

二仙汤干预围绝经期抑郁模型大鼠的神经内分泌-代谢调控机制研究

吴贤相, 杨晰雯, 冯佳兴, 王 宇, 刘树民, 卢 芳*

黑龙江中医药大学 中医药研究院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘 要: **目的** 研究二仙汤对围绝经期抑郁症(PMD)模型大鼠行为学、性激素水平、相关基因表达及血清代谢谱的影响, 探讨其潜在作用机制。**方法** 采用双侧卵巢摘除(OVX)联合 42 d 慢性不可预知温和刺激(CUMS)建立 PMD 模型。设置对照组(不造模)、模型组、氟哌噻吨美利曲辛(FM, 阳性对照, 2.2 mg·kg⁻¹)组、雌二醇(E₂, 阳性对照, 0.1 mg·kg⁻¹)组及二仙汤高、中、低剂量(9.6、4.8、2.4 g·kg⁻¹)组, 实验后 21 d 每天给药 1 次。通过阴道涂片、体质量和摄食量测定、蔗糖水偏好实验(SPT)、强迫游泳实验(FST)及 Morris 水迷宫实验(MWM)评价模型及行为学变化; 采用苏木素-伊红(HE)染色观察海马组织病理形态改变; 利用酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清 E₂、促黄体生成素(LH)、促卵泡生成素(FSH)水平; 通过实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)技术检测海马组织中 5-羟色胺 1A 受体基因(*Htr1a*)、脑源性神经营养因子(*BDNF*)、原肌球蛋白受体激酶 B(*TrkB*)及子宫组织中的雌激素受体 1(*Esr1*)和 *Esr2* mRNA 表达。根据药效学结果, 选取对照组、模型组和二仙汤高剂量组进行 UPLC-Q-TOF/MS 血清非靶向代谢组学分析。**结果** 与模型组比较, 二仙汤各剂量组大鼠体质量、体质量增长率, 摄食量均显著降低($P<0.05$ 、 0.01); 二仙汤高剂量组大鼠糖水偏好率升高($P<0.01$), 不动时间和逃避潜伏期缩短($P<0.01$), 目标象限停留时间显著增加($P<0.01$); 二仙汤各剂量组海马区病理损伤均有不同程度改善, 其中高剂量组神经元排列和细胞形态改善最明显; 二仙汤高、中剂量可升高 E₂ 水平并降低 LH 和 FSH 水平($P<0.01$); 二仙汤各剂量组海马组织 *Htr1a*、*BDNF* 及 *TrkB* mRNA 表达显著下降, 子宫组织 *Esr1* 和 *Esr2* mRNA 表达亦显著下调($P<0.05$ 、 0.01); 代谢组学结果显示, 二仙汤高剂量组可使模型大鼠血清代谢轮廓向对照组回归, 共回调 37 种异常血清代谢物, 主要涉及牛磺酸、L-苯丙氨酸、亚油酸、磷脂酰乙醇胺及多种磷脂酰胆碱等; 通路富集主要涉及亚油酸代谢、 α -亚麻酸代谢、牛磺酸和亚牛磺酸代谢及甘油磷脂代谢。**结论** 二仙汤可改善 PMD 模型大鼠抑郁样行为、认知功能障碍和海马病理损伤, 其机制可能与调节下丘脑-垂体-卵巢轴(HPO)轴功能、增强雌激素受体表达、激活 5-羟色胺(5-HT) 1A/BDNF/TrkB 相关信号, 并重塑脂质及牛磺酸相关代谢稳态有关。

关键词: 二仙汤; 围绝经期抑郁症; 5-HT1A/BDNF/TrkB; 代谢组学; 亚油酸代谢; α -亚麻酸代谢; 牛磺酸和亚牛磺酸代谢
中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)10-3601-14

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.10.017

Neuroendocrine-metabolic regulatory mechanisms of Erxian Decoction in rats with perimenopausal depression

WU Xianxiang, YANG Xiwen, FENG Jiaying, WANG Yu, LIU Shumin, LU Fang

College of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To investigate the effects of Erxian Decoction (EXD) on behavior, sex hormone levels, related gene expression, and serum metabolic profiles in a rat model of perimenopausal depression (PMD), and to explore its potential mechanisms. **Methods** A PMD rat model was established by bilateral ovariectomy (OVX) combined with 42 days of chronic unpredictable mild stress (CUMS). Female SD rats were control group (without modeling), the model group, the flupentixol-melitracen (FM, positive control, 2.2 mg·kg⁻¹) group, the estradiol (E₂, positive control, 0.1 mg·kg⁻¹) group, and the high, medium and low doses of EXD (9.6, 4.8, 2.4 g·kg⁻¹) groups. The drug was administered once a day every 21 d after the experiment. Behavioral changes were evaluated by the sucrose preference test (SPT), forced swimming test (FST), and Morris water maze (MWM). Hippocampal pathology was observed by HE staining. Serum estradiol (E₂), luteinizing hormone (LH), and follicle-stimulating hormone (FSH) were measured by ELISA. The mRNA levels of

收稿日期: 2026-04-23

基金项目: 黑龙江中医药大学基金青年创新项目(14011250019)

作者简介: 吴贤相, 男, 硕士研究生, 从事中药药性理论及药效物质基础研究。E-mail: wxxdsg2001@163.com

*通信作者: 卢 芳, 女, 博士, 研究员, 从事中药药性理论及药效物质基础研究。E-mail: lufang_1004@163.com

hippocampal serotonin 1A receptor gene (*Htr1a*), brain-derived neurotrophic factor (*BDNF*), tropomyosin receptor kinase B (*TrkB*) and uterine *Esr1*, *Esr2* were detected by qRT-PCR. Based on pharmacodynamic results, serum samples from the control, model, and high-dose EXD groups were analyzed by UPLC-Q-TOF/MS-based untargeted metabolomics. **Results** Compared with the model group, rats in all dosage groups of Erxian Decoction showed significantly reduced body weight, body weight gain rate, and food intake ($P < 0.05, 0.01$). The high-dose group exhibited increased sucrose preference ($P < 0.01$), shortened immobility time and escape latency ($P < 0.01$), and significantly prolonged time spent in the target quadrant ($P < 0.01$). Pathological damage in the hippocampus was improved to varying degrees across all dosage groups, with the most notable improvement observed in neuronal alignment and cell morphology in the high-dose group. High and medium doses of Erxian Decoction elevated E_2 levels while reducing LH and FSH levels ($P < 0.01$). Expression of *Htr1a*, *BDNF*, and *TrkB* mRNA in hippocampal tissue, as well as *Esr1* and *Esr2* mRNA expression in uterine tissue, were significantly downregulated in all dosage groups ($P < 0.05, 0.01$). Metabolomics analysis revealed that the high-dose group restored the serum metabolic profile of model rats toward that of the control group, correcting 37 abnormal serum metabolites, primarily including taurine, *L*-phenylalanine, linoleic acid, phosphatidylethanolamine, and various phosphatidylcholines. Pathway enrichment analysis mainly involved linoleic acid metabolism, alpha-linolenic acid metabolism, taurine and hypotaurine metabolism, and glycerophospholipid metabolism. **Conclusion** Erxian Decoction improves depression-like behavior, cognitive dysfunction, and hippocampal injury in PMD rats, possibly by regulating the HPO axis, enhancing estrogen receptor expression, activating 5-HT1A/BDNF/TrkB signaling, and restoring lipid and taurine-related metabolic homeostasis.

Key words: Erxian Decoction; perimenopausal depression; 5-HT1A/BDNF/TrkB; metabolomics; linoleic acid metabolism; α -linolenic acid metabolism; taurine and astionine metabolism

围绝经期抑郁症 (PMD) 是女性围绝经期常见的精神心理障碍, 临床多表现为情绪低落、焦虑烦躁、睡眠障碍及认知功能减退等, 严重影响患者生活质量^[1-2]。其发生与卵巢功能衰退、雌激素水平下降、下丘脑-垂体-卵巢 (HPO) 轴功能紊乱、单胺类神经递质失衡、神经营养因子表达异常及代谢网络失调等密切相关^[3], 但具体机制尚未完全阐明。目前临床治疗主要包括激素替代疗法和抗抑郁药物, 虽具有一定疗效, 但存在长期用药安全性、靶向单一及对内分泌整体调节不足等问题^[4]。

中医学虽无“围绝经期抑郁症”病名, 但可归属于“郁证”“脏躁”“绝经前后诸证”等范畴, 病机多以肾虚为本, 肝郁为标, 兼见冲任失调、阴阳失衡^[5]。二仙汤由淫羊藿、仙茅、知母、黄柏、巴戟天、当归组成, 具有温肾益精、调补冲任、和调阴阳之功, 临床常用于绝经前后诸证及卵巢功能减退相关疾病^[6]。现代研究表明, 二仙汤可调节性激素水平、改善 HPO 轴功能, 并具有抗炎、抗氧化和调控神经递质等作用^[7-8], 但其改善 PMD 的作用机制仍需进一步阐明。

非靶向代谢组学可从整体水平揭示机体内源性代谢物及相关通路变化, 适用于中药复方多靶点、多通路作用机制研究。基于此, 本研究建立 PMD 大鼠模型, 结合行为学、血清性激素、组织病理、相关基因表达及非靶向代谢组学分析, 系统评价二

仙汤对 PMD 大鼠的干预作用, 并探讨其潜在机制, 为二仙汤防治 PMD 提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

80 只健康雌性的 SD 大鼠, 2 月余月龄, SPF 级, 体质量为 200~300 g, 由辽宁长生生物技术股份有限公司提供, 动物生产许可证号 SCXK (辽) 2020-0001。实验在常规条件下饲养, 室温 24~26 °C, 湿度 40%~60%, 自然光照, 自由摄食饮水, 适应性饲养 1 周后进行实验。动物研究根据《实验用动物保护法》(指令 86/609/EEC) 通过伦理批准, 所有实验方案均经黑龙江中医药大学动物伦理委员会批准, 批准号 2025030306。

1.2 药物与主要试剂

淫羊藿 (批号 2105001, 产地为甘肃)、知母 (批号 2306002, 产地为河北)、黄柏 (批号 2308001, 产地为四川)、当归 (批号 2407005, 产地为甘肃)、巴戟天 (批号 2203001, 产地为广西)、仙茅 (批号 2303001, 产地为广西) 均购自河北全泰药业有限公司, 经黑龙江中医药大学药学院郭盛磊教授鉴定, 符合《中国药典》2025 年版标准。淫羊藿苷 (批号 110737-202017, 质量分数 98.1%) 购自中国药品检定研究院; *D*-无水葡萄糖 (批号 PU1173, 质量分数 ≥ 99%) 购自成都普思生物科技股份有限公司; 氟哌噻吨美利曲辛 (FM, 批号 H20143390) 购自海南辉

能药业有限公司; 芬吗通 (批号 H20150346) 购自 Abbott Biologicals B.V.; 大鼠雌二醇 (E_2)、促黄体生成素 (LH)、促卵泡生长激素 (FSH) ELISA 科研试剂盒 (批号分别为 202503、202510、202510) 购自酶免生物科技有限公司; 色谱级甲醇购自江苏汉邦科技有限公司、乙腈购自德国 Merck 公司。

1.3 主要仪器

50DZ 数控超声波清洗器 (中国昆山市超声仪器有限公司); AL204 电子天平 (上海梅特勒-托利多仪器有限公司); $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱 (赛默飞世尔科技有限公司); SY-5000 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); CHT210R 高速冷冻离心机 (湘仪实验室仪器开发有限公司); LC-18N-50C 真空冷冻干燥机 (上海力辰邦西仪器科技有限公司); Eclipse Ci-L 正置光学显微镜 (日本 Nikon 公司); EG1150H 石蜡包埋机、HI1220 石蜡切片烤片机 (Leica 公司); M200 PRO 酶标仪 (瑞士 Tecan 公司); MX-F 涡旋混合器、KZ-II 研磨仪 (武汉塞维尔生物科技有限公司); Quantstudio3 实时荧光定量仪 [沃特世科技 (上海) 有限公司]; 蛋白质电泳装置 (美国 Bio-Rad 公司); TMV-100 Morris 水迷宫、BL-420F 生物机能实验系统 (成都泰盟科技有限公司); chemiscope5300 化学发光成像系统 (上海勤翔科学仪器); MS105DU、MS105D 分析天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); ACQUITY 型超高效液相色谱仪、Xevo G2 型 Q-TOF 质谱仪、Progenesis QI 软件 (美国 Waters 公司)。

2 方法

2.1 药物的提取与配制

按《妇产科学》所载处方比例 3:3:2:2:3:3 称取淫羊藿、仙茅、知母、黄柏、巴戟天和当归, 加蒸馏水浸泡 1 h, 首次加 10 倍量蒸馏水煎煮 2 h, 药渣再加 8 倍量蒸馏水煎煮 1 h, 合并滤液, 低温浓缩并冻干, 制得二仙汤冻干粉, 制备工艺参照二仙汤水提物及其化学成分和质量控制相关研究^[9-10]。采用三氯化铝比色法测定总黄酮含量^[11], 二仙汤冻干粉中总黄酮含量为 $65.73\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (以淫羊藿苷当量计), 质量分数为 6.57%, 折合为 $21.93\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 生药。冻干粉经乙醇醇沉处理后, 采用苯酚-硫酸比色法测定总多糖含量^[12], 冻干粉中总多糖含量为 $55.74\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (以葡萄糖当量计), 质量分数为 5.57%, 折合为 $18.60\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 生药。临用前按大鼠等效剂量配制成高、中、低剂量药液, 质量浓度分别为 0.96、0.48、

$0.24\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (冻干粉配制浓度)。FM 和 E_2 片研磨后, 按临床等效量配制成混悬液, 终质量浓度分别为 0.22 和 $0.01\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 备用。

2.2 PMD 大鼠模型的建立

造模参考既往 PMD 动物模型研究^[13-14], 采用双侧卵巢摘除 (OVX) 联合慢性不可预知温和刺激 (CUMS) 建立 PMD 复合模型, 其中摘除雌鼠卵巢模拟绝经期激素变化^[15], 而 CUMS 模拟快感缺失^[16]。大鼠适应性饲养 1 周后, 以 3% 戊巴比妥钠麻醉进行双侧卵巢摘除; 对照组仅摘除双侧游离脂肪组织。术后抗感染处理 7 d。术后通过阴道涂片观察动情周期变化, 以评价卵巢摘除效果及模型建立情况。

术后恢复 1 周后, 模型大鼠进行连续 42 d 的 CUMS, 包括夹尾、束缚、冰水浴、潮湿垫料、鼠笼倾斜、禁食、禁水、足底电击、黑白颠倒及气味刺激。每天随机给予 1 种刺激, 3 d 内不重复。前 21 d 用于模型建立, 观察大鼠体质量与 24 h 摄食量, 随后进行糖水偏好实验 (SPT) 筛选造模成功动物; 后 21 d 给药, 给药期间继续给予刺激以维持模型稳定。

2.3 动物分组与给药

造模筛选后, 选取造模成功且状态稳定的大鼠 48 只, 随机分为模型组、FM (阳性药, $2.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组、 E_2 (阳性药, $0.1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组及二仙汤高、中、低剂量 (9.6 、 4.8 、 $2.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 组, 每组 8 只。各给药组每天 ig 1 次, 连续 21 d; 对照组和模型组给予等体积 0.9% 氯化钠溶液。

2.4 一般状态观察与行为学实验

分别于适应性饲养结束、造模第 21 天及实验结束时记录大鼠体质量与 24 h 摄食量, 并观察一般状态变化。行为学检测包括 SPT、强迫游泳实验 (FST)、Morris 水迷宫实验 (MWM) 行为学测试。SPT 用于评价大鼠快感缺失行为, 大鼠经糖水适应后, 单笼给予 1% 蔗糖水和纯水自由饮用 24 h, 记录 2 者消耗量, 并计算糖水偏好率。FST 用于评价大鼠绝望样行为, 首日适应游泳 15 min, 24 h 后正式实验记录 5 min 内的行为, 统计后 4 min 的不动时间 (即大鼠仅维持头部露出水面的最小肢体动作)。MWM 用于评价大鼠的空间学习与记忆能力, 采用 Morris 水迷宫, 定位航行连续训练 5 d (Day1 ~ Day5), 每天 4 次, 记录逃避潜伏期; 第 6 天撤平台, 记录目标象限停留时间百分比。

糖水偏好率=糖水消耗量/(糖水消耗量+纯水消耗量)

2.5 样本采集及处理

行为学实验结束后, 3%戊巴比妥钠麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 于 4 °C、4 500 r min⁻¹ 离心 10 min 分离血清, 用于生化指标及代谢组学的检测; 随后迅速于冰盘上分离脑组织和子宫组织, 部分组织经液氮速冻后置-80 °C 保存, 用于分子生物学检测; 其余组织固定后用于病理形态学观察。

2.6 苏木精-伊红 (HE) 染色

取固定后的脑组织, 常规脱水、透明、石蜡包埋, 制成 4 μm 连续切片, 切片进行烘烤, 经脱蜡、复水, 蒸馏水洗涤后, 用 HE 染色液进行染色, 再脱水透明并以中性树胶封片, 于光学显微镜 (×400) 下观察海马组织的病理形态学变化。

2.7 ELISA 法检测血清性激素水平指标

取出检测所需血清, 严格按照 ELISA 试剂盒说明书进行实验操作, 检测各组大鼠血清中 E₂、LH 和 FSH 性激素水平, 测定吸光度值后绘制标准曲线, 计算各指标浓度。

2.8 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法检测大鼠相关因子 mRNA 表达情况

提取大鼠脑组织和子宫组织总 RNA, 逆转录为 cDNA 后进行 qRT-PCR 检测。扩增程序为 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火/延伸 30 s。每组取 3 个样本, 每个样本设 3 个复孔。扩增结束后记录 C_t 值, 采用 2^{-ΔΔC_t} 法, 以 β-actin 为内参基因, 检测海马组织中 5-羟色胺 1A 受体基因 (*Htr1a*)、脑源性神经营养因子 (*BDNF*)、原肌球蛋白受体激酶 B (*TrkB*) 及子宫组织中雌激素受体 1 (*Esr1*) 和 *Esr2* mRNA 相对表达量, 引物序列见表 1。

2.9 血清代谢组学研究

2.9.1 样本预处理 各组大鼠血清样本于室温自然解冻, 取 100 μL 血清加入 300 μL 甲醇-乙腈混合溶剂, 涡旋、超声并低温静置后, 于 4 °C、13 000 r·min⁻¹ 离心 10 min。取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 滤液用于质谱检测。

2.9.2 UPLC-Q-TOF/MS 分析条件 采用 ACQUITY UPLC 系统进行色谱分离, 色谱柱为 BEH C₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)。柱温 40 °C, 进样量 2 μL, 体积流量 0.4 mL·min⁻¹。流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液, 流动相 B 为乙腈, 梯度洗脱程序见表 2。质谱检测采用电喷雾离子源 (ESI), 分别在正、负离子模式下采集数据。离子源温度 120 °C, 脱溶

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列 (5'→3')
<i>BDNF</i>	上游: CCCGGCTTGGAGAAGGAAAC 下游: CATTGTTGTCACGCTCCTGG
<i>TrkB</i>	上游: ACCAAACCAATCGGGAGCAT 下游: ATGTCTCGCCAACTTGAGCA
<i>Htr1a</i>	上游: GCAATTAGGTGATGGCCCGA 下游: AATGGAGAGGCATGTCGGTG
<i>Esr1</i>	上游: CGAGGTGTACGTGGACAACA 下游: AAAGCCCCCAGACTATTGGC
<i>Esr2</i>	上游: TGAACACAGTGTTCCCGGC 下游: GATGATTGGCAATGGGTCGC
<i>β-actin</i>	上游: AGATGACCCAGATCATGTTTGAGA 下游: GCATGAGGGAGCGCGTAA

表 2 流动相洗脱梯度

Table 2 Mobile phase elution gradient program

洗脱时间/min	流动相 A/%
0.0~0.5	99~80
0.5~2.5	80~40
2.5~4.0	40~34
4.0~5.0	34~20
5.0~7.5	20~14
7.5~8.0	14~1
8.0~9.0	1

剂气温度 500 °C, 脱溶剂气体积流量 1 000 L·h⁻¹, 锥孔气体积流量 50 L·h⁻¹; ESI⁺与 ESI⁻模式下毛细管电压分别为 2.0 kV 和 1.5 kV, 锥孔电压分别为 60、70 V, 碰撞能量在 15~45 V 调节。

2.9.3 代谢组学数据处理与通路分析 根据前期药效学结果, 选取对照组、模型组及二仙汤高剂量组进行血清非靶向代谢组学分析。原始数据采用 Progenesis QI 软件基线校正、峰对齐、峰提取和归一化处理, 质量偏差设定为 ±5×10⁻⁶, 并剔除响应值低于 2 000 的离子峰。所得数据导入 EZinfo 2.0 软件 (Waters MassLynx v4.1 平台), 经过均值中心化和 Pareto 标准化后进行主成分分析 (PCA)、偏最小二乘回归分析 (PLS-DA) 和正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA), 以变量投影重要性 (VIP) 值 > 1 且 P<0.05 为标准筛选差异代谢物, 并结合精确相对分子质量、二级质谱碎片信息及人体代谢组数据库 (HMDB)、METLIN 数据库和相关文献进行代谢物鉴定。差异代谢物进一步导入 MetaboAnalyst 数据库进行通路富集分析, 以 Impact>0.1 并结合 P

值筛选显著相关代谢通路。

2.10 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析, GraphPad Prism 软件绘图。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 若方差齐则采用 LSD 法进行事后检验。

3 结果

3.1 阴道涂片结果

对照组大鼠阴道涂片呈规律性动情周期变化, 可见有核上皮细胞、无核角化上皮细胞及白细胞比例随周期变化而改变。造模后, 模型大鼠动情周期消失, 涂片以大量白细胞为主, 少见或不见角化上皮细胞, 呈持续动情间期状态, 提示生殖内分泌功能明显衰退, 围绝经期模型建立成功, 见图 1。

3.2 二仙汤对 PMD 大鼠的一般状态及抑郁样行为的影响

与对照组比较, 模型组大鼠治疗后体质量、体质量增长率, 造模后、给药结束后摄食量均显著增加 ($P<0.001$)。给药后, 与模型组比较, 二仙汤各

剂量组及阳性对照组上述指标均显著改善 ($P<0.05$ 、 0.01), 其中二仙汤高剂量组和 E_2 组作用较明显, 结果见表 3。

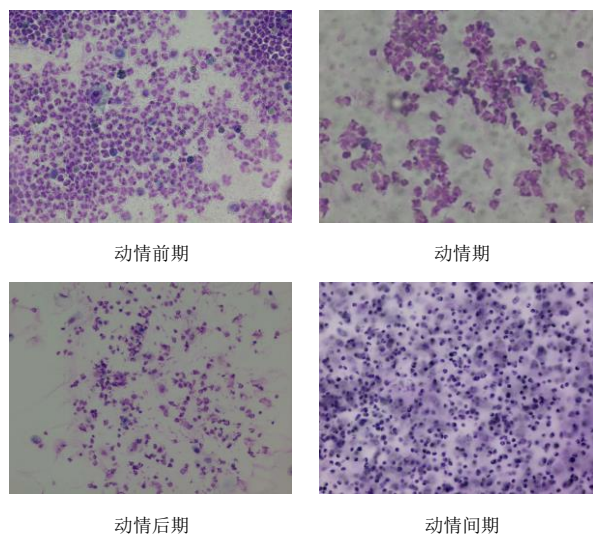


图 1 大鼠动情周期各阶段阴道涂片细胞学形态 (瑞氏染色, $\times 400$)

Fig. 1 Cytomorphological characteristics of vaginal smears at different stages of the estrous cycle in rats (Wright staining, $\times 400$)

表 3 各组大鼠体质量、体质量增长率及饮食量的变化 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 3 Changes in body weight, body weight gain rate and food intake across groups ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	体质量/g		体质量增长率/%	摄食量/g		
		造模 21 d 后	结束给药后		适应性饲养后	造模 21 d 后	结束给药后
对照	—	229.40±3.20	300.38±3.85	30.94±2.15	22.41±1.18	23.54±1.07	24.13±1.25
模型	—	228.60±3.50	318.50±3.34***	39.33±2.95***	22.13±1.46	28.57±1.78***	31.24±2.06***
二仙汤	9.6	230.40±4.10	309.63±2.88***#	34.39±3.85***#	22.58±1.12	28.14±1.35***	25.42±1.19##
	4.8	230.10±3.80	307.75±3.54***#	33.75±3.50***#	22.34±1.27	28.32±1.58***	26.17±1.46##
	2.4	230.10±3.90	307.00±2.39***#	33.42±3.75***#	22.52±1.38	28.46±1.67***	27.53±1.74#
FM	0.002 2	231.20±3.40	305.63±3.02***#	32.19±2.10***#	22.25±1.16	27.94±1.48***	25.76±1.35##
E ₂	0.000 1	231.50±3.60	307.63±2.77***#	32.89±2.80***#	22.46±1.25	28.07±1.37***	25.18±1.14##

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$ 。

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group.

行为学结果显示, 与对照组比较, 模型组大鼠糖水偏好率显著下降 ($P<0.001$), 强迫游泳不动时间、Morris 水迷宫逃避潜伏期显著延长 ($P<0.01$), 空间探索目标象限停留时间显著减少 ($P<0.01$)。与模型组比较, 二仙汤高剂量组、FM 组和 E_2 组大鼠糖水偏好率升高 ($P<0.01$), 不动时间和逃避潜伏期缩短 ($P<0.01$), 目标象限停留时间显著增加 ($P<0.01$), 见表 4、5 和图 2。结果提示, 二仙汤可改善 PMD 大鼠抑郁样行为及学习记忆损伤, 且

高剂量作用更为明显。

3.3 二仙汤对 PMD 大鼠海马组织病理形态的影响

对照组大鼠海马区组织结构完整, 神经元排列紧密, 胞体饱满, 核仁清晰。模型组海马区神经元排列紊乱, 间隙增宽, 并可见细胞皱缩、核固缩深染等损伤表现。与模型组比较, 二仙汤各剂量组海马区病理损伤均有不同程度改善, 其中高剂量组神经元排列和细胞形态改善最明显。FM 组和 E_2 组亦表现出相似保护作用, 见图 3。

表 4 各组大鼠糖水偏好率及强迫游泳不动时间($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 4 Sucrose preference rates and forced swimming immobility time across groups ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	糖水偏好率/%			强迫游泳 不动时间/s
		适应期基线	造模 21 d	实验结束	
对照	—	82.41±3.18	83.05±3.42	82.63±3.25	72.25±25.84
模型	—	81.75±3.56	54.21±4.63***	53.14±4.25***	164.50±20.98**
二仙汤	9.6	82.16±3.24	55.18±4.15***	78.45±3.92##	74.25±12.91##
	4.8	81.94±3.82	54.82±4.38***	71.36±4.16##	99.12±16.05##
	2.4	82.52±3.41	55.46±4.07***	64.82±4.54#	133.25±18.73##
FM	0.002 2	81.85±3.15	54.65±4.22***	79.18±3.65##	91.75±12.31##
E ₂	0.000 1	82.38±3.67	55.03±4.41***	75.84±4.08##	82.12±12.35##

与对照组比较: ** $P<0.01$ *** $P<0.001$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$ 。

** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group.

表 5 各组大鼠 Morris 水迷宫行为学指标 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 5 Morris water maze performance indices across groups ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	Day1 潜伏期/s	Day5 潜伏期/s	目标象限停留时间/%
对照	—	50.21±4.57	10.71±1.80	47.53±5.47
模型	—	49.16±5.04	18.43±2.07**	24.22±6.67**
二仙汤	9.6	49.10±6.53	13.14±1.35##	38.91±6.07##
	4.8	53.41±3.85	16.00±1.41#	32.04±3.80#
	2.4	51.25±5.83	15.71±1.50#	27.48±4.51
FM	0.002 2	47.25±5.49	12.29±1.50##	41.85±3.66##
E ₂	0.000 1	48.99±3.97	12.29±1.50##	40.40±3.06##

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$ 。

** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group.

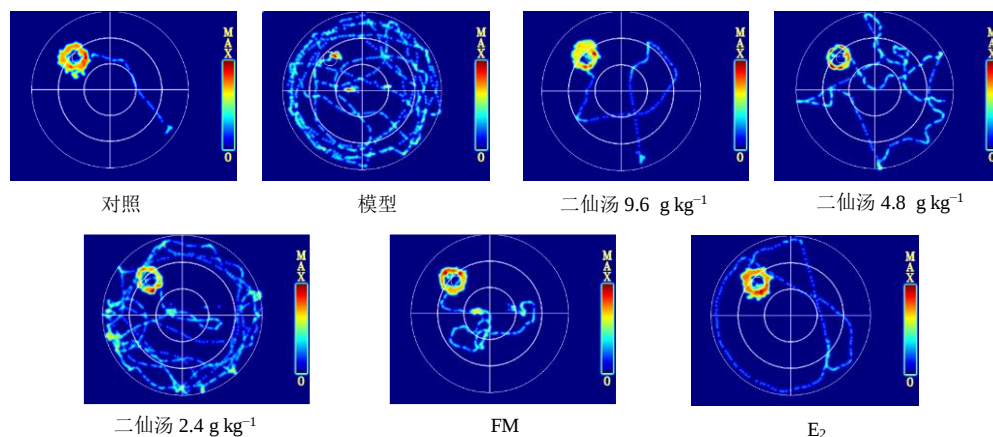


图 2 各组大鼠 MWM 游泳热成像

Fig. 2 Thermal imaging of rats swimming in MWM

3.4 二仙汤对 PMD 大鼠血清性激素水平和神经内分泌相关指标的影响

3.4.1 二仙汤对 PMD 大鼠血清 E₂、LH、FSH 水平的影响 与对照组比较,模型组大鼠血清 E₂ 水平显著降低, LH 和 FSH 水平显著升高 ($P<0.001$),提

示模型大鼠呈现“低雌激素、高促性腺激素”状态。与模型组比较, E₂ 组上述指标明显恢复; 二仙汤高、中剂量组可升高 E₂ 水平并降低 LH 和 FSH 水平 ($P<0.01$), 且呈一定剂量相关性; FM 对上述指标无明显影响, 见表 6。

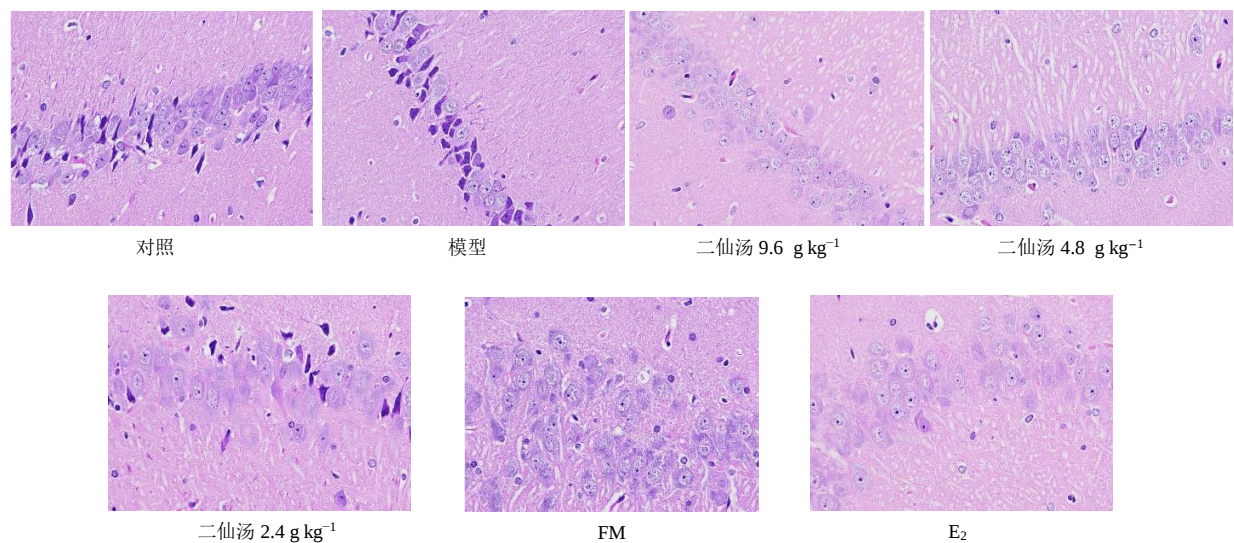


图 3 各组大鼠脑组织海马区病理形态学改变 (HE 染色, ×400)

Fig. 3 Pathomorphological changes in hippocampal region of brain tissues across groups (H&E Staining, ×400)

表 6 各组大鼠血清 E₂、LH、FSH 含量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 6 Serum E₂, LH, and FSH levels across groups ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	E ₂ /(pg·mL ⁻¹)	LH/(mIU·mL ⁻¹)	FSH/(mIU·mL ⁻¹)
对照	—	62.45±6.18	13.15±2.45	21.87±3.52
模型	—	24.18±4.92***	33.24±4.67***	52.68±7.46***
二仙汤	9.6	51.68±5.13##	19.45±3.12##	31.22±4.58##
	4.8	42.15±5.40#	24.10±3.84#	38.54±5.23#
	2.4	30.82±4.06	28.56±4.15	46.16±6.30
FM	0.002 2	27.16±4.25	31.82±3.97	50.45±5.82
E ₂	0.000 1	59.34±5.81###	15.12±2.84###	23.56±3.84###

与对照组比较: *** $P<0.001$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$ ### $P<0.001$ 。
*** $P<0.001$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ ### $P<0.001$ vs model group.

3.4.2 二仙汤对 PMD 大鼠 *Htr1a*、*BDNF/TrkB*、*Esr1*、*Esr2* 相关 mRNA 表达的影响 与对照组比较, 模型组大鼠海马组织 *Htr1a*、*BDNF* 及 *TrkB* mRNA 表达显著下降, 子宫组织 *Esr1* 和

表 7 各组大鼠靶基因 mRNA 相对表达量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 7 Relative mRNA expression levels of target genes across groups ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	海马中 mRNA 相对表达量			子宫中 mRNA 相对表达量	
		<i>Htr1a</i>	<i>BDNF</i>	<i>TrkB</i>	<i>Esr1</i>	<i>Esr2</i>
对照	—	1.00±0.03	1.00±0.08	1.00±0.05	1.00±0.05	1.00±0.07
模型	—	0.45±0.07**	0.38±0.04**	0.50±0.03**	0.60±0.06**	0.46±0.10**
二仙汤	9.6	0.85±0.07##	1.03±0.07##	1.13±0.09##	0.92±0.08##	1.01±0.13##
	4.8	0.74±0.06##	0.83±0.02##	0.89±0.07##	0.79±0.04##	0.81±0.09##
	2.4	0.62±0.09##	0.58±0.04##	0.78±0.06##	0.70±0.04#	0.71±0.03##
FM	0.002 2	0.98±0.03##	0.98±0.03##	0.95±0.03##	0.72±0.05	0.58±0.05
E ₂	0.000 1	0.73±0.06##	0.66±0.06##	0.78±0.06##	0.99±0.02##	1.01±0.03##

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$ 。
** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group.

Esr2 mRNA 表达亦显著下调 ($P < 0.01$)。与模型组比较, FM 上调海马组织 *Htr1a*、*BDNF* 及 *TrkB* mRNA 表达 ($P < 0.01$), E_2 和二仙汤各剂量对上述 mRNA 表达均有不同程度回调作用 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且二仙汤作用呈剂量相关性。结果提示, 二仙汤可能通过调节中枢神经功能相关基因和外周雌激素受体表达改善 PMD 相关异常。

3.5 二仙汤高剂量对 PMD 大鼠的血清非靶向代谢组学分析

3.5.1 多元统计分析 基于前期药效学结果, 选取对照组、模型组和二仙汤高剂量组进行血清非靶向代谢组学分析。PCA 结果显示, 模型组血清代谢轮廓明显偏离对照组, 二仙汤高剂量组呈向对照组回归趋势, 见图 4。PLS-DA 结果进一步显示 (图 5),

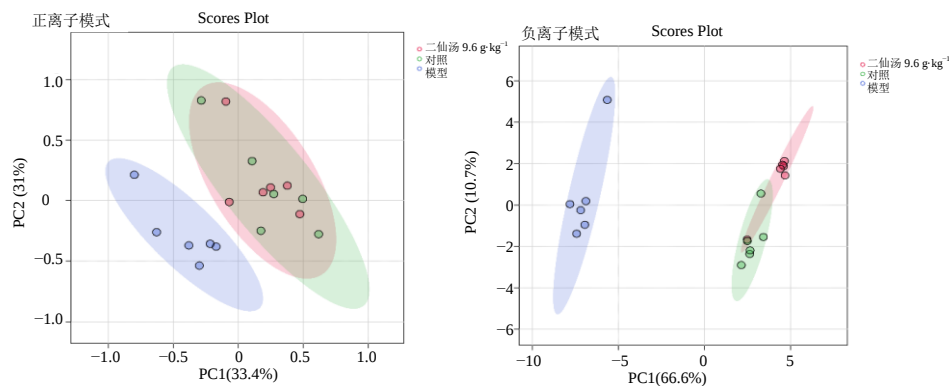


图 4 血清样本的 PCA 得分图

Fig. 4 PCA score plots of serum samples

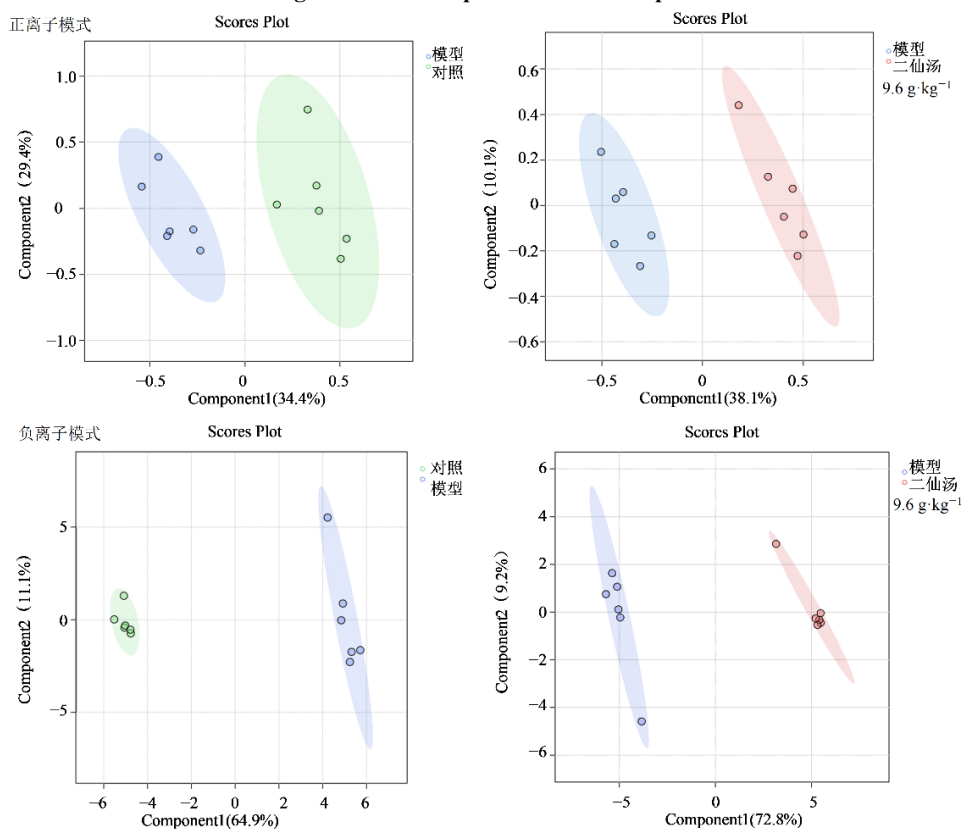


图 5 血清样本的 PLS-DA 得分图

Fig. 5 PLS-DA score plots of serum samples

各组样本分离趋势较明显, 二仙汤高剂量组与模型组区分清晰。

OPLS-DA 分析显示, 正、负离子模式下各组样本均呈明显聚类分布, 组间分离清晰。置换检验提示模

型稳定,未见明显过拟合。对照组与模型组比较时,正离子模式下 $R^2_Y=0.987$ 、 $Q^2=0.720$,负离子模式下 $R^2_Y=0.978$ 、 $Q^2=0.965$,见图 6。上述结果表明,各组间血清代谢特征存在显著差异,可用于后续差异代谢物筛选。

3.5.2 血清差异代谢物筛选与鉴定分析 以 $VIP>1$ 且 $P<0.05$ 为标准,对照组与模型组间共筛选出 37 个差异代谢物 ($P<0.05$ 、 0.01);二仙汤高剂量干预后,异常代谢物呈向对照组回调趋势 ($P<0.05$ 、 0.01)。其中,模型组升高的 1-甲基-L-组氨酸、8-羟基腺嘌呤及多种磷脂酰胆碱等 19 个代谢物显著下降;模型组降低的亚油酸、牛磺酸、L-苯

丙氨酸、磷脂酰乙醇胺等 18 个代谢物显著升高,见表 8。

层次聚类热图显示,差异代谢物能较好区分对照组、模型组和二仙汤高剂量组,且二仙汤高剂量组整体代谢特征趋近对照组,见图 7-A。结果提示,二仙汤可改善 PMD 大鼠血清代谢紊乱。

3.5.3 血清代谢通路富集分析 将 37 个差异代谢物导入 MetaboAnalyst6.0 进行通路分析。结果显示,差异代谢物主要富集于亚油酸代谢、 α -亚麻酸代谢、牛磺酸与亚牛磺酸代谢及甘油磷脂代谢等通路,见图 7-B。提示二仙汤改善 PMD 的作用可能与脂质代谢、氨基酸代谢及神经内分泌相关代谢调节有关。

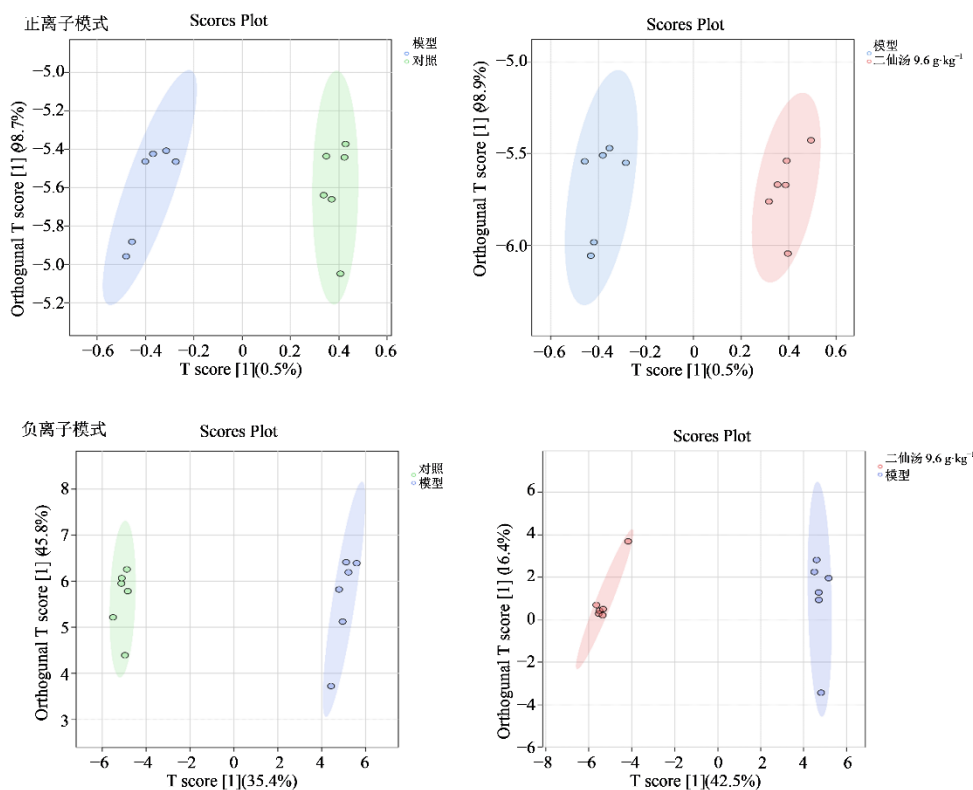


图 6 血清样本的 OPLS-DA 得分图

Fig. 6 OPLS-DA score plots of serum samples

4 讨论

PMD 的发生发展与卵巢功能减退、性激素波动、HPO 轴紊乱及中枢神经功能异常密切相关^[17-20]。本研究采用 OVX 联合 CUMS 建立 PMD 大鼠模型。结果显示,模型大鼠动情周期规律消失并持续处于动情间期,同时出现糖水偏好率降低、强迫游泳不动时间延长及空间学习记忆能力下降等表现,提示该模型较好模拟了 PMD 的内分泌紊乱和抑郁样行为特征。

本研究设置 FM 组和 E₂ 组作为阳性对照,分别用于评价抗抑郁效应和内分泌调节作用。FM 调节单胺类神经递质改善抑郁、情绪低落及躯体化症状^[21],可作为评价二仙汤抗抑郁效应的阳性对照。E₂ 作为内源性雌激素的代表,主要作用于 HPO 轴及雌激素靶组织,能够改善低雌激素状态及 HPO 轴功能紊乱^[22],故选作内分泌调节方向的阳性对照。

性激素紊乱是 PMD 的重要病理基础。围绝经期卵巢储备功能下降可导致 E₂ 水平降低及 LH、

表 8 大鼠血清潜在生物标志物信息
Table 8 Putative serum biomarker profiles in rats

序号	HMDB	化学名称	t_R / min	分子式	离子 源	模型 对照	vs 二仙汤 模型
1	HMDB0000251	taurine(牛磺酸)	0.67	C ₂ H ₇ NO ₃ S	ESI ⁻	↓*	↑ [#]
2	HMDB0000700	hydroxypropionic acid(羟基丙酸)	1.11	C ₃ H ₆ O ₃	ESI ⁻	↓*	↑ [#]
3	HMDB0000159	L-phenylalanine(L-苯丙氨酸)	1.40	C ₉ H ₁₁ NO ₂	ESI ⁻	↓**	↑ ^{##}
4	HMDB0006355	D-glucurono-6, 3-lactone(葡萄糖内酯)	1.83	C ₆ H ₈ O ₆	ESI ⁻	↓*	↑ [#]
5	HMDB0006366	3-carbamoyl-2-phenylpropionaldehyde[3-(氨基甲酰氧基)-2-苯基丙醛]	1.93	C ₁₀ H ₁₁ NO ₃	ESI ⁻	↓**	↑ ^{##}
6	HMDB0013221	β-cortolone(β-皮甾酮四醇)	2.69	C ₂₁ H ₃₄ O ₅	ESI ⁻	↓*	↑ [#]
7	HMDB0013287	Nε, Nε-dimethyllysine(Nε, Nε-二甲基赖氨酸)	2.79	C ₈ H ₁₈ N ₂ O ₂	ESI ⁻	↓*	↑ [#]
8	HMDB0000903	tetrahydrocortisone(四氢可的松)	2.94	C ₂₁ H ₃₂ O ₅	ESI ⁻	↓*	↑ [#]
9	HMDB0004666	MG[0 : 0/20 : 4(5Z,8Z,11Z,14Z)/0 : 0](2-花生四烯酰甘油)	3.11	C ₂₃ H ₃₈ O ₄	ESI ⁻	↓*	↑ [#]
10	HMDB0041997	pregnanetriolone(11-酮孕烷三醇)	3.24	C ₂₁ H ₃₄ O ₄	ESI ⁻	↓*	↑ [#]
11	HMDB0004692	12(R)-HPETE[12(R)-氢过氧二十碳四烯酸]	3.37	C ₂₀ H ₃₂ O ₄	ESI ⁻	↓*	↑ [#]
12	HMDB0004063	metanephrine(甲氧基肾上腺素)	3.40	C ₁₀ H ₁₅ NO ₃	ESI ⁻	↓**	↑ ^{##}
13	HMDB0001410	2-amino-4-oxo-6-(1',2'-dioxopropyl)-7,8-dihydroxypteridine[1-(2-氨基-7,8-二羟基-4-氧代-3,4,7,8-四氢蝶啶-6-基)丙烷-1',2'-二酮]	3.53	C ₉ H ₉ N ₅ O ₅	ESI ⁻	↓*	↑ [#]
14	HMDB0000896	taurodeoxycholic acid(牛磺脱氧胆酸)	4.13	C ₂₆ H ₄₅ NO ₆ S	ESI ⁻	↓*	↑ [#]
15	HMDB0010404	lysoPC[22 : 6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/0 : 0](溶血磷脂酰胆碱)	4.55	C ₃₀ H ₅₀ NO ₇ P	ESI ⁻	↓**	↑ ^{##}
16	HMDB0000001	1-methylhistidine(1-甲基-L-组氨酸)	5.30	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₂	ESI ⁻	↑*	↓ [#]
17	HMDB0000673	linoleic acid(亚油酸)	7.62	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	ESI ⁻	↓**	↑ ^{##}
18	HMDB0009611	PE[22 : 4(7Z,10Z,13Z,16Z)/P-18 : 1(11Z)](磷脂酰乙醇胺)	7.86	C ₄₅ H ₈₀ NO ₇ P	ESI ⁻	↓*	↑ [#]
19	HMDB0012150	2-keto-6-acetamidocaproate(6-乙酰氨基-2-氧代己酸根)	1.49	C ₈ H ₁₃ NO ₄	ESI ⁺	↑*	↓ [#]
20	HMDB0012096	SM(d18 : 1/12 : 0)(鞘磷脂)	2.03	C ₃₅ H ₇₁ N ₂ O ₆ P	ESI ⁺	↑*	↓ [#]
21	HMDB0000514	allochenodeoxycholic acid(别鹅去氧胆酸)	2.51	C ₂₄ H ₄₀ O ₄	ESI ⁺	↑**	↓ ^{##}
22	HMDB0008823	PE(14 : 0/15 : 0)(磷脂酰乙醇胺)	2.59	C ₃₄ H ₆₈ NO ₈ P	ESI ⁺	↑**	↓ ^{##}
23	HMDB0009549	PE[22 : 2(13Z,16Z)/15 : 0](磷脂酰乙醇胺)	2.66	C ₄₂ H ₈₀ NO ₈ P	ESI ⁺	↑**	↓ ^{##}
24	HMDB0000542	8-hydroxyadenine(8-羟基腺嘌呤)	4.39	C ₅ H ₅ N ₅ O	ESI ⁺	↑*	↓ [#]
25	HMDB0012104	SM[d18 : 1/22 : 1(13Z)](鞘磷脂)	5.79	C ₄₅ H ₈₉ N ₂ O ₆ P	ESI ⁺	↑*	↓ [#]
26	HMDB0013209	alanyltryptophan(丙氨酸色氨酸)	5.86	C ₁₄ H ₁₇ N ₃ O ₃	ESI ⁺	↑**	↓ ^{##}
27	HMDB0013122	lysoPC(p-18 : 0/0 : 0)(溶血磷脂酰胆碱)	6.04	C ₂₆ H ₅₄ NO ₆ P	ESI ⁺	↑*	↓ [#]
28	HMDB0011114	OPC6-CoA(OPC6-辅酶 A)	6.06	C ₃₇ H ₆₀ N ₇ O ₁₈ P ₃ S	ESI ⁺	↑*	↓ [#]
29	HMDB0006770	5β-dihydrotestosterone(5β-二氢睾酮)	7.27	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	ESI ⁺	↓*	↑ [#]
30	HMDB0007894	PC[14 : 0/24 : 1(15Z)](磷脂酰胆碱)	7.44	C ₄₆ H ₉₀ NO ₈ P	ESI ⁺	↑*	↓ [#]
31	HMDB0008297	PC[20 : 1(11Z)/15 : 0](磷脂酰胆碱)	7.52	C ₄₃ H ₈₄ NO ₈ P	ESI ⁺	↑*	↓ [#]
32	HMDB0010368	CE(18 : 0)(胆固醇硬脂酸酯)	7.58	C ₄₅ H ₈₀ O ₂	ESI ⁺	↑*	↓ [#]
33	HMDB0008489	PC[20 : 4(8Z,11Z,14Z,17Z)/P-18 : 0](磷脂酰胆碱)	7.60	C ₄₆ H ₈₄ NO ₇ P	ESI ⁺	↑**	↓ ^{##}
34	HMDB0009805	PI(18 : 0/16 : 0)(磷脂酰肌醇)	8.24	C ₄₃ H ₈₃ O ₁₃ P	ESI ⁺	↑*	↓ [#]
35	HMDB0009013	PE(18 : 0/24 : 0)(磷脂酰乙醇胺)	8.45	C ₄₇ H ₉₄ NO ₈ P	ESI ⁺	↑*	↓ [#]
36	HMDB0012091	SM(d18 : 0/22 : 0)(鞘磷脂)	8.65	C ₄₅ H ₉₃ N ₂ O ₆ P	ESI ⁺	↑*	↓ [#]
37	HMDB0007996	PC[16 : 0/P-18 : 1(11Z)](磷脂酰胆碱)	8.77	C ₄₂ H ₈₂ NO ₇ P	ESI ⁺	↑**	↓ ^{##}

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。差异代谢物按离子模式分组, 同一离子模式内按保留时间由小到大排序。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group; Differential metabolites were grouped by ion mode and sorted within each ion mode according to increasing retention time.

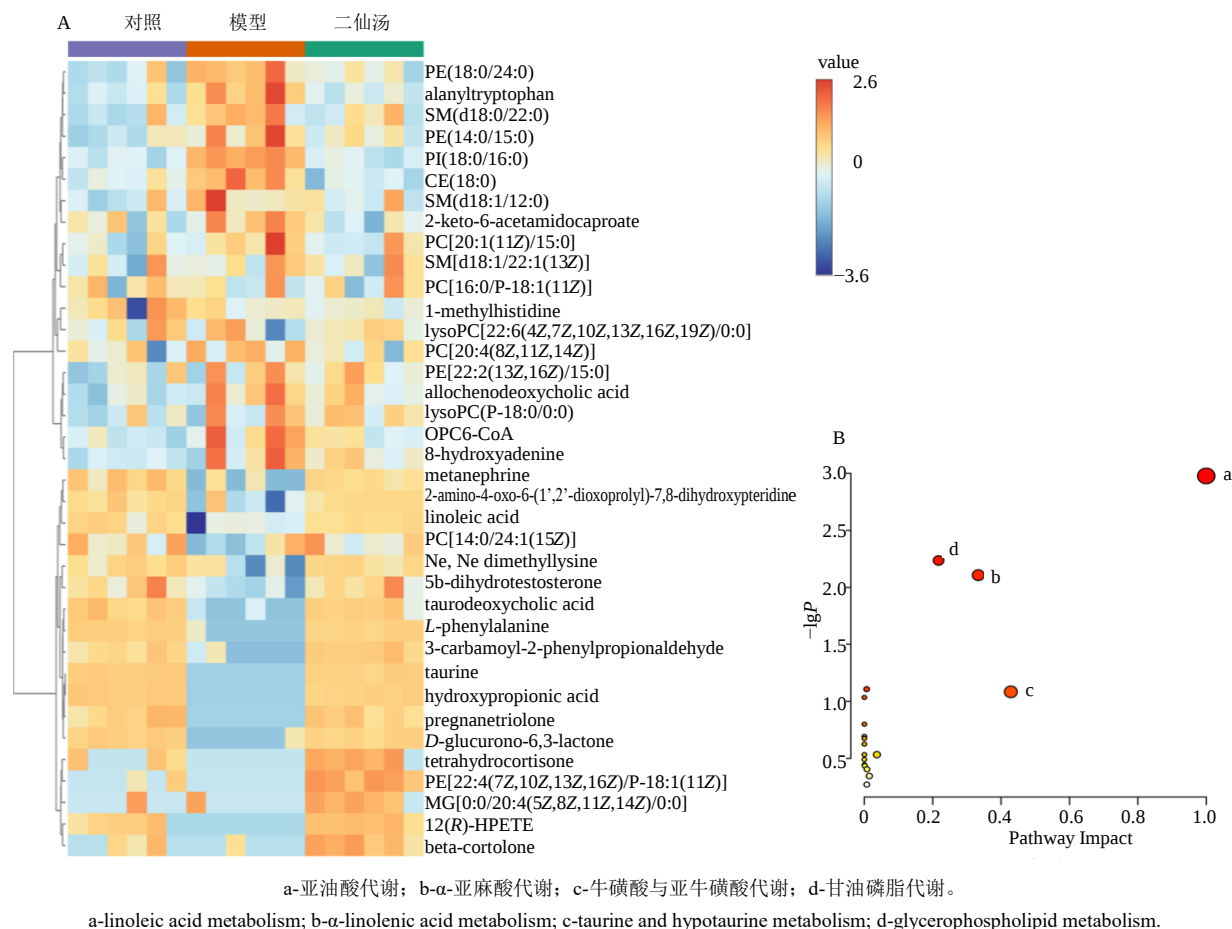


图 7 血清差异代谢物热图 (A) 及代谢通路图 (B)

Fig. 7 Heatmap (A) and pathway analysis (B) of differential serum metabolites

FSH 代偿性升高, 形成典型的“低雌激素、高促性腺激素”状态^[3, 23-24]。Esr1 和 Esr2 分别编码雌激素受体 ERα 和 ERβ, 是介导 E₂ 生物学效应的重要分子基础。其中, ERα 主要参与子宫等外周生殖靶器官的雌激素反应和性腺轴反馈调节, ERβ 则与情绪调控、海马神经可塑性及 5-羟色胺 (5-HT) /BDNF 相关信号密切相关^[3, 24-25]。本研究中模型组大鼠血清 E₂ 水平下降, LH 和 FSH 升高, 并伴随子宫组织 Esr1 和 Esr2 mRNA 表达下调, 提示模型大鼠存在循环性激素水平异常及雌激素靶组织反应性降低。二仙汤干预后, 尤其高、中剂量组可升高 E₂ 水平、降低 LH 和 FSH 水平, 并上调子宫 Esr1 和 Esr2 mRNA 表达, 说明其可能通过改善 HPO 轴功能和增强雌激素受体介导的靶组织响应发挥作用。FM 对上述指标无明显改善, 提示单纯抗抑郁治疗难以全面纠正 PMD 相关内分泌异常。

海马是调控情绪和认知功能的重要脑区, 也是低雌激素和慢性应激共同作用下易受损的关键部

位。5-HT 系统功能异常及 BDNF/TrkB 信号通路受损被认为是抑郁发生的重要机制^[26-27]。雌激素缺乏可抑制神经递质合成与释放, 降低神经营养支持, 并加重海马神经元损伤^[28]。本研究发现, 模型组海马组织 Htr1a、BDNF 及 TrkB mRNA 表达显著下降, 而二仙汤可不同程度上调上述指标, 并改善海马病理损伤。该结果提示, 二仙汤可能通过调节 5-HT1A 受体相关信号、激活 BDNF/TrkB 通路、改善海马神经可塑性, 从而发挥抗抑郁和改善认知功能的作用。

非靶向代谢组学结果显示, PMD 模型大鼠血清代谢谱发生明显改变, 二仙汤高剂量干预后整体代谢特征趋向对照组。差异代谢物主要涉及氨基酸代谢、氧化应激、脂肪酸代谢、甘油磷脂代谢及鞘脂代谢等过程。模型组 8-羟基腺嘌呤升高, 提示氧化损伤增强; 二仙汤干预后其水平下降, 提示其可能具有减轻氧化应激损伤的作用。牛磺酸在模型组降低而经二仙汤干预后升高, 说明牛磺酸和亚牛磺

酸代谢可能参与二仙汤改善 PMD 的过程。牛磺酸具有抗氧化、膜稳定和神经保护作用,其水平恢复可能与神经功能改善有关^[29-30]。

脂质代谢异常是本研究代谢组学结果中的另一重要特征。通路富集分析显示,差异代谢物主要富集于亚油酸代谢、 α -亚麻酸代谢、甘油磷脂代谢以及牛磺酸和亚牛磺酸代谢。亚油酸和 α -亚麻酸这类多不饱和脂肪酸是维持神经细胞膜流动性、突触传递和炎症反应平衡的重要物质基础^[31-32]; PE、PC、LysoPC、PI 及 SM 等膜脂分子异常,则提示 PMD 模型可能存在膜脂重构和脂质信号稳态失衡^[33-35]。二仙汤对上述脂质分子的回调,提示其可能通过改善膜脂组成、稳定神经细胞膜及调节脂质代谢稳态发挥干预作用。值得注意的是,二仙汤高剂量可回调部分 PE 相关分子中的异常变化,提示其作用可能涉及膜磷脂组成及膜脂稳态的整体恢复,而非单一代谢物水平改变。已有研究显示,抑郁症患者脑脊液乙醇胺水平降低,并可随症状改善而回升^[36];乙醇胺是 Kennedy 通路合成 PE 的重要前体^[37]。结合本研究结果推测,乙醇胺相关甘油磷脂代谢可能参与 PMD 的病理过程及二仙汤的干预效应。但由于本研究检测对象为血清代谢物,且多数代谢物未经对照品验证,相关机制仍需靶向代谢组学和脑组织验证进一步确认。

从中医理论看, PMD 多与肾气渐衰、天癸将竭、冲任失调及肝郁神伤有关,病机特点为本虚标实、虚实夹杂^[38-39]。二仙汤具有温肾益精、调补冲任、平衡阴阳之功,契合围绝经期“肾虚为本、阴阳失衡”的基本病机。本研究从行为学、性激素、雌激素受体、海马神经保护及血清代谢组学等层面证实,二仙汤对 PMD 模型大鼠具有多环节调节作用,体现了中药复方多成分、多靶点和整体调节的特点。

二仙汤可改善 PMD 大鼠抑郁样行为、认知功能障碍、性激素紊乱和海马神经损伤,其作用机制可能与调节 HPO 轴功能、增强雌激素受体反应性、激活 5-HT_{1A}/BDNF/TrkB 相关神经保护信号,以及重塑脂质代谢和牛磺酸相关代谢稳态有关。本研究仍存在一定局限,如未能进一步开展 HPLC/UPLC 标志性成分定量分析和血清代谢物尚未进行靶向验证,关键通路与脑组织代谢改变之间的对应关系仍需进一步明确。后续研究可建立更完善的二仙汤质量控制标准并结合靶向代谢组学、蛋白表达检测

和通路干预实验,进一步阐明二仙汤防治 PMD 的物质基础和作用机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wang L, Liu Y Y, Qi X Y, et al. Perimenopausal depression: Etiology, clinical characteristics, and the role of traditional Chinese medicine [J]. *Int J Psychiatry Clin Pract*, 2025, 29(3): 110-116.
- [2] Liang G F, Kow A S F, Yusof R, et al. Menopause-associated depression: Impact of oxidative stress and neuroinflammation on the central nervous system-a review [J]. *Biomedicines*, 2024, 12(1): 184.
- [3] Han Y P, Gu S M, Li Y M, et al. Neuroendocrine pathogenesis of perimenopausal depression [J]. *Front Psychiatry*, 2023, 14: 1162501.
- [4] Tseng P T, Chiu H J, Suen M W, et al. Pharmacological interventions and hormonal therapies for depressive symptoms in peri- and post-menopausal women: A network meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Psychiatry Res*, 2023, 326: 115316.
- [5] 朱珂漫, 任路, 冯诗雨, 等. 基于三焦气化理论探讨围绝经期抑郁症的病机及辨治 [J]. *辽宁中医杂志*, 2026, 53(3): 55-57.
Zhu K M, Ren L, Feng S Y, et al. Mechanism and treatment thought of perimenopausal depression based on theory of Sanjiao qi transformation [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2026, 53(3): 55-57.
- [6] 王宇莹, 王莹威, 何卓航. 二仙汤治疗围绝经期高血压伴抑郁的研究进展 [J]. *四川中医*, 2025, 43(7): 190-194.
Wang Y Y, Wang Y W, He Z H. Research progress of Erxian Decoction in the treatment of perimenopausal hypertension with depression [J]. *J Sichuan Tradit Chin Med*, 2025, 43(7): 190-194.
- [7] Yu Y, Yu T Y, Liu K L, et al. Perimenopausal depression: Targeting inflammation and oxidative stress (Review) [J]. *Mol Med Rep*, 2025, 31(6): 1-10.
- [8] Zeng N X, Li H, Su M Y, et al. Therapeutic potential of Erxian decoction and its special chemical markers in depression: A review of clinical and preclinical studies [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1377079.
- [9] Chen G C, Hu S J, Yan Y Y, et al. Er-Xian Decoction: A comprehensive review on chemical constituents, quality control, pharmacokinetics, pharmacological properties and clinical applications [J]. *Phytomedicine*, 2026, 157: 158298.

- [10] Wong K Y, Zhou L P, Yu W X, et al. Water extract of Er-Xian decoction selectively exerts estrogenic activities and interacts with SERMs in estrogen-sensitive tissues [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 275: 114096.
- [11] 年华, 张巧艳, 郑汉臣, 等. 二仙汤中总黄酮和淫羊藿苷的测定 [J]. *中草药*, 2006, 37(2): 221-222.
- Nian H, Zhang Q Y, Zheng H C, et al. Determination of total flavonoids and icariin in Erxian decoction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2006, 37(2): 221-222.
- [12] 孙云波, 张创峰. 连花清瘟胶囊中总黄酮、总皂苷和总多糖含量测定方法研究 [J]. *中国医药导报*, 2023, 20(15): 115-117, 122.
- Sun Y B, Zhang C F. Study on the determination method for total flavonoids, saponins, polysaccharides of Lianhua Qingwen Capsules [J]. *China Med Her*, 2023, 20(15): 115-117, 122.
- [13] 高占, 高明周, 高冬梅, 等. 基于数据挖掘的围绝经期抑郁症动物模型研究 [J]. *中国实验动物学报*, 2022, 30(7): 887-896.
- Gao Z, Gao M Z, Gao D M, et al. Animal model of perimenopausal depressive disorder based on data mining [J]. *Acta Lab Animalis Sci Sin*, 2022, 30(7): 887-896.
- [14] Koshkina A, Dudnichenko T, Baranenko D, et al. Effects of vitamin D3 in long-term ovariectomized rats subjected to chronic unpredictable mild stress: BDNF, NT-3, and NT-4 implications [J]. *Nutrients*, 2019, 11(8): 1726.
- [15] Meng F T, Ni R J, Zhang Z, et al. Inhibition of oestrogen biosynthesis induces mild anxiety in C57BL/6J ovariectomized female mice [J]. *Neurosci Bull*, 2011, 27(4): 241.
- [16] Belzung C, Lemoine M. Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: Focus on anxiety disorders and depression [J]. *Biol Mood Anxiety Disord*, 2011, 1(1): 9.
- [17] Hantsoo L, Jagodnik K M, Novick A M, et al. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in depression across the female reproductive lifecycle: Current knowledge and future directions [J]. *Front Endocrinol*, 2023, 14: 1295261.
- [18] Antonelli A, Giannini A, Chedraui P, et al. Mood disorders and hormonal status across women's life: A narrative review [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2022, 38(12): 1019-1027.
- [19] Gao Q, Sun W, Wang Y R, et al. Role of allopregnanolone-mediated γ -aminobutyric acid A receptor sensitivity in the pathogenesis of premenstrual dysphoric disorder: Toward precise targets for translational medicine and drug development [J]. *Front Psychiatry*, 2023, 14: 1140796.
- [20] Song Q L, Huang W M, Ye W B, et al. Neuroprotective effects of estrogen through BDNF-transient receptor potential channels 6 signaling pathway in the hippocampus in a rat model of perimenopausal depression [J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14: 869274.
- [21] Wang Q Q, Cheng L, Wu B Y, et al. Short-course antidepressant therapy reduces discontinuation syndrome while maintaining treatment efficacy in patients with refractory functional dyspepsia: A randomized controlled trial [J]. *Front Psychiatry*, 2022, 13: 1063722.
- [22] Swales D A, Lozza-Fiacco S, Andersen E H, et al. Hormone sensitivity predicts the beneficial effects of transdermal estradiol on reward-seeking behaviors in perimenopausal women: A randomized controlled trial [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2023, 156: 106339.
- [23] Turek J, Gašior Ł. Estrogen fluctuations during the menopausal transition are a risk factor for depressive disorders [J]. *Pharmacol Rep*, 2023, 75(1): 32-43.
- [24] Herson M, Kulkarni J. Hormonal agents for the treatment of depression associated with the menopause [J]. *Drugs Aging*, 2022, 39(8): 607-618.
- [25] Chhibber A, Woody S K, Karim Rumi M A, et al. Estrogen receptor β deficiency impairs BDNF-5-HT(2A) signaling in the hippocampus of female brain: A possible mechanism for menopausal depression [J]. *Psychoneur Docrinol*, 2017, 82: 107-116.
- [26] Burke T F, Advani T, Adachi M, et al. Sensitivity of hippocampal 5-HT1A receptors to mild stress in BDNF-deficient mice [J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2013, 16(3): 631-645.
- [27] Wang Q, Zhao Y X, Qin X M, et al. Deciphering relationship between depression and microbial molecules based on multi-omics: A case study of Chaigui Granules [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(4): 612-621.
- [28] Thompson S M. Plasticity of synapses and reward circuit function in the genesis and treatment of depression [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2023, 48(1): 90-103.
- [29] Black C N, Bot M, Scheffer P G, et al. Is depression associated with increased oxidative stress A systematic review and Meta-analysis [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2015, 51: 164-175.
- [30] Wu G F, Ren S, Tang R Y, et al. Antidepressant effect of taurine in chronic unpredictable mild stress-induced depressive rats [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 4989.
- [31] Stachowicz K. The role of polyunsaturated fatty acids in neuronal signaling in depression and cognitive processes [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2023, 737: 109555.
- [32] Zhou L, Xiong J Y, Chai Y Q, et al. Possible antidepressant mechanisms of omega-3 polyunsaturated fatty acids acting

- on the central nervous system [J]. *Front Psychiatry*, 2022, 13: 933704.
- [33] Zhang T, Wang Y, Ye C Q. Adaptive regulation of glycerophospholipid metabolism [J]. *J Cell Sci*, 2026, 139(3): jcs264300.
- [34] Xie J, Zhong Q, Wu W T, et al. Multi-omics data reveals the important role of glycerophospholipid metabolism in the crosstalk between gut and brain in depression [J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 93.
- [35] Walther A, Cannistraci C V, Simons K, et al. Lipidomics in major depressive disorder [J]. *Front Psychiatry*, 2018, 9: 459.
- [36] Ogawa S, Hattori K, Hidese S, et al. Ethanolamine as a potential biomarker and therapeutic target for depressive disorder [J]. *Mol Psychiatry*, 2026, 31(9): 4861-4873.
- [37] Gibellini F, Smith T K. The Kennedy pathway: De novo synthesis of phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine [J]. *IUBMB Life*, 2010, 62(6): 414-428.
- [38] Lan J J, Wu C M, Liang W N, et al. An effective treatment of perimenopausal syndrome by combining two traditional prescriptions of Chinese botanical drugs [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 744409.
- [39] 朱亦诚, 沈建军, 王丹, 等. 颈三针联合安帕宁神汤治疗围绝经期失眠的临床疗效及对性激素和神经递质水平的影响 [J]. *药学进展*, 2025, 49(10): 860-866.
- Zhu Y C, Shen J J, Wang D, et al. Clinical efficacy of cervical three-needle therapy combined with anpa ningshen decoction in treating perimenopausal insomnia and its effect on sex hormone and neurotransmitter levels [J]. *Prog Pharm Sci*, 2025, 49(10): 860-866.

[责任编辑 兰新新]