

α -香附酮通过调节 ERK/Nrf2/HO-1 通路改善小鼠抑郁样行为的机制研究

刘睿^{1,3}, 魏炜莉¹, 张碧珂¹, 苏丹¹, 宋永贵¹, 杨明², 艾志福^{1*}, 李惠珍^{1*}

1. 江西中医药大学, 江西省中医药管理局抑郁症中医证候动物模型重点研究室, 江西省中医药管理局中药药效防治精神障碍脑疾病评价重点研究室, 江西 南昌 330004
2. 江西古香今韵大健康产业有限公司, 江西 南昌 330029
3. 中国协和医科大学出版社有限公司, 北京 100730

摘要: 目的 探讨 α -香附酮激活小鼠前额叶皮质细胞外调节蛋白激酶 (ERK)/核因子红系 2 相关因子 2 (Nrf2)/血红素加氧酶-1 (HO-1) 通路, 改善抑郁样小鼠中枢和外周炎症的分子机制。方法 将小鼠随机分为 5 组: 对照组、模型组、氟西汀 ($10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组和 α -香附酮低、高剂量 (5 、 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组, 除对照组外, 利用慢性温和和不可预知性应激 (CUMS) 联合孤养建立小鼠抑郁症模型, 采用糖水偏好、悬尾 (TST)、强迫游泳 (FST)、旷场 (OFT)、新环境进食抑制 (NSFT) 实验评估小鼠抑郁样行为; 利用激光散斑技术和小动物超声分析血流动力学; 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 法检测小鼠血清和前额叶皮质炎症因子水平; Western blotting、免疫荧光、实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测小鼠前额叶皮质 ERK/Nrf2/HO-1 信号通路表达; qRT-PCR 检测抗氧化反应元件 (ARE) 基因表达。结果 与模型组比较, α -香附酮高剂量组小鼠糖水偏好程度显著提高 ($P<0.001$), FST ($P<0.05$ 、 0.01) 和 TST ($P<0.05$) 的不动时间显著缩短, 进入 OFT 中心的次数及在 NSFT 中摄食潜伏期回调, 但均无显著性差异。 α -香附酮高剂量组小鼠脑血流量增加 ($P<0.01$)、脑血管直径增大 ($P<0.05$), 小鼠颈动脉血流速度时间积分 (VTI) ($P<0.01$)、VTI 峰值血流量 ($P<0.01$) 和平均血流速度 ($P<0.05$) 均显著回调; α -香附酮高剂量组小鼠血清中白细胞介素 (IL)-6 ($P<0.05$)、IL-1 β ($P<0.05$)、活性氧 (ROS) ($P<0.01$) 含量显著降低, IL-10 ($P<0.01$) 水平均显著升高; α -香附酮高剂量组小鼠前额叶皮质中 IL-6 ($P<0.01$)、IL-1 β ($P<0.05$) 含量显著降低, IL-10 ($P<0.05$) 的含量显著升高; α -香附酮高剂量组小鼠前额叶皮质 ERK ($P<0.05$)、Nrf2 ($P<0.05$)、HO-1 ($P<0.05$) 的蛋白表达含量均显著升高, ERK ($P<0.05$)、Nrf2 ($P<0.001$)、HO-1 ($P<0.001$) 的荧光表达含量均显著升高; α -香附酮高剂量组小鼠前额叶皮质 ERK ($P<0.01$)、Nrf2 ($P<0.01$)、HO-1 ($P<0.01$) 的基因表达均显著升高, ARE ($P<0.05$) 基因表达显著升高。结论 α -香附酮能有效抑制 CUMS 小鼠中枢和外周炎症水平, 提高抗氧化能力, 从而产生抗抑郁效应, 其机制可能与激活前额叶皮质 ERK/Nrf2/HO-1 通路相关。

关键词: α -香附酮; 炎症; 抑郁症; 慢性温和和不可预知性应激 (CUMS); 细胞外调节蛋白激酶 (ERK)/核因子红系 2 相关因子 2 (Nrf2)/血红素加氧酶-1 (HO-1); 抗氧化反应元件

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2026)09-3021-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.09.004

Mechanism study on improvement of depression like behavior in mice by activating ERK/Nrf2/HO-1 pathway through α -cyperone

LIU Rui^{1,3}, WEI Weili¹, ZHANG Bike¹, SU Dan¹, SONG Yonggui¹, YANG Ming², AI Zhifu¹, LI Huizhen¹

1. Key Laboratory of Depression Animal Model Based on Traditional Chinese Medicine (TCM) Syndrome of Jiangxi Administration of TCM, Key Research Office for Evaluation of TCM Efficacy (Prevention and Treatment of Mental Disorders and Brain Diseases) of Jiangxi Administration of TCM, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China
2. Jiangxi Guxiang Jinyun Comprehensive Health Industry Co., Ltd., Nanchang 330029, China
3. Peking Union Medical College Press, Beijing 100730, China

收稿日期: 2026-06-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82560875); 江西省自然科学基金资助项目 (20232ACB206052); 江西省自然科学基金面上项目 (20232BAB206175)

作者简介: 刘睿, 硕士研究生, 主要从事中医药防治抑郁症研究。E-mail: 1539209870@qq.com

*通信作者: 艾志福, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事中医药防治抑郁症研究。E-mail: 359391187@qq.com

李惠珍, 博士, 副教授, 主要从事中医药防治抑郁症研究。E-mail: 632564934@qq.com

Abstract: Objective To investigate the molecular mechanism by which α -cyperone activates the extracellular signal-regulated kinase (ERK)/nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)/heme oxygenase-1 (HO-1) pathway in mouse prefrontal cortex, thereby alleviating central and peripheral inflammation in depression-like mice. **Methods** Mice were randomly divided into five groups: control group, model group, fluoxetine ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) group, and low- and high-dose α -cyperone groups (5 and $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Except for the control group, depression models were established using chronic unpredictable mild stress (CUMS) combined with social isolation. Depression-like behaviors were assessed using sucrose preference test, tail suspension test (TST), forced swimming test (FST), open field test (OFT), and novelty-suppressed feeding test (NSFT). Laser speckle contrast imaging and small animal ultrasound were used to analyze hemodynamics. Serum and prefrontal cortex inflammatory levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Western blotting, immunofluorescence, and real-time quantitative PCR (qRT-PCR) were employed to detect expression of the ERK/Nrf2/HO-1 signaling pathway in the prefrontal cortex; qRT-PCR was also used to assess antioxidant response element (ARE) gene expression. **Results** Compared with the model group, the high-dose α -cyperone group showed significantly increased sucrose preference ($P < 0.001$), significantly reduced immobility time in FST ($P < 0.05, 0.01$) and TST ($P < 0.05$), and improved center entries in OFT and feeding latency in NSFT, although the latter two changes were not statistically significant. The high-dose α -cyperone group exhibited increased cerebral blood flow ($P < 0.01$) and larger cerebral vascular diameter ($P < 0.05$); carotid artery velocity-time integral (VTI) ($P < 0.01$), peak VTI blood flow ($P < 0.01$), and mean blood flow velocity ($P < 0.05$) were all significantly improved. Serum levels of interleukin (IL)-6 ($P < 0.05$), IL-1 β ($P < 0.05$), and reactive oxygen species (ROS) ($P < 0.01$) were significantly decreased, while IL-10 levels were significantly elevated ($P < 0.01$). In the prefrontal cortex, IL-6 ($P < 0.01$) and IL-1 β ($P < 0.05$) levels were significantly reduced, whereas IL-10 levels were significantly increased ($P < 0.05$). Protein expression of ERK ($P < 0.05$), Nrf2 ($P < 0.05$), and HO-1 ($P < 0.05$) was significantly upregulated, as was fluorescent expression of ERK ($P < 0.05$), Nrf2 ($P < 0.001$), and HO-1 ($P < 0.001$). Gene expression of ERK ($P < 0.01$), Nrf2 ($P < 0.01$), HO-1 ($P < 0.01$), and ARE ($P < 0.05$) in the prefrontal cortex was significantly enhanced. **Conclusion** α -Cy can effectively inhibit the central and peripheral inflammatory levels of CUMS mice, improve antioxidant capacity and thus produce antidepressant effects, and the mechanism may be related to the activation of the ERK/Nrf2/HO-1 pathway in the prefrontal cortex by α -Cy.

Key words: α -cyperone; inflammation; depression; chronic unpredictable mild stress (CUMS); extracellular regulated protein kinase (ERK)/neuronal factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)/heme oxygenase-1(HO-1); antioxidant response element

抑郁症现已成为全球三大疾病之一,严重威胁着全球 3.5 亿人的身心健康^[1]。截至到 2022 年,我国抑郁患者人数高达 9 500 万,且发病率仍持续上升^[2]。重度抑郁症患者的终身自杀未遂率高达 23.7%,是临床最紧迫的问题^[3]。然而不幸的是,临床现有抗抑郁药普遍存在起效慢、有效率受限、易出现治疗抵抗等缺陷,亟需开发疗效更优的新型药物。

大量临床和基础研究表明,炎症和氧化应激的交互作用在抑郁症病理进程中扮演关键角色^[4-5]。核因子红系 2 相关因子 2(Nrf2)/血红素加氧酶-1(HO-1)通路是机体最重要的内源性抗氧化和抗炎防御系统之一^[6]。在慢性不可预期温和应激(CUMS)或社会隔离抑郁模型中,抑制该通路将引发氧化应激水平升高、神经炎症加剧及海马和前额叶皮质的突触可塑性受损^[7-8]。细胞外信号调节激酶(ERK)作为该通路的上游关键节点,负责将多种神经递质受体及细胞因子受体的信号转化为核内转录事件。已有研究表明,慢性应激会导致 ERK 水平异常,进而影响下游 Nrf2 的核转位效率,并有效抑制白细胞介

素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)等促炎因子的过度释放^[9-12]。这提示,将 ERK/Nrf2/HO-1 作为一个完整信号轴,探讨其在抑郁症中的作用机制,可能对完善炎症和氧化应激与抑郁症发生发展之间的关系具有重要意义。

α -香附酮是香附中含量最多的化合物,约占总油量的 25.23%,同时也是越鞠丸挥发油中的主要活性成分之一^[13]。前期研究表明, α -香附酮不仅可直接发挥抗炎、抗氧化及抗抑郁活性,还可以通过激活 Nrf2 通路保护神经系统并抑制神经炎症^[14-15]。更为关键的是,富含 α -香附酮的越鞠丸挥发油已被证实可通过上调 ERK 发挥抗抑郁效应^[16]。综合上述证据, α -香附酮可能通过协同调控 ERK/Nrf2/HO-1 通路发挥抗抑郁作用,但这一假说尚缺乏系统性实验验证。为此,本研究将通过行为学、血流动力学、分子生物学等方面系统评价 α -香附酮的抗抑郁效果,重点观察 ERK/Nrf2/HO-1 通路及炎症因子水平的变化,拟进一步揭示 α -香附酮的抗抑郁机制,为其治疗抑郁症提供理论依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级健康雄性 C57BL/6J 7 周龄小鼠 75 只, 购自江苏集萃药康生物科技有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK(苏) 2023-0009。所有动物实验均在江西中医药大学实验动物科学技术中心进行, 本实验中涉及操作均符合江西中医药大学伦理委员会要求和标准(伦理编号 20221010011)。

1.2 药物及主要试剂

α -香附酮(成都埃法生物科技有限公司, CAS 号 473-08-5, 质量分数 $\geq 98\%$, 货号 AB0110-0020); 将 α -香附酮溶于 0.05% 二甲基亚砷中配制 0.5、1.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 溶液, 并分别以 10 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的剂量 ig 给药^[17]。盐酸氟西汀(Macklin 公司, 货号 F844356)。

IL-1 β 、IL-10、活性氧(ROS) ELISA 试剂盒(杭州联科生物公司, 批号 A201B30945、A21031017、A20630932; 武汉默沙克生物, 批号 202311); β -actin 抗体、vinculin 抗体、Nrf2 多克隆抗体、ERK 多克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司, 批号分别为 10027688、00113139、00129341、00092057); 山羊抗兔 IgG、FITC-山羊抗兔 IgG 抗体(武汉博士德生物工程有限公司, 批号分别为 BST18G21C18H55、BST18L08A19H05); 含 DAPI 抗荧光衰减封片剂、牛血清白蛋白(BSA, 北京索莱宝科技有限公司, 批号分别为 S2100、20230710); RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒(北京全式金生物科技股份有限公司, 批号分别为 Q41020、P20531)。

1.3 主要仪器

SMART 3.0 动物行为学分析系统(中国上海欣软有限公司); 激光散斑血流成像仪(武汉迅微光电技术有限公司); Vevo 2100 超高分辨率小动物超声影像系统(加拿大 VisualSonics 公司); 酶标仪(芬兰 Thermo Multiskan 公司); 倒置荧光显微镜(德国徕卡微系统股份公司); 化学发光仪(德国耶拿公司); 实时荧光定量 PCR 仪(瑞士罗氏集团)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及药物治疗

在整个研究过程中, 将小鼠置于温度 21~22 $^{\circ}\text{C}$ 和湿度(55 $\pm$ 5)% 的房间, 光照/黑暗 12 h 循环, 并自由获取食物和水。适应性喂养 1 周后, 将小鼠随机分为 5 组: 对照组、模型组、氟西汀(阳性药, 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组和 α -香附酮低、高剂量(5、10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组, 每组 15 只。对照组不刺激、不给

药且单独饲养, 其余 4 组进行为期 35 d 的 CUMS 造模。按照已有的方法, CUMS 的刺激方式大致包括摇笼 1 h、悬尾 1 h、束缚 1 h 等强刺激, 以及湿垫料 24 h、倾斜笼(45 $^{\circ}$) 24 h、禁食 12 h、禁水 12 h、夜间光照 12 h、空笼 24 h 等温和刺激。造模方法为每天随机给予 1 种强刺激和 1 种温和刺激(如悬尾 1 h+湿垫料 24 h、摇晃 1 h+空笼 24 h 等), 结合孤养模式, 持续 5 周^[17]。在造模 21 d 后 ig 给药, 每天 1 次, 连续 14 d。给药和造模时间固定在每天 8:30~16:30 进行。

2.2 行为学检测

药物治疗结束后, 在同一间光线昏暗、没有额外刺激且安静的房间内进行。所有小鼠均采用相同的昼夜周期, 适应环境 >10 min 后, 开始糖水偏好实验、悬尾实验(TST)、强迫游泳实验(FST)、旷场实验(OFT)、新环境进食抑制实验(NSFT)等。所有行为实验均在 Smart 3.0 软件上进行分析。

2.3 血流动力学检测

脑血流检测: 异氟烷麻醉后将小鼠清除头部毛发后放置于脑立体定位装置上, 切下头皮, 漏出头骨, 用棉签清除附着组织。将激光散斑血流成像仪的扫描探头置于颅骨上方, 采用时间扫描模式记录小鼠脑血流量。

颈动脉血流检测: 超声成像采用 Vevo 2100 μ 超声成像系统、MS-550D 探头。将小鼠用异氟烷麻醉后, 清除颈部毛发后仰卧在保温垫上。将设备调制 B-model、多普勒脉冲和 M-model 模式, 测量小鼠颈动脉血流量和血管径。

2.4 小鼠血清、前额叶皮质炎症因子检测

采用 ELISA 检测小鼠血清和前额叶皮质中 IL-6、IL-1 β 、IL-10 的含量。取小鼠血清 10 μL 进行检测; 另取前额叶皮质组织 10 mg, 加入 90 μL 预冷磷酸盐缓冲液(PBS)制备 10%组织匀浆, 离心后取上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书进行检测。由于试剂盒标准曲线以体积浓度计算, 血清和组织匀浆中的炎症因子结果均以 $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 表示。

2.5 小鼠血清 ROS 检测

按照 ROS 试剂盒说明检测小鼠血清 ROS 含量。

2.6 Western blotting 检测小鼠前额叶皮质 ERK、Nrf2、HO-1 蛋白表达

称取小鼠前额叶组织 20 mg, 加入 200 μL 含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 缓冲液, 匀浆后置

于 4 ℃ 冰箱内裂解 30 min, 以 12 000×g 离心 15 min, 取上清液。随后 BCA 测定试剂盒检测小鼠前额叶蛋白含量, 最后加入蛋白上样缓冲液完成制备。采用 SDS-PAGE 电泳分离该蛋白, 蛋白质被转移到 PVDF 膜上。后续依次完成封闭 (2 h)、一抗 [Nrf2 (1:2 000)、ERK (1:1 000)、β-actin (1:3 000)、HO-1 (1:2 000)、vinculin (1:2 000)] 孵育过夜、洗膜、二抗孵育 2 h、洗膜, 最后在凝胶成像系统中成像。

2.7 免疫荧光检测小鼠前额叶皮质 ERK、Nrf2、HO-1 荧光强度

小鼠全脑于 4% 多聚甲醛中固定 48 h 后包埋、

切片。组织切片经二甲苯脱蜡、乙醇梯度水化、TBST 清洗、抗原修复、透膜、山羊血清封闭、一抗 [Nrf2 (1:50)、ERK (1:50)、HO-1 (1:50)] 孵育、二抗孵育、DAPI 封片等步骤后于倒置荧光显微镜成像。

2.8 qRT-PCR 检测小鼠前额叶皮质 ERK、Nrf2、HO-1、抗氧化反应元件 (ARE) 的基因表达

根据试剂商推荐的方案, 用 Trizol 试剂从小鼠前额叶组织中的提取总 RNA, 转录试剂盒将 RNA 转化为 cDNA, qRT-PCR 仪进行定量检测。引物序列见表 1。

表 1 引物序列信息

Table 1 Information for primer sequences

基因	正向序列(5'→3')	反向序列(5'→3')
NRF2	TCCCAGCAGGACATGGATTT	GGCCTTCTCCTGTTCTTCT
ARE	AGAACTGGCCCTGAACTACC	TGCGCAAATGTTCTAAGCGA
ERK	GAGCACGACCACACTGGCTT	GGAAGATGGGCCGGTTGGAG
GAPDH	GCCCAGAACATCATCCCTGCAT	GCCTGCTTCAACACCTTCTTGA
HO-1	ACCATATCTACACGGCCCTG	CAGTGAGGCCCATACCAGAA

2.9 统计学方法

使用 GraphPad Prism 软件对数据进行处理, 采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 方法, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 α-香附酮显著改善 CUMS 小鼠抑郁症样行为

行为学结果显示, 与对照组相比, 模型组小鼠体重减轻、糖水偏好程度显著降低 ($P<0.001$)、FST ($P<0.01$) 和 TST ($P<0.001$) 的不动时间显著延长、进入 OFT 中心的次数减少 ($P<0.001$) 且在 NSFT 中的摄食潜伏期延长 ($P<0.05$)。与模型组相比, α-香附酮高剂量组和氟西汀组小鼠糖水偏爱程度显著提高 ($P<0.001$)、FST ($P<0.05$ 、0.01) 和 TST ($P<0.05$) 的不动时间显著缩短, 进入 OFT 中心的次数及在 NSFT 中摄食潜伏期回调, 但均无显著性差异; α-香附酮低剂量组小鼠糖水偏好程度显著提高 ($P<0.05$)、FST、TST、OFT、NSFT 虽有回调但均无显著性差异 (图 1)。行为学实验结果表明, α-香附酮高剂量组抗抑郁效果最佳。

3.2 α-香附酮改善 CUMS 小鼠血流动力学

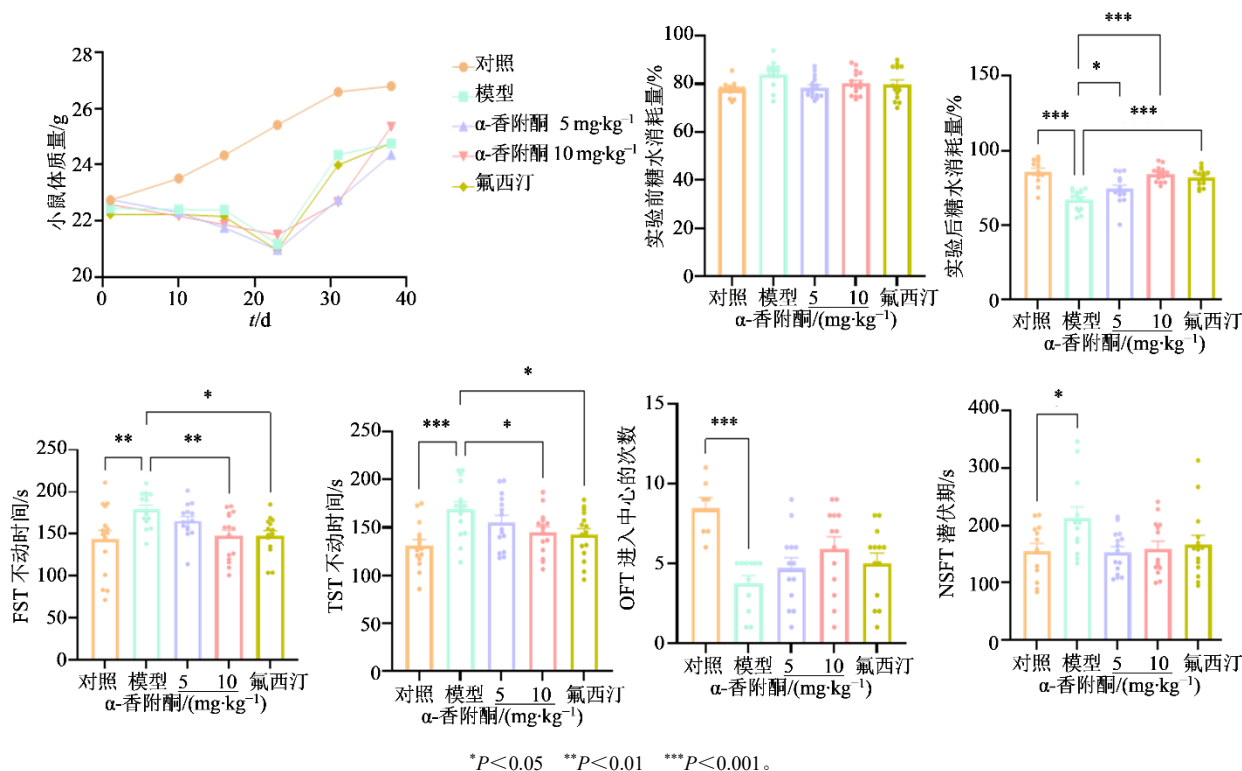
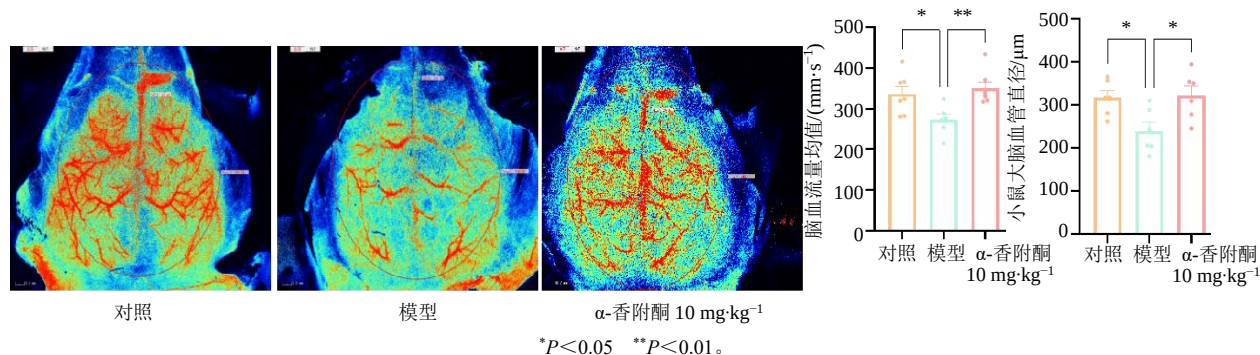
3.2.1 脑部血流动力学 大量临床研究发现抑郁症患者出现血流动力学的改变, 其中以血流量减少最为显著^[18-19]。利用激光散斑检测小鼠脑部血流动

力学, 实验结果显示, 与对照组相比, 模型组小鼠脑血流量降低 ($P<0.05$), 且脑血管直径减小 ($P<0.05$); 与模型组相比, α-香附酮高剂量组小鼠脑血流量增加 ($P<0.01$)、脑血管直径增大 ($P<0.05$) (图 2)。

3.2.2 α-香附酮改善 CUMS 小鼠颈动脉血流动力学 采用血流速度时间积分 (VTI) 反映左侧颈总动脉血流。与对照组相比, 模型组小鼠 VTI ($P<0.05$)、VTI 峰值血流量 ($P<0.01$) 和平均血流速度 ($P<0.05$) 均显著下降; 与模型组相比, α-香附酮高剂量组小鼠 VTI ($P<0.01$)、VTI 峰值血流量 ($P<0.01$) 和平均血流速度 ($P<0.05$) 均显著回调。此外, 各组小鼠左颈总动脉舒张期血管直径和收缩期血管径无显著性变化 (图 3)。

3.3 α-香附酮改善 CUMS 小鼠血清炎症因子水平

有研究显示, 炎症失衡可能是抑郁症发病的关键机制之一, 在抑郁症患者和抑郁样动物模型体内也观察到炎症反应^[20]。利用 ELISA 检测小鼠血清中炎症因子水平, 结果显示, 与对照组相比, 模型组小鼠血清中 IL-6 ($P<0.01$)、IL-1β ($P<0.01$)、ROS ($P<0.001$) 含量显著升高; IL-10 ($P<0.01$) 的含量显著降低。与模型组比较, α-香附酮高剂量组小鼠血清中 IL-6 ($P<0.05$)、IL-1β ($P<0.05$)、

图 1 α -香附酮对 CUMS 小鼠行为学的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=15$)Fig. 1 Effect of α -cyperone on depressive like behavior in CUMS mice ($\bar{x} \pm s$, $n=15$)图 2 α -香附酮对小鼠脑血流动力学的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)Fig. 2 Effect of α -cyperone on cerebral hemodynamics in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

ROS ($P<0.01$) 含量显著降低, IL-10 ($P<0.01$) 水平均显著升高 (图 4)。

3.4 α -香附酮改善 CUMS 小鼠前额叶皮质炎症因子水平

与对照组比较, 模型组小鼠前额叶皮质中 IL-6 ($P<0.01$)、IL-1 β ($P<0.01$) 含量显著升高, IL-10 ($P<0.01$) 的含量显著降低; 与模型组比较, α -香附酮高剂量组小鼠前额叶皮质中 IL-6 ($P<0.01$)、IL-1 β ($P<0.05$) 含量显著降低, IL-10 ($P<0.05$) 的含量显著升高 (图 5)。

3.5 α -香附酮激活 ERK/Nrf2/HO-1 通路

3.5.1 α -香附酮升高小鼠前额叶皮质 ERK、Nrf2、HO-1 的蛋白表达含量 与对照组比较, 模型组小鼠前额叶皮质 ERK ($P<0.05$)、Nrf2 ($P<0.01$)、HO-1 ($P<0.05$) 的蛋白表达含量均显著下降; 与模型组比较, α -香附酮高剂量组小鼠前额叶皮质 ERK ($P<0.05$)、Nrf2 ($P<0.05$)、HO-1 ($P<0.05$) 的蛋白表达含量均显著升高 (图 6)。

免疫荧光检测结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠前额叶皮质 ERK ($P<0.001$)、Nrf2 ($P<$

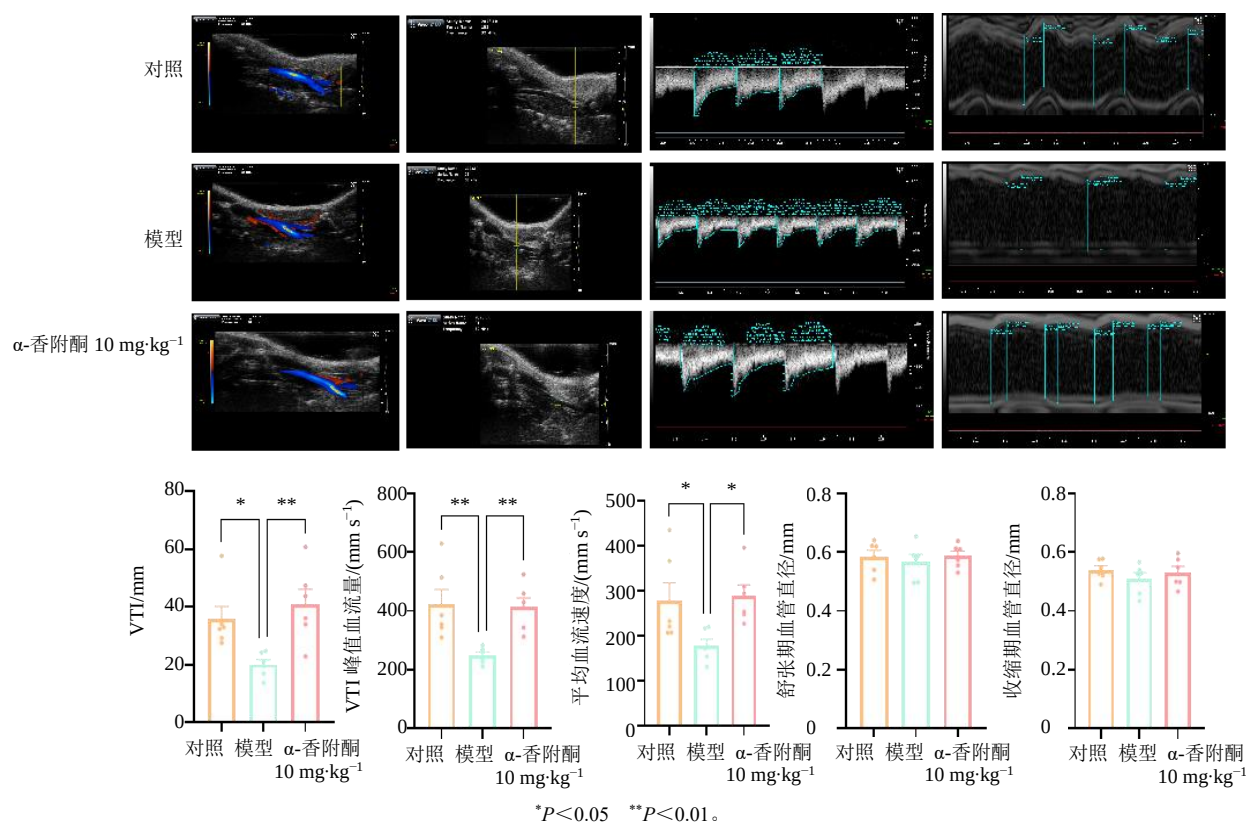


图 3 α -香附酮对小鼠左颈动脉血流动力学的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 3 Effect of α -cyperone on hemodynamics of left carotid artery in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

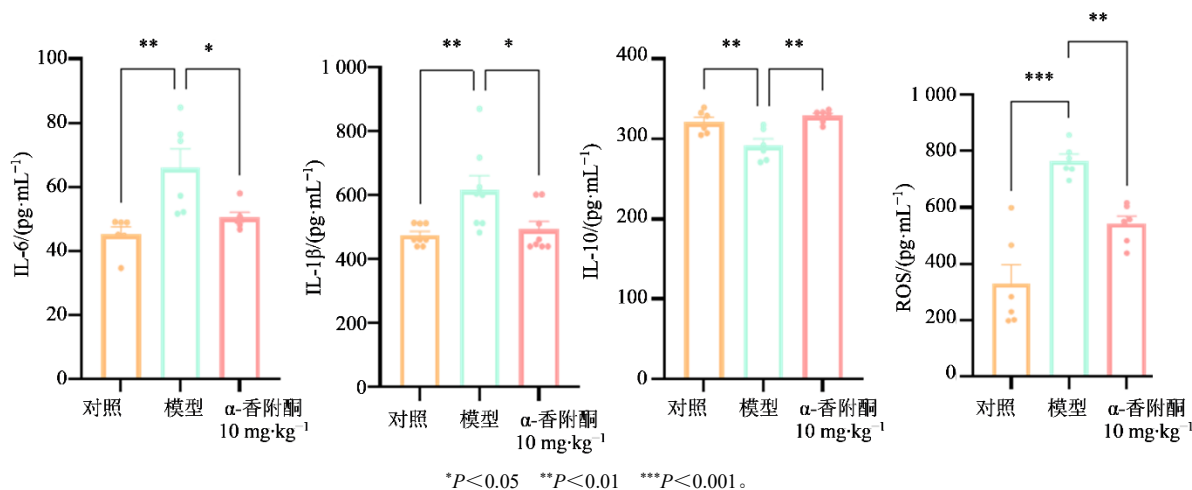


图 4 α -香附酮对 CUMS 小鼠血清中炎症因子及 ROS 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 4 Effect of α -cyperone on inflammatory factors in serum of CUMS mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

0.05)、HO-1 ($P<0.001$) 的荧光表达含量均显著下降;与模型组比较, α -香附酮高剂量组小鼠前额叶皮质 ERK ($P<0.001$)、Nrf2 ($P<0.05$)、HO-1 ($P<0.001$) 的荧光表达含量均显著升高 (图 7)。

3.5.2 α -香附酮升高小鼠前额叶皮质 ERK、Nrf2、HO-1 的基因表达 与对照组比较,模型组小鼠前

额叶皮质 ERK ($P<0.001$)、Nrf2 ($P<0.001$)、HO-1 ($P<0.01$) 的基因表达均显著下降;与模型组比较, α -香附酮高剂量组小鼠前额叶皮质 ERK、Nrf2、HO-1 ($P<0.01$) 的基因表达均显著升高 (图 8)。

3.6 α -香附酮对小鼠前额叶皮质 ARE 的影响

ARE 是 Nrf2 调节 HO-1 的关键媒介,是反映细胞对氧化应激响应和调节抗氧化防御机制能力

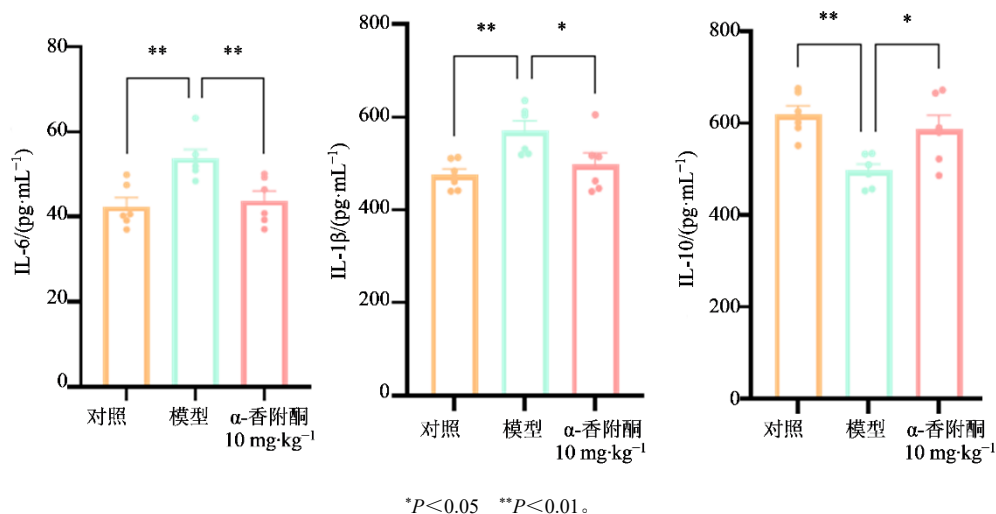


图 5 α-香附酮对 CUMS 小鼠前额叶皮质炎症因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 5 Effect of α-cyperone on expression of inflammatory factors in frontal lobe of CUMS mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

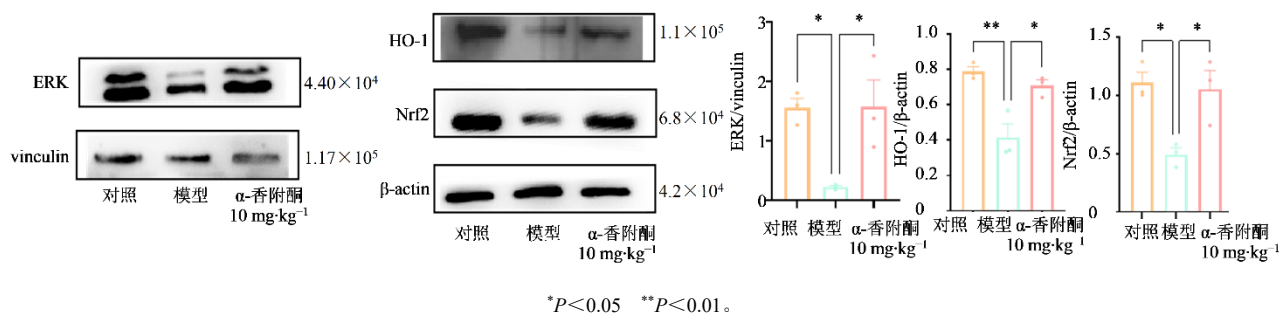


图 6 α-香附酮对 CUMS 小鼠前额叶皮质 ERK、Nrf2、HO-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 6 Effect of α-cyperone on expression of ERK, Nrf2, and HO-1 proteins in frontal lobe of CUMS mice ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

的指标^[21]。利用 qRT-PCR 对小鼠前额叶皮质 *ARE* 基因表达进行检测,与对照组相比,CUMS 小鼠前额叶皮质中 *ARE* ($P<0.05$) 基因表达显著降低;与模型组相比,α-香附酮高剂量组小鼠前额叶皮质 *ARE* ($P<0.05$) 基因表达显著升高(图 9)。

4 讨论

本研究通过 CUMS 联合孤养建立小鼠抑郁样模型,观察 α-香附酮对行为学表现、血流动力学、炎症反应、氧化应激相关指标以及 ERK/Nrf2/HO-1 信号的影响。结果显示,CUMS 小鼠出现糖水偏好降低、TST 和 FST 静止时间延长、OFT 中心活动减少以及 NSFT 摄食潜伏期延长等改变,提示模型小鼠出现明显的抑郁样行为。α-香附酮干预后,上述行为学异常得到不同程度改善,其中高剂量 α-香附酮作用更为明显。该结果说明,α-香附酮对慢性应激诱导的小鼠抑郁样行为具有改善作用。

中医学通常将抑郁症归属于“郁证”范畴,并认为情志失调、气机郁滞是其重要病机之一^[22]。在这一理论背景下,具有理气解郁、调畅气机作用的药物常被用于郁证相关证候的治疗。香附是临床常用的理气药,历代医家多重视其行气、解郁和调经作用。现代研究也显示,香附挥发油中含有多种具有生物活性的成分,其中 α-香附酮是较有代表性的倍半萜类成分,并在改善抑郁样行为、调节炎症反应等方面显示出一定活性^[23-24]。但前期的研究仍然以复方和中药为主,且对 α-香附酮的研究停留在药效评价方面。因此,本研究以 α-香附酮为研究对象,从炎症反应、氧化应激以及 ERK/Nrf2/HO-1 相关信号入手,观察其对 CUMS 小鼠抑郁样行为的影响。这有助于从现代生物学角度解释香附理气解郁功效的部分物质基础和作用环节。

炎症失衡是慢性应激诱导抑郁样行为的重要病理环节。已有研究认为,抑郁症的发生发展与炎

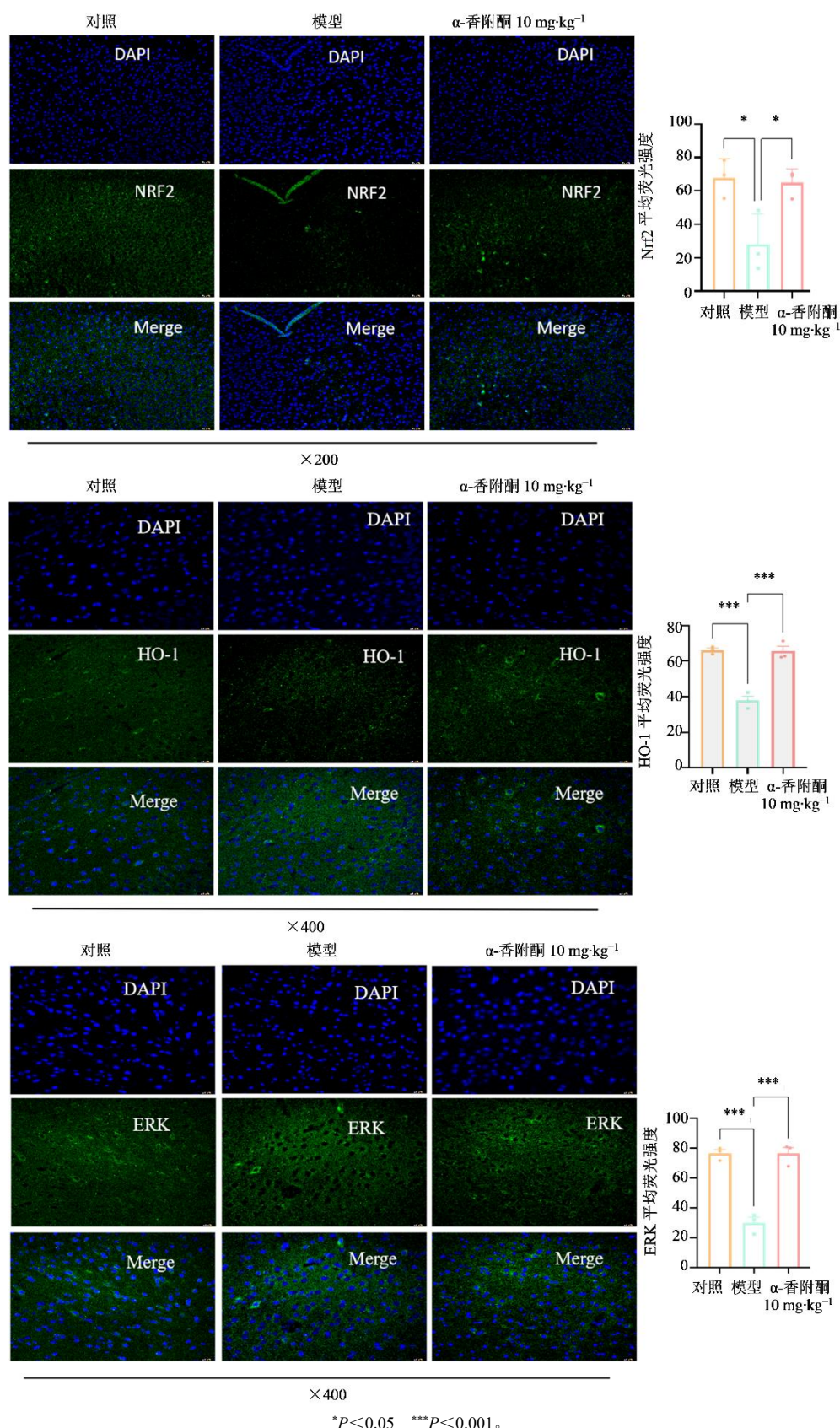


图 7 α -香附酮对 CUMS 小鼠前额叶皮质 ERK、Nrf2、HO-1 荧光表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 7 Effect of α -cyperone on fluorescence expression of ERK, Nrf2, and HO-1 in frontal lobe of CUMS mice ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

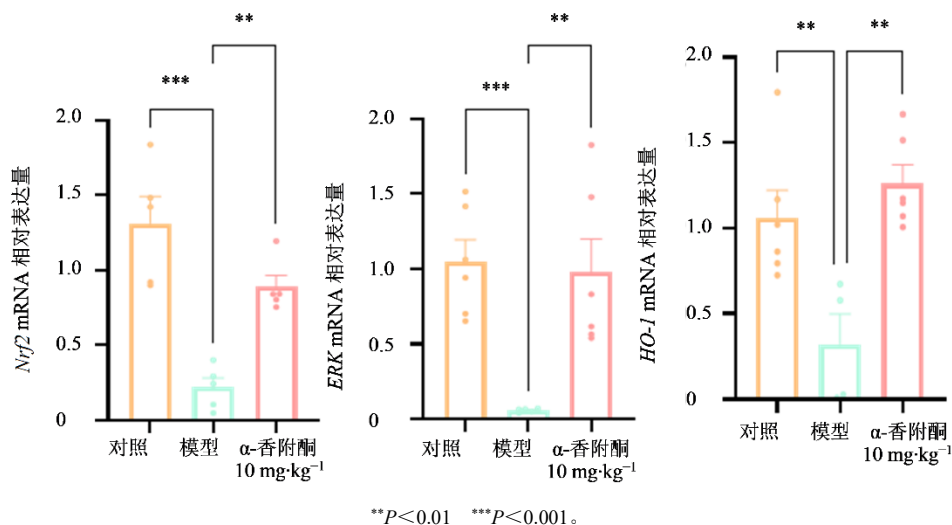


图 8 α-香附酮对 CUMS 小鼠前额叶皮质 *ERK*、*Nrf2*、*HO-1* 基因表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Fig. 8 Effect of α-cyperone on expression of *ERK*, *Nrf2*, and *HO-1* genes in frontal lobe of CUMS mice ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

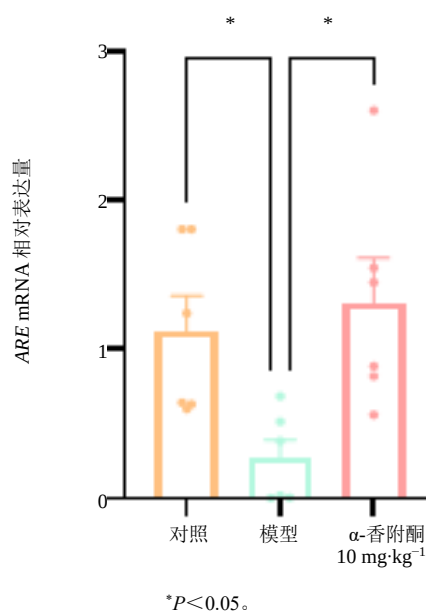


图 9 α-香附酮对 CUMS 小鼠前额叶皮质 *ARE* 基因表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 9 Effect of α-cyperone on *ARE* gene expression in frontal lobe of CUMS mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

症因子介导的免疫异常密切相关^[4]。IL-1β 和 IL-6 是常见的促炎因子，IL-1β 不仅可通过多态性影响抑郁易感性，还能通过下丘脑-垂体-肾上腺轴 (HPA) 加剧应激反应，是诱发抑郁行为的关键细胞因子^[25]。IL-6 在抑郁症发生发展过程中发挥协同作用，且在伴有自杀倾向的抑郁患者的脑脊液中发现，IL-6 的含量明显高于正常人^[26-27]。与此相对，IL-10 作为重要的抗炎因子，其在维持免疫稳态中的作用同样不容忽视。本实验发现，CUMS 小鼠外

周血清和前额叶皮质中 IL-1β、IL-6 水平显著升高，而 IL-10 含量明显降低。该结果说明，慢性应激不仅诱发外周炎症反应，也可能造成前额叶皮质局部炎症环境异常。α-香附酮干预后，IL-1β 和 IL-6 水平下降，IL-10 水平回升，提示 α-香附酮可能通过纠正促炎和抗炎因子失衡，减轻 CUMS 诱导的炎症负荷。

炎症反应与氧化应激之间存在密切联系。慢性应激可增加 ROS 生成，也可削弱机体内源性抗氧化防御能力，从而进一步加重神经微环境损伤。Nrf2/HO-1 通路是一个有效的抗炎、抗氧化应激损伤靶点。Nrf2 是 Cap'n'collar (CNC) 转录因子家族的成员，在氧化应激条件下，Nrf2 可与 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Keap1) 分离，并转移到核内与 ARE 结合，从而激活多种抗氧化基因的转录，维持氧化还原平衡^[28-29]。HO-1 是 Nrf2 下游的重要效应分子，当 Nrf2 完成核转位后，可特异性激活 HO-1 表达，促进抗氧化活性物质的生成及自由基的清除，从而缓解氧化应激损伤^[30]。ERK 是 MAPK 信号通路中的重要分子，可参与细胞应激反应、炎症调节及 Nrf2 相关抗氧化反应的调控^[6, 13]。因此，ERK/Nrf2/HO-1 通路构成了一个完整的、从上游信号激活到中枢转录调控再到下游效应保护的级联调控系统。本研究发现，CUMS 小鼠血清 ROS 水平升高，同时前额叶皮质 ERK、Nrf2 和 HO-1 的蛋白及基因表达下降，ARE 相关表达也降低，提示慢性应激可导致氧化应激相关改变，并抑制前额叶皮质内源性抗氧化保护信号。α-香附酮干预后，血清

ROS 水平下降, ERK、Nrf2、HO-1 及 ARE 相关表达均有所回升。结合炎症因子变化可以推测, ERK/Nrf2/HO-1 相关信号恢复可能是 α -香附酮减轻氧化应激和炎症反应的重要分子环节。

值得一提的是, 与前期研究结果一致, 本研究也发现了 α -香附酮在降低炎症因子水平和抗抑郁方面的活性; 而与前期研究相比, 本研究在确认 α -香附酮核心药效的基础上, 深入探究了其抗抑郁机制, 揭示了其可通过调节 ERK/Nrf2/HO-1 信号通路, 介导氧化应激, 发挥抗抑郁作用, 完成了从宏观药效到微观机制的研究。但遗憾的是, 本研究虽然发现了 α -香附酮对 ERK/Nrf2/HO-1 信号通路的调控作用, 却尚未采用 ERK 或 Nrf2 特异性抑制剂进行反向验证, 未能进一步研究多通路协同作用的抗抑郁机制, 也未能找到 α -香附酮发挥抗抑郁作用的直接分子靶点。未来需进一步结合通路阻断实验进一步验证, 利用多组学技术系统筛选 α -香附酮抗抑郁的潜在靶点与调控通路, 并全面、系统的分析 α -香附酮多维度的抗抑郁机制。另外, 脑血流动力学紊乱亦是抑郁症常见的病理特征之一^[31]。值得关注的是, 本研究发现 α -香附酮对抑郁小鼠脑血流亦有改善作用, 其与该信号轴的关系也是本研究后续感兴趣的方向。

本研究发现, CUMS 可诱导小鼠出现抑郁样行为, 并伴随外周及前额叶皮质炎症因子失衡、氧化应激加重和 ERK/Nrf2/HO-1 相关信号受抑。 α -香附酮干预后, 小鼠抑郁样行为得到改善, 炎症负荷和氧化应激水平均有所减轻, ERK/Nrf2/HO-1 相关保护信号也得到恢复。提示 α -香附酮可能通过调节炎症反应和氧化应激状态发挥抗抑郁样作用, 并为香附理气解郁功效的现代机制阐释提供了实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhu X L, Chen J J, Han F, et al. Novel antidepressant effects of Paeonol alleviate neuronal injury with concomitant alterations in BDNF, Rac1 and RhoA levels in chronic unpredictable mild stress rats [J]. *Psychopharmacology*, 2018, 235(7): 2177-2191.
- [2] 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.
- [3] Yang W Q, Wang X H, Kang C Y, et al. Establishment of a risk prediction model for suicide attempts in first-episode and drug naïve patients with major depressive disorder [J]. *Asian J Psychiatr*, 2023, 88: 103732.
- [4] 邹翔, 韩采奕, 刘凯丽, 等. 基于转录组学解析柴胡皂苷 a-黄芩苷通过抑制钙离子信号通路-NLRP3 炎症小体轴的抗抑郁机制研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2026, 61(4): 425-436.
Zou X, Han C Y, Liu K L, et al. Transcriptomics-based analysis of the antidepressant mechanism of saikosaponin a-baicalin via inhibiting the calcium signaling pathway-NLRP3 inflammasome axis [J]. *Chin Pharm J*, 2026, 61(4): 425-436.
- [5] Chen P S, Shen Y C, Lin C F, et al. Prognostic impacts of depression and inflammatory factors in pancreatic cancer patients [J]. *Biopsychosoc Sci Med*, 2025, 87(2): 146-152.
- [6] Zuo C C, Cao H, Song Y, et al. Nrf2: An all-rounder in depression [J]. *Redox Biol*, 2022, 58: 102522.
- [7] Dang R Z, Wang M Y, Li X H, et al. Edaravone ameliorates depressive and anxiety-like behaviors via Sirt1/Nrf2/HO-1/Gpx4 pathway [J]. *J Neuroinflamm*, 2022, 19(1): 41.
- [8] Si L J, Xiao L, Xie Y P, et al. Social isolation after chronic unpredictable mild stress perpetuates depressive-like behaviors, memory deficits and social withdrawal via inhibiting ERK/KEAP1/NRF2 signaling [J]. *J Affect Disord*, 2023, 324: 576-588.
- [9] Cheng K, Chen C, Deng S L, et al. Hippocampus carbonic anhydrase 1 via ERK pathway may be involved in depressive like behaviors [J]. *J Affect Disord*, 2025, 373: 186-195.
- [10] Nisha, Paramanik V. Neuroprotective roles of daidzein through extracellular signal-regulated kinases dependent pathway in chronic unpredictable mild stress mouse model [J]. *Mol Neurobiol*, 2025, 62(4): 4899-4921.
- [11] 叶沃若, 刘睿, 刘书宇. 益气温阳活血汤通过 ERK/Nrf2 信号通路改善慢性心力衰竭大鼠的氧化应激损伤 [J]. *实用临床医药杂志*, 2026, 30(2): 84-89.
Ye W R, Liu R, Liu S Y. Yiqi Wenyang Huoxue Decoction ameliorates oxidative stress injury in rats with chronic heart failure via the ERK/Nrf2 signaling pathway [J]. *J Clin Med Pract*, 2026, 30(2): 84-89.
- [12] Zhang S, Xu S K, Duan H F, et al. A novel, highly-water-soluble apigenin derivative provides neuroprotection following ischemia in male rats by regulating the ERK/Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 855: 208-215.
- [13] 张碧珂. 越鞠丸挥发油抗抑郁作用及机制研究 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2023.
Zhang B K. Research on the antidepressant effects and mechanism of volatile oil from Huaiju Pill [D]. Nanchang:

- Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, 2023.
- [14] Xia B M, Tong Y, Xia C B, et al. α -cyperone confers antidepressant-like effects in mice via neuroplasticity enhancement by SIRT3/ROS mediated NLRP3 inflammasome deactivation [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 577062.
- [15] Huang B X, Hu G Q, Zong X F, et al. α -Cyperone protects dopaminergic neurons and inhibits neuroinflammation in LPS-induced Parkinson's disease rat model via activating Nrf2/HO-1 and suppressing NF- κ B signaling pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2023, 115: 109698.
- [16] Zhang B K, Su D, Song Y G, et al. Yueju volatile oil plays an integral role in the antidepressant effect by up-regulating ERK/AKT-mediated GLT-1 expression to clear glutamate [J]. Fitoterapia, 2023, 169: 105583.
- [17] Wang J L, Wang Y, Gao T T, et al. Venlafaxine protects against chronic stress-related behaviors in mice by activating the mTORC1 signaling cascade [J]. J Affect Disord, 2020, 276: 525-536.
- [18] 汪妍言. 基于 fNIRS 的具有自杀倾向老年抑郁症患者脑血流动力学特征分析研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2025.
- Wang Y Y. Analysis of cerebral hemodynamic characteristics of elderly patients with suicidal tendency and depression based on fNIRS [D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2025.
- [19] Chithiramoan T, Parekh J N, Kronenberg G, et al. Investigating the association between depression and cerebral haemodynamics-a systematic review and meta-analysis [J]. J Affect Disord, 2022, 299: 144-158.
- [20] 杨彤, 何媛媛, 黄梦楠, 等. 交泰丸和 5-羟色胺再摄取抑制剂治疗对抑郁症患者短链脂肪酸、神经炎症标志物及神经营养因子调节作用的临床研究 [J]. 中草药, 2026, 57(2): 574-582.
- Yang T, He Y Y, Huang M N, et al. Clinical study on regulatory effects of Jiaotai Wan and selective serotonin reuptake inhibitors on short-chain fatty acids, neuroinflammatory markers, and neurotrophic factors in depressed patients [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2026, 57(2): 574-582.
- [21] 刘慧丽. 基于数据挖掘探讨李冀教授辨治郁病的用药规律及经验总结 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2023.
- Liu H L. Exploring the medication patterns and experience of professor Li Ji's treatment of depression based on data mining [D]. Harbin: Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, 2023.
- [22] 王君明, 马艳霞, 张蓓, 等. 香附提取物抗抑郁作用研
- 究 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(4): 779-781.
- Wang J M, Ma Y X, Zhang B, et al. Antidepressant-like effects of extracts isolated from rhizomes of *Cyperus rotundus* L [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2013, 24(4): 779-781.
- [23] 王凤霞, 钱琪, 李葆林, 等. 香附化学成分和药理作用研究进展及质量标志物 (Q-Marker) 预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(16): 5225.
- Wang F X, Qian Q, Li B L, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Cyperus Rhizoma* and predictive analysis on its quality marker (Q-Marker) [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(16): 5225.
- [24] Ryter S W. Heme oxygenase-1/carbon monoxide as modulators of autophagy and inflammation [J]. Arch Biochem Biophys, 2019, 678: 108186.
- [25] Draganov M, Arranz M J, Vives-Gilbert Y, et al. Polymorphisms in the IL1-b gene are associated with increased Glu and Glx levels in treatment-resistant depression [J]. Psychiatry Res Neuroimaging, 2021, 316: 111348.
- [26] 王申, 韦念, 徐祖才. 癫痫共病抑郁障碍相关机制研究进展 [J]. 神经疾病与精神卫生, 2021, 21(12): 879-882.
- Wang S, Wei N, Xu Z C. Research progress on the related mechanism of depressive disorder in epilepsy comorbid [J]. J Neurosci Ment Health, 2021, 21(12): 879-882.
- [27] 卢静茹, 张迎黎, 陈冠婕, 等. 抑郁障碍伴自杀风险的炎症机制相关研究进展 [J]. 国际精神病学杂志, 2019, 46(6): 964-967.
- Lu J R, Zhang Y L, Chen G J, et al. Research progress on inflammatory mechanism of depression with suicide risk [J]. J Int Psychiatry, 2019, 46(6): 964-967.
- [28] 刘敏. 抑郁患者脑血流自动调节功能的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- Liu M. Research on the Automatic Blood Flow Regulation Function of the Brain in Patients with Depression [D]. Changchun: Jilin University, 2022.
- [29] Saha S, Buttari B, Profumo E, et al. A perspective on Nrf2 signaling pathway for neuroinflammation: A potential therapeutic target in Alzheimer's and Parkinson's diseases [J]. Front Cell Neurosci, 2022, 15: 787258.
- [30] Ulasov A V, Rosenkranz A A, Georgiev G P, et al. Nrf2/Keap1/ARE signaling: Towards specific regulation [J]. Life Sci, 2022, 291: 120111.
- [31] Uddin M J, Kim E H, Hannan M A, et al. Pharmacotherapy against oxidative stress in chronic kidney disease: Promising small molecule natural products targeting Nrf2-HO-1 signaling [J]. Antioxidants, 2021, 10(2): 258.