

# 基于鞘脂代谢通路的当归水提物含药血清对皮质酮损伤的PC12细胞的保护作用及机制研究

陈金龙<sup>1,2</sup>, 宋亚鹏<sup>1,2</sup>, 周玉枝<sup>1,2</sup>, 宫文霞<sup>1,2\*</sup>, 秦雪梅<sup>1,2\*</sup>

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西大学 化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 山西 太原 030006

**摘要:** 目的 明确当归通过调节鞘脂代谢发挥对皮质酮(CORT)损伤的PC12细胞的保护作用及机制。方法 制备当归水提物, LC-MS法进行成分鉴定; 当归水提物含药血清(ASWEMS)的制备: 将12只SPF级雄性SD大鼠随机分为空白血清(给予0.9%氯化钠溶液)组和ASWEMS(生药量7.5 g·kg<sup>-1</sup>)组, 连续ig给药6 d, 采血管腹主动脉采血, 分离血清后同组混合, 56 °C水浴加热30 min后经0.22 μm微孔滤膜滤过除菌。利用CORT诱导PC12细胞构建损伤模型, 将PC12细胞分为: 对照(5%空白血清)组、模型组(400 μmol·L<sup>-1</sup> CORT+5%空白血清)、ASWEMS组(400 μmol·L<sup>-1</sup> CORT+5% ASWEMS)、神经酰胺合成酶抑制剂伏马菌素(FB1, 400 μmol·L<sup>-1</sup> CORT+5%空白血清+10 μmol·L<sup>-1</sup> FB1)组, 处理24 h。通过CCK-8法检测细胞存活率; 采用Annexin FITC/PI流式细胞术检测细胞凋亡率; 基于超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)脂质组学技术检测PC12细胞脂质代谢轮廓变化及鞘脂类代谢物相对含量; 采用ELISA检测PC12细胞神经酰胺(Cer)含量。结果 LC-MS法鉴定出当归水提物17种化学成分。与模型组比较, ASWEMS和FB1均可显著回调CORT损伤PC12细胞所引起的细胞存活率下降( $P<0.001$ ), 细胞凋亡率增加( $P<0.001$ )。鞘脂类代谢物是引起对照组与模型组差异贡献较大的代谢物, 与对照组比较, CORT干预24 h后, PC12细胞中的二氢鞘氨醇(Dhsph)类、植物鞘氨醇(PhytoSph)类代谢物相对含量显著降低( $P<0.001$ ), 鞘磷脂(SM)类代谢物相对含量显著升高( $P<0.001$ ), Cer相对含量及绝对含量均显著升高( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 给予ASWEMS、FB1干预后各代谢物含量具有不同程度的回调( $P<0.01$ 、 $0.001$ )。结论 ASWEMS对CORT诱导的PC12细胞损伤具有保护作用, 其机制与调节鞘脂代谢通路、抑制细胞凋亡有关。

**关键词:** 当归; 皮质酮; 脂质组学; PC12细胞; 鞘脂代谢; 凋亡

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2024)12-2745-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.12.005

## Protective effect of *Angelica sinensis* water extract medicated serum on corticosterone-damaged PC12 cells through modulation of sphingolipid metabolic pathway

CHEN Jinlong<sup>1,2</sup>, SONG Yapeng<sup>1,2</sup>, ZHOU Yuzhi<sup>1,2</sup>, GONG Wenxia<sup>1,2</sup>, QIN Xuemei<sup>1,2</sup>

1. Modern Research Center of Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of Ministry of Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

**Abstract: Objective** To clarify the protective effect of *Angelica sinensis* water extract medicated serum (ASWEMS) on PC12 cells damaged by corticosterone (CORT) through the regulation of sphingolipid metabolism. **Methods** Preparation of *Angelica sinensis* water extract and identification of its components by LC-MS method. Preparation of *Angelica sinensis* water extract medicated serum (ASWEMS): Twelve healthy male SD rats were randomly divided into blank serum (received 0.9% sodium chloride solution)

收稿日期: 2024-07-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(82004502); 山西省应用基础研究计划项目(202403021211187); 经方扶阳山西省重点实验室项目(CP-SY202304); 山西省重点研发项目(202102130501010)

第一作者: 陈金龙(2000—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药药效评价及物质基础研究。E-mail: 13233390218@163.com

\*共同通信作者: 宫文霞(1990—), 女, 硕士生导师, 讲师, 研究方向为中药药效评价及物质基础研究。E-mail: gongwenxia@sxu.edu.cn

秦雪梅, 女, 博士, 教授, 主要从事中药质量控制及新药研发方面的研究。E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

group and ASWEMS (crude drug dose of  $7.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) group, acclimated for one week, and then intragastrically administered ASWEMS for six consecutive days. Blood was collected from the abdominal aorta of the rats, and the serum was separated and mixed within the same group. The serum was then heated at  $56 \text{ }^\circ\text{C}$  for 30 min and filtered through a  $0.22 \text{ }\mu\text{m}$  microfiltration membrane to remove bacteria. A cell injury model was constructed by treating PC12 cells with CORT, with the cells divided into control (5% control serum), model ( $400 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CORT+5% control serum), ASWEMS ( $400 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CORT+5% ASWEMS) and fumonisins (FB1,  $400 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CORT+5% control serum +  $10 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  FB1) groups, which subjected to the treatment for 24 h. The cell survival rate was detected by CCK-8 method. Annexin FITC/PI flow cytometry was used to detect apoptosis rate. Changes in lipid metabolism profile and the relative content of sphingolipid metabolites in PC12 cells were determined by ultra-high performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS). The contents of Ceramide (Cer) in PC12 cells was detected by ELISA. **Results** LC-MS method identified 17 chemical components in *Angelica sinensis* water extract. Compared with the model group, ASWEMS and FB1 could significantly reverse the decreased cell viability and increased apoptosis rate caused by CORT injury in PC12 cells ( $P < 0.001$ ). Sphingolipids metabolites were the metabolites that contributed more to the difference between the control group and the model group. Compared with the control group, the relative content of Dhsph-type and PhytoSph-type metabolites in PC12 cells was significantly lower after CORT intervention for 24 h ( $P < 0.001$ ), while the relative content of SM-type metabolites was significantly higher ( $P < 0.001$ ), and the relative content and absolute content of Cer were both significantly higher ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, the contents of all metabolites were significantly adjusted after ASWEMS or FB1 intervention ( $P < 0.01, 0.001$ ). **Conclusion** ASWEMS has a protective effect against CORT-induced PC12 cell injury through regulating sphingolipid metabolism pathway and inhibiting apoptosis.

**Key words:** *Angelica sinensis*; corticosterone; lipidomics; PC12 cells; sphingolipid metabolism; apoptosis

抑郁症是一种常见的情感性精神障碍疾病,随着社会的快速发展,患有抑郁症的人数逐渐增加<sup>[1]</sup>。目前抗抑郁的临床一线药物,如单胺氧化酶抑制剂或三环类药物等,存在着疗效缓慢和不良反应多等不足<sup>[2-4]</sup>。近年来,中药因其疗效好、不良反应小等优势,已成为抑郁症领域的研究热点<sup>[5-6]</sup>。中药当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根,具有多种药理活性。现代药理研究表明,当归具有确切的抗抑郁功效<sup>[7-8]</sup>。本课题组前期基于网络药理学、代谢组学等研究发现当归抗抑郁作用可能与调节鞘脂代谢途径有关<sup>[9-10]</sup>,表现为改善鞘脂代谢异常水平发挥抗抑郁作用。然而,其通过调节鞘脂代谢发挥抗抑郁作用的机制仍有待进一步验证。

本研究拟采用经典体外抗抑郁模型,即皮质酮(CORT)损伤的PC12细胞<sup>[11-13]</sup>,以当归水提取物含药血清(*Angelica sinensis* water extract medicated serum, ASWEMS)为研究对象,同时引入神经酰胺合酶抑制剂(伏马菌素,FB1)作为阳性药<sup>[14]</sup>,采用细胞药理学及液质联用(UPLC-Q-TOF-MS)脂质组学<sup>[15-16]</sup>技术,探究ASWEMS对CORT损伤PC12细胞的保护作用及脂质代谢调节作用,重点关注其对鞘脂代谢途径相关代谢物的调节作用,进而对关键代谢物含量进行定量检测,明确当归通过调节鞘脂代谢治疗抗抑郁的作用机制。

## 1 材料

### 1.1 药品及试剂

当归饮片(批号20090122)购自山西和仁堂中药饮片有限公司,经山西大学中医药现代研究中心秦雪梅教授鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根;FB1(批号D1720030)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;CORT(批号EAHSM-AY)购自上海梯希爱化成工业发展有限公司;青霉素、链霉素及胰蛋白酶购自浙江天杭生物科技股份有限公司;Annexin FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒(批号BB10127714)、增强型CCK-8试剂盒(批号BD03277649)购自北京博奥森生物技术有限公司;神经酰胺(Cer,批号20240469E)ELISA试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司;二甲基亚砜(DMSO)购自北京索莱宝科技有限公司;RPMI 1640培养基、MTT购自上海生工生物工程股份有限公司;LC-MS级乙腈、异丙醇、甲酸铵及HPLC级甲醇购自美国Thermo Fisher Scientific公司;HPLC级甲基叔丁基醚购自天津市大茂化学试剂厂。

### 1.2 仪器

BSA124S电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司);Centrifuge TDL-5高速离心机(上海安亭科学仪器有限公司);R1002B旋转蒸发器(上海申生科技有限公司);KQ-400KDE超声仪(昆山市超声仪器有限公司);SynergyHTX多功能酶标仪(美国伯腾仪器有

限公司); CytoFlex 贝克曼库尔特流式细胞分析仪(上海贝克曼库尔特国际贸易有限公司); 1290 超高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司); Triple TOF 5600 质谱仪(美国 AB SCIEX 公司); ACQUITY UPLC BEH C<sub>8</sub> 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm, 美国 Waters 公司)、ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), 美国 Waters 公司; 超纯水仪(德国 Millipore 公司)。

### 1.3 实验动物及细胞

SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量 180~200 g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK(京)2020-0006。饲养环境: 室温(22±2)℃、湿度(50±5)%、光(暗)周期 12 h/12 h, 大鼠可自由饮水、饮食。动物实验通过山西大学科学研究伦理审查委员会审查(批号 SXULL2020024)。

低分化 PC12 细胞, 购于武汉普诺赛生命科技有限公司。用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基, 置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。细胞呈对数生长时进行细胞传代。

## 2 方法

### 2.1 当归水提物的制备

参考课题组前期方法<sup>[10]</sup>制备当归水提物, 称取一定量的当归饮片(约 300 g), 加入 8 倍量的蒸馏水, 回流提取 2 次, 每次持续 2 h, 将 2 次提取后得到的液体合并, 减压蒸馏浓缩后, 转移至真空干燥机中进行冷冻干燥处理, 最终得到的干燥物出膏率为 48.2%。采用 HPLC 法对当归水提物中阿魏酸和 *E*-藜本内酯进行含量测定, 质量分数分别为 0.037%、1.557%。

### 2.2 动物分组及 ASWEMS 制备

将 12 只 SPF 级雄性 SD 大鼠随机分为 2 组: 空白血清组( $n=6$ )、ASWEMS 组( $n=6$ , 当归水提物生药量 7.5 g·kg<sup>-1</sup>, 依据课题组前期报道的抗抑郁有效剂量设置<sup>[9]</sup>)。适应性喂养 1 周后, 进行 ig 给药, 空白血清组给予等体积的 0.9% 氯化钠溶液。

每天给药 2 次(9:00 时、下午 16:00 时), 连续给药 6 d, 第 5 天晚上禁食不禁水, 第 6 天上午给药 1.5 h 后麻醉, 使用不含抗凝剂的采血管腹主动脉采血, 室温静置 30 min, 待血液凝固后 3 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 取上层血清, 同组血清混合以消除个体差异。56℃ 水浴加热 30 min 后经 0.22 μm 微孔滤膜滤过除菌, 分装保存于 -80℃ 冰箱备用。

### 2.3 造模浓度及阳性药浓度筛选

将处于对数生长期的 PC12 细胞以每孔  $2 \times 10^4$  个的密度接种于 96 孔板, 培养 24 h 后更换为无血清培养基, 同时给予相应的药物干预。分别采用 200、300、400、500、600、700、800 μmol·L<sup>-1</sup> 的 CORT 孵育 PC12 细胞 24 h, 并设置对照组, 采用 MTT 法筛选出 CORT 诱导 PC12 细胞损伤的最佳造模浓度。分别采用 1.25、2.50、5.00、10.00 μmol·L<sup>-1</sup> 的 FB1 孵育 PC12 细胞 24 h, 并设置对照组(不给药)、空白组(不接种细胞), 采用 MTT 法筛选出 FB1 最佳剂量。吸弃废液, 每孔加入 10 μL MTT(5 mg·mL<sup>-1</sup>) 和 90 μL 基础培养基继续于培养箱中孵育 4 h。加入 DMSO, 摇床低速震荡 10 min, 用酶标仪检测 570 nm 处的吸光度( $A$ )值。计算细胞存活率, 实验重复 3 次。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

### 2.4 PC12 细胞存活率检测

将处于对数生长期的 PC12 细胞以每孔  $2 \times 10^4$  个的密度接种于 96 孔板, 培养 24 h 后更换为无血清培养基, 将细胞分为: 对照组(5% 空白血清)、模型组(400 μmol·L<sup>-1</sup> CORT+5% 空白血清)、ASWEMS 组(400 μmol·L<sup>-1</sup> CORT+5% ASWEMS)、FB1 组(400 μmol·L<sup>-1</sup> CORT+5% 空白血清+10 μmol·L<sup>-1</sup> FB1), 每组设置 6 个复孔, 空白组不接种细胞。药物干预 24 h 后, 每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 在培养箱内孵育 2 h, 用酶标仪测定 450 nm 处的  $A$  值, 计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

### 2.5 流式细胞术检测 PC12 细胞凋亡率

将处于对数生长期的 PC12 细胞以每孔  $4 \times 10^5$  个接种于 6 孔板中, 培养 24 h, 按“2.4”项中的细胞分组情况分组, 每组设置 3 个复孔。弃上清液并加入待测药物, 孵育 24 h 后, 磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 次, 于 300×g、4℃ 下离心 5 min, 用预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次后, 加入 100 μL 的 Binding Buffer 重悬细胞, 分别加入 5 μL Annexin V-FITC 和 5 μL PI, 室温避光孵育 15 min 后加入 400 μL Binding Buffer, 上流式细胞仪进行检测。

### 2.6 ELISA 法检测 PC12 细胞内 Cer 水平

细胞接种、分组、给药方式同“2.5”项, 继续培养 24 h, 胰酶消化 PC12 细胞, 1 000×g 离心 5 min 收集细胞, 加入 150 μL PBS 重悬细胞并通过反复冻融使细胞破碎, 将提取液于 1 500×g 离心 10 min, 取上清检测 Cer 的含量。酶标仪在 450 nm 处测定  $A$  值, 根据标准曲线得出相应 Cer 含量, 实验重复 3 次。

## 2.7 ASWEMS成分分析

前处理:取ASWEMS 600  $\mu\text{L}$ ,加入1.8 mL的甲醇,涡旋3 min,于4  $^{\circ}\text{C}$ 下13 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min,吸取上清液于EP管,离心浓缩,残渣用100  $\mu\text{L}$ 甲醇溶解,涡旋3 min,超声5 min,12 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min后,用0.22  $\mu\text{m}$ 孔径的滤膜滤过上清液后,用于后续实验。

液相条件:沃特世ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm,1.7  $\mu\text{m}$ );流动相为0.1%甲酸水(A)-乙腈(B),梯度洗脱:0~1 min,2% B;1~5 min,2.0%~3.6% B;5~10 min,3.6%~27.8% B;10~18 min,27.8%~67% B;18~28 min,67%~89% B;28~30 min,89%~100% B;30~31 min,100% B;31~33 min,100%~2% B;33~34 min,2% B;体积流量0.3  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ;柱温40  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量3  $\mu\text{L}$ 。

质谱条件:电喷雾离子源(ESI),正离子和负离子模式均进行数据采集,采集模式为Full Scan,MS相对分子质量扫描范围50~1 500,MS/MS相对分子质量扫描范围50~1 250,离子源温度450  $^{\circ}\text{C}$ ,雾化气379.225 kPa,辅助气379.225 kPa,气帘气206.85 kPa,正离子模式喷雾电压4.5 kV,负离子模式喷雾电压3.5 kV,去簇电压(DP)60 V,数据采集模式为IDA模式。

## 2.8 细胞脂质组学

样品制备:细胞接种、分组、给药方式同“2.5”项,继续培养24 h,去除细胞培养液后,用0.9% NaCl溶液洗涤细胞1次,吸弃上清,液氮速冻。之后加入200  $\mu\text{L}$ 去离子水,分装于EP管中。充分匀浆后,加入800  $\mu\text{L}$ 甲基叔丁基醚,涡旋,再加入240  $\mu\text{L}$ 预冷甲醇,涡旋,低温超声20 min,室温静置30 min后,于10  $^{\circ}\text{C}$ 、14 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,取上层有机相,氮气吹干。复溶加入120  $\mu\text{L}$ 乙腈-异丙醇-水(65:30:5)的复合溶液,涡旋、超声直至溶解,离心10 min,取上清液进行分析。从每个样品中吸取10  $\mu\text{L}$ 的提取液混合,涡旋后作为质控样本(QC)。

液相条件:沃特世ACQUITY UPLC BEH  $\text{C}_{18}$ 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm,1.7  $\mu\text{m}$ );流动相为40%水-60%乙腈(A)、10%乙腈-90%异丙醇(B)(A和B均含0.1%甲酸和10  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲酸铵)。梯度洗脱:0~2 min,40%~43% B;2~2.1 min,43%~50% B;2.1~12 min,50%~54% B;12~12.1 min,54%~70% B;12.1~18 min,70%~99% B;18~18.1 min,99%~40% B;18.1~20 min,40% B;体积流量0.25  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ;柱温55  $^{\circ}\text{C}$ 、进样量3  $\mu\text{L}$ 。质谱条件

同“2.7”项。

## 2.9 UPLC-Q-TOF-MS数据处理

ASWEMS成分分析:将所采集的高分辨质谱数据导入SCIEX OS软件(版本1.7,AB SCIEX公司),通过搜索系统自带的标准代谢物数据库及文献中的质谱数据比对二级碎片进行成分鉴定。

脂质组学分析:将所采集的高分辨质谱数据(Scan格式)导入MS-DIAL 4.60,Target omics选择Lipidomics。获取匹配和对齐的峰值数据,将得到的峰面积进行峰面积归一化,再将归一化后的数据导入SIMCA 14.1软件进行无监督的主成分分析(PCA)观察样本原始离散程度,依据PLS-DA 200次模型排列实验结果检验验证模型是否成立。同时通过有监督的正交偏最小二乘法分析(OPLS-DA)获取变量重要性投影(VIP),依据VIP>1, $P<0.05$ 的标准筛选差异代谢物。使用人类代谢物数据库(HMDB, <http://www.hmdb.ca/>)和公共化合物数据库(PubChem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)结合二级离子碎片进行差异代谢物鉴定。通过MS-DIAL软件自动匹配结合Lipid maps数据库([https://lipidmaps.org/lipid\\_nomenclature](https://lipidmaps.org/lipid_nomenclature))对脂质结构命名及分类。

## 2.10 统计分析

所有数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用SPSS 26.0进行统计学分析,Student- $t$ 检验联合单因素方差分析法(ANOVA)对实验数据进行统计分析。

## 3 结果

### 3.1 ASWEMS化学成分鉴定

结合文献及本地数据库比对二级碎片,对ASWEMS进行了成分鉴定,最终鉴定了ASWEMS中17种化学成分(图1、表1)。

### 3.2 ASWEMS对CORT损伤的PC12细胞存活率及凋亡率的影响

FB1对PC12细胞存活率的影响见表2,结合文献报道浓度<sup>[14]</sup>,最后选用10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  FB1开展后续实验。如图2所示,400  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CORT处理可使PC12细胞的存活率下降至50%左右,为最佳造模浓度。CCK-8实验结果表明,与对照组相比,模型组细胞存活率显著下降( $P<0.001$ );与模型组比较,分别给予ASWEMS和FB1之后均能够显著提高细胞存活率( $P<0.05$ 、 $0.001$ )。流式细胞术检测结果显示,与对照组相比,模型组细胞凋亡率显著增加( $P<0.001$ );与模型组比较,ASWEMS组和FB1组细胞凋亡率均显著回调( $P<0.001$ )。

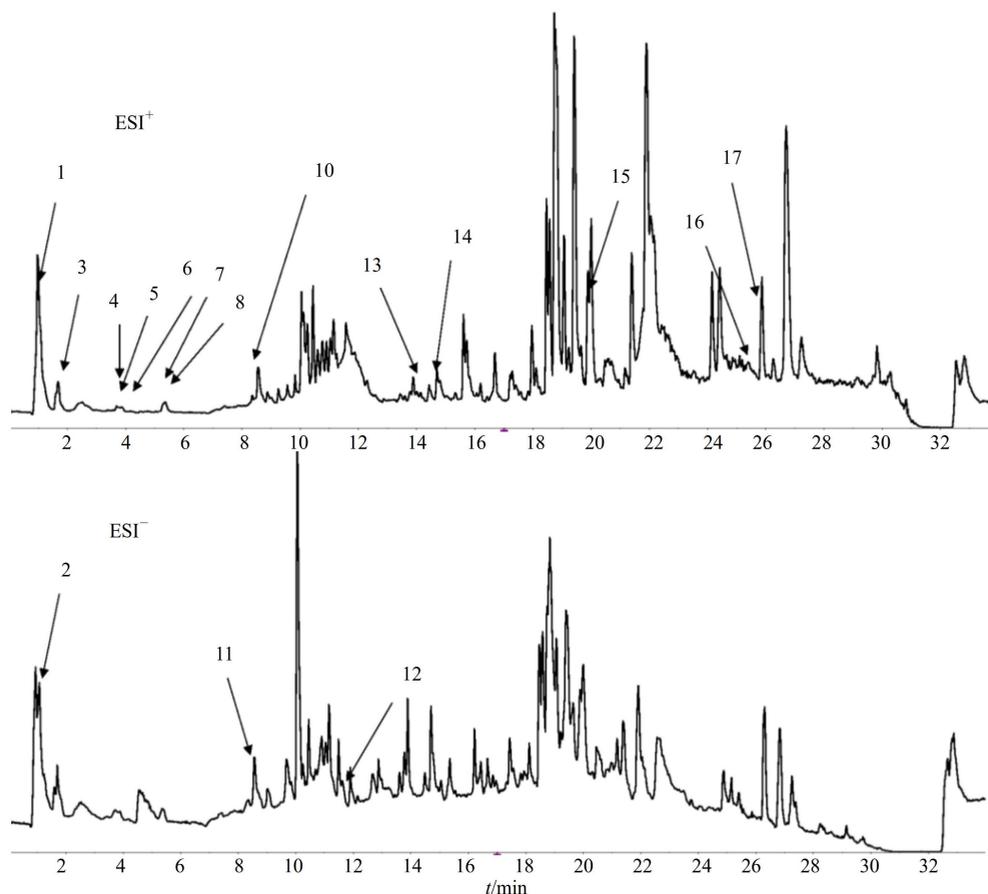


图1 ASWEMS成分的总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of ASWEMS

表1 ASWEMS成分鉴定结果

Table 1 Identification results of components in ASWEMS

序号	$t_R$ /min	成分名称	分子式	$m/z$	二级碎片	模式
1	1.02	缬氨酸(valine)	$C_5H_{11}NO_2$	118.086 9	72.08、70.06	$[M+H]^+$
2	1.09	苹果酸(L-malic acid)	$C_4H_6O_5$	133.011 2	71.00、114.90、133.00	$[M-H]^-$
3	1.69	烟酰胺(nicotinamide)	$C_6H_6N_2O$	123.055 7	123.05、80.05、96.04	$[M+H]^+$
4	2.65	酪氨酸( $\beta$ -tyrosine)	$C_9H_{11}NO_3$	182.081 3	136.00、119.05、120.08	$[M+H]^+$
5	2.65	对香豆酸( <i>p</i> -coumaric acid)	$C_9H_8O_3$	165.054 7	119.04、91.05、103.05	$[M+H]^+$
6	2.66	香豆素(coumarin)	$C_9H_6O_2$	147.044 2	91.05、147.04、119.04	$[M+H]^+$
7	3.77	酰基肉碱( <i>O</i> -glutaryl carnitine)	$C_{12}H_{21}NO_6$	276.144 9	276.14、57.04	$[M+H]^+$
8	5.32	肉桂酸(cinnamic acid)	$C_9H_8O_2$	149.059 8	103.05、131.04、79.05	$[M+H]^+$
9	5.33	苯丙氨酸(phenylalanine)	$C_9H_{11}NO_2$	166.086 4	103.05、120.08、130.99	$[M+H]^+$
10	8.55	吲哚甲醛(indole-3-carboxaldehyde)	$C_9H_7NO$	146.060 0	97.05、117.05、118.06	$[M+H]^+$
11	8.55	色氨酸(L-tryptophan)	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	203.076 9	116.20、141.90	$[M-H]^-$
12	11.43	阿魏酸(ferulic acid)	$C_{10}H_{10}O_4$	193.045 3	178.02、149.06、134.03	$[M-H]^-$
13	13.78	异喹啉(isoquinoline)	$C_9H_7N$	130.065 3	102.03、128.05	$[M+H]^+$
14	14.59	伞形花内酯(umbelliferone)	$C_9H_6O_3$	163.038 9	163.039、164.04、135.044	$[M+H]^+$
15	19.95	亚油酸(9,12-octadecadiynoic acid)	$C_{18}H_{28}O_2$	277.216 7	121.10、79.05、93.07	$[M+H]^+$
16	25.12	亚麻酸(linolenic acid)	$C_{18}H_{30}O_2$	279.232 4	149.0、67.0、81.0	$[M+H]^+$
17	26.27	二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid)	$C_{22}H_{32}O_2$	329.248 3	147.1、149.1、281.2	$[M+H]^+$

表 2 FB1 对 PC12 细胞存活率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 2 Effect of FB1 on survival rate of PC12 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

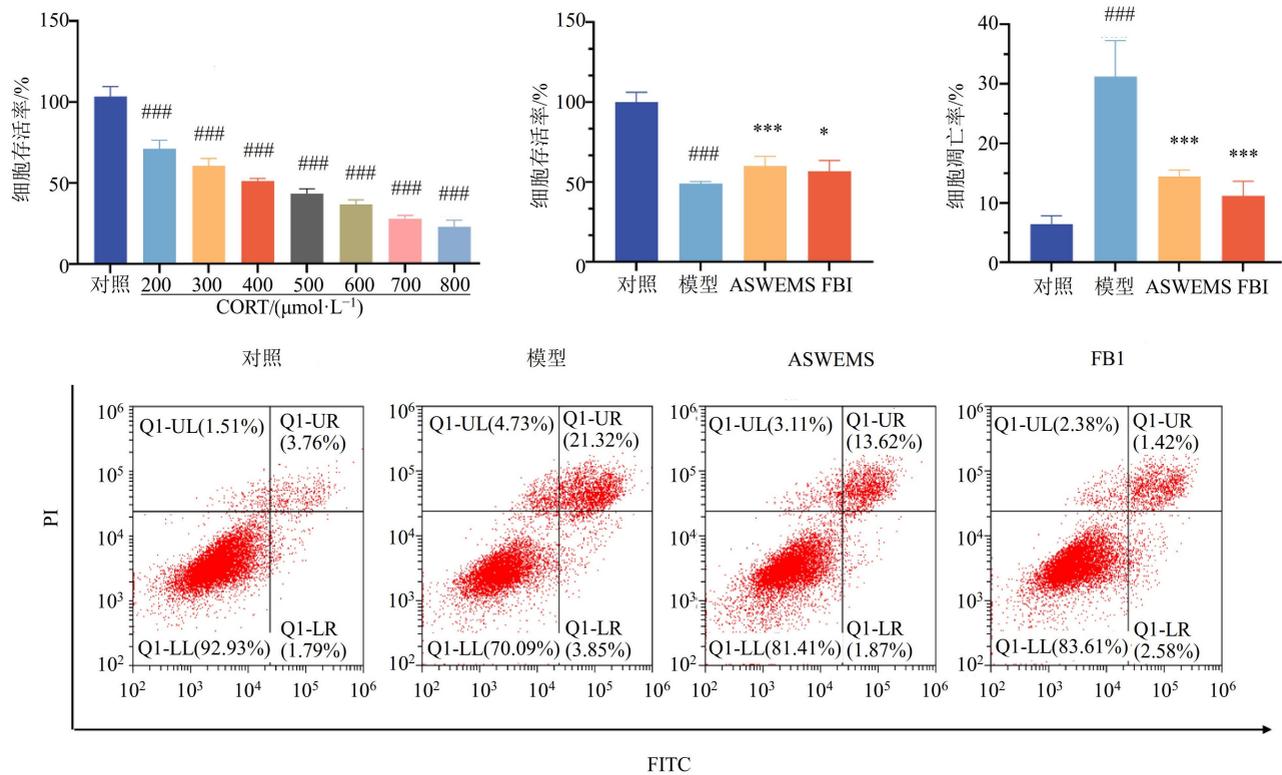
组别	浓度/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	细胞存活率/%
对照	—	100.00 $\pm$ 1.62
FB1	1.25	93.97 $\pm$ 2.64
	2.50	92.95 $\pm$ 2.79 <sup>#</sup>
	5.00	91.54 $\pm$ 2.70 <sup>#</sup>
	10.00	90.49 $\pm$ 0.32 <sup>###</sup>

与对照组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>###</sup> $P < 0.01$ 。

<sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>###</sup> $P < 0.01$  vs control group.

### 3.3 ASWEMS 对 CORT 损伤的 PC12 细胞脂质代谢的影响

**3.3.1 代谢轮廓分析** 正、负离子模式下的 PCA 得分图(图 3-A)显示,对照组和模型组样本发生明显的分离,表明在 CORT 作用下 PC12 细胞的代谢轮廓发生改变。ASWEMS 及 FB1 组趋于对照组,说明 ASWEMS 及 FB1 对 CORT 损伤 PC12 细胞脂代谢紊乱有一定调节作用。QC 聚合度高且接近中心,说明仪器稳定性良好,数据客观可靠,可用于后续分析。进一步的 PLS-DA 200 次模型排列实验结果(图 3-B)表明,模型可靠且具有较好的预测能力,无过



与对照组比较: <sup>###</sup> $P < 0.001$ ; 与模型组比较: <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$ 。

<sup>###</sup> $P < 0.001$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$  vs model group.

图 2 ASWEMS 对 CORT 损伤的 PC12 细胞活力和凋亡的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

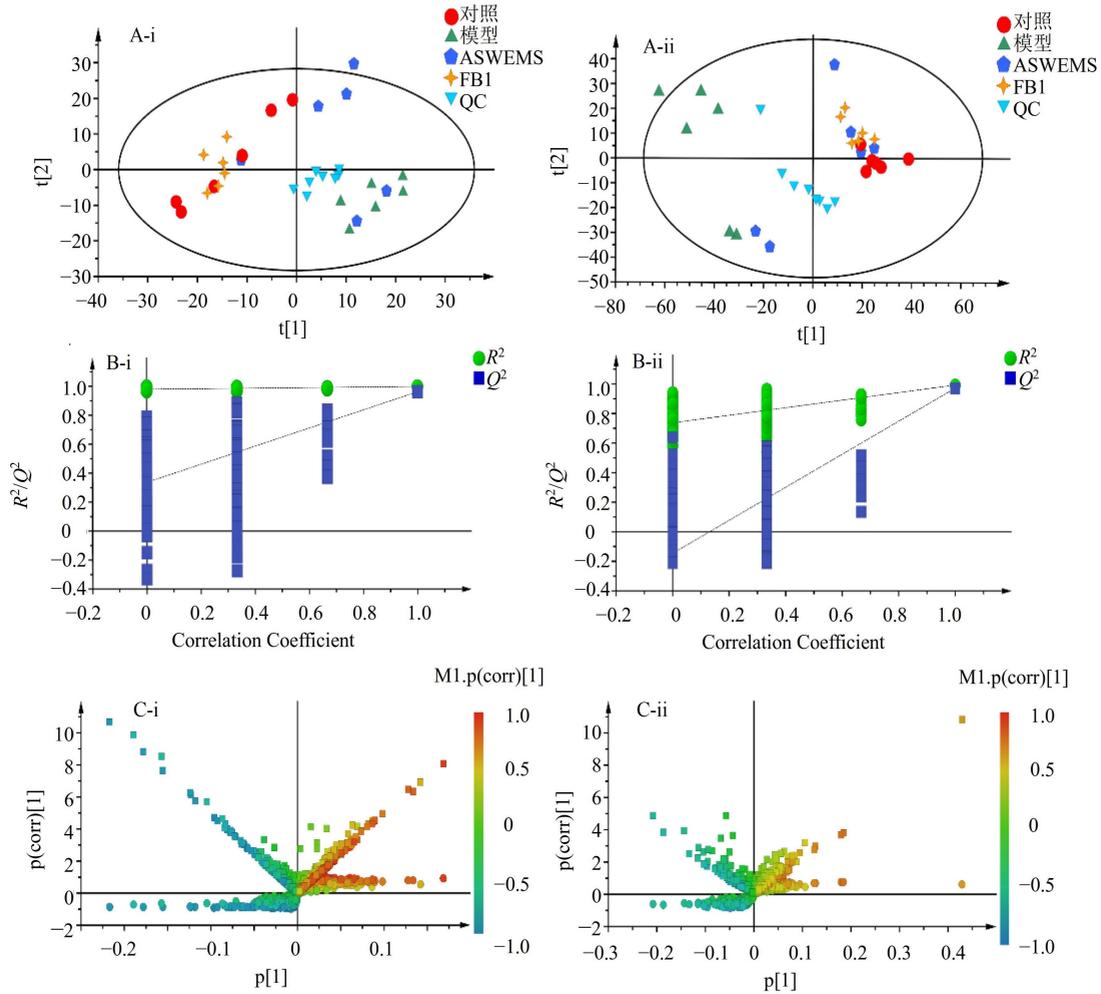
Fig. 2 Effect of ASWEMS on cell vitality and apoptosis of CORT-damaged PC12 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

度拟合(正离子模式  $R^2=0.981$ 、 $Q^2=-0.236$ , 负离子模式  $R^2=0.737$ 、 $Q^2=-0.146$ )。

**3.3.2 差异代谢物分析** 以 V+S-plot 图(图 3-C)中  $VIP > 1$  及  $P < 0.05$  为标准筛选对照与模型组的差异代谢物,经与 HMDB 及 Pubchem 数据库进行比对鉴定,结果如表 3 所示,共筛选鉴定得到 30 个差异代谢物,包括 4 个脂肪酰类化合物、4 个甘油脂类化合物、15 个甘油磷脂类化合物、6 个鞘脂类化合物

以及 1 个固醇脂类化合物。PC12 细胞中的脂肪酰类及甘油磷脂类化合物在 CORT 干预后整体显著上升,二氢鞘氨醇(Dhsph)及植物鞘氨醇(PhytoSph)类均显著下降,鞘磷脂(SM)类均显著上升,给予 ASWEMS 或 FB1 后,各代谢物相对含量均有不同程度的回调(图 4-A)。

**3.3.3 鞘脂代谢通路代谢物分析** 火山图可视化表征结果显示,鞘脂类代谢物是引起对照组与模型



A-CORT 损伤 PC12 细胞对照组与模型组 PCA 得分图正(i)、负(ii)离子模式; B-对照组与模型组的 PLS-DA 模型验证图正(i)、负(ii)离子模式; C-OPLS-DA 的 V+S-plot 图正(i)、负(ii)离子模式。

A-PCA scores of CORT-damaged PC12 cells between control group and model group in positive (i) and negative (ii) ion mode; B-Validation plot of PLS-DA model in positive (i) and negative (ii) ion mode; C-V+S-plot of OPLS-DA in positive (i) and negative (ii) ion mode.

图3 代谢轮廓分析

Fig. 3 Metabolic profile analysis

组差异贡献较大的代谢物(图 4-B)。进一步含量分析结果显示(图 5),与对照组比较,CORT 干预 24 h 后,PC12 细胞中的 Dhsph 类、PhytoSph 类代谢物相对含量显著降低( $P < 0.001$ ),SM 类代谢物相对含量显著升高( $P < 0.001$ );与模型组比较,给予 ASWEMS 及 FB1 干预后各代谢物相对含量具有不同程度的回调( $P < 0.01, 0.001$ )。

**3.3.4 Cer 含量分析** Cer 是鞘脂代谢途径的关键节点代谢物,其过度积累直接参与细胞的凋亡、炎症反应等过程<sup>[17]</sup>,进而影响抑郁症的发生发展。脂质组学研究未筛选出 Cer 类成分作为差异代谢物,但与对照组相比,CORT 损伤的 PC12 细胞中 Cer 总量显著增加(图 6-A),而给予 ASWEMS 和 FB1 处理后,Cer 总量均显著下降( $P < 0.001$ )。但脂质组学检

测结果并未包含所有种类的 Cer,因此采用 ELISA 法检测 PC12 细胞中 Cer 的绝对含量(如图 6-B),研究结果弥补了脂质组学结果局限性,表明 ASWEMS 的神经保护作用与抑制神经酰胺合酶进而调节 Cer 含量有关。

#### 4 讨论

PC12 细胞常用于神经退行性疾病和药物筛选及毒理学研究中<sup>[18]</sup>。CORT 是 1 种在机体受到应激反应时释放的糖皮质激素,它能够引起海马神经元的凋亡,在抑郁症的发生过程中发挥重要作用<sup>[19]</sup>。本研究基于课题组前期研究发现,采用 CORT 损伤的 PC12 细胞模型,以 ASWEMS 为研究对象,同时引入神经酰胺合成酶抑制剂 FB1,结合细胞药理学及脂质组学技术研究当归通过调节鞘脂代谢通路

表 3 CORT 损伤 PC12 细胞相关的差异代谢物

Table 3 Differential metabolites associated with CORT damage to PC12 cells

序号	$t_R$	加和方式	代谢物名称	$m/z$	二级碎片	趋势
1	7.514	$[M+NH_4]^+$	DG(16:0/16:0)	586.540 3	313.27、551.50、569.52、586.50	↓
2	7.671	$[M+NH_4]^+$	DG(16:0/18:0)	612.552 5	239.23、265.25、339.29	↓
3	8.046	$[M+NH_4]^+$	DG(16:0/18:1)	614.571 0	57.00、123.11、267.26、341.30	↑
4	2.430	$[M-H]^-$	FA 18:2	279.232 0	261.22、279.23	↑
5	2.331	$[M-H]^-$	FA 20:4	303.233 4	59.01、259.24、285.21、303.23	↑
6	2.126	$[M-H]^-$	FA 22:6	327.228 7	59.01、283.24、327.23	↑
7	1.988	$[M+H]^+$	LPC 16:0	496.338 2	86.09、104.10、184.07、313.27	↑
8	2.385	$[M+H]^+$	LPC 18:0	524.369 6	184.07、258.10、506.30、524.36	↑
9	2.394	$[M+HCOO]^-$	LPC 18:0	568.361 0	224.06、283.20、508.34、568.30	↑
10	2.047	$[M+H]^+$	LPC 18:1	522.355 2	104.10、184.07、522.30	↑
11	2.502	$[M-H]^-$	LPE 18:0	480.308 1	78.95、152.99、283.26	↑
12	3.199	$[M+NH_4]^+$	MG 18:0	376.339 7	55.05、57.03、95.08、267.20	↑
13	6.465	$[M+H]^+$	PC O-38:6	792.586 9	184.07、609.54、792.58	↑
14	5.839	$[M+H]^+$	PC(14:0/16:0)	706.538 6	184.07、468.31、496.30、706.50	↓
15	6.323	$[M+H]^+$	PC(15:0/18:1)	746.567 9	86.09、184.07、482.35	↑
16	5.488	$[M+H]^+$	PC(16:0/20:5)	780.551 9	184.07、478.33、496.32	↑
17	6.844	$[M+H]^+$	PE(18:0/20:4)	768.550 0	267.26、287.24、627.52、768.50	↑
18	6.618	$[M+H]^+$	PE(18:0/22:6)	792.550 7	267.20、311.20、651.57	↑
19	7.360	$[M+H]^+$	PE(18:1/18:0)	746.570 6	462.28、464.30、605.50	↑
20	6.358	$[M+H]^+$	PE(18:1/18:2)	742.536 5	460.27、462.29、478.28、480.32、601.5	↑
21	6.284	$[M+H]^+$	PE(18:1/20:4)	766.536 3	265.20、287.23、625.51、766.50	↑
22	6.223	$[M+H]^+$	PE(20:4/16:0)	740.519 1	454.2、484.2、599.5	↑
23	5.901	$[M+H]^+$	SM(d18:1/16:0)	703.573 9	184.07、685.56、703.57	↑
24	5.312	$[M+H]^+$	SM(d18:2/16:0)	701.558 8	184.07、683.54、701.55	↑
25	2.189	$[M+H]^+$	SPB 20:0	330.337 1	55.05、57.07、60.04、62.00、71.00、83.00、85.10	↓
26	2.153	$[M+H]^+$	SPB 22:0	374.365 9	320.33、338.34	↓
27	2.634	$[M+H]^+$	SPB 24:0	402.393 6	322.34、339.2、340.3	↓
28	1.848	$[M+H]^+$	Sphinganine	302.304 9	55.05、56.05、60.04、69.07	↓
29	10.159	$[M+H-H_2O]^+$	ST 27:1	369.352 2	81.00、93.07、95.08、105.00、109.10	↑
30	2.308	$[M+H]^+$	NAE 20:0	356.352 0	71.08、338.30、339.30、356.30	↓

与对照组比较,趋势“↑”表明该物质在模型组中显著升高,“↓”表明该物质在模型组中显著降低;Sphinganine 及 SPB 20:0 为二氢鞘氨醇(Dhsph),SPB 22:0 及 SPB 24:0 为植物鞘氨醇(PhytoSph);DG-甘油二酯;FA-脂肪酸;LPC-溶血磷脂酰胆碱;LPE-与醚键连接的磷脂酰基乙醇胺;MG-单硬脂酸甘油酯;PC-磷脂酰胆碱;PE-磷脂酰乙醇胺;SM-鞘磷脂;NAE-N-酰基乙醇胺;ST-甾醇脂类。

Compared with Control group, the trend "↑" indicates that the substance is significantly higher in the model group, and "↓" indicates that the substance is significantly lower in the model group. Sphinganine and SPB 20:0 are Dhsph, SPB 22:0 and SPB 24:0 are PhytoSph. DG-diacylglycerol; FA-fatty acids; LPC-lysophosphatidylcholine; LPE-phosphatidylethanolamine linked to ether bonds; MG-monoglyceride; PC-phosphatidylcholine; PE-phosphatidylethanolamine; SM-sphingomyelin; NAE-N-acylethanolamine; ST-sterol lipids.

发挥神经保护作用的生物学机制。研究结果表明,ASWEMS 可显著逆转 CORT 损伤 PC12 细胞所引起的细胞存活率下降,细胞凋亡率增加,脂质代谢紊乱,Dhsph、PhytoSph、SM 等鞘脂类代谢物相对含量的异常变化,以及 Cer 绝对含量的异常升高,表现出与 FB1 类似的作用效果,表明其作用机制与调节鞘

脂代谢有关。然而,体外实验研究难以完全反映体内真实情况,采用细胞模型研究 ASWEMS 的神经保护作用及潜在机制具有一定的局限性,后续需要进一步采用动物模型进行验证。

脂质组学研究结果表明,ASWEMS 显著改善 CORT 诱导 PC12 细胞脂质代谢紊乱(图 7)。甘油磷

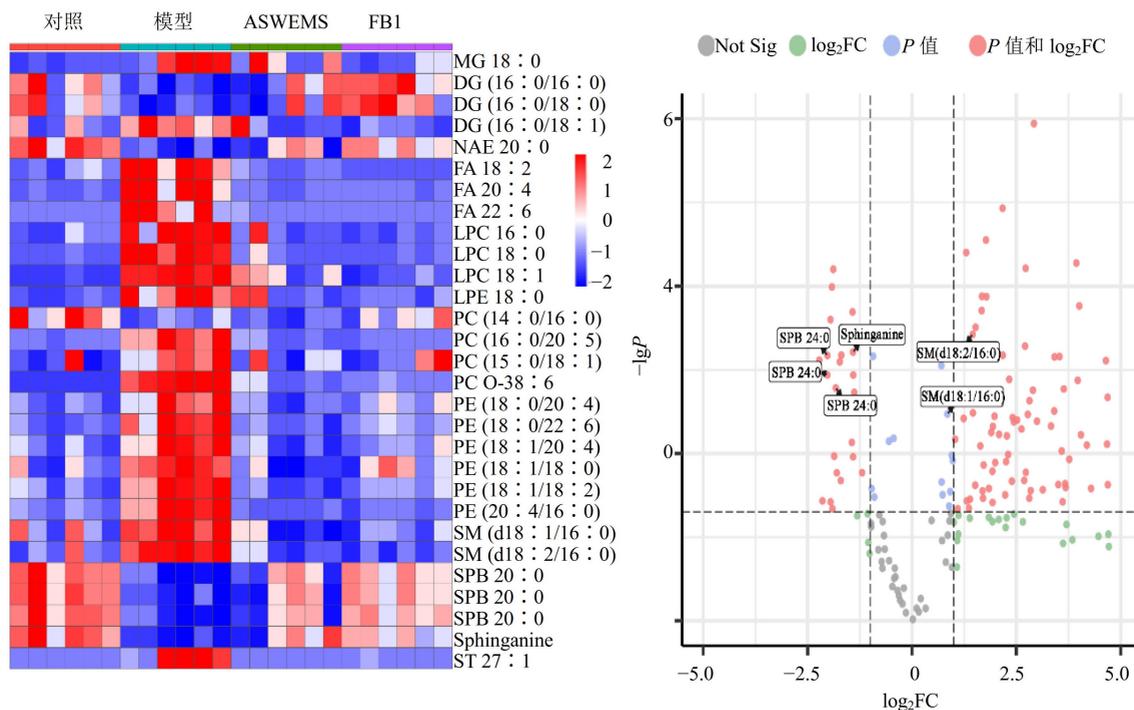
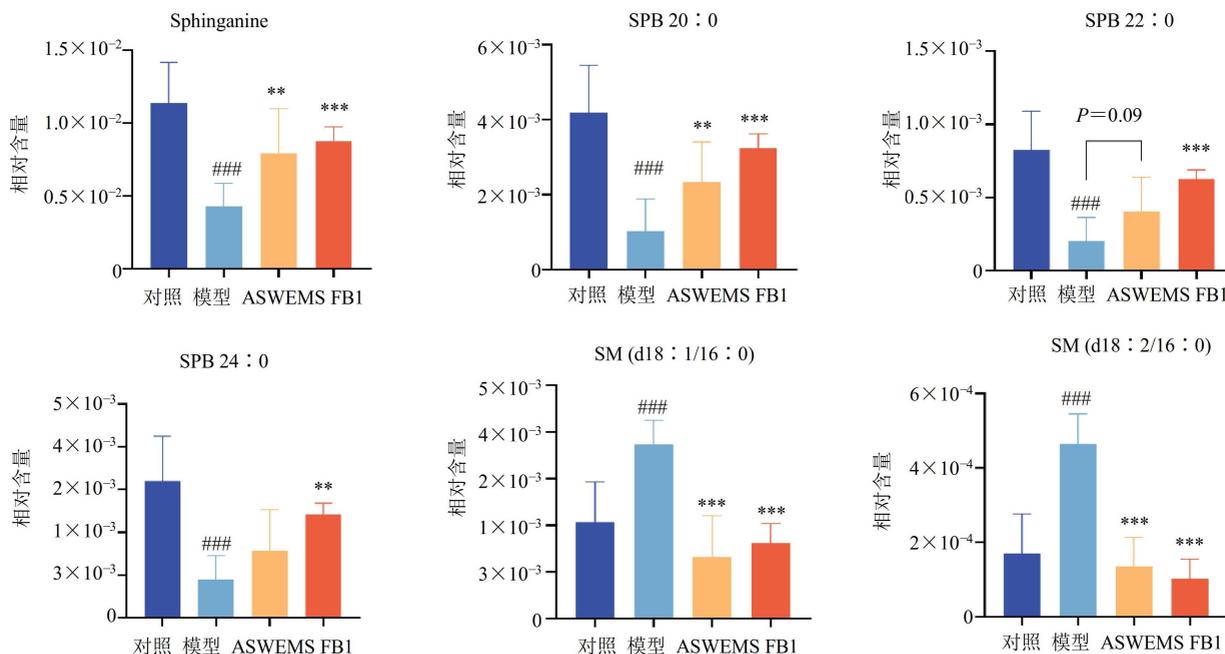


图4 脂质差异代谢物热图(A)和火山图(B)

Fig. 4 Heat map (A) and volcano map (B) of differential metabolites



与对照组比较:### $P < 0.001$ ;与模型组比较:\*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ 。

### $P < 0.001$  vs control group; \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs model group.

图5 鞘脂代谢通路差异代谢物分析( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Fig. 5 Metabolite analysis of sphingolipid metabolic pathway( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

脂及鞘脂代谢途径的差异代谢物检出物质最多,这可能与它们之间的相互作用有关<sup>[20]</sup>。在甘油磷脂代谢途径中,磷脂酰胆碱(PC)可转化为磷脂酰乙醇胺(PE)。在鞘脂代谢途径中,SM类物质可由PC与

Cer反应生成。在以往CORT损伤的PC12细胞模型研究中<sup>[21]</sup>,损伤的PC12细胞存在PC、PE类成分含量升高,导致细胞神经损伤和细胞凋亡。在本研究中,与对照组相比,CORT损伤PC12细胞24 h致使

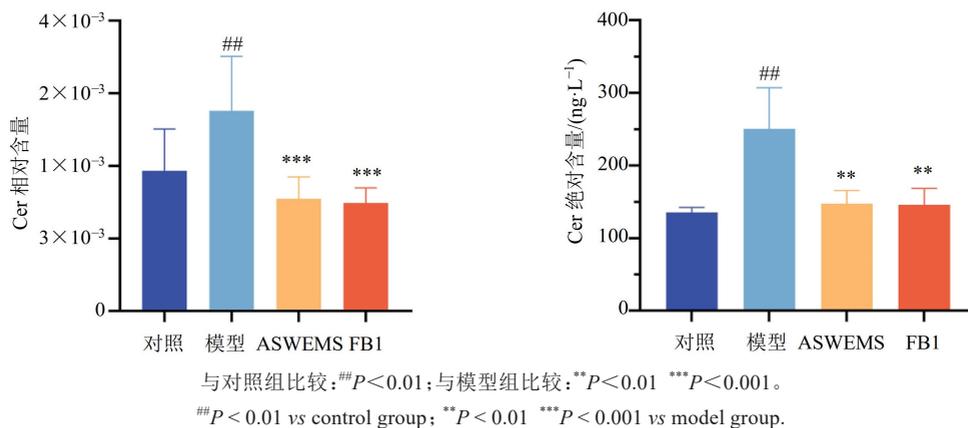
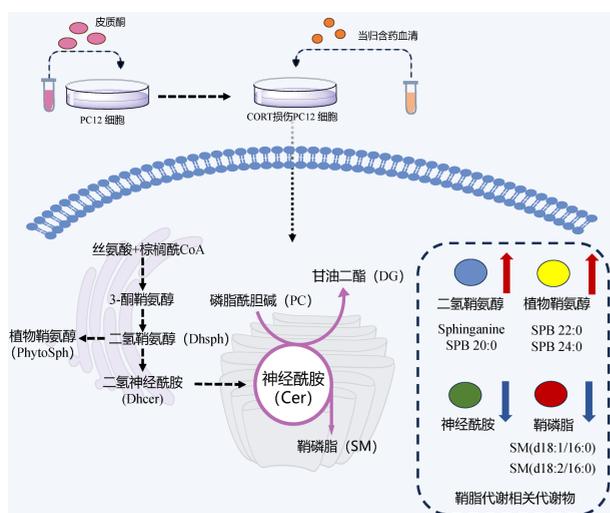


图 6 Cer 相对含量(A,  $\bar{x} \pm s, n=6$ )和绝对含量(B,  $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 6 Cer relative content (A,  $\bar{x} \pm s, n=6$ ) and absolute content (B,  $\bar{x} \pm s, n=3$ )



红色箭头表示与模型组相比, ASWEMS 干预后, 代谢物相对含量上升; 蓝色箭头表示与模型组相比, ASWEMS 干预后, 代谢物相对含量下降; 神经酰胺为总含量变化趋势; 括号内容为该类物质缩写。

The red arrow indicates that the relative metabolite content of ASWEMS increased after intervention compared with the model group. The blue arrow indicates that compared with the model group, the relative metabolite content of ASWEMS decreased after intervention, the change trend of ceramide content was the total content.

图 7 ASWEMS 对 CORT 损伤 PC12 细胞鞘脂代谢物调节作用

Fig. 7 Regulation of sphingolipid metabolites in CORT-injured PC12 cells by ASWEMS

胞内 PC、PE、SM 类含量显著升高, ASWEMS 和 FB1 治疗后代代谢物水平均有不同程度的回调。这与已有的研究报道结果一致<sup>[21]</sup>, 不同脂质之间存在着相互影响(PC 催化生成 SM<sup>[20-21]</sup>)。然而, 本研究结果显示 PC(14:0/16:0) 与其他 PC 类成分变化趋势相反, 推测 PC 类成分生成 SM 需要特定的碳链比例及结构, 后续应该深入探讨它们之间相互影响引起的代谢变化。此外, 本研究采用的 UPLC-Q-TOF-MS

非靶向脂质组学技术仅限于对差异代谢物进行定性分析及相对含量分析, 不能准确反映代谢物的绝对含量变化。且脂质组学结果中只是反映了 Cer 总体的一个含量升高, 并没有反映单个 Cer 变化趋势, ELISA 及脂质组学结果只是反映一个整体的结果, 并不能阐明单个 Cer 的生物学意义。因此, 之后还需使用脂质对照品通过靶向定量分析对 ASWEMS 调节的差异代谢物进行定量, 进一步明确 ASWEMS 发挥神经保护作用的机制。

鞘脂作为生物活性脂质类成分, 可参与生长、凋亡等多种重要生理过程的信号转导。鞘脂代谢是一个高度复杂的网络体系, 其合成反应始于由丝氨酸棕榈酰转移酶催化的棕榈酰辅酶 A (CoA) 和丝氨酸的缩合<sup>[9]</sup>反应, 生成 3-酮鞘氨醇并进一步转化为 Dhsph。Dhsph 在神经酰胺合酶的作用下生成二氢神经酰胺 (Dhcer)<sup>[10]</sup>, 进而由鞘氨醇单加氧酶催化生成 Cer。Cer 和 PC 经鞘磷脂合酶催化生成 SM 和甘油二酯 (DG)<sup>[20]</sup>。临床研究显示, 鞘脂代谢异常在抑郁症的发病机制中有着不可忽视的作用, 抑郁症患者血浆中 SM 浓度异常变化<sup>[16, 22]</sup>, 且其浓度与抑郁程度负相关。SM-Cer 系统在抑郁症的发病机制中起重要作用。进一步研究表明其机制可能与 Cer 的过度积累导致小胶质细胞释放 IL-1 $\beta$ <sup>[23]</sup> 激活神经炎症有关。本研究中, CORT 损伤 PC12 细胞 24 h 致使胞内 Dhsph 和 PhytoSph 含量显著降低, SM 和 Cer 含量显著升高, 给予 ASWEMS 和 FB1 治疗后各鞘脂代谢物水平均有不同程度的回调。其原因可能是 ASWEMS 与 FB1 抑制了 Cer 的合成, 导致 Dhsph 和 PhytoSph 等上游产物无法消耗, 进而促使下游产物 SM 和 Cer 类化合物合成减少。相关研究表明 Cer 的减少与神经元成熟、抑制神经细胞凋

亡、增加神经细胞存活率,并进一步改善抑郁样行为密切相关<sup>[17,24]</sup>。本研究结果表明,ASWEMS与FB1可抑制CORT诱导PC12细胞引起存活率降低及凋亡率升高现象,其原因可能与抑制细胞内Cer过度积累有关。

需要注意的是,本实验中并没有考察FB1及ASWEMS联合用药的作用效果以及采用CORT诱导PC12细胞损伤模型研究ASWEMS的神经保护作用,后续需要进一步建立FB1及ASWEMS联合用药研究以及动物模型的验证。另外,本研究用于评价ASWEMS药效的生化指标为细胞凋亡率,后续还需进行多细胞模型、多药效指标的综合评估,进一步考察ASWEMS的神经保护作用。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- Herrman H, Kieling C, McGorry P, et al. Reducing the global burden of depression: A Lancet-World Psychiatric Association Commission [J]. *Lancet*, 2019, 393(10189): e42-e43.
- Herrman H, Kieling C, McGorry P, et al. Reducing the global burden of depression: A lancet-world psychiatric association commission [J]. *Lancet*, 2019, 393(10189): e42-e43.
- Schwasinger-Schmidt T E, Macaluso M. Other antidepressants [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2019, 250: 325-355.
- Li B R, Xu M J, Wang Y, et al. Gut microbiota: A new target for traditional Chinese medicine in the treatment of depression [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 303: 116038.
- Hansen R A, Gartlehner G, Lohr K N, et al. Efficacy and safety of second-generation antidepressants in the treatment of major depressive disorder [J]. *Ann Intern Med*, 2005, 143(6): 415-426.
- Wang Y S, Shen C Y, Jiang J G. Antidepressant active ingredients from herbs and nutraceuticals used in TCM: Pharmacological mechanisms and prospects for drug discovery [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 150: 104520.
- Qiu Z K, Zhang G H, Zhong D S, et al. Puerarin ameliorated the behavioral deficits induced by chronic stress in rats [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 6266.
- Shen J, Zhang J J, Deng M, et al. The antidepressant effect of *Angelica sinensis* extracts on chronic unpredictable mild stress-induced depression is mediated via the upregulation of the BDNF signaling pathway in rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 7434692.
- Ma J C, Zhang H L, Huang H P, et al. Antidepressant-like effects of Z-ligustilide on chronic unpredictable mild stress-induced depression in rats [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(1): 677.
- Gong W, Chen J, Xu S, et al. The regulatory effect of *Angelicae Sinensis* Radix on neuroendocrine-immune network and sphingolipid metabolism in CUMS-induced model of depression [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 319(Pt 2): 117217.
- 宫文霞, 宋亚鹏, 王艳丽, 等. 基于肝脏代谢组学的当归"活血解郁"作用机制研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(19): 6314-6322.  
Gong W X, Song Y P, Wang Y L, et al. Correlation analysis of "nourishing blood" and "relieving depression" effects of *Angelica sinensis* and study on the regulation mechanism of sphingolipid metabolism [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(19): 6314-6322.
- Feng S, Liu J, Cheng B, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate protects PC12 cells against corticosterone-induced neurotoxicity via the hedgehog signaling pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(5): 4284-4290.
- He D Y, Wang N, Sai X, et al. *Camellia euphlebia* protects against corticosterone-induced apoptosis in differentiated PC12 cells by regulating the mitochondrial apoptotic pathway and PKA/CREB/BDNF signaling pathway [J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 126: 211-222.
- Tang X P, Guo X H, Geng D, et al. D-Limonene protects PC12 cells against corticosterone-induced neurotoxicity by activating the AMPK pathway [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2019, 70: 103192.
- Riley R T, Merrill A H. Ceramide synthase inhibition by fumonisins: A perfect storm of perturbed sphingolipid metabolism, signaling, and disease[S [J]. *J Lipid Res*, 2019, 60(7): 1183-1189.
- Johnson C H, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: Beyond biomarkers and towards mechanisms [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(7): 451-459.
- Liu X Y, Li J, Zheng P, et al. Plasma lipidomics reveals potential lipid markers of major depressive disorder [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2016, 408(23): 6497-6507.
- Haimovitz-Friedman A, Kolesnick R N, Fuks Z. Ceramide signaling in apoptosis [J]. *Br Med Bull*, 1997, 53(3): 539-553.
- Gong W X, Zhou Y Z, Qin X M, et al. Involvement of mitochondrial apoptotic pathway and MAPKs/NF- $\kappa$ B inflammatory pathway in the neuroprotective effect of atractylenolide III in corticosterone-induced PC12 cells [J]. *Chin J Nat Med*, 2019, 17(4): 264-274.

- [19] Reul J M, van den Bosch F R, de Kloet E R. Relative occupation of type-I and type-II corticosteroid receptors in rat brain following stress and dexamethasone treatment: Functional implications [J]. J Endocrinol, 1987, 115(3): 459-467.
- [20] Rodriguez-Cuenca S, Pellegrinelli V, Campbell M, et al. Sphingolipids and glycerophospholipids - The "Ying and Yang" of lipotoxicity in metabolic diseases [J]. Prog Lipid Res, 2017, 66: 14-29.
- [21] 尹春丽. 基于细胞代谢组学分析技术的阿魏酸和柚皮苷对PC12细胞神经保护作用的研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2020.  
Yin C L. Neuroprotective effects of ferulic acid and naringin on PC12 cells based on cell metabolomics analysis technology [D]. Nanning: Guangxi Medical University, 2020.
- [22] Demirkan A, Isaacs A, Ugocsai P, et al. Plasma phosphatidylcholine and sphingomyelin concentrations are associated with depression and anxiety symptoms in a Dutch family-based lipidomics study [J]. J Psychiatr Res, 2013, 47(3): 357-362.
- [23] Scheiblich H, Schlütter A, Golenbock D T, et al. Activation of the NLRP3 inflammasome in microglia: The role of ceramide [J]. J Neurochem, 2017, 143(5): 534-550.
- [24] Gulbins E, Palmada M, Reichel M, et al. Acid sphingomyelinase-ceramide system mediates effects of antidepressant drugs [J]. Nat Med, 2013, 19(7): 934-938.

[责任编辑 兰新新]

·公益广告·

