, 2021, 10(2): 200-215.

[17] ZHAO W D, JI C, ZHENG J, et al. Effects of Xiaoyao San on exercise capacity and liver mitochondrial metabolomics in a rat depression model [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 16(1): 132-142.

[18] 谢锋, 段广靖, 王斌, 等. 基于网络药理学探讨干姜附子汤抗心肌缺血再灌注损伤的作用机制[J]. *中南药学*, 2021, 19(1): 30-38.

XIE F, DUAN G J, WANG B, et al. Effect of dried ginger-aconite decoction on myocardial ischemia-reperfusion injury and related mechanism based on network pharmacology[J]. *Cent South Pharm*, 2021, 19(1): 30-38.

[19] LIANG J, YUAN X, et al. Effect and mechanism of fluoxetine on electrophysiology *in vivo* in a rat model of postmyocardial infarction depression [J]. *Drug Des Devel*

- Ther, 2015, 9: 763-772.
- [20] WANG Y, CHEN Y, LI B, et al. The antidepressant effect of Shexiang Baoxin pills on myocardial infarction rats with depression may be achieved through the inhibition of the NLRP3 inflammasome pathway [J]. *Brain Behav*, 2024, 14(7): e3586.
- [21] 陈聪, 周静, 侯雅静, 等. 逍遥散对抑郁大鼠大脑皮层 NLRP3 信号通路和凋亡分子的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(11): 5203-5207.
- CHEN C, ZHOU J, HOU Y J, et al. Effects of Xiaoyaosan on NLRP3 signaling pathway and apoptotic molecules in the cerebral cortex of depressed rats [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2023, 38(11): 5203-5207.
- [22] CUI Z, YANG Q, et al. The bidirectional relationship between myocardial infarction and depression: Risk factors, mechanisms, and interventions [J]. *Biomedicines*, 2025, 13(11): 2838.
- [23] 原浩森, 王森友, 张茂云. 基于 MMP9/NLRP3 炎症小体信号通路介导的炎性反应探究桂枝加龙骨牡蛎汤对心肌梗死后抑郁大鼠的影响 [J]. *吉林医学*, 2025, 46(12): 2904-2908.
- YUAN H S, WANG S Y, ZHANG M Y. Probing the effect of Guizhi plus Longgu Muli decoction on post-infarction depressed rats based on the inflammatory response mediated by MMP9/NLRP3 inflammatory vesicle signalling pathway [J]. *Jilin Med J*, 2025, 46(12): 2904-2908.
- [24] MA Y, SONG R, DUAN C. Mitochondrial quality control and transfer communication in neurological disorders and neuroinflammation [J]. *Front Immunol*, 2025, 16: 1542369.
- [25] CHEN L, QIN Y, et al. PGC-1 α -mediated mitochondrial quality control: Molecular mechanisms and implications for heart failure [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 871357.
- [26] ZHOU T Y, MA R X, LI J, et al. Review of PINK1-Parkin-mediated mitochondrial autophagy in Alzheimer's disease [J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 959: 176057.
- [27] CHOI E H, KIM M H, PARK S J. Targeting mitochondrial dysfunction and reactive oxygen species for neurodegenerative disease treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(14): 7952.
- [28] WANG S, LONG H, HOU L, et al. The mitophagy pathway and its implications in human diseases [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 304.
- [29] LI L, JIN L, TIAN Y, WANG J. Semaglutide enhances PINK1/Parkin-dependent mitophagy in hypoxia/reoxygenation-induced cardiomyocyte injury [J]. *Mol Med Rep*, 2025, 31(5): 111.

[责任编辑 顾雪竹]