

· 药理 ·

基于线粒体能量代谢-糖酵解重编程机制的逍遥散联合 附子理中丸改善脾虚背景下高脂饮食相关抑郁行为分析

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, Amir Hooman Kazemi⁵, 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;
5. 德黑兰医科大学, 德黑兰 1136746911, 伊朗)

[摘要] 目的:从线粒体能量代谢-糖酵解重编程角度,探讨逍遥散联合附子理中丸对脾虚背景下高脂饮食相关抑郁样行为大鼠的改善作用,并初步阐明其作用机制。方法:采用脾虚模型联合高脂饮食建立抑郁样行为大鼠模型,随机分为正常组、脾虚组、高脂组、脾虚高脂组、附子理中丸组($1.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、逍遥散组($1.01\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)及联合用药组($2.51\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)。通过糖水偏好、旷场和强迫游泳实验评估抑郁样行为;采用苏木素-伊红(HE)及尼氏小体染色观察海马组织病理改变,HE及油红O染色评估肝脏脂质沉积;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测脑组织5-羟色胺(5-HT)、多巴胺(DA)水平及血清血脂和炎症因子水平;结合非靶向蛋白组学和代谢组学分析能量代谢及糖酵解通路变化;检测三磷酸腺苷(ATP)含量及线粒体呼吸链功能,采用实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)和蛋白免疫印迹法(Western blot)分析线粒体功能、单磷酸腺苷(AMP)活化蛋白激酶(AMPK)通路及糖酵解相关指标,并测定乳酸和丙酮酸水平。结果:与正常组比较,脾虚高脂组大鼠自主活动及糖水消耗率降低,强迫游泳静止时间明显延长($P<0.05$),并伴有海马神经元损伤、尼氏小体减少及肝脏脂质沉积增加;同时,5-HT、DA、ATP生成及线粒体呼吸链功能下降,血脂、炎症因子、糖酵解相关指标明显升高,AMPK/ACC信号通路磷酸化水平异常升高($P<0.05$)。联合用药可明显改善上述异常,其综合效果优于单用附子理中丸或逍遥散($P<0.05$)。结论:附子理中丸联合逍遥散可通过协同调控线粒体能量代谢与糖酵解重编程,恢复能量稳态并减轻炎症反应,从而改善脾虚背景下高脂饮食相关抑郁样行为。

[关键词] 逍遥散; 附子理中丸; 抑郁; 线粒体能量代谢; 糖酵解重编程

[中图分类号] R287;R285;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)16-0092-15

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20260616

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260518.1022.001>

[网络出版日期] 2026-05-18 14:47:43 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Xiaoyaosan Combined with Fuzi Lizhongwan Reduces High-fat Diet-induced Depressive-like Behavior in Rats with Spleen Deficiency by Regulating Mitochondrial Energy Metabolism and Glycolysis Reprogramming

ZHONG Zhen^{1,2,3}, WEI Dongsheng^{1,4}, XIONG Xinyue¹, LI Lin¹, YAO Mingli¹, SHI Xinnuan¹,
Amir Hooman Kazemi⁵, 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. Beijing Key Laboratory of Health Cultivation, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029,

[收稿日期] 2026-02-14

[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

China; 4. Key Laboratory of Ministry of Education for Traditional Chinese Medicine (TCM)

Viscera-State Theory and Applications, Liaoning University of TCM, Shenyang 110847, China;

5. Tehran University of Medical Sciences, Tehran 1136746911, Iran)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of Fuzi Lizhongwan combined with Xiaoyaosan on the high-fat diet-induced depressive-like behavior in rats with spleen deficiency by focusing on mitochondrial energy metabolism and glycolysis reprogramming. **Methods:** A high-fat diet was used for the modeling of depressive-like behavior in a rat model of spleen deficiency. Rats were assigned into control, spleen deficiency, high-fat diet, spleen deficiency + high-fat diet, Fuzi Lizhongwan ($1.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), Xiaoyaosan ($1.01 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), and combined treatment (Fuzi Lizhongwan + Xiaoyaosan, $2.51 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) groups. Depression-like behavior was assessed by sucrose preference, open field, and forced swimming tests. Hematoxylin-eosin (HE) staining and Nissl staining were conducted to observe pathological changes in the hippocampus, and oil red O staining to assess lipid deposition in the liver. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed to measure 5-hydroxytryptamine (5-HT), dopamine (DA), lipid, and inflammatory factor levels. Non-targeted proteomics and metabolomics were employed to analyze energy metabolism and glycolysis pathways. Adenosine triphosphate (ATP) content and mitochondrial function were measured. Mitochondrial function, AMP-activated protein kinase (AMPK) pathway, and glycolysis-related indicators were assessed by Real-time PCR and Western blot. Furthermore, lactate and pyruvate levels were measured. **Results:** Compared with the control group, the spleen deficiency + high-fat diet group showed reduced spontaneous behavior and sucrose consumption and prolonged immobile time in the forced swimming test ($P < 0.05$), hippocampal damage, hippocampal damage, reduced Nissl bodies, and increased hepatic lipid deposition. Furthermore, this group exhibited declined levels of 5-HT, DA, and ATP, weakened function of the mitochondrial respiratory chain, elevated levels of lipids, inflammatory factors, and glycolysis-related indicators, along with abnormally elevated phosphorylation levels of the AMPK/ACC pathway ($P < 0.05$). The combined treatment significantly alleviated these abnormalities, with better effects than Fuzi Lizhongwan or Xiaoyaosan alone. **Conclusion:** Fuzi Lizhongwan combined with Xiaoyaosan synergistically regulates mitochondrial energy metabolism and glycolysis reprogramming to restore energy homeostasis and reduce the high-fat diet-induced depressive-like behavior in rats with spleen deficiency.

[Keywords] Xiaoyaosan; Fuzi Lizhongwan; depression; mitochondrial energy metabolism; glycolysis reprogramming

近年来,随着社会老龄化进程加快及生活方式西化,高脂饮食相关代谢异常人群持续增加,肥胖、血脂紊乱及胰岛素抵抗等代谢综合征患病率逐年上升^[1]。大量流行病学研究表明,长期高脂饮食不仅显著增加心血管及代谢性疾病风险,同时与抑郁障碍的发生发展密切相关^[2-3]。与一般抑郁状态比较,代谢异常背景下的抑郁常伴有快感缺失、行为动力不足及治疗反应欠佳等特点^[4],提示其具有不同于经典抑郁的独特病理基础。然而,目前对于高脂饮食相关抑郁的核心机制尚不清楚,尤其缺乏针对关键病理环节的有效干预策略。

现有研究认为,高脂饮食诱导的系统性代谢紊乱可通过外周炎症激活、中枢免疫异常及神经代谢失衡等多重途径影响脑功能^[5]。其中,能量代谢障碍被认为是连接代谢异常与抑郁行为的重要中介环节^[6-7]。在线粒体层面,高脂负荷可损伤线粒体结构与功能,降低氧化磷酸化效率,导致三磷酸腺苷(ATP)生成减少和活性氧蓄积^[8];与此同时,神经细胞为维持基本生存需要,往往发生以糖酵解增强为特征的代偿性代谢重塑,即糖酵解重编程^[9]。这种低效供能方式虽可短期维持细胞存活,却难以满足神经元长期高耗能需求,反而进一步加重氧化应激和代谢负担,

干扰单胺类神经递质合成、突触可塑性及神经环路稳态,最终促进抑郁样行为的形成^[10]。因此,线粒体能量代谢受损及糖酵解重编程可能是高脂饮食相关抑郁的重要病理基础和干预靶点。

从中医理论看,长期饮食失节、膏粱厚味易损伤脾阳,导致运化失司,进而形成痰湿、膏浊内生的病理基础^[11]。脾虚则水谷精微化生不足,其本质与现代医学所指向的能量供给不足、代谢稳态失衡具有一定一致性;病程迁延则痰湿内阻、气机郁滞,进而影响情志活动,出现情绪低落、倦怠乏力、兴趣减退等抑郁相关表现^[12]。因此,脾虚不仅是高脂饮食所致代谢异常的重要内在基础,也是代谢相关抑郁发生的重要病机环节,其演变过程可概括为“脾虚失运-能量不足-代谢失衡-情志失调”^[13]。这一认识提示,从“脾虚”入手调控能量代谢稳态,可能是中医药干预高脂饮食相关抑郁的重要切入点。

附子理中丸(FZLZW)源于《伤寒论》,具有温中健脾、扶阳益气之功,现代研究表明其在改善线粒体功能、促进能量代谢及调节脂质代谢方面具有一定作用^[14-15]。逍遥散(XYS)出自《太平惠民和剂局方》,具有疏肝解郁、健脾养血之效,在改善抑郁情绪和行为低活性方面显示出较好疗效^[16],其活性成

分还可通过调节中枢神经递质水平、抑制炎症反应及改善神经元能量代谢发挥抗抑郁作用^[17]。然而,目前关于FZLZW联合XYS对高脂饮食相关抑郁的干预作用,尤其是其是否通过改善线粒体能量代谢障碍及糖酵解重编程发挥效应,尚缺乏系统研究。从病机角度看,脾虚为本、气机郁滞为标,是高脂饮食相关抑郁的重要内在逻辑。FZLZW侧重“扶正补虚、温阳益能”,XYS强调“疏肝解郁、调畅气机”,二者联合应用,既可改善脾虚背景下的能量供给不足,又可缓解气机郁滞所致的情绪障碍,体现了“补中寓疏、标本兼顾”的治疗思路^[18-19]。然而,其协同改善代谢相关抑郁的现代生物学机制,尤其是是否通过调控线粒体能量代谢与糖酵解重编程实现中枢功能恢复,尚缺乏系统实验研究。

基于此,本研究从“脾虚-能量不足-抑郁”的中西医结合逻辑出发,围绕线粒体能量代谢受损及糖酵解重编程这一关键环节,观察FZLZW联合XYS对高脂饮食相关抑郁样行为的改善作用,并探讨其对炎症状态、神经递质及能量代谢相关指标的调节效应,以期阐明其可能机制,为中医药防治高脂饮食相关抑郁提供实验依据和理论支持。

1 材料

1.1 动物 选用SD雄性大鼠,6~8周龄,体质量(200±20)g,购自维通利华实验动物技术有限公司(北京),合格证号SCXK(京)2019-0010。饲养于北京中医药大学实验动物中心,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/12h光/暗交替,自由饮食饮水。

1.2 伦理 所有实验操作符合《关于善待实验动物的指导性意见》,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 药物与试剂 YYS由柴胡、当归、白芍、白术、茯苓、炙甘草、生姜及薄荷组成;FZLZW由制附子、人参、白术、干姜及炙甘草组成。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,均符合2025年版《中华人民共和国药典》相关标准。免冰浴快速转膜缓冲液(10×)、放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液、TBS/聚山梨醇酯缓冲液(10×)、蛋白上样缓冲液(非还原型5×)、无蛋白快速封闭液、总RNA提取试剂、三色预染蛋白Marker、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、脱脂奶粉(雅酶生物科技有限公司,货号

分别为PS201、YY101、PC101、PS103、LT101S、PS108P、WJ107、LF205S、PS112L);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)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);ATP含量测定试剂盒、TG测定试剂盒(比色法,南京建成生物工程研究所,货号分别为A095-1-1、A110-1-1);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);油红O染色试剂盒(碧云天生物技术有限公司,货号C0157S);尼氏(Nissl)染色液(北京兰杰柯科技有限公司,货号BL999A);血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒(武汉赛维尔生物技术有限公司,批号分别为GM1113、GM1114、GM1115、GM1116);增强化学发光法(ECL)检测试剂(上海天能科技有限公司,货号180-506);NADH脱氢酶[泛醌]Fe-S蛋白1(NDUFS1)、泛醌-细胞色素C还原酶核心蛋白2(UQCRC2)、细胞色素C氧化酶亚基IV(COX IV)、ATP合酶F1亚基 α (ATP5A)、一磷酸腺苷(AMP)活化蛋白激酶(AMPK)、磷酸化(p)-AMPK、乙酰辅酶A羧化酶(ACC)、p-ACC、葡萄糖转运蛋白1(GLUT1)、6-磷酸果糖-2-激酶/果糖-2,6-二磷酸酶3(PFKFB3)、乳酸脱氢酶A(LDHA)抗体、 β -肌动蛋白(β -actin)(武汉三鹰生物科技有限公司,货号分别为180-501、12444-1-AP、14742-1-AP、11242-1-AP、14676-1-AP、10929-2-AP、80209-6-RR、21923-1-AP、29119-1-AP、21829-1-AP、13763-1-AP、19987-1-AP、66009-1-Ig)。

1.4 仪器 SA209型大小鼠强迫游泳实验系统、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、石蜡包埋机、全自动组织脱水机、CM1950型冰冻切片机(德国Leica Microsystems公司);CKX53型倒置显微镜(日本Olympus公司);PROTEAN IEF型SDS-PAGE电泳仪及转膜仪、ChemiDoc XRS⁺型化学发光成像系统(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型微量分光光度计(美国Thermo Fisher Scientific公司);ABI StepOnePlus型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(美国Applied Biosystems公司)。

2 方法

2.1 药物的制备 XYs处方由柴胡15 g、当归15 g、白芍10 g、白术10 g、茯苓12 g、炙甘草6 g、生姜6 g、薄荷3 g组成;FZLZW处方由制附子6 g、人参12 g、炒白术9 g、干姜9 g、炙甘草6 g组成。将上述饮片分别粉碎成粗粉,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℃水浴浓缩至生药分别为1.01、1.5 g·mL⁻¹,4℃避光保存。给药前根据大鼠当日体质量和浓缩药液的实际生药浓度计算取液体积,计算公式为取液体积(mL)=给药剂量(g·kg⁻¹·d⁻¹)×体质量(kg)/浓缩药液生药质量浓度(g·mL⁻¹),即XYs取液体积=1.01×体质量/药液浓度,FZLZW取液体积=1.5×体质量/药液浓度,不足每日灌胃总体积者以蒸馏水补足^[20-21]。联合用药组同时给予XYs与FZLZW,剂量同前,分别按上述公式计算2种药液取用体积后混匀,并以蒸馏水定容。每只大鼠每日灌胃体积固定为2.5 mL,连续给药,使用前复温。

2.2 动物模型制备 采用文献方法进行处理:单日给予维持饲料,双日禁食但不禁水,同时每日将大鼠置于35~37℃温水中游泳至力竭,连续干预15 d^[22-23]。造模过程中每日观察大鼠一般状态变化,包括精神状态、摄食情况、粪便性状、被毛光泽及体质量变化等。造模期间,大鼠逐渐出现游泳耐力下降、食欲减退、大便稀软、毛发粗乱及体质量减轻等表现,据此判定脾虚模型建立成功^[24]。

选用SPF级SD雄性大鼠70只,适应性饲养7 d后,采用随机数字表法分为7组(每组n=10):正常组(CON组)、高脂饲料组(HFD组)、脾虚组(SPD组)、脾虚高脂饲料组(SPD-HFD组)、脾虚高脂饲料FZLZW组(SPD-HFD+FZLZW组)、脾虚高脂饲料XYs组(SPD-HFD+XYs组)及脾虚高脂饲料FZLZW联合XYs组(SPD-HFD+FZLZW+XYs组)。XYs给药剂量按1.01 g·kg⁻¹·d⁻¹灌胃^[20];FZLZW给药剂量按1.5 g·kg⁻¹·d⁻¹灌胃^[21]。联合用药组同时给予XYs与FZLZW,剂量同前,将XYs与FZLZW药液混匀后以蒸馏水定容。每只大鼠每日灌胃体积固定为2.5 mL,连续给药,使用前复温。

2.3 分组和给药 适应性饲养结束后记为第0周。脾虚造模完成后进入高脂饲料干预阶段。除CON组和SPD组继续饲以普通饲料外,其余各组均连续给予高脂饲料喂养至第10周,以建立SPD背景下HFD相关代谢异常模型。第0~10周为造模阶段,其

中前15 d为SPD造模期,随后为HFD持续干预期;第10周为造模完成且药物干预开始前的观察时点。于该阶段结束后,对相关指标进行阶段性评估,以明确模型建立情况。

第10周后进入药物干预阶段,各给药组连续灌胃给药8周,并于第18周进行终点评价。SPD-HFD+FZLZW组给予FZLZW(FZLZW,1.5 g·kg⁻¹·d⁻¹),SPD-HFD+XYs组给予XYs(XYs,1.01 g·kg⁻¹·d⁻¹),SPD-HFD+FZLZW+XYs组同时给予FZLZW(1.5 g·kg⁻¹·d⁻¹)和XYs(1.01 g·kg⁻¹·d⁻¹),共为2.51 g·kg⁻¹·d⁻¹。各组均采用灌胃方式给药,每日1次,每只大鼠每日灌胃总体积固定为2.5 mL;非给药组给予等体积蒸馏水,以保证各组处理条件一致。第0~10周为造模阶段,第10周为造模完成且药物干预开始前的观察时点;第10周后进入给药干预阶段,各给药组连续灌胃8周,并于第18周进行终点评价。

2.4 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。在安静环境下轻握大鼠尾根,将其放入旷场箱中心,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)及移动总距离。测试结束后,捡拾粪粒,用纯净水擦拭并晾干装置后,测定下一只大鼠。

2.5 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。

2.6 糖水消耗实验 于实验第0、10、18周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,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。糖水消耗率按公式计算:糖水消耗率=糖水消耗量/(糖水消耗量+清水消耗量)×100%。

2.7 海马组织HE染色及尼氏小体染色 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。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。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。

2.8 肝组织HE及油红O染色 取大鼠肝脏组织,部分组织置于4%多聚甲醛中固定,常规脱水、透明、石蜡包埋。切片脱蜡至水后进行HE染色,随后经梯度乙醇脱水、透明,并以中性树胶封片。采用光学显微镜观察肝组织结构及肝细胞形态学改变。另取新鲜肝脏组织置于光学相干层析成像(OCT)包埋剂中冷冻包埋,制备冷冻切片。切片经油红O染色后以蒸馏水分化,并进行苏木素复染,水洗后封片。显微镜下观察肝组织脂质沉积情况,采集代表性图像用于分析。

2.9 血清5-HT、DA、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TC、TG、LDL-C、HDL-C的酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测 ELISA测定大鼠5-HT、DA、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 。采用相应生化检测试剂盒检测血清TC、TG、LDL-C及HDL-C水平。

2.10 Real-time PCR检测 TRIzol法提取总RNA,反转录为cDNA,以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,扩增条件如下:95℃预变性30 s;95℃扩增10 s、60℃30 s,共40个循环;72℃延伸2 min。以目的基因与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 sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
PGC-1 α	上游 TGTGGAAAGGTCGGAGTCAA	94
	下游 GGAGGTTGTGCTGGTGTAG	
NRF1	上游 TCCTGGAAGATGTGGTGAGA	57
	下游 GCTGCTGTTGGTGATGATGT	
TFAM	上游 AGGACCTGGTGAGTTTGTGA	93
	下游 TCTGCTCTTTGCCATCTCC	
GAPDH	上游 TCTCTGCTCCTCCCTGTTCT	104
	下游 TACGGCCAAATCCGTTTCA	

2.11 蛋白组学及代谢组分析 取大鼠海马组织液氮速冻保存。蛋白组学样本经裂解、超声破碎及离

心后取上清,测定蛋白浓度,取等量蛋白进行还原、烷基化及胰蛋白酶酶解,酶解产物脱盐后进行液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)分析。获得的质谱数据经数据库检索后进行蛋白鉴定与定量,以差异倍数(FC)>2或FC<0.5且P<0.05为差异蛋白筛选标准,并进行基因本体(GO)功能注释及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。代谢组学样本经提取后进行非靶向LC-MS分析,原始数据经峰提取、比对及归一化处理后,结合主成分分析(PCA)等多变量统计分析筛选差异代谢物,以VIP>1、FC>2或FC<-2且P<0.05为差异代谢物筛选标准,并进行KEGG通路富集分析。

2.12 比色法检测ATP含量及线粒体呼吸链复合物I~IV活性 取各组大鼠海马组织约50 mg,加入适量生理盐水制成10%组织匀浆。按照ATP含量检测试剂盒说明书,采用比色法检测组织ATP含量。另取组织样本提取线粒体,按照线粒体呼吸链复合物测定试剂盒说明书,采用比色法检测线粒体呼吸链复合物I~IV的活性。

2.13 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测相关蛋白表达 取海马组织约50 mg,加入RIPA裂解液匀浆裂解,离心取上清测定蛋白浓度。等量蛋白经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)后转膜至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,5%脱脂奶粉封闭1 h,加入一抗NDUFS1(1:6 000)、UQCRC2(1:7 000)、COX IV(1:10 000)、ATP5A(1:25 000)、AMPK(1:25 000)、p-AMPK(1:3 000)、ACC(1:10 000)、p-ACC(1:1 000)、GLUT1(1:4 000)、PFKFB3(1:3 000)、LDHA(1:5 000)、 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, β -actin为内参。

2.14 统计学分析 采用SPSS 26.0软件进行统计分析,计量资料均 $\bar{x}\pm s$ 表示。符合正态分布且方差齐的数据,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性差异法(LSD)-*t*检验;方差不齐时采用Welch方差分析及Games-Howell检验;不符合正态分布的数据采用Kruskal-Wallis *H*检验,组间两两比较采用Bonferroni校正。以P<0.05为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠行为学指标 第0周,各组大鼠旷场实验运动总格数、直立次数、移动总距离、游泳静止时间

及糖水消耗率比较,差异均无统计学意义。第10周为造模完成、药物干预开始前观察时点。与CON组比较,HFD组运动总格数、直立次数、移动总距离及糖水消耗率均明显降低($P<0.05$),游泳静止时间明显升高($P<0.05$)。与HFD组比较,SPD组直立次数和移动总距离明显升高($P<0.05$),游泳静止时间明显降低($P<0.05$)。与CON组比较,SPD-HFD组运动总格数、直立次数、移动总距离及糖水消耗率均明显降低($P<0.05$),游泳静止时间明显升高($P<0.05$);与HFD组比较,SPD-HFD组移动总距离明显降低($P<0.05$),游泳静止时间明显升高($P<0.05$);与SPD组比较,SPD-HFD组直立次数、移动总距离及糖水消耗率明显降低($P<0.05$),游泳静止时间明显升高($P<0.05$)。

第0~10周为造模阶段,仅进行SPD及HFD相关模型构建,各给药组在该阶段与SPD-HFD组处理方式相同,尚未给予药物干预,此时各用药组等同于SPD-HFD组。因此第10周数据仅在CON、HFD、SPD及SPD-HFD组间进行统计学比较;第11~18周为药物干预周期,18周为药物干预结束后评价节点,统计学比较包括模型组与各给药组之间,以及联合用药组与单药组之间的比较。第10周时,各给药组尚未开始药物干预,其行为学变化与SPD-HFD组基本一致。与CON组比较,SPD-HFD+FZLZW组、SPD-HFD+XYS组及SPD-HFD+FZLZW+XYS组运动总格数、移动总距离及糖水消耗率均明显降低($P<0.05$),游泳静止时间明显升高($P<0.05$);SPD-HFD+FZLZW组和SPD-HFD+XYS组直立次

数明显降低($P<0.05$)。与HFD组比较,SPD-HFD+FZLZW组和SPD-HFD+XYS组直立次数明显降低,3组移动总距离明显降低($P<0.05$),游泳静止时间明显升高($P<0.05$)。与SPD组比较,SPD-HFD+XYS组运动总格数明显降低,3组移动总距离及糖水消耗率明显降低,游泳静止时间明显升高($P<0.05$)。第18周药物干预结束后,与CON组比较,HFD组运动总格数、直立次数及移动总距离明显降低($P<0.05$),游泳静止时间明显升高($P<0.05$)。与HFD组比较,SPD组直立次数和移动总距离明显升高($P<0.05$)。与CON组和SPD组比较,SPD-HFD组运动总格数、直立次数、移动总距离及糖水消耗率均明显降低($P<0.05$),游泳静止时间明显升高($P<0.05$);与HFD组比较,SPD-HFD组移动总距离和糖水消耗率明显降低($P<0.05$),游泳静止时间明显升高($P<0.05$)。与SPD-HFD组比较,SPD-HFD+FZLZW组各行为学指标差异无统计学意义;SPD-HFD+XYS组直立次数和移动总距离明显升高($P<0.05$),游泳静止时间明显降低($P<0.05$),且其移动总距离高于SPD-HFD+FZLZW组,游泳静止时间低于SPD-HFD+FZLZW组($P<0.05$)。与SPD-HFD组比较,SPD-HFD+FZLZW+XYS组运动总格数、直立次数、移动总距离及糖水消耗率明显升高($P<0.05$),游泳静止时间明显降低($P<0.05$);与SPD-HFD+FZLZW组和SPD-HFD+XYS组比较,SPD-HFD+FZLZW+XYS组移动总距离和糖水消耗率明显升高($P<0.05$),游泳静止时间明显降低($P<0.05$)。结果见表2-表4。

表2 XYS联合FZLZW对大鼠旷场实验运动总格数及直立次数的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of YYS combined with FZLZW on total grid crossings and number of rearings in open field test of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	运动总格数/个			直立次数/次		
		第0周	第10周	第18周	第0周	第10周	第18周
CON组		164.28±12.26	167.87±10.43	159.41±15.96	29.06±4.50	28.50±7.46	26.21±9.03
HFD组		161.02±10.67	124.23±53.74 ¹⁾	109.98±56.56 ¹⁾	29.90±4.82	17.90±4.28 ¹⁾	15.12±2.81 ¹⁾
SPD组		159.48±11.21	157.88±12.54	139.66±12.87	28.70±4.85	27.70±9.67 ²⁾	25.64±11.02 ²⁾
SPD-HFD组		166.99±5.60	116.17±45.98 ¹⁾	90.93±44.20 ^{1,3)}	30.40±5.04	15.50±2.24 ^{1,3)}	9.36±3.71 ^{1,3)}
SPD-HFD+FZLZW组	1.5	151.03±8.41	113.23±24.51 ¹⁾	118.24±22.21	27.60±5.74	14.20±7.00 ^{1,2)}	14.78±5.02
SPD-HFD+XYS组	1.01	162.66±10.02	110.27±27.19 ^{1,3)}	127.92±29.72	28.50±5.64	16.80±10.13 ^{1,2)}	19.97±12.11 ⁴⁾
SPD-HFD+FZLZW+XYS组	2.51	169.63±7.94	119.59±33.28 ¹⁾	141.28±22.97 ⁴⁾	31.30±6.24	24.50±5.48	20.41±7.26 ⁴⁾

注:与CON组比较¹⁾ $P<0.05$;与HFD组比较²⁾ $P<0.05$;与SPD组比较³⁾ $P<0.05$;与SPD-HFD组比较⁴⁾ $P<0.05$;与SPD-HFD+FZLZW组比较⁵⁾ $P<0.05$;与SPD-HFD+XYS组比较⁶⁾ $P<0.05$ (表3-表12同)

3.2 XYS联合FZLZW对大鼠脑组织学及脑神经元变化的影响 海马组织HE染色结果显示,CON组海马结构完整,神经元排列规则;与CON组比较,

HFD组海马结构轻度紊乱,SPD组未见明显异常,SPD-HFD组损伤最明显,表现为神经元排列紊乱、层次结构不清及细胞形态异常。与SPD-HFD组比

表3 XYS联合FZLZW对大鼠旷场实验运动总距离及游泳静止时间的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effect of XYS combined with FZLZW on total distance traveled in open field test and immobility time in swimming test of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	移动总距离/cm			游泳静止时间/s		
		第0周	第10周	第18周	第0周	第10周	第18周
CON组		2 979.56±260.96	3 189.76±137.01	2 894.76±195.41	110.73±20.27	107.55±13.48	105.82±22.63
HFD组		2 959.06±199.18	2 503.92±167.56 ¹⁾	2 421.92±276.46 ¹⁾	112.34±35.35	140.27±20.36 ¹⁾	133.93±16.86 ¹⁾
SPD组		3 093.47±313.38	3 085.00±377.67 ²⁾	2 885.65±407.13 ²⁾	100.32±26.31	112.49±13.72 ²⁾	112.23±26.29
SPD-HFD组		3 102.49±334.11	2 018.56±157.31 ^{1,2,3)}	1 741.71±279.91 ^{1,2,3)}	111.87±28.83	241.31±16.83 ^{1,2,3)}	271.06±38.27 ^{1,2,3)}
SPD-HFD+FZLZW组	1.5	3 244.30±147.37	1 946.43±125.09 ^{1,2,3)}	1 987.34±183.44	122.08±25.03	238.89±21.18 ^{1,2,3)}	246.82±26.36
SPD-HFD+XYS组	1.01	3 010.73±340.03	2 104.76±258.29 ^{1,2,3)}	2 378.61±316.79 ^{4,5)}	99.69±35.56	249.87±14.56 ^{1,2,3)}	189.62±16.40 ^{4,5)}
SPD-HFD+FZLZW+XYS组	2.51	3 093.87±192.26	1 904.95±215.94 ^{1,2,3)}	2 753.51±189.41 ^{4,5,6)}	116.12±27.66	241.16±26.85 ^{1,2,3)}	142.11±30.91 ^{4,5,6)}

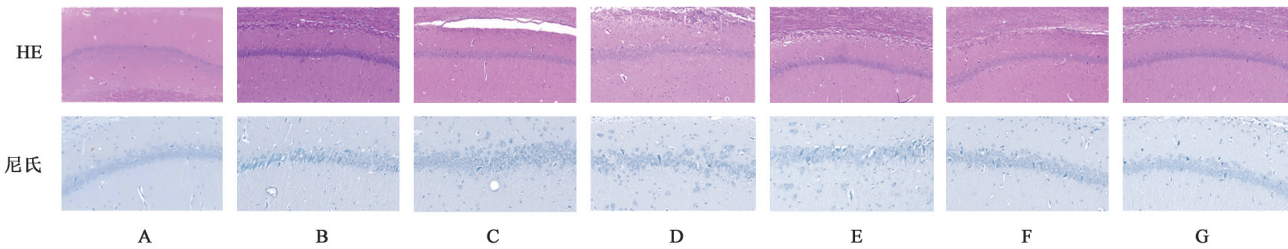
表4 XYS联合FZLZW对大鼠糖水消耗率的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 4 Effect of XYS combined with FZLZW on sucrose consumption rates of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$) %

组别	剂量/g·kg ⁻¹	第0周	第10周	第18周
CON组		70.58±10.58	72.32±11.94	66.51±8.22
HFD组		68.78±8.06	57.04±8.55 ¹⁾	54.31±10.03
SPD组		67.81±13.80	71.23±12.87	69.47±14.55 ²⁾
SPD-HFD组		69.12±11.27	42.55±12.57 ^{1,3)}	34.68±11.81 ^{1,2,3)}
SPD-HFD+FZLZW组	1.5	64.93±10.14	40.61±9.48 ^{1,3)}	35.42±7.02
SPD-HFD+XYS组	1.01	68.92±10.40	44.23±13.33 ^{1,3)}	45.91±6.27
SPD-HFD+FZLZW+XYS组	2.51	62.24±9.54	45.46±13.19 ^{1,3)}	61.18±15.64 ^{4,5,6)}

较,SPD-HFD+FZLZW组和SPD-HFD+XYS组海马组织损伤均有所减轻,SPD-HFD+FZLZW+XYS组改善更明显。尼氏小体染色结果显示,CON组尼氏小体染色清晰、分布较均匀;与CON组比较,HFD组尼氏小体染色减弱,SPD组变化不明显,

SPD-HFD组尼氏小体染色明显减弱、数量减少。与SPD-HFD组比较,SPD-HFD+FZLZW组和SPD-HFD+XYS组尼氏小体染色增强,SPD-HFD+FZLZW+XYS组改善更明显,整体状态较接近CON组。见图1。



注:A.CON组;B.HFD组;C.SPD组;D.SPD-HFD组;E.SPD-HFD+FZLZW;F.SPD-HFD+XYS;G.SPD-HFD+FZLZW+XYS(图2-图5同)

图1 XYS联合FZLZW对大鼠海马组织的影响($\times 200$)

Fig. 1 Effect of XYS combined with FZLZW on hippocampal tissue of rats ($\times 200$)

3.3 XYS联合FZLZW对大鼠肝组织形态的影响

肝组织HE染色结果显示,CON组肝小叶结构完整,肝细胞排列规则;与CON组比较,HFD组肝组织出现轻度结构紊乱及局灶性脂肪变性,SPD组肝组织形态未见明显异常,SPD-HFD组肝组织损伤加重,表现为肝细胞脂肪变性、脂滴沉积增多及肝索排列紊乱。与SPD-HFD组比较,SPD-HFD+

FZLZW组和SPD-HFD+XYS组肝组织病理损伤均有所减轻,SPD-HFD+FZLZW+XYS组改善更明显。油红O染色结果显示,CON组肝组织脂质沉积较少;与CON组比较,HFD组脂质沉积增加,SPD组变化不明显,SPD-HFD组脂滴聚集明显。与SPD-HFD组比较,SPD-HFD+FZLZW组和SPD-HFD+XYS组脂质沉积减少,SPD-HFD+FZLZW+XYS组

减少更明显。XYS联合FZLZW对大鼠肝组织的影响见图2。

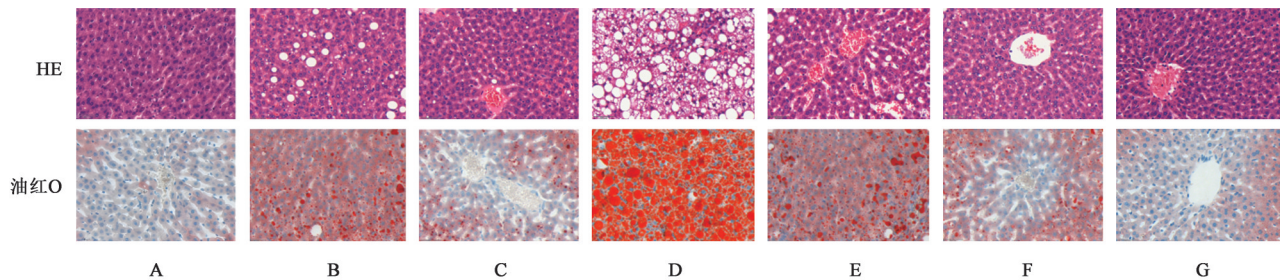


图2 XYs联合FZLZW对大鼠肝组织的影响(×200)
Fig. 2 Effect of XYs combined with FZLZW on liver tissue of rats (×200)

3.4 XYs联合FZLZW对大鼠脑5-HT及DA水平的影响 与CON组比较,HFD组、SPD组大鼠脑组织5-HT和DA水平均明显降低($P<0.05$)。与HFD组比较,SPD组大鼠脑组织5-HT和DA水平均明显降低($P<0.05$)。与HFD组和SPD组比较,SPD-HFD组5-HT和DA水平均明显降低($P<0.05$),提示脾虚叠加高脂饮食后中枢单胺类神经递质下降更明显。与SPD-HFD组比较,SPD-HFD+FZLZW组、SPD-HFD+XYS组及SPD-HFD+FZLZW+XYS组5-HT和DA水平均明显升高($P<0.05$)。与SPD-HFD+FZLZW组比较,SPD-HFD+XYS组和SPD-HFD+FZLZW+XYS组5-HT水平明显升高($P<0.05$),联合用药组DA水平明显升高($P<0.05$);与SPD-HFD+XYS组比较,联合用药组DA水平明显升高($P<0.05$)。见表5。

表5 XYs联合FZLZW对大鼠抑郁相关指标的影响($\bar{x}\pm s,n=10$)
Table 5 Effect of XYs combined with FZLZW on depression-related indicators of rats ($\bar{x}\pm s,n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	5-HT	DA
CON组		178.87±9.35	159.72±9.41
HFD组		132.84±8.43 ¹⁾	112.51±11.03 ¹⁾
SPD组		159.46±11.26 ^{1,2)}	144.98±7.25 ^{1,2)}
SPD-HFD组		99.74±12.28 ^{2,3)}	89.23±6.98 ^{2,3)}
SPD-HFD+FZLZW组	1.5	138.96±6.53 ⁴⁾	117.44±9.54 ⁴⁾
SPD-HFD+XYS组	1.01	157.09±7.55 ^{4,5)}	128.09±10.28 ⁴⁾
SPD-HFD+FZLZW+XYS组	2.51	162.39±13.09 ^{4,5)}	151.41±8.27 ^{4,5,6)}

3.5 XYs联合FZLZW对大鼠血脂水平的影响 与CON组比较,HFD组大鼠血清TG、TC、LDL-C水平均明显升高,HDL-C水平明显降低($P<0.05$);与HFD组比较,SPD组TG、TC、LDL-C水平均明显降低,HDL-C水平明显升高($P<0.05$)。与HFD组和

SPD组比较,SPD-HFD组TG、TC、LDL-C水平均明显升高($P<0.05$),且HDL-C水平低于SPD组($P<0.05$)。与SPD-HFD组比较,SPD-HFD+FZLZW组TG、TC、LDL-C水平均明显降低($P<0.05$),HDL-C差异无统计学意义;SPD-HFD+XYS组TG、TC、LDL-C水平均明显降低($P<0.05$),其中TC和LDL-C水平均明显低于SPD-HFD+FZLZW组($P<0.05$),HDL-C水平明显低于SPD组($P<0.05$)。与SPD-HFD组比较,SPD-HFD+FZLZW+XYS组TG、TC、LDL-C水平均明显降低($P<0.05$),HDL-C水平明显升高($P<0.05$);与SPD-HFD+FZLZW组和SPD-HFD+XYS组比较,联合用药组TC、LDL-C水平均明显降低($P<0.05$),HDL-C水平明显升高($P<0.05$)。见表6。

3.6 XYs联合FZLZW对大鼠炎症因子水平的影响 与CON组比较,HFD组大鼠血清IL-1 β 、IL-6及TNF- α 水平均明显升高($P<0.05$);与HFD组比较,SPD组IL-1 β 、IL-6及TNF- α 水平均明显降低($P<0.05$)。与HFD组比较,SPD-HFD组IL-1 β 、IL-6及TNF- α 水平均明显降低($P<0.05$);与SPD组比较,SPD-HFD组上述指标均明显升高($P<0.05$)。与SPD-HFD组比较,SPD-HFD+FZLZW组IL-1 β 和TNF- α 水平明显降低($P<0.05$),IL-6水平明显升高($P<0.05$);SPD-HFD+XYS组IL-1 β 、TNF- α 水平均明显降低($P<0.05$),IL-6水平明显升高($P<0.05$),且IL-1 β 和IL-6水平均明显低于SPD-HFD+FZLZW组($P<0.05$)。与SPD-HFD组、SPD-HFD+FZLZW组及SPD-HFD+XYS组比较,SPD-HFD+FZLZW+XYS组IL-1 β 、IL-6及TNF- α 水平均明显降低($P<0.05$)。见表7。

3.7 FZLZW+XYS改善脾虚背景下高脂饮食诱导的线粒体能量代谢异常 蛋白组学PCA结果显示,CON组、HFD组、SPD-HFD组及SPD-HFD+

表6 XYS联合FZLZW对大鼠血脂水平的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 6 Effect of XYS combined with FZLZW on serum lipid levels of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)						mmol·L ⁻¹
组别	剂量/g·kg ⁻¹	TG	TC	HDL-C	LDL-C	
CON组		0.64±0.14	1.82±0.53	2.80±0.26	0.79±0.25	
HFD组		1.24±0.49 ¹⁾	9.47±1.96 ¹⁾	1.53±0.17 ¹⁾	5.69±0.67 ¹⁾	
SPD组		0.72±0.08 ²⁾	3.01±1.41 ²⁾	2.68±0.45 ²⁾	1.25±0.19 ²⁾	
SPD-HFD组		1.82±0.45 ^{2,3)}	13.23±3.08 ^{2,3)}	1.47±0.11 ³⁾	7.29±0.54 ^{2,3)}	
SPD-HFD+FZLZW组	1.5	0.97±0.30 ⁴⁾	7.59±1.04 ⁴⁾	1.68±0.19	4.19±0.33 ⁴⁾	
SPD-HFD+XYS组	1.01	0.75±0.19 ⁴⁾	4.78±0.99 ^{4,5)}	1.83±0.32 ³⁾	2.65±0.17 ^{4,5)}	
SPD-HFD+FZLZW+XYS组	2.51	0.67±0.16 ⁴⁾	1.98±0.83 ^{4,5,6)}	2.49±0.17 ^{4,5,6)}	1.19±0.03 ^{4,5,6)}	

表7 XYS联合FZLZW对大鼠炎症因子水平的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 7 Effect of XYS combined with FZLZW on levels of inflammatory factors of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)						ng·L ⁻¹
组别	剂量/g·kg ⁻¹	IL-1 β	IL-6	TNF- α		
CON组		104.44±7.54	205.44±8.93	629.99±28.86		
HFD组		129.48±9.83 ¹⁾	310.08±7.45 ¹⁾	822.20±20.15 ¹⁾		
SPD组		107.46±6.19 ²⁾	206.63±9.42 ²⁾	665.25±24.32 ²⁾		
SPD-HFD组		172.52±7.14 ^{2,3)}	240.60±6.87 ^{2,3)}	1 061.48±21.49 ^{2,3)}		
SPD-HFD+FZLZW组	1.5	154.13±6.91 ⁴⁾	292.87±7.89 ⁴⁾	792.81±31.74 ⁴⁾		
SPD-HFD+XYS组	1.01	133.92±4.64 ^{4,5)}	256.20±9.85 ^{4,5)}	771.73±28.31 ⁴⁾		
SPD-HFD+FZLZW+XYS组	2.51	116.29±10.57 ^{4,5,6)}	229.41±5.51 ^{4,5,6)}	662.19±35.52 ^{4,5,6)}		

FZLZW+XYS组样本在整体蛋白表达谱上呈现分离趋势,其中HFD组较CON组发生明显偏移,SPD-HFD组在HFD组基础上进一步偏移,而SPD-HFD+FZLZW+XYS组样本分布向CON组方向回归,提示联合用药可一定程度改善脾虚叠加高脂饮食所致的蛋白表达谱异常。差异蛋白分析显示,与CON组比较,HFD组共有1 526个蛋白发生差异表达,其中上调蛋白891个、下调蛋白635个。与HFD组比较,SPD-HFD组差异蛋白进一步改变,其中上调蛋白186个、下调蛋白136个,提示脾虚状态可加重高脂饮食诱导的蛋白表达紊乱。与SPD-HFD组比较,SPD-HFD+FZLZW+XYS组共有673个蛋白发生差异表达,其中上调蛋白228个、下调蛋白445个,提示联合用药可对模型状态下异常表达蛋白产生明显调节作用。差异蛋白热图显示,HFD组主要表现为脂质代谢、炎症反应及线粒体功能相关蛋白表达异常;SPD-HFD组上述异常进一步加重,呈现线粒体能量代谢受损、氧化应激增强及代谢调控失衡等特征;SPD-HFD+FZLZW+XYS组相关蛋白表达整体向CON组回调。PPI网络分析显示,差异蛋白主要集中于蛋白激酶B(Akt)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子1 α (PPARGC1A)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、超氧化物歧化酶2(SOD2)、

线粒体转录因子A(TFAM)等核心节点,提示线粒体稳态、能量代谢及炎症信号之间存在密切关联。GO富集分析显示,差异蛋白主要富集于线粒体自噬、呼吸链复合体组装、ATP合成、线粒体氧化应激应答及脂蛋白结合等功能过程。KEGG富集分析显示,差异蛋白主要涉及PPAR信号通路、脂肪酸代谢、线粒体自噬、AMPK信号通路、糖酵解/糖异生及核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路,提示FZLZW+XYS可能通过调节线粒体能量代谢、脂质代谢及炎症相关通路改善SPD-HFD诱导的异常状态。代谢相关分析图片见增强出版附加材料。

3.8 代谢组学分析揭示FZLZW+XYS纠正脾虚背景下高脂饮食诱导的能量代谢重编程 代谢组学PCA结果显示,CON组、HFD组、SPD-HFD组及SPD-HFD+FZLZW+XYS组样本在整体代谢谱上呈现分离趋势,其中HFD组较CON组明显偏移,SPD-HFD组在HFD组基础上进一步偏移,提示脾虚叠加高脂饮食可进一步加重代谢稳态紊乱;SPD-HFD+FZLZW+XYS组样本分布向CON组方向回归,提示联合用药可改善SPD-HFD诱导的异常代谢状态。差异代谢物热图显示,HFD组主要表现为脂肪酸 β -氧化、酰基肉碱、炎症相关脂质介质及神经递质前体代谢异常;SPD-HFD组上述代谢紊乱

进一步加重,并伴随能量底物利用受限、氧化还原代谢失衡及神经递质相关代谢异常;SPD-HFD+FZLZW+XYS组差异代谢物整体向CON组回调,提示联合用药可部分逆转模型状态下的代谢异常。KEGG富集分析显示,差异代谢物主要富集于三羧酸循环、氧化磷酸化、脂肪酸降解、糖酵解/糖异生、丙酮酸代谢、戊糖磷酸途径、AMPK信号通路、mTOR信号通路、谷胱甘肽代谢、铁死亡、花生四烯酸代谢、GABA能突触及色氨酸代谢等通路,提示FZLZW+XYS可能通过调节线粒体能量代谢、糖酵解重编程、氧化应激及神经递质相关代谢过程改善SPD-HFD诱导的代谢异常。见增强出版附加材料。

3.9 **XYS联合FZLZW对大鼠海马组织ATP及线粒体呼吸链含量的影响** 与CON组比较,HFD组海马组织ATP含量及线粒体呼吸链复合物I、II、III、IV活性均明显降低($P<0.05$);SPD组ATP含量及

复合物I活性明显降低($P<0.05$),与HFD组比较,SPD组ATP含量及复合物I、III、IV活性明显升高($P<0.05$);与HFD组比较,SPD-HFD组ATP含量及复合物I、II活性明显降低($P<0.05$);与SPD组比较,SPD-HFD组ATP含量及复合物I、II、III、IV活性均明显降低($P<0.05$);与SPD-HFD组比较,SPD-HFD+FZLZW组ATP含量及复合物III、IV活性明显升高($P<0.05$),SPD-HFD+XYS组ATP含量及复合物I、II、III、IV活性均明显升高($P<0.05$),且ATP含量及复合物I、III活性高于SPD-HFD+FZLZW组($P<0.05$);与SPD-HFD组比较,SPD-HFD+FZLZW+XYS组ATP含量及复合物I、II、III、IV活性均明显升高($P<0.05$);与SPD-HFD+FZLZW组比较,联合用药组ATP含量及复合物I、III、IV活性明显升高($P<0.05$);与SPD-HFD+XYS组比较,联合用药组复合物I活性明显升高($P<0.05$)。见表8。

表8 **XYS联合FZLZW对大鼠海马组织ATP及线粒体呼吸链复合物I~IV活性水平的影响** ($\bar{x}\pm s, n=3$)
Table 8 **Effect of YYS combined with FZLZW on ATP content and activities of mitochondrial respiratory chain complexes I - IV in hippocampal tissue of rats** ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	ATP /μmol·g ⁻¹	线粒体呼吸链 复合物 I /U·mg ⁻¹	线粒体呼吸链 复合物 II /U·mg ⁻¹	线粒体呼吸链 复合物 III /U·mg ⁻¹	线粒体呼吸链 复合物 IV /U·mg ⁻¹
CON组		4 776.04±164.09	2 683.33±114.98	194.97±18.15	116.93±7.76	225.57±23.95
HFD组		3 400.72±147.30 ¹⁾	1 804.25±132.09 ¹⁾	129.13±18.73 ¹⁾	71.22±5.28 ¹⁾	126.98±19.83 ¹⁾
SPD组		4 198.73±242.05 ^{1,2)}	2 268.46±109.56 ^{1,2)}	187.22±21.10	109.46±9.49 ²⁾	198.73±17.59 ²⁾
SPD-HFD组		2 377.75±153.21 ^{2,3)}	1 114.50±97.07 ^{2,3)}	72.41±14.55 ^{2,3)}	58.21±10.65 ³⁾	80.91±7.73 ³⁾
SPD-HFD+FZLZW组	1.5	3 873.16±160.59 ⁴⁾	1 429.66±145.46	105.95±20.88	86.14±7.23 ⁴⁾	145.90±11.68 ⁴⁾
SPD-HFD+XYS组	1.01	4 426.06±157.50 ^{4,5)}	2 127.68±111.22 ^{4,5)}	131.79±19.98 ⁴⁾	117.79±10.83 ^{4,5)}	189.50±19.85 ⁴⁾
SPD-HFD+FZLZW+XYS组	2.51	4 627.98±166.71 ^{4,5)}	2 626.98±157.55 ^{4,5,6)}	139.82±18.57 ⁴⁾	105.94±15.64 ^{4,5)}	209.99±15.72 ^{4,5)}

3.10 **各组大鼠PGC-1α、核呼吸因子1(Nrf1)和TFAM的mRNA表达水平** 与CON组比较,HFD组PGC-1α、Nrf1和TFAM mRNA表达水平均明显降低($P<0.05$);SPD组PGC-1α mRNA表达水平明显降低($P<0.05$),Nrf1和TFAM变化差异无统计学意义。与HFD组比较,SPD组Nrf1 mRNA表达水平明显升高($P<0.05$)。与HFD组和SPD组比较,SPD-HFD组PGC-1α、Nrf1和TFAM mRNA表达水平均明显降低($P<0.05$)。与SPD-HFD组比较,SPD-HFD+FZLZW组、SPD-HFD+XYS组及SPD-HFD+FZLZW+XYS组PGC-1α、Nrf1和TFAM mRNA表达水平均明显升高($P<0.05$)。与SPD-HFD+FZLZW组比较,SPD-HFD+XYS组Nrf1和TFAM mRNA表达水平明显升高($P<0.05$),SPD-HFD+FZLZW+XYS组PGC-1α和Nrf1 mRNA表达水平明显升高($P<0.05$)。见表9。

3.11 **Western blot检测各组大鼠海马组织线粒体功能** 与CON组比较,HFD组NDUFS1、UQCRC2和ATP5A蛋白表达水平均明显降低($P<0.05$),COX IV蛋白表达水平明显升高($P<0.05$);SPD组NDUFS1、UQCRC2和ATP5A蛋白表达水平明显降低($P<0.05$),COX IV蛋白表达水平明显升高($P<0.05$),且COX IV水平高于HFD组($P<0.05$)。与HFD组比较,SPD-HFD组NDUFS1和UQCRC2蛋白表达水平明显降低($P<0.05$),COX IV蛋白表达水平明显升高($P<0.05$);与SPD组比较,SPD-HFD组UQCRC2蛋白表达水平明显降低($P<0.05$),COX IV蛋白表达水平明显升高($P<0.05$)。与SPD-HFD组比较,SPD-HFD+FZLZW组和SPD-HFD+XYS组NDUFS1、UQCRC2、COX IV和ATP5A蛋白表达水平均明显升高($P<0.05$);与SPD-HFD+FZLZW组比较,SPD-HFD+XYS组UQCRC2蛋白表达水平明显

表 9 XYs联合 FZLZW 对大鼠 PGC-1α、Nrf1 和 TFAM 的 mRNA 表达水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	PGC-1α	Nrf1	TFAM
CON 组		1.00±0.07	1.00±0.09	1.00±0.03
HFD 组		0.64±0.04 ¹⁾	0.46±0.05 ¹⁾	0.61±0.04 ¹⁾
SPD 组		0.79±0.06 ¹⁾	0.94±0.07 ²⁾	0.92±0.09
SPD-HFD 组		0.34±0.07 ^{2,3)}	0.20±0.03 ^{2,3)}	0.34±0.03 ^{2,3)}
SPD-HFD+FZLZW 组	1.5	0.85±0.05 ⁴⁾	0.99±0.06 ⁴⁾	0.66±0.05 ⁴⁾
SPD-HFD+XYs 组	1.01	0.91±0.08 ⁴⁾	1.07±0.10 ^{4,5)}	0.98±0.11 ^{4,5)}
SPD-HFD+FZLZW+XYs 组	2.51	1.07±0.12 ^{4,5)}	1.06±0.08 ^{4,5)}	0.84±0.09 ⁴⁾

降低 ($P<0.05$), COX IV 蛋白表达水平明显升高 ($P<0.05$)。与 SPD-HFD 组比较, SPD-HFD+FZLZW+XYs 组 NDUFS1、UQCRC2 和 ATP5A 蛋白表达水平明显升高, COX IV 蛋白表达水平明显降低

($P<0.05$); 与 SPD-HFD+FZLZW 组和 SPD-HFD+XYs 组比较, 联合用药组 NDUFS1、UQCRC2 和 ATP5A 蛋白表达水平明显升高 ($P<0.05$), COX IV 蛋白表达水平明显降低 ($P<0.05$)。见表 10、图 3。

表 10 XYs联合 FZLZW 对大鼠海马组织线粒体功能的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NDUFS1/β-actin	UQCRC2/β-actin	COX IV/β-actin	ATP5A/β-actin
CON 组		2.06±0.11	2.09±0.06	0.77±0.04	0.98±0.06
HFD 组		0.79±0.05 ¹⁾	0.98±0.04 ¹⁾	0.81±0.03 ¹⁾	0.76±0.04 ¹⁾
SPD 组		0.81±0.07 ¹⁾	1.03±0.07 ¹⁾	1.06±0.06 ^{1,2)}	0.71±0.05 ¹⁾
SPD-HFD 组		0.54±0.04 ²⁾	0.23±0.12 ^{2,3)}	1.19±0.07 ^{2,3)}	0.64±0.03
SPD-HFD+FZLZW 组	1.5	1.78±0.09 ⁴⁾	1.22±0.05 ⁴⁾	1.24±0.05 ⁴⁾	2.09±0.09 ⁴⁾
SPD-HFD+XYs 组	1.01	2.02±0.12 ⁴⁾	0.84±0.03 ^{4,5)}	1.46±0.08 ^{4,5)}	2.27±0.11 ⁴⁾
SPD-HFD+FZLZW+XYs 组	2.51	2.49±0.14 ^{4,5,6)}	1.76±0.08 ^{4,5,6)}	0.71±0.07 ^{4,5,6)}	3.65±0.13 ^{4,5,6)}

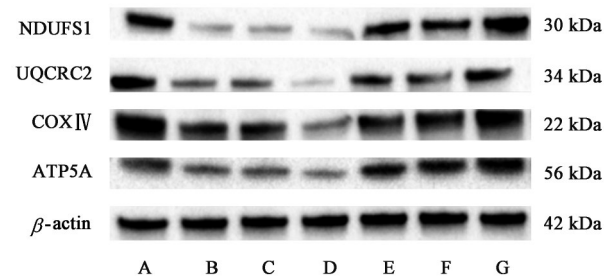


图 3 大鼠海马组织线粒体功能蛋白表达电泳
Fig. 3 Electrophoresis of mitochondrial function protein expression in hippocampal tissue of rats

3.12 Western blot 检测大鼠海马线粒体 AMPK 通路变化 与 CON 组比较, HFD 组 p-AMPK/AMPK 和 p-ACC/ACC 值均明显升高 ($P<0.05$); SPD 组 p-AMPK/AMPK 和 p-ACC/ACC 值均明显升高 ($P<0.05$)。与 HFD 组比较, SPD 组 p-AMPK/AMPK 值明显升高 ($P<0.05$); SPD-HFD 组 p-AMPK/AMPK 和 p-ACC/ACC 值均明显升高 ($P<0.05$)。与 SPD 组比较, SPD-HFD 组 p-AMPK/AMPK 和 p-ACC/ACC 值均明显升高 ($P<0.05$)。与 SPD-HFD 组比较, SPD-HFD+FZLZW 组 p-AMPK/AMPK 和 p-ACC/ACC 值

均明显降低 ($P<0.05$); SPD-HFD+XYs 组 p-AMPK/AMPK 和 p-ACC/ACC 值均明显降低 ($P<0.05$); SPD-HFD+FZLZW+XYs 组 p-AMPK/AMPK 和 p-ACC/ACC 值均明显降低 ($P<0.05$)。与 SPD-HFD+FZLZW 组比较, SPD-HFD+XYs 组及 SPD-HFD+FZLZW+XYs 组 p-AMPK/AMPK 和 p-ACC/ACC 值均明显降低 ($P<0.05$)。见图 4、表 11。

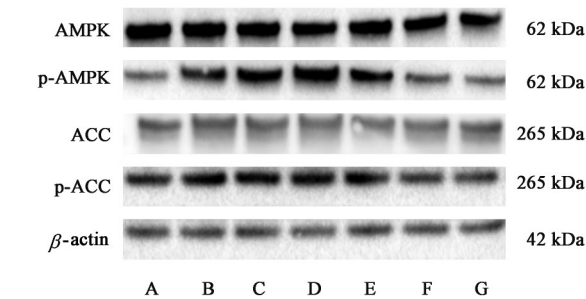


图 4 大鼠海马线粒体 AMPK 通路蛋白表达电泳
Fig. 4 Electrophoresis of AMPK signaling pathway protein expression in hippocampal mitochondria of rats

3.13 各组大鼠糖酵解指标变化 与 CON 组比较, HFD 组大鼠海马组织 GLUT1 和 PFKFB3 表达水平

表 11 XYs联合 FZLZW 对大鼠海马线粒体 AMPK 通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 11 Effect of XYs combined with FZLZW on AMPK signaling pathway in hippocampal mitochondria of rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	p-AMPK /AMPK	p-ACC /ACC
CON 组		0.23±0.03	1.22±0.05
HFD 组		0.41±0.01 ¹⁾	1.39±0.03 ¹⁾
SPD 组		0.84±0.02 ^{1,2)}	1.47±0.07 ¹⁾
SPD-HFD 组		0.90±0.05 ^{2,3)}	1.68±0.04 ^{2,3)}
SPD-HFD+FZLZW 组	1.5	0.54±0.01 ⁴⁾	1.43±0.02 ⁴⁾
SPD-HFD+XYs 组	1.01	0.28±0.03 ^{4,5)}	1.03±0.01 ^{4,5)}
SPD-HFD+FZLZW+XYs 组	2.51	0.25±0.02 ^{4,5)}	0.97±0.04 ^{4,5)}

均明显升高 ($P<0.05$), LDHA 差异无统计学意义; SPD 组 GLUT1、PFKFB3 和 LDHA 表达水平均明显升高 ($P<0.05$), 且 GLUT1 和 LDHA 水平均明显高于 HFD 组 ($P<0.05$)。与 HFD 组和 SPD 组比较, SPD-HFD 组 GLUT1 和 PFKFB3 表达水平均明显升高 ($P<0.05$); 与 HFD 组比较, SPD-HFD 组 LDHA 表达水平明显升高 ($P<0.05$)。与 SPD-HFD 组比较, SPD-HFD+FZLZW 组 GLUT1 和 PFKFB3 表达水平均明显降低 ($P<0.05$), LDHA 差异无统计学意义; SPD-HFD+XYs 组 GLUT1 和 PFKFB3 表达水平均明显降低, LDHA 表达水平明显升高 ($P<0.05$), 且与 SPD-HFD+FZLZW 组比较, GLUT1 和 PFKFB3 表达明显降低, LDHA 表达明显升高 ($P<0.05$)。与 SPD-HFD 组、SPD-HFD+FZLZW 组及 SPD-HFD+XYs 组比较, SPD-HFD+FZLZW+XYs 组 GLUT1、PFKFB3 和 LDHA 表达水平均明显降低 ($P<0.05$)。见图 5、表 12。

4 讨论

高脂饮食相关抑郁是一类伴随代谢异常的特殊抑郁状态, 已成为代谢性疾病人群中日益突出的

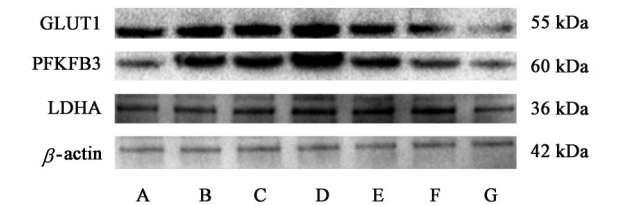


图 5 大鼠糖酵解指标相关蛋白表达电泳
Fig. 5 Electrophoresis of glycolytic indicators protein expression of rats

精神健康问题^[25]。现有抗抑郁治疗主要针对神经递质失衡, 对高脂饮食背景下伴随的脂质紊乱和代谢异常干预有限, 整体疗效仍不理想^[26]。因此, 探索兼顾代谢异常与抑郁样行为的干预策略具有重要现实意义。本研究表明, 在 SPD 背景下, HFD 可显著加重抑郁样行为, 并伴随明显的脂质代谢紊乱及中枢神经功能损伤; 而 FZLZW 与 XYs 联合干预可同时改善脂质异常和抑郁样行为, 整体效果优于单用, 提示其在缓解代谢相关抑郁方面具有潜在应用价值。

综合行为学、组织学、生化指标、多组学及分子结果可见, SPD 背景下 HFD 诱导的抑郁样行为表现为由外周脂质代谢紊乱向中枢能量代谢失衡逐级传导的系统性病理过程。外周层面, SPD-HFD 组大鼠血清 TG、TC 及 LDL-C 升高, HDL-C 降低, 并伴随 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 持续升高, 肝组织 HE 及油红 O 染色亦提示脂质沉积明显, 说明高脂负荷在脾虚背景下可诱发脂质代谢紊乱及慢性低度炎症。上述异常与中枢病变同步存在, 表现为海马神经元结构受损、尼氏小体减少、5-HT 和 DA 水平下降, 并最终反映为糖水偏好降低、活动减少和不动时间延长等抑郁样行为^[27]。

在中枢能量代谢层面, 蛋白组学与代谢组学结果一致表明, 线粒体氧化磷酸化能力受损是脾虚背景下高脂饮食相关抑郁样行为的重要分子基础。SPD-HFD 组海马组织中 NDUFS1、UQCRC2、

表 12 XYs联合 FZLZW 对大鼠糖酵解指标相关蛋白表达水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 12 Effect of XYs combined with FZLZW on relative protein expression level of glycolytic indicators of rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	GLUT1/ β -actin	PFKFB3/ β -actin	LDHA/ β -actin
CON 组		1.87±0.04	0.86±0.05	0.77±0.04
HFD 组		2.23±0.07 ¹⁾	2.43±0.08 ¹⁾	0.81±0.03
SPD 组		2.55±0.05 ^{1,2)}	2.59±0.06 ¹⁾	1.06±0.06 ^{1,2)}
SPD-HFD 组		3.16±0.08 ^{2,3)}	3.89±0.09 ^{2,3)}	1.19±0.07 ²⁾
SPD-HFD+FZLZW 组	1.5	2.48±0.06 ⁴⁾	2.21±0.07 ⁴⁾	1.24±0.05
SPD-HFD+XYs 组	1.01	1.97±0.03 ^{4,5)}	1.76±0.03 ^{4,5)}	1.46±0.08 ^{4,5)}
SPD-HFD+FZLZW+XYs 组	2.51	0.67±0.02 ^{4,5,6)}	0.82±0.10 ^{4,5,6)}	0.71±0.07 ^{4,5,6)}

COX IV及ATP5A蛋白表达下调,ATP含量及线粒体呼吸链复合物I~IV活性同步降低,同时PGC-1 α 、Nrf1和TFAM mRNA表达下调,提示线粒体呼吸链功能及线粒体生物发生均受到抑制,进而形成持续性能量供给障碍^[28]。在此基础上,细胞内ATP/AMP比值下降,AMPK被激活并表现为AMPK及其下游ACC磷酸化水平升高,反映神经细胞处于持续能量应激状态^[29-30]。需要指出的是,联合用药后p-AMPK及p-ACC水平下降,并不意味着AMPK信号被简单抑制,而更提示随着线粒体供能恢复和ATP生成增加,原先因持续性能量危机所致的AMPK-ACC异常过度激活状态得到缓解并逐步回归相对正常稳态。

在上述线粒体供能受限背景下,神经细胞进一步发生代偿性代谢重塑,表现为GLUT1、PFKFB3和LDHA表达升高,提示葡萄糖摄取增强及糖酵解通量增加,形成以低效率糖酵解替代线粒体氧化磷酸化的能量供给模式^[31]。这一代谢转变在特征上与“Warburg效应”具有一定相似性,即细胞在氧并非绝对缺乏的条件下仍偏向通过增强糖酵解获取能量;但不同于肿瘤细胞以快速增殖为目的的经典Warburg效应,本研究反映神经细胞在高脂负荷、脾虚状态及线粒体功能受损背景下,为应对持续性能量压力而形成的适应性代谢重编程^[32]。这种代偿虽可短期维持细胞生存,却难以满足神经元长期高耗能需求,反而进一步加重乳酸/丙酮酸代谢异常、ATP生成不足、神经递质合成下降及抑郁样行为加重,构成线粒体功能受损—能量应激激活—糖酵解代偿增强的连续代谢轴异常^[33]。

FZLZW与XYS联合干预后,上述异常呈现系统性逆转:外周层面血脂和炎症因子改善,肝脏脂质沉积减少;中枢层面海马组织结构及尼氏小体恢复,5-HT与DA水平回升,抑郁样行为缓解;代谢层面线粒体呼吸链亚基表达恢复,ATP含量及复合物活性升高,PGC-1 α /NRF1/TFAM信号通路重新激活,AMPK-ACC过度磷酸化状态回落,同时GLUT1、PFKFB3和LDHA表达下调,糖酵解过度激活受到抑制。提示联合用药并非单纯阻断AMPK或糖酵解信号,而是通过改善线粒体供能、缓解能量应激,从源头上纠正异常增强的糖酵解代偿状态,使神经细胞逐步恢复至相对稳定的能量代谢稳态。整体来看,联合用药通过同时纠正外周脂质-炎症异常与中枢线粒体能量代谢障碍,阻断由能量不足驱动的糖酵解代偿性重编程,从而改善脾虚背景

下高脂饮食相关抑郁样行为。

本研究仍存在一定局限性。首先,本研究主要基于SPD联合HFD诱导的抑郁样行为大鼠模型开展,结果仍需在其他动物模型及临床人群中进一步验证,以提高结论的外推性。其次,本研究虽从多组学及分子水平系统描绘了线粒体能量代谢受损与糖酵解重编程的伴随变化,但各信号节点之间的直接因果关系仍主要基于相关性推断,尚缺乏特异性干预验证。尤其是针对AMPK在联合用药调控糖酵解重编程中的关键作用,本研究尚未采用AMPK抑制剂(如Compound C)或其他药理学策略进行功能阻断,因此尚不能完全明确AMPK在该作用链条中的必需性及因果地位。再次,本研究主要聚焦于海马区域,其他情绪相关脑区是否存在类似代谢异常仍有待进一步研究。未来将结合AMPK抑制剂或激动剂及更精准的分子操作手段,进一步验证AMPK在联合用药调控糖酵解及改善抑郁样行为中的机制作用。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] TANG S, LI D, MA Y, et al. Integrative analysis of transcriptomics and metabolomics reveals the effects of Western-style diets on spleen function[J]. *Biology (Basel)*, 2025, 14(9): 1136.
- [2] DONG J, ZHANG J, CHENG S, et al. A high-fat diet induced depression-like phenotype via hypocretin-HCRTR1 mediated inflammation activation[J]. *Food Funct*, 2024, 15(17): 8661-8673.
- [3] 何谦,徐加英,吕金珂,等. 乳铁蛋白通过调节小胶质细胞稳态缓解高脂高糖诱导的小鼠抑郁样行为[J]. *中国科学:生命科学*, 2026, 56(2): 333-343.
HE Q, XU J Y, LV J K, et al. Lactoferrin mitigates high-fat high-sugar-induced depressive-like behaviors in mice by regulating microglia homeostasis[J]. *Sci Sin Vitae*, 2026, 56(2): 333-343.
- [4] CHOURPILIADIS C, ZENG Y, LOVIK A, et al. Metabolic profile and long-term risk of depression, anxiety, and stress-related disorders[J]. *JAMA Netw Open*, 2024, 7(4): e244525.
- [5] KIRAN S, RAKIB A, KODIDELA S, et al. High-fat diet-induced dysregulation of immune cells correlates with macrophage phenotypes and chronic inflammation in adipose tissue[J]. *Cells*, 2022, 11(8): 1327.
- [6] 邢赞,王真真,陈乃宏. 线粒体功能障碍与抑郁症的分子机制研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2026, 42(1): 26-30.
XING Z, WANG Z Z, CHEN N H. Research progress on molecular mechanisms of mitochondrial dysfunction and depression[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2026, 42(1): 26-30.
- [7] XIA X, LI K, JIANG B, et al. Mitochondrial dysfunction in

- depression: Mechanisms and targeted therapy strategies[J]. *Asian J Psychiatr*, 2025, 112: 104694.
- [8] 宋芷琪, 宋囡, 朱敬轩, 等. 丹菱片通过影响线粒体损伤改善高脂喂饲ApoE^{-/-}小鼠肝脏脂质沉积的机制研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2025, 52(12): 196-201, 230, 247.
- SONG Z Q, SONG N, ZHU J X, et al. Mechanism of Danlou tablets improving liver lipid deposition in ApoE^{-/-} mice fed with high-fat diet by affecting mitochondrial damage[J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2025, 52(12): 196-201, 230, 247.
- [9] 许倩, 杨琼, 谭子虎. 糖代谢重编程在阿尔茨海默病发病机制中的研究进展[J]. *中国比较医学杂志*, 2024, 34(4): 156-164.
- XU Q, YANG Q, TAN Z H. Advances in the study of glucose metabolic reprogramming in the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. *Chin J Comp Med*, 2024, 34(4): 156-164.
- [10] WANG C, LI H, CHEN C, et al. High-fat diet consumption induces neurobehavioral abnormalities and neuronal morphological alterations accompanied by excessive microglial activation in the medial prefrontal cortex in adolescent mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(11): 9394.
- [11] 袁红丽, 曹珊, 陈健, 等. 中医药通过调控脂滴与线粒体互作治疗动脉粥样硬化研究进展[J]. *中医学报*, 2026, 41(2): 337-344.
- YUAN H L, CAO S, CHEN J, et al. Research progress on TCM treatment of atherosclerosis by regulating lipid droplet-mitochondria interaction[J]. *Acta Chin Med*, 2026, 41(2): 337-344.
- [12] 赵驰. 醒脾解郁方对肝郁脾虚抑郁大鼠脑及肠道色氨酸代谢的调控机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2021.
- ZHAO C. Regulatory mechanism of Xingpi Jieyu formula on brain and intestinal tryptophan metabolism in depressed rats with liver stagnation and spleen deficiency [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2021.
- [13] WANG S, WU J, XU L, et al. Wendan decoction activates neuronal autophagy in the hippocampus via the gut-brain axis to improve depressive-like behavior in HFD mice [J]. *Phytomedicine*, 2026, 150: 157686.
- [14] 李依林, 左泽平, 田颖颖, 等. 基于非靶向代谢组学探讨附子理中丸治疗恶唑酮诱导溃疡性结肠炎小鼠的作用机制[J]. *中国中药杂志*, 2026, 51(5): 1294-1302.
- LI Y L, ZUO Z P, TIAN Y Y, et al. Untargeted metabolomics reveals therapeutic mechanism of Fuzi Lizhong pills on oxazolone-induced ulcerative colitis in mice[J]. *China J Chin Mater Med*, 2026, 51(5): 1294-1302.
- [15] 汪云伟, 王兴灵, 何娅, 等. 附子理中汤(丸)药理作用与临床应用研究进展[J]. *中药与临床*, 2022, 13(4): 71-76.
- WANG Y W, WANG X L, HE Y, et al. Research progress on pharmacological effect and clinical application of Fuzilizhong decoction (pill)[J]. *Tradit Chin Med Clin Med*, 2022, 13(4): 71-76.
- [16] CHEN J, LEI C, LI X, et al. Research progress on classical traditional Chinese medicine formula Xiaoyaosan in the treatment of depression [J]. *Front Pharmacol*, 2022, doi: 10.3389/fphar. 2022. 925514.
- [17] WU Y, LIU L, ZHAO Y, et al. Xiaoyaosan promotes neurotransmitter transmission and alleviates CUMS-induced depression by regulating the expression of Oct1 and Oct3 in astrocytes of the prefrontal cortex[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, doi: 10.1016/j.jep. 2024. 117923.
- [18] HUANG Y, LIN X, WU Q, et al. Integrated serum pharmacochimistry and network pharmacology to reveal the kernel material basis and underlying mechanisms of the Fuzi-Lizhong pill for ulcerative colitis[J]. *J Tradit Complement Med*, 2025, 15(3): 307-318.
- [19] ZHOU X M, LIU C Y, LIU Y Y, et al. Xiaoyaosan alleviates hippocampal glutamate-induced toxicity in the CUMS rats via NR2B and PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 'doi: 10.3389/fphar. 2021. 586788.
- [20] SUN H Y, LI Q, LIU Y Y, et al. Xiao-Yao-San, a Chinese medicine formula, ameliorates chronic unpredictable mild stress-induced polycystic ovary in rats[J]. *Front Physiol*, 2017, 8: 729.
- [21] 林夏, 黄友, 杨莎莎, 等. 高通量测序技术研究附子理中丸对脾阳虚IBS-D大鼠肠道菌群的影响[J]. *南京中医药大学学报*, 2021, 37(3): 388-395.
- LIN X, HUANG Y, YANG S S, et al. Effect of Fuzi Lizhong pill on intestinal flora of spleen yang deficiency IBS-D rats based on high-throughput sequencing technique[J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*, 2021, 37(3): 388-395.
- [22] 王杰, 宋囡, 隋国媛, 等. 香砂六君子汤对脾虚高脂血症大鼠肠道菌群及肝脏脂质沉积的防治作用机制[J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(5): 2264-2269.
- WANG J, SONG N, SUI G Y, et al. The preventive and therapeutic effects of Xiangsha Liujunzi decoction on intestinal flora and liver lipid deposition in rats with spleen deficiency and hyperlipidemia[J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2023, 38(5): 2264-2269.
- [23] 王晓明, 易杰, 廖世新, 等. 脾虚证动物模型的客观评估[J]. *中华中医药杂志*, 2006, 21(7): 406-408.
- WANG X M, YI J, LIAO S X, et al. Objective evaluation of animal models of spleen deficiency syndrome[J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2006, 21(7): 406-408.
- [24] 车梦竹, 贾连群, 闵冬雨, 等. 加味香砂六君子汤对高脂血症脾虚证大鼠肠源性LPS介导肝Kupffer细胞炎症的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(16): 77-86.
- CHE M Z, JIA L Q, MIN D Y, et al. Effect of modified Xiangsha Liujunzitang on hepatic Kupffer cell inflammation mediated by intestinal-derived LPS in rats with hyperlipidemia and spleen deficiency syndrome[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2025, 31(16): 77-86.
- [25] SELMAN A, DAI J, DRISKILL J, et al. Depression and obesity: Focus on factors and mechanistic links[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2025, 1871(1): 167561.
- [26] 范寅泰, 周娇娇, 李妍, 等. 抗抑郁治疗对老年期抑郁症患者血脂水平的影响[J]. *中国医刊*, 2023, 58(8): 870-873.
- FAN Y T, ZHOU J J, LI Y, et al. Effects of antidepressant therapy on lipid levels in geriatric depression[J]. *Chin J Med*, 2023, 58

- (8):870-873.
- [27] MAGDY Y M, KAMAR S A, HABIB M Z, et al. Liraglutide improves depressive and cognitive deficits in a high-fat diet rat model of obesity: The role of hippocampal autophagy and the PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2025, 242(12):2801-2816.
- [28] CHEN L, QIN Y, LIU B, et al. PGC-1 α -mediated mitochondrial quality control: Molecular mechanisms and implications for heart failure[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 871357.
- [29] HERZIG S, SHAW R J. AMPK: Guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(2): 121-135.
- [30] MURALEEDHARAN R, DASGUPTA B. AMPK in the brain: Its roles in glucose and neural metabolism[J]. *FEBS J*, 2022, 289(8):2247-2262.
- [31] 胡文宇, 李硕硕, 程金波, 等. 不同类型神经细胞对低氧的敏感性研究[J]. *中国生物工程杂志*, 2022, 42(7): 1-11.
- HU W Y, LI S S, CHENG J B, et al. Sensitivity of different types of nerve cells to hypoxia[J]. *China Biotechnol*, 2022, 42(7): 1-11.
- [32] VAUPEL P, MULTHOFF G. Revisiting the Warburg effect: Historical dogma versus current understanding[J]. *J Physiol*, 2021, 599(6): 1745-1757.
- [33] GARCIA S, SALDANA-CABOVERDE A, ANWAR M, et al. Enhanced glycolysis and GSK3 inactivation promote brain metabolic adaptations following neuronal mitochondrial stress [J]. *Hum Mol Genet*, 2022, 31(5): 692-704.
- [责任编辑 顾雪竹]