

## 【 实验研究 】

## 应激源特异性塑造抑郁肠道微环境：慢性不可预知温和应激模型与慢性束缚应激模型大鼠的肠道菌群-代谢轴比较

陈雨馨<sup>1</sup>, 于 猛<sup>1</sup>, 方敬贤<sup>2</sup>, 潘瑞乐<sup>1\*</sup>, 邹忠梅<sup>1\*</sup>

1. 中国医学科学院 北京协和医学院, 药用植物研究所, 北京 100193

2. 湖北中医药大学 药学院 中药资源与中药化学湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430065

**摘要:** 目的 比较慢性不可预知温和应激 (CUMS) 与慢性束缚应激 (CRS) 抑郁大鼠的肠道真菌、细菌及其代谢产物的差异, 从“肠道菌群-代谢轴”角度探索不同应激刺激塑造抑郁大鼠肠道微环境是否具有特异性。方法 制备 CUMS 和 CRS 大鼠模型, 采用强迫游泳实验和悬尾实验验证模型成功; 采用 16S rRNA 基因测序技术测定 2 种抑郁模型大鼠肠道真菌、细菌的多样性及组成。应用 UPLC-Q-TOF/MS 技术的非靶向代谢组学方法, 检测大鼠肠道内容物的代谢轮廓及代谢产物。通过数据关联分析, 筛选与抑郁发生发展相关的肠道真菌、细菌及代谢产物, 并比较 2 种模型的差异。结果 与相应对照组相比, CUMS 大鼠和 CRS 大鼠强迫游泳和悬尾不动时间均显著延长 ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), 证实 CUMS 和 CRS 抑郁模型已成功制备。2 种模型肠道真菌具有一定的相似性, 其中门水平真菌 *Fungi\_phy\_Incertae\_sedis* 和 *unclassified\_k\_Fungi* 以及属水平真菌 *Fungi\_gen\_Incertae\_sedis* 和 *unclassified\_k\_Fungi* 在 2 种模型中的丰度均显著降低。2 种模型大鼠肠道细菌组成及丰度变化差异较大, 如 *Patascibacterota* 的丰度在 CUMS 大鼠中增加, 而在 CRS 大鼠中降低; *norank\_f\_[Eubacterium]\_coprostanoligenes\_group* 的丰度在 CUMS 大鼠中减少而在 CRS 大鼠中增加; *Candidatus\_Saccharimonas* 等 5 个属的细菌仅在 CUMS 大鼠中观察到显著变化; *Thermodesulfobacteriota* 和 *Actinomycetota* 等 2 个门和 *norank\_f\_Muribaculaceae* 等 9 个属细菌仅在 CRS 大鼠中显著改变。2 种模型大鼠肠道菌群代谢产物及富集通路差异较大, CUMS 大鼠主要与初级胆汁酸生物合成、不饱和脂肪酸生物合成和色氨酸代谢紊乱密切相关, 而 CRS 大鼠主要与类固醇激素生物合成和嘌呤代谢紊乱密切相关。结论 CUMS 与 CRS 通过不同的菌群-代谢轴诱发抑郁样表现, 提示应激源性质可特异性塑造肠道微环境与代谢紊乱模式, 为抑郁的异质性机制研究与精准干预提供新思路。

**关键词:** 抑郁症; 慢性不可预知温和应激; 慢性束缚应激; 肠道真菌; 肠道细菌; 肠道菌群-代谢轴

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2026)05-1469-16

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.05.001

## Stressor-specific shaping of depressive gut microenvironment: A comparative study of gut microbiota-metabolite axis in chronic unpredictable mild stress model and chronic restraint stress model in rats

CHEN Yuxin<sup>1</sup>, YU Meng<sup>1</sup>, FANG Jingxian<sup>2</sup>, PAN Ruile<sup>1</sup>, ZOU Zhongmei<sup>1</sup>

1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences &amp; Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

2. Hubei Key Laboratory of Resource Science and Chemistry in Chinese Medicine, Pharmacy Faculty, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

**Abstract: Objective** To compare the differences in gut mycobiota, microbiota, and metabolites between depression rat models induced by Chronic Unpredictable Mild Stress (CUMS) and Chronic Restraint Stress (CRS). From the perspective of the "gut

收稿日期: 2026-01-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82274076)

作者简介: 陈雨馨 (2001—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础和作用机制。E-mail: chen-yuxin@implad.ac.cn

\*通信作者: 潘瑞乐, 硕士生导师, 研究员, 研究方向为中药质量控制。E-mail: rlpan@implad.ac.cn

邹忠梅, 博士生导师, 研究员, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: zmzou@implad.ac.cn

microbiota-metabolite axis", this study aims to explore whether different stress stimuli specifically shape the gut microenvironment in depressed rats. **Methods** The CUMS and CRS rat models were prepared, and the success of the models was verified through the forced swimming test and the tail suspension test. 16S rRNA gene sequencing technique was used to determine the diversity and composition of gut mycobiota and microbiota in rats based on the two models. The metabolic profile and metabolites of gut contents in rats were detected by using the untargeted metabolomics method of UPLC-Q-TOF/MS. Through data association analysis, gut mycobiota, microbiota, and metabolites related to the occurrence and development of depression were screened, and the differences between the two models were compared. **Results** Compared with the corresponding control groups, the forced swimming and tail suspension immobility times of the CUMS rats and the CRS rats were significantly prolonged ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), confirming that the depression models of CUMS and CRS have been successfully established. The sequencing results showed that the gut mycobiota in the two models had certain similarities, and the abundance of *Fungi\_phy\_Incertae\_sedis* and *unclassified\_k\_Fungi* in the phylum level and *Fungi\_gen\_Incertae\_sedis* and *unclassified\_k\_Fungi* in the genus level in the two models decreased significantly. There were significant differences in gut microbiota composition and change trend between the two models. Such as, the abundance of *Patescibacterota* increased in CUMS rats and decreased in CRS rats; the abundance of *norank\_f\_[Eubacterium]\_coprostanoligenes\_group* decreased in CUMS rats and increased in CRS rats; the bacterium of *Candidatus\_Saccharimonas* and other four genus level bacteria showed significant changes only in CUMS rats; two phylum level bacteria including *Thermodesulfobacteriota* and *Actinomycetota* and nine genus level bacteria including *norank\_f\_Muribaculaceae* changed significantly in CRS rats. The results of metabolomics study showed that the metabolites and enrichment pathways of gut microbiota in the two models were significantly different. CUMS rats were mainly related to the disturbance of primary bile acid biosynthesis, unsaturated fatty acid biosynthesis and tryptophan metabolism, while CRS rats were mainly related to the disturbance of steroid hormone biosynthesis and purine metabolism. **Conclusion** Our findings demonstrate that CUMS and CRS induce depression-like phenotypes via distinct gut microbiota-metabolite axis, highlighting stressor-specific modulation of the gut microenvironment and metabolism. This work advances our understanding of the heterogeneous pathophysiology of depression and lays the groundwork for targeted interventions.

**Key words:** depression; chronic unpredictable mild stress; chronic restraint stress; gut mycobiota; gut microbiota; gut microbiota-metabolite axis

抑郁症是由多种因素引起的以持续性情绪低落为主要特征的一种精神类疾病，其临床表现多样，往往伴有记忆、语言、执行等功能认知方面的损害。研究显示，在全球范围内，每年约有 5% 的成年人患有抑郁症，并预测 2030 年抑郁症将成为全球疾病负担的主要原因<sup>[1-2]</sup>。慢性不可预知温和应激（CUMS）、慢性束缚应激（CRS）、慢性社交挫败应激、习得性无助、母婴分离等动物模型常用于研究抑郁症的发病机制及药物治疗作用，特别是 CUMS 和 CRS 应用最为广泛<sup>[1-5]</sup>。CUMS 是通过动物随机使用几种不同的应激，包括电击、剥夺食水、冷水浸泡、反转昼夜节律等，使动物无法预料刺激的发生，其主要模拟人类日常生活中遇到的不可预测的身心刺激，并反映人类抑郁症的一些核心症状（如快感缺乏、焦虑和绝望）。CRS 则是对动物的身体进行束缚，将四肢捆绑固定，束缚于木板或自制束缚器内，该模型可模拟人们生活节奏快、活动空间小的社会环境，能很好地反映生活空间狭小对心理的影响及兴趣缺失这一抑郁核心症状<sup>[6-7]</sup>。目前，2 种应激诱导的抑郁动物模型评价标准基本一

致，但二者诱导的抑郁发生机制至今尚不明确。

肠道菌群是寄生于人体肠道的微生物群落，其主体为细菌，同时也涵盖了真菌、病毒等微生物。作为宿主肠道与大脑间的关键调节因子，肠道菌群与宿主的中枢神经系统间存在双向交流，驱动大脑影响菌群的组成，进而影响宿主脑部功能<sup>[8]</sup>。大量研究表明，抑郁症患者和健康人群之间的肠道微生物组成存在显著差异<sup>[9-12]</sup>。肠道菌群的失衡可能会增加抑郁症的易感性，而抑郁症的发生也可通过改变肠道菌群的组成、代谢、激素的分泌、神经递质的传递和免疫平衡来影响肠道微生物的稳态<sup>[13-14]</sup>。此外，肠道菌群代谢产物，如短链脂肪酸、支链氨基酸、胆汁酸类、单胺类物质，色氨酸、大麻素、胆碱等，在抑郁发生发展过程中也具有重要作用<sup>[15-21]</sup>。因此，明确不同抑郁模型动物的肠道菌群及其代谢产物的变化，从“肠道菌群-代谢轴”角度探索不同应激刺激对塑造大鼠肠道微环境是否具有特异性，可为探索抑郁症的机制及精准分型治疗方案提供新的思路。

本研究通过制备 2 种常规应激诱导的抑郁模

型——CUMS 和 CRS, 采用 16S rRNA 基因测序技术结合非靶向代谢组学方法, 比较 2 种抑郁模型大鼠肠道真菌、细菌及其代谢产物的差异, 为深入阐释抑郁症的发病机制、开发选择更有效的治疗策略提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 主要试剂

蔗糖(国药集团化学试剂有限公司); 戊巴比妥钠(美国 Sigma 公司); 琼脂糖(美国 Thermo Scientific 公司); 色谱级甲醇和乙腈、质谱级甲酸(美国赛默飞世尔科技公司); 粪便总 DNA 抽提试剂盒、DNA 凝胶回收纯化试剂盒(上海美吉途华生物医药科技有限公司); NEXTFLEX® RapidDNA-Seq 试剂盒(美国 Bioo Scientific 公司)。

### 1.2 主要仪器

Milli-Q 水净化系统(美国 Millipore 公司); XR-XQ 202 SuperFst 强迫游泳装置、XR-XX 203 SuperTst 悬尾装置(上海欣软信息科技有限公司); 自制束缚筒; KQ500-DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 漩涡混合仪(美国 Labnet 公司); Legend Micro 17 R 型高速低温离心机、NanoDrop2000 超微量分光光度计、Qubit4.0 荧光定量仪(美国 Thermo Fisher Scientific); ES-1201P 型电子天平(长沙湘平科技发展有限公司); JY600C 双稳定时电泳仪(北京君意东方电泳设备有限公司); T100 Thermal Cycler PCR 仪(美国 BIO-RAD 公司); NextSep 2000 二代测序仪(美国 Illumina 公司); SYNAPT XS 超高效液相四级杆飞行时间质谱联用系统(美国沃特世科技有限公司)。

### 1.3 实验动物

SPF 级雄性 Wistar 大鼠 24 只, 体质量为 220~260 g, 由北京斯贝福生物技术有限公司提供, 合格证号 11032424110708471, 实验动物生产许可证号 SCXK(京)2024-0001。所有大鼠均饲养于中国医学科学院药用植物研究所 SPF 级动物房, 自由摄食饮水, 昼夜交替光照(光照时间为 9:00~21:00), 温度(25±2)℃, 相对湿度 50%~70%。实验方案得到中国医学科学院药用植物研究所实验动物伦理委员会批准(SLXD-20241119013)。

## 2 方法

### 2.1 动物分组及模型的建立

动物实验共设 4 个组别: 对照-1 组、CUMS 组;

对照-2 组、CRS 组, 每组 6 只。考虑到 CRS 造模过程中食物和水的影响, 其对应的对照-2 组在模型组束缚期间禁食禁水, 而 CUMS 对应的对照-1 组则不做任何处理。大鼠经 7 d 适应期后, 进行为期 28 d 的造模, 随后开展行为学检测。

CUMS 模型: 参照 Gao 等<sup>[22]</sup>建立的 CUMS 模型加以改进, 大鼠每天随机给予 2 种以下刺激, 包括禁食(24 h); 束缚 6 h; 足底电击(2 mA, 持续 2 s, 30 次); 热、冷水游泳(45℃、-4℃, 5 min); 噪声(110 dB, 1 h); 频闪(2 闪·s<sup>-1</sup>, 4 h); 禁水(24 h)+空瓶刺激(24 h); 夹尾刺激 1 min; 倾斜鼠笼(梯笼, 45°)+潮湿垫料饲养。

CRS 模型: 参照 Xu 等<sup>[23]</sup>建立的 CRS 造模方法, 使用自制束缚筒(内径 6.5 cm, 长度 20 cm)对大鼠进行每天 6 h(9:00~15:00)束缚。束缚期间所有大鼠(含对照-2 组)禁食禁水, 束缚结束后给予所有大鼠自由饮食饮水。

### 2.2 行为学测试

造模结束后, 对各组大鼠进行行为学测试, 包括强迫游泳实验和悬尾实验, 具体操作方法参考文献报道<sup>[24-25]</sup>。

### 2.3 样品收集与处理

在末次造模结束后收集各组大鼠粪便样本, 并保存于-80℃冰箱, 用于肠道菌群分析。行为学结束后, 各组大鼠禁食不禁水 12 h, ip 戊巴比妥钠(30 mg·kg<sup>-1</sup>)进行麻醉, 麻醉后解剖大鼠并分离盲肠, 取其内容物分装于 2 mL 冻存管内, 置于-80℃冰箱保存, 用于代谢组学分析。

### 2.4 肠道菌群 16s rRNA 基因扩增测序分析

收集末次造模后各组大鼠粪便, 置于 2 mL 冻存管, 暂存于液氮中, 随后转移至-80℃冰箱保存。使用粪便 DNA 抽取试剂盒从粪便中提取总 DNA, 由 NanoDrop2000 测定其浓度和纯度后, 采用特异性引物 ITS1F/ITS2R (ITS1F: 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'和 ITS2R: 5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')和 338F/806R (338F: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3', 806R: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')分别对真菌和细菌区域进行 PCR 扩增, 利用 DNA 凝胶回收纯化试剂盒进行 PCR 回收产物纯化, 并用 Synergy HTX 对回收产物进行检测定量。结合 Illumina 测序平台, 在每个扩增子序列变异(ASV)注释后, 进行基于 ASV table 的 β-多样性及组间差异分析。

## 2.5 大鼠盲肠内容物非靶向代谢组学分析

**2.5.1 样本前处理** 取-80 °C 冻存的盲肠内容物样本于冰上解冻, 称取约 100 mg 置于 2 mL 离心管中, 加入预冷的超纯水 500  $\mu$ L, 涡旋 5 min, 4 °C、13 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min。取 300  $\mu$ L 上清液置于 1.5 mL 离心管, 作为第一步提取液; 在盲肠内容物沉淀物中再加入 500  $\mu$ L 甲醇, 涡旋 5 min, 4 °C、13 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min。取 300  $\mu$ L 上清液作为第二步提取液, 并与第一步提取液混合。涡旋 30 s, 4 °C、13 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 0.22  $\mu$ m 滤膜滤过后, 待进样分析。为保证序列分析的稳定性, 将各组盲肠内容物样品各混合 10  $\mu$ L 制备质控样品 (QC)。

**2.5.2 色谱与质谱条件** 色谱条件: 采用 Waters ACQUITY UPLC 系统, 配备二元溶剂输送系统和自动进样器, 色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (100 mm×2.1 mm, 1.8  $\mu$ m); 流动相由含 0.1% 甲酸-水 (A) 和 0.1% 甲酸-乙腈 (B) 组成, 梯度洗脱, 洗脱程序为 0~2 min, 1%→13% B; 2~5 min, 13%→25% B; 5~9 min, 25%→40% B; 9~12 min, 40%→60% B; 12~15 min, 60%→100% B; 15~20 min, 100% B; 体积流量为 0.40 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温 40 °C; 样品室温度 10 °C; 进样量为 3  $\mu$ L。

质谱条件: 质谱采用 Waters SYNAPT XS 系统, 以氮气作为雾化、锥孔气; 电喷雾电离: 正、负离子模式; 飞行管检测模式: W 型; 毛细管电压: 正离子模式 1.5 kV, 负离子模式 1.5 kV; 锥孔电压: 40 V; 萃取锥孔: 5 V; 源温: 100 °C; 脱溶剂气温

度: 400 °C; 反向锥孔气流: 50 L·h<sup>-1</sup>; 脱溶剂气流: 600 L·h<sup>-1</sup>; 扫描时间: 1 s; 扫描时间间隔: 0.15 s; 质荷比:  $m/z$  50~1 200; 数据采集形式: continuum; 灵敏性: normal; 动态范围: extended; 校正液锁定质量数: 正离子模式  $m/z$  556.277 1, 负离子模式  $m/z$  554.261 5。

**2.5.3 数据处理** 将质谱采集的原始数据导入 Progenesis QI 软件根据待测物的保留时间及精确相对分子质量进行峰对齐和峰提取, 经处理后在 SIMCA 14.1 平台中进行主成分分析 (PCA) 和正交偏最小二乘-判别分析 (OPLS-DA)。筛选  $P < 0.05$ , 倍数变化 (FC)  $> 1.5$ , 变异系数 (CV)  $\leq 30\%$ ,  $|P(\text{corr})| \geq 0.5$  和变量投影重要性 (VIP)  $\geq 1$  的差异代谢物。利用人类代谢组数据库 (HMDB) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 数据库鉴定差异代谢物, 应用 Metaboanalyst 6.0 对筛选得到的差异代谢物进行代谢通路富集分析。

## 2.6 统计学分析

利用 SPSS 27.0 软件进行统计学分析, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。采用最小显著性差异法  $t$  检验。运用 GraphPad 10.0 进行柱形图绘制。相关性分析基于 Omicshare 平台 (<https://www.omicshare.com/>) 分析绘制。

## 3 结果

如图 1 所示, 与相应对照组相比, CUMS 大鼠和 CRS 大鼠强迫游泳和悬尾不动时间均显著延长 ( $P < 0.05$ 、0.01、0.001), 证实 CUMS 和 CRS 抑郁模型已成功制备。

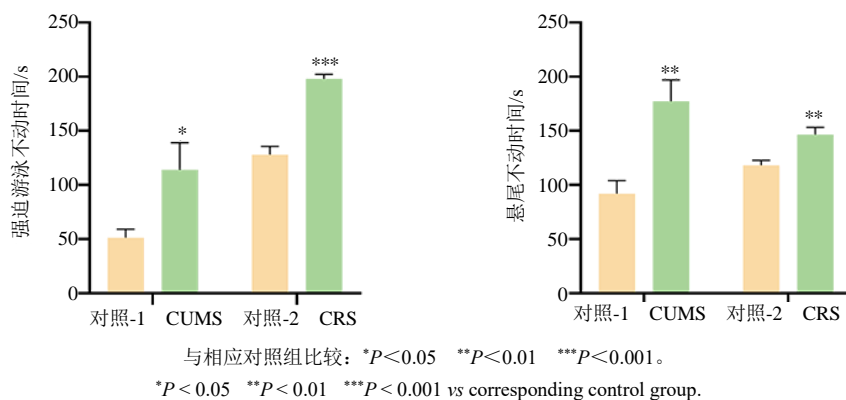


图 1 CUMS 和 CRS 大鼠强迫游泳实验不动时间和悬尾不动时间 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Fig. 1 Immobility time of forced swimming test and tail suspension test in CUMS and CRS rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

## 3.1 CUMS 和 CRS 大鼠肠道真菌组成的比较

如图 2 所示,  $\beta$ -多样性可度量不同样本之间菌群组成的相似性。其中, 主坐标分析 (PCoA) 是最经典的非约束排序方法之一<sup>[26]</sup>, 可用于评估样品分

组聚类情况及组内重复性。PCoA 聚类分析结果显示, CUMS 组和 CRS 组大鼠粪便真菌 ASV 聚类结果均与对照组明显分离, 提示 2 种抑郁模型大鼠的肠道真菌组成均发生改变。

如图 3 所示,与相应对照组比较,门水平真菌 Fungi\_phy\_Incertae\_sedis 和 unclassified\_k\_Fungi 在 2 种模型中的变化趋势一致,丰度均显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ );但门水平真菌 Ascomycota 和 Basidiomycota 的丰度在 2 种模型大鼠中变化不一致,Ascomycota 在 CRS 大鼠中显著增加 ( $P < 0.05$ ),而在 CUMS 大鼠中与对照组相比无显著性差异;丰度相对较低的门水平真菌 Basidiomycota 在 CUMS 大鼠中显著降低 ( $P < 0.05$ ),但在 CRS 大鼠中未见显著改变。

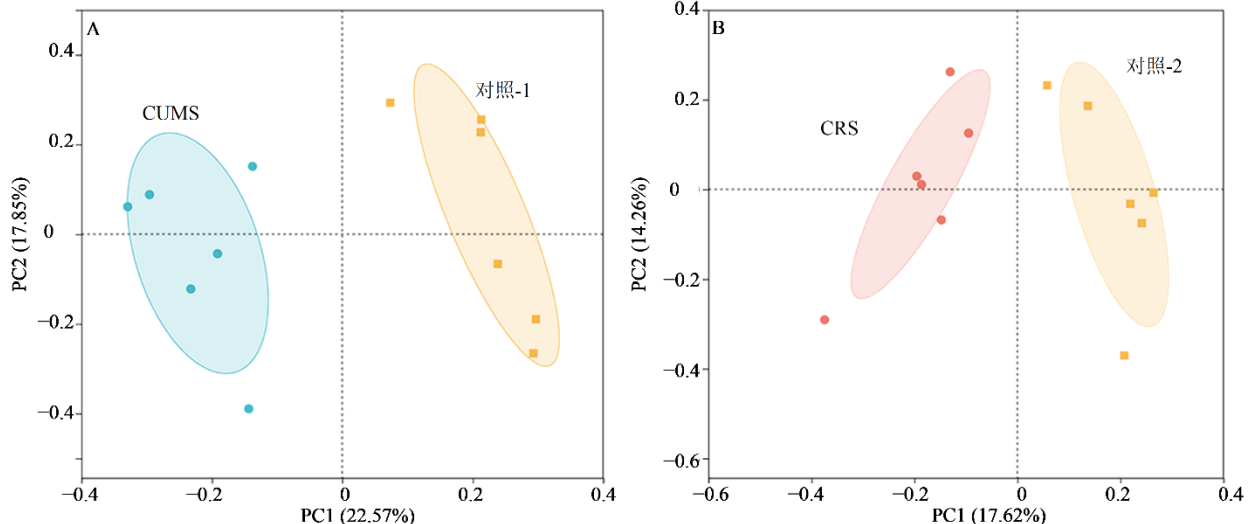
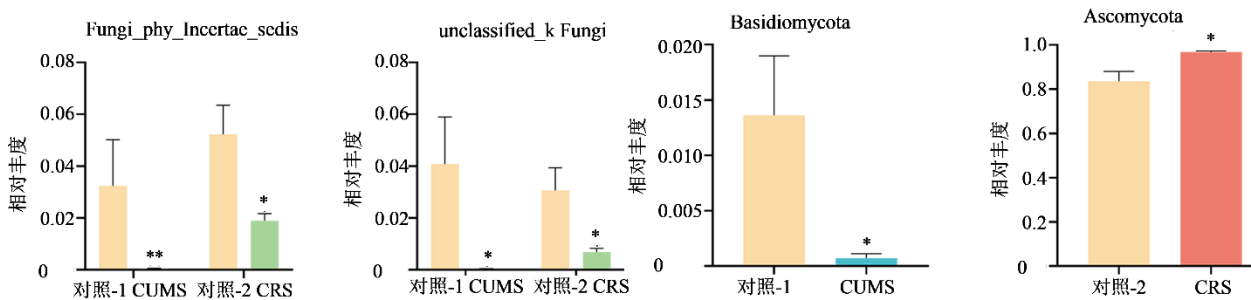


图 2 CUMS (A) 和 CRS (B) 大鼠肠道真菌的 PCoA 得分图

Fig. 2 PCoA score plots of gut mycobacteria in CUMS (A) and CRS (B) rats



与相应对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ 。

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs corresponding control group.

图 3 CUMS 和 CRS 大鼠肠道门水平真菌的差异分析 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Fig. 3 Analysis of difference of gut mycobacteria at phylum level between CUMS and CRS rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

### 3.2 CUMS 和 CRS 大鼠肠道细菌组成的比较

PCoA 聚类分析结果显示, CUMS 组和 CRS 组大鼠粪便细菌 ASV 聚类结果均与对照组明显分离,提示 2 种抑郁模型大鼠的肠道细菌组成也均发生显著改变 (图 5)。

如图 6 所示,细菌门水平分析显示,与对照组

如图 4 所示,肠道属水平真菌分析发现, Fungi\_gen\_Incertae\_sedis、unclassified\_k\_Fungi 的丰度均显著减少 ( $P < 0.05$ ), Kazachstania 的丰度在 2 个模型中的变化趋势相反,即在 CUMS 大鼠中显著减少,但在 CRS 大鼠中显著增加 ( $P < 0.05$ )。另外,在 CUMS 大鼠中检测到 Diutina 等 6 个属水平的真菌发生显著改变,但它们的相对丰度均较低;在 CRS 大鼠中检测到 Didymella 等 6 个低丰度的属水平真菌发生变化。结果提示, CUMS 大鼠和 CRS 大鼠肠道真菌的变化具有相似性。

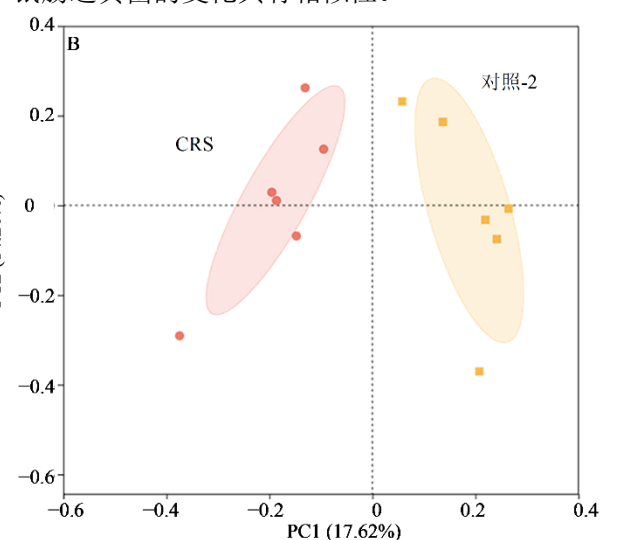
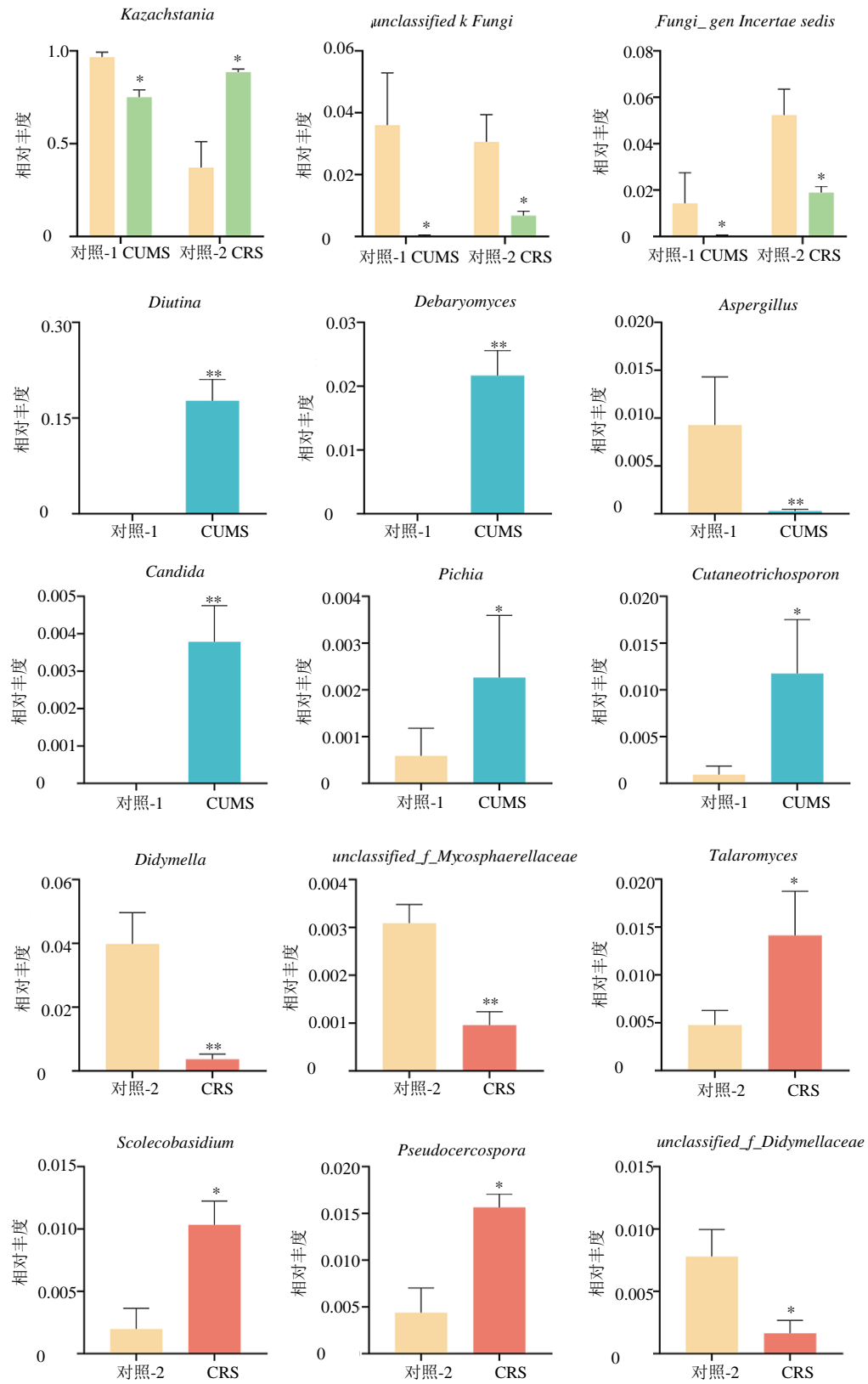


图 4 CUMS (A) 和 CRS (B) 大鼠肠道真菌的 PCoA 得分图

Fig. 4 PCoA score plots of gut mycobacteria in CUMS (A) and CRS (B) rats

比较,主要门水平细菌 Bacillota 和 Bacteroidota 在 2 种模型中的变化趋势一致,即 Bacillota 的丰度显著降低而 Bacteroidota 的丰度则显著增加 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); Patescibacterota 在 2 种模型中表现出了相反的变化趋势,在 CUMS 大鼠中的丰度显著增加,而在 CRS 大鼠中的丰度显著减少 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。



与相应对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ 。

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs corresponding control group.

图 4 CUMS 和 CRS 大鼠肠道属水平真菌的差异分析 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Fig. 4 Analysis of difference of gut mycobiota at genus level between CUMS and CRS rats ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

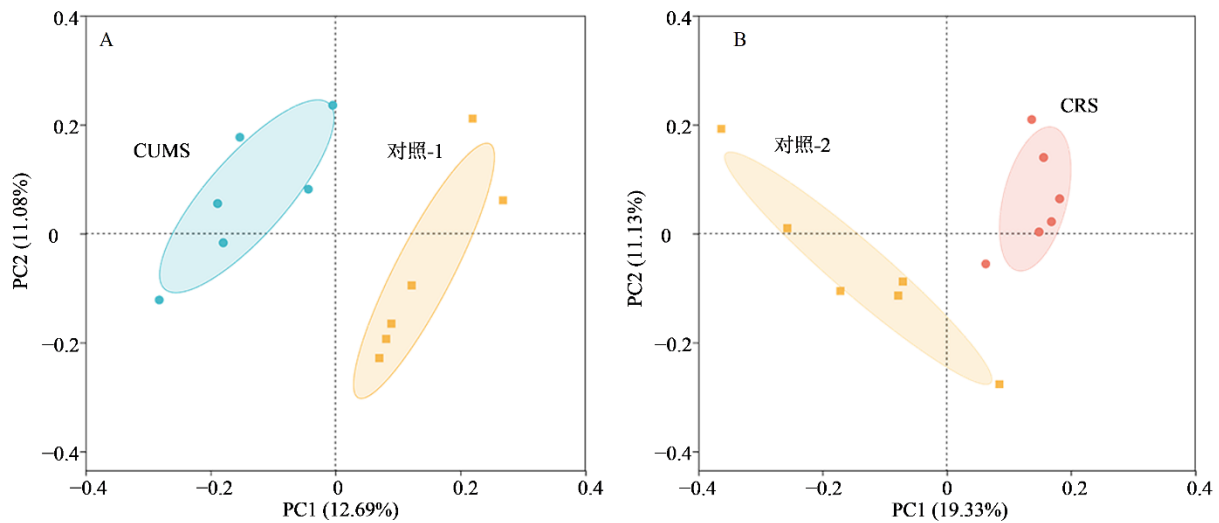
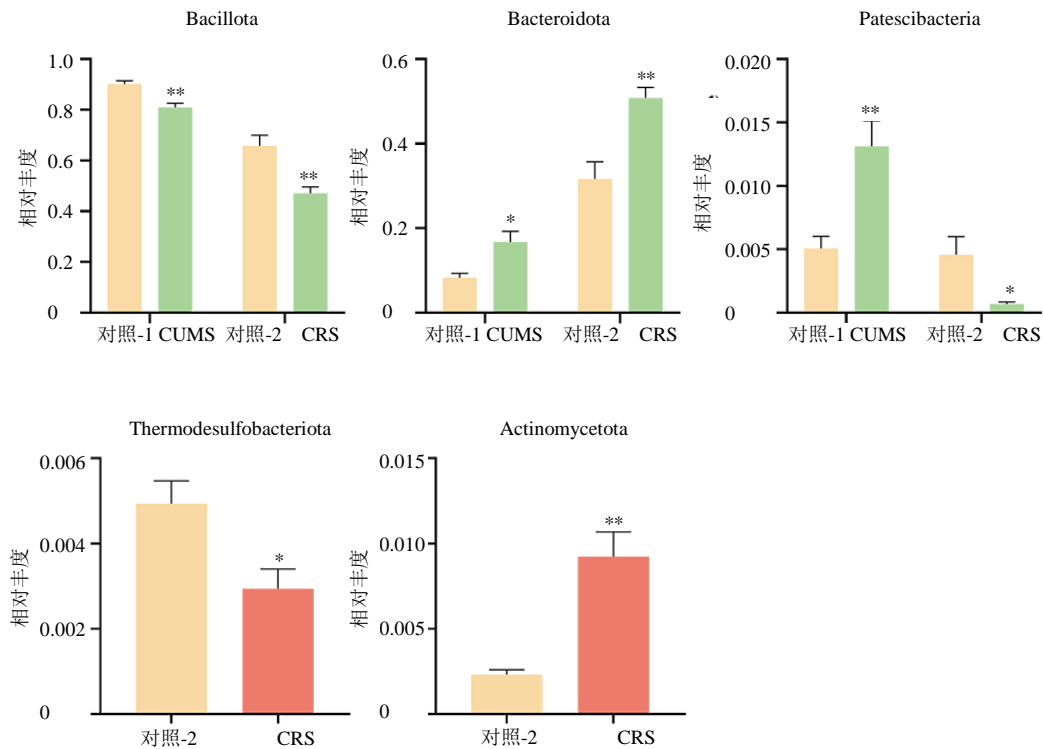


图 5 CUMS (A)和 CRS (B) 大鼠肠道细菌的 PCoA 得分图

Fig. 5 PCoA score plots of gut microbiota in CUMS (A) and CRS (B) rats

与相应对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ 。\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs corresponding control group.图 6 CUMS 和 CRS 大鼠肠道门水平细菌的差异分析 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )Fig. 6 Analysis of difference of gut microbiota at phylum level between CUMS and CRS rats ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

此外, CRS 大鼠 Thermodesulfobacteriota 的丰度显著减少、Actinomycetota 的丰度显著增加 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 而 CUMS 大鼠这 2 个门水平的细菌与对照组无显著差异。

如图 7 所示, 属水平细菌分析发现, 与对照组比较, 7 个属水平的细菌在 2 种抑郁模型中均发生改变, 其中 *unclassified\_f\_Lachnospiraceae* 等 6 个属水平细菌的丰度在 2 种模型大鼠中均显著降低

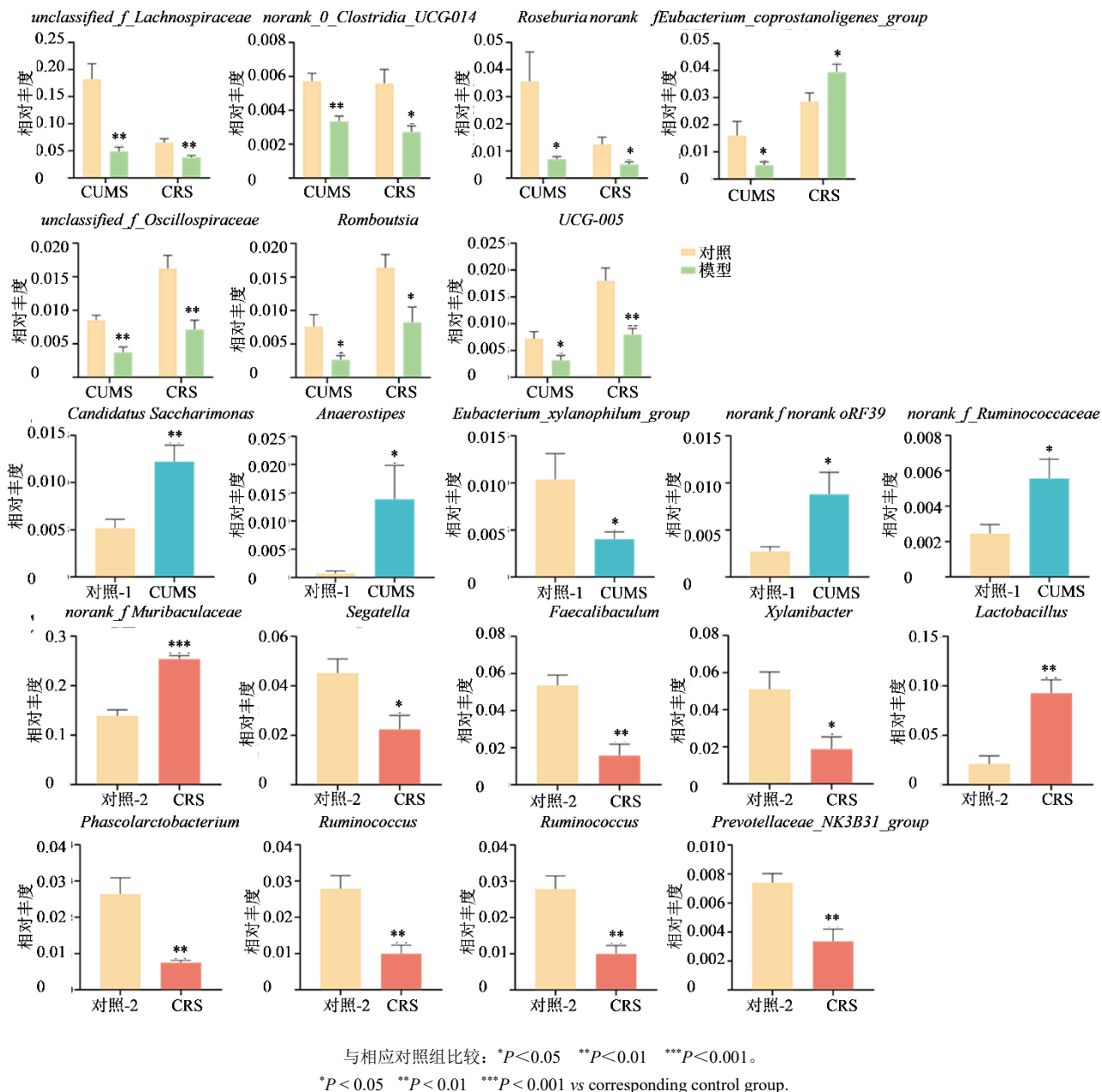


图 7 CUMS 和 CRS 大鼠肠道属水平细菌的差异分析 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Fig. 7 Analysis of difference of gut microbiota at genus level between CUMS and CRS rats ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

( $P < 0.05, 0.01$ ), 但 *norank\_f[Eubacterium]\_coprostanoligenes\_group* 的丰度在 2 种模型中的变化趋势相反, 即在 CUMS 大鼠中显著降低而在 CRS 大鼠中显著增加 ( $P < 0.05$ )。此外, *Candidatus\_Saccharimonas* 等 5 个属水平细菌仅在 CUMS 大鼠中发生显著变化 ( $P < 0.05, 0.01$ ), *norank\_f\_Muribaculaceae* 等 9 个属水平细菌仅在 CRS 大鼠中发生显著变化 ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ )。结果提示, CUMS 大鼠和 CRS 大鼠肠道细菌在门和属水平上均具有显著差异。

### 3.3 CUMS 和 CRS 大鼠盲肠内容物代谢轮廓及代谢产物的比较

**3.3.1 代谢轮廓及差异代谢物鉴定与分析** 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术采集大鼠肠道内容物质谱数据, 获得正、负离子模式下的基峰离子色谱图 (图 8)。CUMS 和 CRS 大鼠盲肠内容物代谢物的 PCA 结果发现, 2 个模型组肠道内容物的代谢轮廓与对照组均明显分离, 提示慢性应激导致 2 种模型大鼠肠道内容物的代谢产物发生紊乱 (图 9)。进一步采用 OPLS-DA 分析结合  $P < 0.05, FC > 1.5, CV \leq$

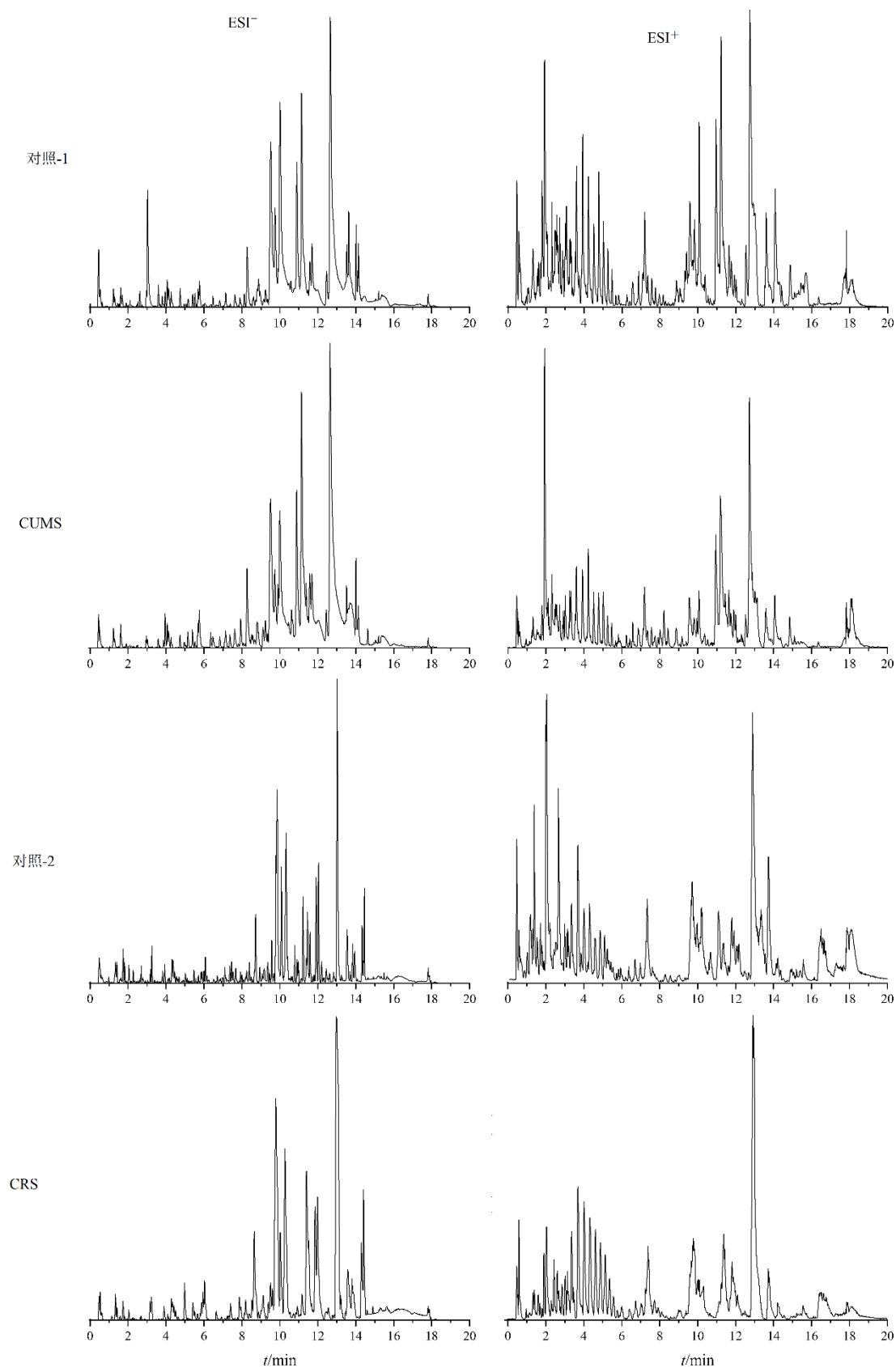
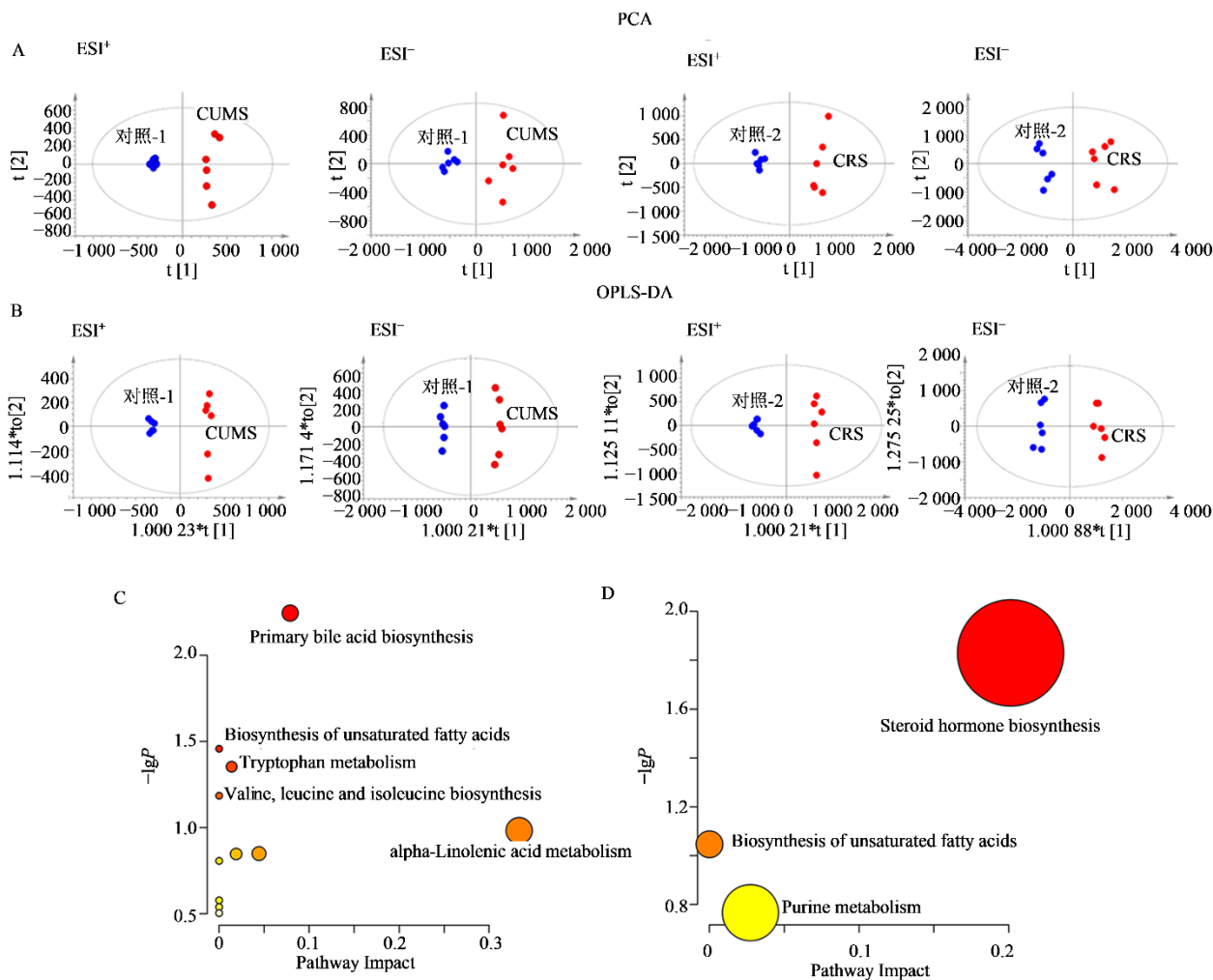


图 8 CUMS 和 CRS 大鼠肠道内容物正、负离子模式下基峰色谱图

Fig. 8 Base peak ion chromatograms of gut contents of CUMS and CRS rats in positive and negative ion modes



A、B-CUMS 和 CRS 大鼠肠道内容物代谢轮廓 PCA 和 OPLS-DA 得分图；C、D-CUMS 和 CRS 大鼠肠道内容物代谢途径富集通路图。  
A, B-PCA and OPLS-DA score plots of gut contents metabolism profile in CUMS and CRS rats; C, D-metabolic pathway enrichment maps of gut contents in CUMS and CRS rats.

图 9 CUMS 和 CRS 大鼠肠道内容物非靶向代谢组学分析结果

Fig. 9 Untargeted metabolomics analysis of gut contents in CUMS and CRS rats

30%,  $|P(\text{corr})| \geq 0.5$  和  $VIP \geq 1$  等筛选条件, 从 CUMS 和 CRS 大鼠盲肠内容物中分别鉴定到 37 个和 18 个变化显著的差异代谢产物 (表 1)。2 种模型只有 5 个相同的代谢产物, 即  $17\alpha, 21$ -dihydroxy pregnenolone (C15)、 $3\beta$ -hydroxy-5-cholenoic acid (C30)、6,9,12,15,18,21-tetracosahexaenoic acid (C32)、12-ketodeoxycholic acid (C34) 和 oleic acid (C43)。其中, 4 个代谢产物 (C15、C30、C32、C34) 在 2 个模型中的相对含量显著增加, C43 在 2 个模型中呈现出相反的变化趋势。

**3.3.2 差异代谢物通路富集与分析** 应用 KEGG 数据库以及 Metaboanalyst 6.0 软件对 2 种模型中发生显著变化的差异代谢物进行代谢通路富集分析。

结果显示, 2 种模型肠道内容物富集的代谢通路差异较大, CUMS 大鼠主要与初级胆汁酸生物合成 (primary bile acid biosynthesis)、不饱和脂肪酸的生物合成 (biosynthesis of unsaturated fatty acids) 和色氨酸代谢 (tryptophan metabolism) 通路有关 (图 9-C), 而 CRS 大鼠与类固醇激素生物合成 (steroid hormone biosynthesis) 和嘌呤代谢 (purine metabolism) 有关 (图 9-D)。

### 3.4 肠道菌群与盲肠内容物代谢产物相关性分析

将 2 种抑郁模型中发生显著变化的差异代谢产物与抑郁相关的肠道真菌、细菌进行 Spearman 相关性分析, 结果发现 CUMS 大鼠参与初级胆汁酸生物合成的  $7\alpha$ -羟基胆固醇 (C49) 和  $3\alpha, 7\alpha, 26$ -三

表 1 2 种抑郁模型大鼠肠道内容物的代谢产物鉴定结果

Table 1 Identification results of metabolites in gut contents of rats with two depression models

序号	英文名称	中文名称	<i>t<sub>R</sub></i> / min	<i>m/z</i>	离子模式	分子式	VIP	变化趋势	
								CUMS vs 对照-1	CRS vs 对照-2
C1	<i>L</i> -4-hydroxyglutamate semialdehyde	<i>L</i> -4-羟基谷氨酸半醛	0.60	148.060 6	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	1.8	↓***	—
C2	<i>L</i> -valine	<i>L</i> -缬氨酸	0.67	118.086 5	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	1.4	↓***	—
C3	2-phenylacetamide	2-苯乙酰胺	1.33	136.075 2	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO	1.6	↓*	—
C4	racemethionine	甲硫氨酸	1.55	194.049 3	[M+FA— H] <sup>−</sup>	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub> S	1.4	↓*	—
C5	8-amino-7-oxononanoic acid	8-氨基-7-氧代壬酸	2.00	210.110 3	[M+Na] <sup>+</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>3</sub>	1.3	↓**	—
C6	inosine	肌昔	2.06	267.073 7	[M−H] <sup>−</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub>	1.0	—	↓*
C7	1-pyrroline	1-吡咯啉	2.43	70.065 3	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> N	1.7	↓***	—
C8	indoleacrylic acid	吲哚丙烯酸	2.57	188.070 7	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	2.7	↓**	—
C9	isoleucylproline	异亮氨酰- <i>L</i> -脯氨酸	2.59	229.154 2	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	2.9	↓***	—
C10	quinoline-4, 8-diol	喹啉-4, 8-二醇	2.97	160.039 7	[M−H] <sup>−</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	1.3	↓***	—
C11	indoleacetaldehyde	吲哚-3-乙醛	2.99	319.143 9	[2M+H] <sup>+</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> NO	1.4	↓**	—
C12	kynurenic acid	犬尿酸	3.04	188.035 4	[M−H] <sup>−</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	1.1	↓***	—
C13	indole-3-carboxaldehyde	吲哚-3-甲醛	4.38	146.060 3	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> NO	1.5	↓**	—
C14	<i>m</i> -coumaric acid	间羟基肉桂酸	5.15	327.087 1	[2M−H] <sup>−</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	1.6	↑**	—
C15	17 $\alpha$ , 21-dihydroxy pregnenolone	17 $\alpha$ , 21-二羟基孕烯醇 酮	5.92	349.237 2	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	2.5	↑**	—
			5.97	349.237 1	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	1.0	—	↑*
C16	3-hydroxytetradecanedioic acid	3-羟基十四烷二酸	6.92	273.171 2	[M−H] <sup>−</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>5</sub>	1.1	↓*	—
C17	3 $\alpha$ , 6 $\beta$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -tetrahydroxy- 5 $\beta$ -cholanoic acid	3 $\alpha$ , 6 $\beta$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -四羟基- 5 $\beta$ -去氧胆酸	7.08	423.275 6	[M−H] <sup>−</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>6</sub>	1.8	↑**	—
C18	mesobilirubinogen	中胆红素原	7.23	593.333 2	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>33</sub> H <sub>44</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	6.5	—	↑*
C19	cholylicitrulline	—	7.68	588.359 5	[M+Na] <sup>+</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>51</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	2.1	—	↑**
C20	11-ketoetiocholanolone	11-酮本胆烷醇酮	7.70	349.203 0	[M+FA— H] <sup>−</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	1.0	↑**	—
C21	7 $\alpha$ -hydroxy-3-oxochol-4-en- 24-oic acid	3-氧代-7 $\alpha$ -羟基胆碱- 4-烯酸	7.80	389.269 2	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>36</sub> O <sub>4</sub>	1.4	—	↑*
C22	cucurbitic acid	西葫芦酸	7.96	423.275 2	[2M−H] <sup>−</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	1.1	↑**	—
C23	20-hydroxyeicosatetraenoic acid	20-羟-二十烷四烯酸	7.99	365.233 8	[M+FA— H] <sup>−</sup>	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	1.5	↑*	—
C24	medroxyprogesterone	甲羟孕酮	8.03	345.242 3	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	1.2	↑**	—
C25	9-(3-methyl-5-propylfuran-2- yl)nonanoylcarnitine	9-(3-甲基-5-丙基呋喃- 2-基)壬酰肉碱	8.52	446.289 1	[M+Na] <sup>+</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>41</sub> NO <sub>5</sub>	1.5	↑**	—
C26	3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\beta$ -trihydroxy-5 $\beta$ - cholanoic acid	3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\beta$ -三羟基-5 $\beta$ - 去氧胆酸	8.82	407.279 7	[M−H] <sup>−</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>5</sub>	3.5	↑*	—
C27	$\alpha$ -linolenic acid	$\alpha$ -亚麻酸	8.96	279.231 1	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	1.7	↓**	—
C28	7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -dihydroxy-3-oxo-4- cholenoic acid	7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -二羟基-3-氧代- 4-胆烯酸	9.29	403.249 6	[M−H] <sup>−</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub>	1.0	—	↓*
C29	3,5-dimethylphenyl methylcarbamate	—	11.24	180.102 2	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	1.2	↑*	—
C30	3 $\beta$ -hydroxy-5-cholenoic acid	3 $\beta$ -羟基-5-胆烯酸	11.34	375.289 1	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>3</sub>	3.7	—	↑***
			14.16	373.275 5	[M−H] <sup>−</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>3</sub>	1.3	↑*	—

表 1 (续)

序号	英文名称	中文名称	tr/ min	m/z	离子模式	分子式	VIP	变化趋势	
								CUMS vs 对照-1	CRS vs 对照-2
C31	pelargonic acid	壬酸	11.59	315.254 4	[2M-H] <sup>-</sup>	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	2.1	↓**	—
C32	6, 9, 12, 15, 18, 21-tetracosahexaenoic acid	6, 9, 12, 15, 18, 21-二十四碳六烯酸	11.67	357.278 7	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	6.4	↑***	—
C33	3β, 7α-dihydroxy-5β-cholanoic acid	3β, 7α-二羟基-5β-去氧胆酸	11.78	357.279 3	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	6.3	—	↑***
C34	12-ketodeoxycholic acid	12-酮石胆酸	11.92	391.284 3	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	1.0	—	↓*
C35	allochenodeoxycholic acid	别鹅去氧胆酸	11.94	391.284 8	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	4.1	↑*	—
C36	coprocholic acid	粪甾烷酸	12.06	391.285 5	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	7.0	—	↑***
C37	7β-hydroxy-3-oxo-5β-cholanoic acid	7β-羟基-3-氧代-5β-去氧胆酸	12.90	783.578 2	[2M-H] <sup>-</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	1.0	—	↓***
C38	androsterone	雄甾酮	12.94	449.327 7	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>46</sub> O <sub>5</sub>	1.3	↓**	—
C39	8R-hydroperoxylinoleic acid	—	12.96	803.547 1	[2M-H] <sup>-</sup>	C <sub>25</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	1.0	—	↑***
C40	16-hydroxyhexadecanoic acid	16-羟基十六酸	13.00	335.222 5	[M+FA-H] <sup>-</sup>	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	1.1	—	↓*
C41	isolithocholic acid	石胆酸	13.66	313.236 5	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	1.8	—	↑***
C42	myristoleic acid	肉豆蔻酸	13.71	273.243 2	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	1.4	—	↑**
C43	oleic acid	油酸	14.01	751.587 2	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>3</sub>	8.8	↑**	—
C44	1-hydroxy-1-phenyl-3-octadecanone	1-羟基-1-苯基-3-十八烷酮	14.13	227.200 7	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	2.5	↓**	—
C45	27-hydroxyisomangiferolic acid	27-羟基芒果醇酸	14.23	283.263 0	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	1.4	↓*	—
C46	20α, 22β-dihydroxycholesterol	20α, 22β-二羟基胆固醇	14.34	283.263 4	[M+H] <sup>+</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	1.0	—	↑*
C47	13-HODE	13-羟基十八碳二烯酸	14.82	405.300 4	[M+FA-H] <sup>-</sup>	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	1.1	—	↓*
C48	3α, 7α, 26-trihydroxy-5β-cholestane	3α, 7α, 26-三羟基-5β-胆甾烷	15.12	495.345 4	[M+Na] <sup>+</sup>	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	1.6	↑**	—
C49	7α-hydroxycholesterol	7α-羟基胆固醇	15.19	417.338 0	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	1.3	↑**	—
C50	cerebronic acid	脑羟脂酸	15.30	591.462 7	[2M-H] <sup>-</sup>	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	1.0	—	↓**
			15.45	419.353 3	[M-H] <sup>-</sup>	C <sub>27</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	1.0	↑**	—

—表示未鉴定或无显著性变化; \*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001。

— indicates undetermined or no significant change; \*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001.

羟基-5β-胆甾烷 (C48) 均与真菌 *Aspergillus* 显著负相关, 而与真菌 *Diutina*、*Debaryomyces* 和 *Candida* 显著正相关, 粪甾烷酸 (C36) 与细菌 *Candidatus\_Saccharimonas* 显著负相关; 参与色氨酸代谢的喹啉-4,8-二醇 (C10) 与细菌 *Candidatus\_Saccharimonas* 显著负相关, 而吡啶-3-乙醛 (C11) 与真菌 *Diutina*、*Debaryomyces* 和 *Candida* 显著负相关; 参与不饱和脂肪酸的生物合成途径的 α-亚麻酸 (C27) 与真菌 *Diutina*、*Debaryomyces* 和 *Candida* 显著负相关 (图 10-A)。

CRS 大鼠参与类固醇激素生物合成的雄甾酮

(C38) 与真菌 *Didymella* 显著正相关; 参与嘌呤代谢的肌苷 (C6) 与 *Bacteroides* 显著正相关 (图 10-B)。

综合相关性分析结果, CUMS 大鼠主要代谢途径 (初级胆汁酸生物合成、不饱和脂肪酸的生物合成和色氨酸代谢) 中的关键代谢产物 (C49、C36、C48、C10、C11、C27) 与真菌 *Diutina*、*Debaryomyces*、*Candida*、*Aspergillus* 和细菌 *Candidatus\_Saccharimonas* 相关, CRS 大鼠中的关键代谢产物 C6 和 C38 参与类固醇生物合成和嘌呤代谢途径, 与真菌 *Didymella* 和细菌 *Bacteroides* 相关。

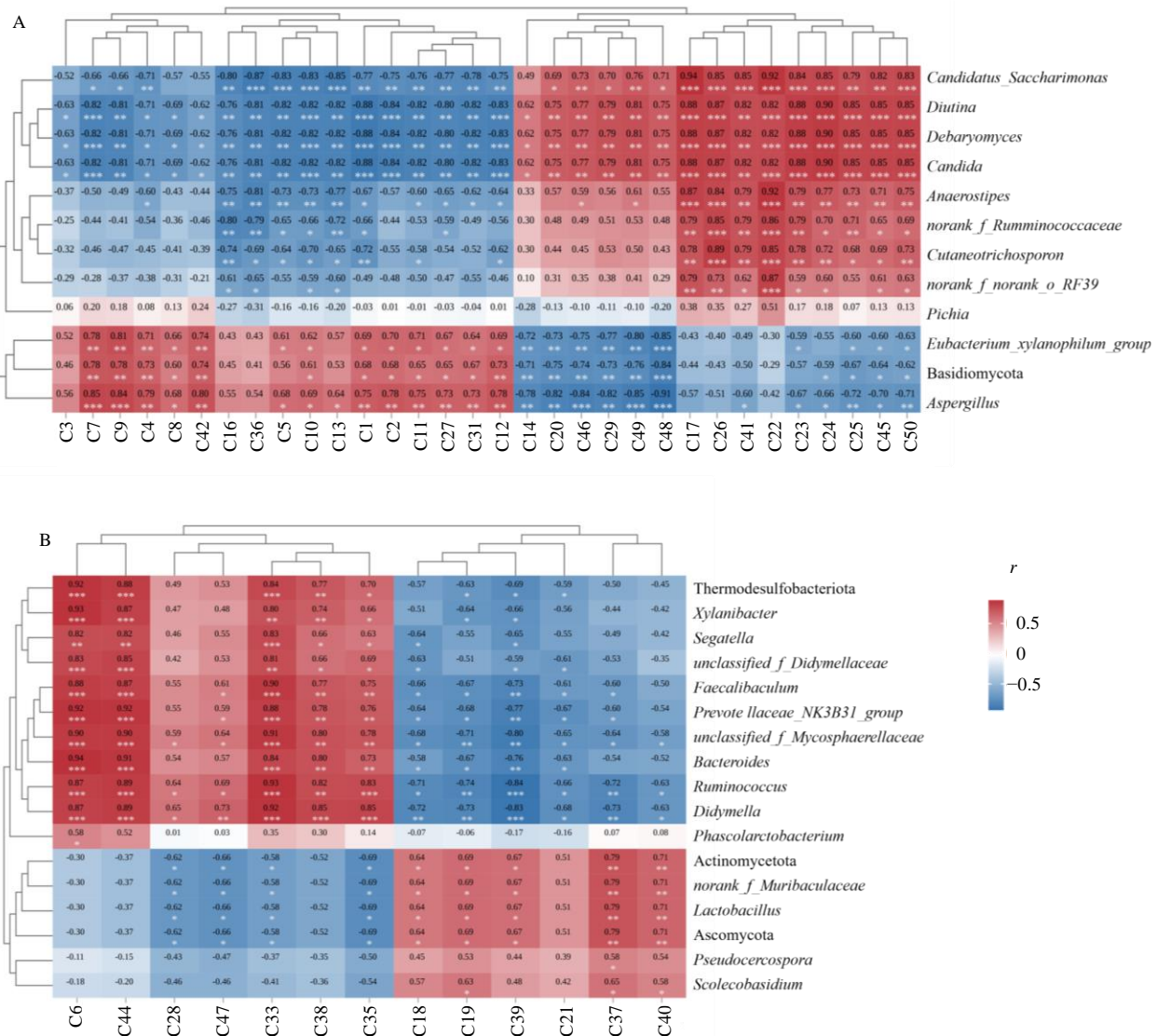


图 10 CUMS (A)、CRS (B)大鼠差异代谢物与显著变化肠道真菌、细菌的相关性热图

Fig. 10 Heatmaps of correlation analysis between differential metabolites and significantly changed gut mycobiota and microbiota in CUMS (A) and CRS (B) rats

#### 4 讨论

肠道菌群及其代谢产物的改变与抑郁症等疾病的发生发展密切相关。CUMS 和 CRS 是研究抑郁症发病机制较为常用的 2 种经典模型，前者采用复合多种因子应激且应激方式不可被预见，后者则采用可预见的单一因子应激。CUMS 因“不可预见”产生持续焦虑，应激源类型多变导致“无法适应”，更接近人类生活中“突发、多样应激叠加”的情况，而 CRS 因“可预见”产生“被动接受”的无助感，应激源单一但强度集中，更接近人类“长期固定压力” [27-29]。本研究首次从肠道真菌、细菌及代谢产物的角度比较 CUMS 与 CRS 大鼠的差异，结果发现 2 种抑郁模型大鼠肠道真菌变化具有一定的相似

性，但细菌和肠道代谢物及代谢通路的变化差异较大。因此，本研究的结果可为理解不同应激模式诱导抑郁的差异化生物学机制提供重要依据，也为未来针对抑郁亚型的精准干预策略奠定了理论基础。

目前，多项研究提示特定肠道细菌与抑郁症相关，比如肠道细菌 *Patascibacterota* 在 CRS 抑郁小鼠中呈现出昼夜节律性波动 [30]，但本研究中发现，*Patascibacterota* 在 CUMS 和 CRS 模型中表现出相反的变化趋势（CUMS 组丰度显著增加，CRS 组丰度显著减少），提示不同应激模式可能通过独特途径改变菌群构成，其具体机制有待深入阐明。同样，与昼夜节律密切相关的细菌 *norank\_f\_Muribaculaceae* 仅在 CRS 中的丰度显著增加，进一

步支持 CRS 模型对生物节律相关细菌的扰动更为突出<sup>[30]</sup>。此外，与抑郁症患者发病风险呈正相关的高丰度细菌 Actinomycetota 以及和神经炎症紧密联系的细菌 Prevotellaceae\_NK3B31\_group 仅在 CRS 大鼠中显著变化<sup>[31-32]</sup>；而在 CUMS 大鼠中，*Anaerostipes* 的丰度变化与临床抑郁症患者表现一致<sup>[33]</sup>。上述结果提示，CUMS 与 CRS 可能诱导了不同特征的肠道菌群失调模式：CRS 更倾向于关联昼夜节律紊乱和特定免疫通路相关的菌群改变，而 CUMS 则更贴近模拟复杂应激下与临床抑郁相关的特定菌属变化。因此，在阐释肠道微生物在抑郁中的作用时，需充分考虑应激源性质所对应的特异性微生物基础。

相较于肠道细菌，真菌所占比例较小，但其在维持宿主健康方面也具有重要的作用<sup>[34-36]</sup>。虽然本研究发现 2 种模型的肠道真菌改变具有一定的相似性，但特定真菌类群的变化同样具有模型特异性。例如，真菌 *Aspergillus* 的丰度仅在 CUMS 模型中显著降低，此变化与儿童和青少年抑郁症患者粪便中的报道一致<sup>[37]</sup>，而其在 CRS 模型中未见显著改变。此外，肠道真菌 *Ascomycota* 的丰度显著升高被认为与抑郁严重程度密切相关<sup>[38]</sup>，本研究仅在 CRS 模型中观察到与此一致的丰度显著升高，而其在 CUMS 模型中未检测到显著变化。除了上述 2 个肠道真菌与抑郁具有相关性的报道之外，本研究还发现了 *Diutina* 等在模型中发生显著改变的肠道真菌，其功能及其与抑郁症发生发展的关系有待验证。此外，本研究中 2 种模型均发现与抑郁相关且丰度相对较高的肠道真菌 unclassified\_k\_Fungi 尚未分类，后续研究有必要采用宏基因组测序结合真菌分离培养等方法对其分类进行确定。

肠道微生物代谢产物通过微生物-肠-脑轴介导肠脑交流<sup>[39]</sup>，其中胆汁酸、短链脂肪酸、色氨酸和类固醇激素等物质在调节神经系统与免疫功能中起关键作用<sup>[40]</sup>。本研究发现，在 CUMS 模型中，代谢紊乱主要集中于初级胆汁酸生物合成、不饱和脂肪酸的生物合成和色氨酸代谢通路。其中，与神经炎症及抑郁严重程度潜在相关的  $7\alpha$ -hydroxycholesterol (C49) 以及上游代谢物  $3\alpha,7\alpha,26$ -trihydroxy- $5\beta$ -cholestane (C48) 的含量显著升高，而次级胆汁酸 coprocholic acid (C36) 的合成可能因上游胆酸供给减少而受到抑制<sup>[41-42]</sup>。同时，具有神经保护作用的不饱和脂肪酸  $\alpha$ -linolenic acid (C27) 及

色氨酸代谢产物 kynurenic acid (C12) 均呈下降趋势，这与临床抑郁研究中观察到的保护性代谢物缺失现象相一致<sup>[43-45]</sup>。相比之下，CRS 模型则呈现出以类固醇激素和嘌呤代谢变化为核心的特征。类固醇激素代谢物 androsterone (C38) 在 CRS 大鼠中含量显著降低，这与抑郁状态下类固醇激素稳态失衡的报道相符<sup>[46]</sup>，提示该模型可能特别影响了与 HPA 轴应激反馈及神经固醇调节相关的内分泌通路。

然而，本研究也存在一定的局限性。首先，本研究仅聚焦于盲肠内容物代谢物的变化，未能探究海马、血浆等其他关键组织或体液的代谢变化，因此尚无法全面刻画应激诱导的全身性代谢重编程。此外，基于统计学相关性的“微生物-代谢物”关联分析结果存在假阳性可能，其生物学意义和因果方向仍需进一步验证。未来研究可通过设立完全无处理的平行对照组，并借助无菌动物定植、粪菌移植或靶向代谢干预等实验手段，在更具因果性的框架下验证本研究中筛选出的抑郁相关真菌与细菌的功能作用。

本研究通过整合 16S rRNA 测序与代谢组学技术，首次从“肠道菌群-代谢轴”角度系统比较了 CUMS 与 CRS 2 种常见抑郁模型大鼠肠道菌群及其代谢产物的差异。研究发现，尽管 2 种模型在肠道真菌层面呈现部分相似变化，但其肠道细菌及其代谢产物具有显著差异。CUMS 模型主要表现为与神经炎症和神经保护相关的代谢通路紊乱，包括初级胆汁酸生物合成、不饱和脂肪酸生物合成和色氨酸代谢通路，其变化与真菌 *Diutina*、*Debaryomyces*、*Candida* 和细菌 *Candidatus\_Saccharimonas* 等密切相关；而 CRS 模型则更突出类固醇激素生物合成和嘌呤代谢异常，并与真菌 *Didymella* 和细菌 *Bacteroides* 显著相关。综上，本研究提示 CUMS 与 CRS 可能通过不同的菌群-代谢轴机制诱发抑郁样表现，为理解抑郁的异质性发病机制提供了科学依据，推动该领域从单一机制研究向系统生物学范式的转变。此外，鉴定出的模型特异性菌属与代谢物为发掘潜在的抑郁生物标志物和开发改善抑郁症靶向微生物-肠-脑轴的新型治疗策略奠定了重要基础。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Cui L, Li S, Wang S, et al. Major depressive disorder: Hypothesis, mechanism, prevention and treatment [J].

- Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 30.
- [2] Monroe S M, Harkness K L. Major Depression and its recurrences: Life course matters [J]. *Annu Rev Clin Psychol*, 2022, 18: 329-357.
- [3] Zhang J R, Shen S Y, Zhai M Y, et al. Augmented microglial endoplasmic reticulum-mitochondria contacts mediate depression-like behavior in mice induced by chronic social defeat stress [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 5199.
- [4] Wang J, Xiang J, Han X, et al. Propofol alleviates depression-like behavior and cognitive disorder in learned helplessness model mice via regulating synaptic function [J]. *J Neurosci Res*, 2025, 103(12): e70096.
- [5] Zhang Y, Wang S, Hei M. Maternal separation as early-life stress: Mechanisms of neuropsychiatric disorders and inspiration for neonatal care [J]. *Brain Res Bull*, 2024, 217: 111058.
- [6] Scott K, Phan T T, Boukelmoune N, et al. Chronic restraint stress impairs voluntary wheel running but has no effect on food-motivated behavior in mice [J]. *Brain Behav Immun*, 2023, 107: 319-329.
- [7] 徐雪娇, 李天英, 马芸瑄, 等. 抑郁症动物模型概述 [J]. *医学综述*, 2021, 27(7): 1345-1349, 1357.
- Xu X J, Li T Y, Ma Y X, et al. Overview of animal models of depression [J]. *Med Recap*, 2021, 27(7): 1345-1349, 1357.
- [8] Thomann A K, Mak J W Y, Zhang J W, et al. Review article: Bugs, inflammation and mood—a microbiota-based approach to psychiatric symptoms in inflammatory bowel diseases [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2020, 52(2): 247-266.
- [9] Xie Z, Huang J, Sun G, et al. Integrated multi-omics analysis reveals gut microbiota dysbiosis and systemic disturbance in major depressive disorder [J]. *Psychiatry Res*, 2024, 334: 115804.
- [10] Yang J, Zheng P, Li Y, et al. Landscapes of bacterial and metabolic signatures and their interaction in major depressive disorders [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(49): eaba8555.
- [11] Park S, Li C, Wu X, et al. Gut microbiota alterations and their functional differences in depression according to enterotypes in Asian individuals [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(17): 13329.
- [12] Liang J, Zhao Y, Xi Y, et al. Association between depression, anxiety symptoms and gut microbiota in Chinese elderly with functional constipation [J]. *Nutrients*, 2022, 14(23): 5013.
- [13] Bhatt S, Kanoujia J, Mohana Lakshmi S, et al. Role of brain-gut-microbiota axis in depression: Emerging therapeutic avenues [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2023, 22(2): 276-288.
- [14] Liu S, Guo R, Liu F, et al. Gut microbiota regulates depression-like behavior in rats through the neuroendocrine-immune-mitochondrial pathway [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2020, 16: 859-869.
- [15] Su Q, Tun H M, Liu Q, et al. Gut microbiome signatures reflect different subtypes of irritable bowel syndrome [J]. *Gut Microbes*, 2023, 15(1): 2157697.
- [16] Koochakpoor G, Salari-Moghaddam A, Keshteli A H, et al. Dietary intake of branched-chain amino acids in relation to depression, anxiety and psychological distress [J]. *Nutr J*, 2021, 20(1): 11.
- [17] Qiang X, Wang X, Liang S, et al. Long-term effects of Nε-carboxymethyllysine intake on intestinal barrier permeability: Associations with gut microbiota and bile acids [J]. *Food Res Int*, 2025, 201: 115543.
- [18] Chen Y, Xu J, Chen Y. Regulation of neurotransmitters by the gut microbiota and effects on cognition in neurological disorders [J]. *Nutrients*, 2021, 13(6): 2099.
- [19] Donati Zeppa S, Ferrini F, Agostini, et al. Nutraceuticals and physical activity as antidepressants: The central role of the gut microbiota [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(2): 236.
- [20] Lowe H, Toyang N, Steele B, et al. The endocannabinoid system: A potential target for the treatment of various diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17): 9472.
- [21] Mudimela S, Vishwanath N K, Pillai A, et al. Clinical significance and potential role of trimethylamine N-oxide in neurological and neuropsychiatric disorders [J]. *Drug Discov Today*, 2022, 27(11): 103334.
- [22] Gao X, Zheng X, Li Z, et al. Metabonomic study on chronic unpredictable mild stress and intervention effects of Xiaoyaosan in rats using gas chromatography coupled with mass spectrometry [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137(1): 690-9.
- [23] Xu P, Wang K, Lu C, et al. Effects of the chronic restraint stress induced depression on reward-related learning in rats [J]. *Behav Brain Res*, 2017, 321: 185-192.
- [24] Porsolt R D, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: A primary screening test for antidepressants [J]. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1977, 229(2): 327-36
- [25] 张均田. 现代药理实验方法 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998.
- Zhang J T. *Modern Experimental Methods In Pharmacology* [M]. Beijing: Peking University Health Science Center Peking Union Medical College Press, 1998.
- [26] Shi Y, Zhang L, Do K A, et al. aPCoA: Covariate adjusted principal coordinates analysis [J]. *Bioinformatics*, 2020, 36(13): 4099-4101.

- [27] Markov D D, Novosadova E V. Chronic unpredictable mild stress model of depression: Possible sources of poor reproducibility and latent variables [J]. *Biology (Basel)*, 2022, 11(11): 1621.
- [28] 廖莎, 周佳, 平锋锋, 等. 慢性束缚与慢性不可预期温和应激抑郁模型小鼠的行为学比较及其发生机制研究 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2012, 40(11): 29-34, 41.
- Liao S, Zhou J, Ping F F, et al. A comparative study on behavior changes and cerebral morphology and function of chronic restraint stress mice and chronic unpredictable mild stress mice [J]. *Journal of Northwest A&F University(Nat. Sci. Ed.)*, 2012, 40(11): 29-34, 41.
- [29] Yu Y, Li X, Teng T, et al. Comparative analysis of the nucleus accumbens transcriptional features in multiple depressive animal models [J]. *Behav Brain Res*, 2024, 463: 114890.
- [30] Wang Y, Cui P, Cao M, et al. Chronic restraint stress affects the diurnal rhythms of gut microbial composition and metabolism in a mouse model of depression [J]. *BMC Microbiol*, 2025, 25(1): 38.
- [31] Yu T, Chen C, Yang Y, et al. Dissecting the association between gut microbiota, body mass index and specific depressive symptoms: A mediation Mendelian randomisation study [J]. *Gen Psychiatr*, 2024, 37(4): e101412.
- [32] Wu H, Zhang W, Huang M, et al. Prolonged high-fat diet consumption throughout adulthood in mice induced neurobehavioral deterioration via gut-brain axis [J]. *Nutrients*, 2023, 15(2): 392.
- [33] Barandouzi Z A, Starkweather A R, Henderson W A, et al. Altered composition of gut microbiota in depression: A systematic review [J]. *Front Psychiatry*, 2020, 11: 541.
- [34] Hill J H, Bell R, Barrios L, et al. Neonatal fungi promote lifelong metabolic health through macrophage-dependent  $\beta$  cell development [J]. *Science*, 2025, 387(6738): eadn0953.
- [35] Lin Y, Lau H C, Liu Y, et al. Altered mycobiota signatures and enriched pathogenic *Aspergillus rambellii* are associated with colorectal cancer based on multicohort fecal metagenomic analyses [J]. *Gastroenterology*, 2022, 163(4): 908-921.
- [36] Liu N N, Jiao N, Tan J C, et al. Multi-kingdom microbiota analyses identify bacterial-fungal interactions and biomarkers of colorectal cancer across cohorts [J]. *Nat Microbiol*, 2022, 7(2): 238-250.
- [37] Hao S R, Zhang Z, Zhou Y Y, et al. Altered gut bacterial-fungal interkingdom networks in children and adolescents with depression [J]. *J Affect Disord*, 2023, 332: 64-71.
- [38] Jiang H Y, Pan L Y, Zhang X, et al. Altered gut bacterial-fungal interkingdom networks in patients with current depressive episode [J]. *Brain Behav*, 2020, 10(8): e01677.
- [39] Teichman E M, O'Riordan K J, Gahan C G M, et al. When rhythms meet the blues: Circadian interactions with the microbiota-gut-brain axis [J]. *Cell Metab*, 2020, 31(3): 448-471.
- [40] Ahmed H, Leyrolle Q, Koistinen V, et al. Microbiota-derived metabolites as drivers of gut-brain communication [J]. *Gut Microbes*, 2022, 14(1): 2102878.
- [41] Griffiths W J, Abdel-Khalik J, Moore S F, et al. The cerebrospinal fluid profile of cholesterol metabolites in parkinson's disease and their association with disease state and clinical features [J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13: 685594.
- [42] 冯彦, 孟美黛, 冯建有, 等. 基于多维组学探究逍遥散低极性部位对 CUMS 模型大鼠的抗抑郁作用 [J]. *药理学学报*, 2020, 55(2): 305-314.
- Feng Y, Meng M D, Feng J Y, et al. Antidepressant-like effects of the petroleum ether fraction of Xiaoyaosan in the CUMS rat model of depression [J]. *Acta Pharm Sin*, 2020, 55(2): 305-314.
- [43] 杨紫怡, 戴国梁, 边欣芳, 等. 整合网络药理学和代谢组学探讨越鞠丸对 CUMS 抑郁小鼠的作用机制 [J]. *中国药学杂志*, 2025, 60(11): 1166-1178.
- Yang Z Y, Dai G L, Bian X F, et al. Integrating network pharmacology and metabolomics to explore the antidepressant mechanism of Yueju pill in CUMS-induced depression mice [J]. *Chin Pharm J*, 2025, 60(11): 1166-1178.
- [44] 张宁宁, 王真真, 陈乃宏. 膳食脂肪酸与抑郁症的相关性及机制研究进展 [J]. *药理学学报*, 2021, 56(04): 906-912.
- Zhang N N, Wang Z Z, Chen N H, et al. Association of depression with dietary fatty acids and the progress of mechanism research [J]. *Acta Pharm Sin*, 2021, 56(04): 906-912.
- [45] Stone T W, Darlington L G, Badawy A A, et al. The complex world of kynurenic acid: Reflections on biological issues and therapeutic strategy [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(16): 9040.
- [46] Xiang G, Wang Y, Ni K, et al. Nasal *Staphylococcus aureus* carriage promotes depressive behaviour in mice via sex hormone degradation [J]. *Nat Microbiol*, 2025, 10(10): 2425-2440.