

• 药理与临床 •

经鼻吸入川芎油调控 BDNF/TrkB/CREB 通路及重塑肠道微生物的抗抑郁作用机制

刘昊林, 吴欠欠, 凌霞, 程楠, 李丹, 胡月, 龙宇, 甘青霞*, 李楠*
成都中医药大学药学院/现代中药产业学院, 四川 成都 611137

摘要: 目的 探究川芎油经鼻吸入给药后对慢性不可预知温和应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 抑郁小鼠的影响及作用机制。方法 通过气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 鉴定川芎油主要成分; 构建小鼠 CUMS 抑郁模型, 给予药物干预后, 采用行为学实验、苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 及尼氏染色评价川芎油的药效作用; 采用 ELISA、Western blotting、qRT-PCR 及 16S rRNA 进行机制研究。结果 通过 GC-MS 鉴定川芎油的主要成分为 Z-藁本内酯和洋川芎内酯 A。经鼻吸入川芎油能显著改善 CUMS 小鼠的抑郁样行为 ($P < 0.05$ 、 0.01), 减轻海马神经元损伤, 上调海马组织源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF)/原肌球蛋白受体激酶 B (tyrosine receptor kinase B, TrkB)/环磷酸腺苷效应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 信号通路相关蛋白表达 ($P < 0.05$ 、 0.01), 升高 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT)、去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE) 等单胺类神经递质水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), 抑制下丘脑-垂体-肾上腺 (hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA) 轴的亢进 ($P < 0.05$ 、 0.01), 抑制结肠组织中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等促炎因子水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), 增强屏障功能 ($P < 0.05$ 、 0.01), 显著改善 CUMS 诱导的肠道微生物失调。CREB 特异性抑制剂 666-15 显著逆转川芎油的抗抑郁作用 ($P < 0.01$)。结论 经鼻吸入川芎油通过 BDNF/TrkB/CREB 通路改善肠道功能障碍, 从而治疗抑郁。

关键词: 抑郁症; 川芎油; 抗炎; 下丘脑-垂体-肾上腺轴; 肠道菌群; BDNF/TrkB/CREB 通路; Z-藁本内酯; 洋川芎内酯 A
中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)10-3792-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.10.011

Antidepressant mechanism of nasal inhalation of *Chuanxiong Rhizoma* oil in modulating BDNF/TrkB/CREB pathway and remodelling gut microbiota

LIU Haolin, WU Qianqian, LING Xia, CHENG Nan, LI Dan, HU Yue, LONG Yu, GAN Qingxia, LI Nan
School of Modern Chinese Medicine Industry, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of *Chuanxiong Rhizoma* oil inhalation via nasal administration on chronic unpredictable mild stress (CUMS)-induced depressive mice. **Methods** The main components of *Chuanxiong Rhizoma* oil were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). A CUMS-induced depressive mouse model was established, and after drug intervention, the pharmacological effects of *Chuanxiong Rhizoma* oil were evaluated through behavioral tests, hematoxylin-eosin (HE) staining and Nissl staining. Mechanistic studies were conducted using ELISA, Western blotting, qRT-PCR and 16S rRNA. **Results** GC-MS identified Z-ligustilide and senkyunolide A as the primary components of *Chuanxiong Rhizoma* oil. Nasal inhalation of *Chuanxiong Rhizoma* oil significantly alleviated depressive-like behaviors in CUMS mice ($P < 0.05$, 0.01), reduced hippocampal neuronal damage, upregulated the expressions of brain-derived neurotrophic factor

收稿日期: 2025-11-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82474220); 成都中医药大学“杏林学者”学科人才科研提升计划 (QJJJ2022014); 四川省中医药科技产业创新团队专项 (2022C005)

作者简介: 刘昊林 (2000—), 男, 硕士研究生, 从事中药新剂型研究。E-mail: 1918459136@qq.com

*通信作者: 李楠 (1981—), 女, 硕士生导师, 从事生物药剂学与药动学研究。E-mail: 55743198@qq.com

甘青霞 (1995—), 女, 讲师, 从事中药新剂型研究。E-mail: ganqingxia@cudtcu.edu.cn

(BDNF)/tyrosine receptor kinase B (TrkB)/cAMP-response element binding protein (CREB) signaling pathway related proteins in hippocampus ($P < 0.05, 0.01$), elevated levels of monoamine neurotransmitters such as 5-hydroxytryptamine (5-HT) and norepinephrine (NE) ($P < 0.05, 0.01$), inhibited the hyperactivity of hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis ($P < 0.05, 0.01$), suppressed pro-inflammatory factors such as tumor necrosis factor- α (TNF- α) in colon tissue ($P < 0.05, 0.01$), enhanced barrier function ($P < 0.05, 0.01$), and significantly ameliorated CUMS-induced gut microbiota dysbiosis. The CREB-specific inhibitor 666-15 significantly reversed the antidepressant effects of *Chuanxiong Rhizoma* oil ($P < 0.01$). **Conclusion** Nasal inhalation of *Chuanxiong Rhizoma* oil alleviates depression by improving gut dysfunction through BDNF/TrkB/CREB pathway.

Key words: depression; *Chuanxiong Rhizoma* oil; anti-inflammation; hypothalamic-pituitary-adrenal axis; gut microbiota; BDNF/TrkB/CREB pathway; Z-ligustilide; senkyunolide A

抑郁症是全球疾病总负担的主要因素之一，其不仅致残率高，且常与物质使用障碍、神经退行性疾病等多种慢性疾病共存，呈现出高患病率、高复发率和高自杀风险的“三高”特征，给社会带来沉重的健康与经济压力^[1-3]。目前临床上广泛使用的抗抑郁药物（如氟西汀、帕罗西汀等）虽在一定程度上能够缓解抑郁症状，但普遍存在头晕、恶心、睡眠障碍等一系列不良反应，并在撤药过程中易出现戒断症状，限制了其长期应用的治疗依从性与安全性^[4-6]。深入探究抑郁症的发病机制发现，其病理过程与神经发育障碍及神经营养因子信号通路失调密切相关。在神经生物学层面，抑郁症不仅涉及 5-羟色胺（5-hydroxytryptamine, 5-HT）、去甲肾上腺素（norepinephrine, NE）、多巴胺（dopamine, DA）、 γ -氨基丁酸（ γ -aminobutyric acid, GABA）等单胺类神经递质代谢失衡，更与脑源性神经营养因子（brain-derived neurotrophic factor, BDNF）介导的神经可塑性损伤直接相关^[7]。BDNF 通过激活原肌球蛋白受体激酶 B（tyrosine receptor kinase B, TrkB）受体及下游环磷腺苷效应元件结合蛋白（cAMP-response element binding protein, CREB）转录因子，调控神经元存活、突触形成及海马神经发生，其表达下调可导致海马体积萎缩和认知功能受损，成为抑郁症的核心病理特征^[8-9]。此外，长期应激导致的下丘脑-垂体-肾上腺（hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA）轴功能亢进、肿瘤坏死因子- α （tumor necrosis factor- α , TNF- α ）等促炎细胞因子释放增多，也被认为是诱发神经炎症、破坏肠道屏障结构与功能、加剧抑郁行为的重要机制^[10-12]。因此，针对多重病理环节的多靶点干预策略已成为当前抗抑郁药物研发的重要方向。

芳香疗法作为一种起源于 20 世纪早期（由法国化学家 René-Maurice Gattefossé 系统界定）的非侵入性辅助治疗方式，因具备缓解抑郁与焦虑情绪的潜能，且安全性高、适用人群广，近年来受到越来越多的关注^[13-14]。依据中医理论，芳香类药物常被用于治

疗卒中后抑郁，有助于促醒开窍、醒脑益智^[3]。川芎 *Chuanxiong Rhizoma* 是传统解郁名方“越鞠丸”中的君药，其挥发油富含苯酞类化合物如洋川芎内酯，展现出抗氧化、抗炎等多重药理活性^[15-18]。课题组前期研究发现，鼻腔吸入川芎油在治疗失眠方面具有潜在的神经炎症抑制作用^[19]。有研究证实其活性成分 Z-藁本内酯不仅具有神经保护作用，还能通过调控大麻素受体 2 途径重建肠道菌群稳态、维持肠屏障完整性^[20]。然而，目前对于川芎油抗抑郁的具体机制尚未完全明确，仍有待深入探究。因此，本研究旨在探讨经鼻吸入川芎油通过调控神经营养因子通路，在慢性不可预测温和应激（chronic unpredictable mild stress, CUMS）抑郁小鼠中发挥神经保护、减轻肠道炎症及调节肠道菌群紊乱的综合抗抑郁功效，以阐明其多靶点抗抑郁机制。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠，体质量 18~25 g，6~8 周龄，由斯贝福（北京）生物科技有限公司提供，合格证号 SCXK（京）2024-0001。动物实验经成都中医药大学动物护理与使用委员会批准（批准号 2024199）。

1.2 药材

川芎（批号 240701-61）购自成都吉安药业有限公司，经成都中医药大学李楠教授鉴定为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎。

1.3 药品与试剂

盐酸氟西汀（批号 RH561640，质量分数 $\geq 98\%$ ）、CREB 抑制剂 666-15（批号 RH631034，质量分数 $\geq 98\%$ ）购自上海易恩化学技术有限公司；5-HT 试剂盒（批号 080677703G7956）、BDNF 试剂盒（批号 080677703C725M）、NE 试剂盒（批号 102277708C680M）、DA 试剂盒（批号 052977708C966M）、GABA 试剂盒（批号 052177713D099M）、促肾上腺皮质激素释放激素

(corticotropin-releasing hormone, CRH) 试剂盒(批号 0612777002C999M)、皮质醇(cortisol, CORT)试剂盒(批号 0612777002C703M)、促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)试剂盒(批号 0612777002C468M)、TNF- α 试剂盒(批号 071577703C412M)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)试剂盒(批号 071577703D049M)、IL-1 β 试剂盒(批号 071577703D063M)购自泉州生物科技有限公司; BCA 蛋白测定试剂盒(批号 24035326)购自北京兰杰柯科技有限公司; BDNF 抗体(批号 N27AU06)、CREB 抗体(批号 M30AU12)、p-CREB 抗体(批号 N08JL01)购自成都正能生物技术有限公司; TrkB 抗体(批号 4)、血浆膜囊泡相关蛋白-1(plasmalemma vesicle-associated protein-1, PV-1)抗体(批号 1)购自美国 CST 公司; 闭锁小带蛋白-1(zonula occludens-1, ZO-1)抗体(批号 AC241121312)、Occludin 抗体(批号 AC241219052)、 β -actin 抗体(批号 AC231112001)、HRP 标记的山羊抗兔二抗(批号 M210035)购自武汉赛维尔生物科技有限公司; RNAiso Plus 试剂(批号 9109)购自 Takara 生物技术有限公司; RT Easy™ II 试剂盒(批号 RT-01022/01023)购自成都福际生物技术有限公司; SYBR qPCR SuperMix Plus 试剂盒(批号 M00041)购自四川岚云生物科技有限公司; Zymo Research 粪便 DNA 试剂盒(批号 D4301)、DNA 凝胶提取试剂盒(批号 D4008)购自美国泽莫股份有限公司。

1.4 仪器

RE-52AA 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); SpectraMax iD5 型酶标仪(英国柏楫有限公司); PowerPac Basic 电泳仪、MiniTrans-Blot Cell 垂直电泳槽及组件、MiniTrans-Blot Cell 转印槽及组件(伯乐生命医学产品公司); ChemiScope 6100 型化学发光成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司); NanoZoomer S60 型病理切片扫描仪(滨松光子学商贸有限公司); SLAN-96S 型全自动医用 PCR 分析系统(上海宏石医疗科技有限公司); K5800C 型超微量核酸蛋白分析仪(北京凯奥科技发展有限公司); 气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)仪(美国安捷伦科技公司); 雾化吸入系统(江苏富林医疗设备有限公司)。

2 方法

2.1 川芎油的制备及 GC-MS 分析

2.1.1 川芎油的制备 根据课题组前期研究,将川芎粉末在 40 °C 下烘烤 3 h, 加入 10 倍量的乙醚,

用保鲜膜密封,在 0 °C 下超声(200 W)提取 30 min, 采用旋转蒸发器回收乙醚,得到川芎油,用微孔滤膜滤过(得率为 7.073 3%)^[19]。

2.1.2 GC-MS 分析 将 50 μ L 川芎油用醋酸乙酯稀释至 1 mL, 并经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过。使用 Agilent HP-INNOWax 聚乙二醇(PEG)气相毛细管柱(30 m \times 250 μ m, 0.25 μ m); 载气为氦气(He), 体积流量 1 μ L/min; 升温程序: 50 °C 保持 3 min, 以 5 °C/min 升至 150 °C, 再以 10 °C/min 升至 250 °C, 最后以 25 °C/min 升至 260 °C 并保持 5 min。分流比 100 : 1; 进样体积 1 μ L。EI 离子源, 电子能量为 70 eV, 离子源温度为 220 °C, 采用全扫描模式。

2.1.3 给药溶液的制备 由于挥发油不溶于水, 将川芎油与聚山梨酯-80 混合后, 再用超纯水溶解, 配制成含有 0.1% 聚山梨酯-80 的溶液。

2.2 分组、造模及给药

将 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组(0.1% 聚山梨酯-80)、模型组(0.1% 聚山梨酯-80)、盐酸氟西汀(20 mg/kg)组和川芎油低、中、高剂量(0.039、0.079、0.159 g/kg^[19])组, 每组 8 只。小鼠适应性喂养 1 周后, 转为单笼喂养。除对照组外, 其余各组均接受 CUMS 刺激(禁食 24 h、禁水 24 h、45° 笼倾斜、噪音、潮湿垫料、无垫料、夹尾 3 min、昼夜颠倒、束缚 6 h、频闪 12 h、4 °C 冰水游泳 5 min、拥挤、45 °C 热板 5 min), 期间每天随机施加 2 种不同的压力源, 并且每 7 天更换 1 次压力源序列。从第 5 周开始, 同时进行 CUMS 刺激和每天 30 min 的雾化吸入给药, 持续 4 周后连续 3 d 进行行为学实验。雾化吸入系统见图 1, 小鼠置于 50 mL 通风离心管中, 固定于亚克力密闭箱体; 箱体连接雾化器, 药物经雾化后输入箱内完成给药。

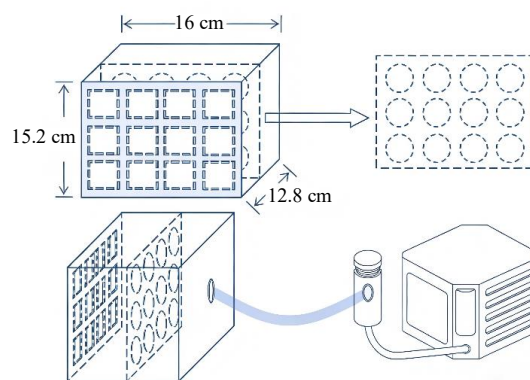


图 1 递药装置

Fig. 1 Drug delivery device

2.3 行为学评价

2.3.1 糖水偏好实验 (sucrose preference test, SPT) 小鼠禁食禁水 24 h 后, 给予 1%蔗糖水和纯水 2 h (每隔 1 h 交换位置), 计算糖水偏好率, 评估快感缺失程度^[21]。

糖水偏好率 = 糖水摄入量 / (糖水摄入量 + 水摄入量)

2.3.2 强迫游泳实验 (forced swimming test, FST) 小鼠置于圆柱容器中, 水深 20 cm, 水温 (24 ± 1) °C, 适应 2 min 后记录 4 min 内静止时间 (仅维持头部浮出水面的不动状态), 反映绝望行为^[1]。

2.3.3 悬尾实验 (tail suspension test, TST) 小鼠尾尖 2.5 cm 处固定, 悬空 40 cm 悬挂 6 min, 适应 2 min 后记录 4 min 内静止时间 (停止挣扎仅轻微摆动), 评估抑郁样行为^[22]。

2.3.4 旷场实验 (open field test, OFT) 小鼠置于 50 cm × 50 cm × 40 cm 黑色方笼中心, 适应 1 min 后记录 5 min 内的活动。分析总运动距离、静止时间及平均速度, 评估自发活动与焦虑状态。每次测试后用 75%乙醇清洁装置^[23]。

2.4 组织学染色观察

2.4.1 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色 行为学实验后麻醉小鼠, 采用眼眶取血法采集全血, 室温静置凝固后, 分离得到血清。处死小鼠分离脑海马和结肠组织, 制作石蜡切片, 经过脱蜡和脱水处理后分别浸泡在 95%、85%、75%乙醇和超纯水中。进行 HE 染色后, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明并用中性树脂封片。使用数字切片扫描仪对切片进行扫描。

2.4.2 尼氏染色 脑组织石蜡切片经脱蜡和脱水处理后, 用 1%甲苯胺蓝染色 20 min, 依次用蒸馏水、70%乙醇和 95%乙醇冲洗, 无水乙醇脱水, 二甲苯透明, 用中性树脂封片。在显微镜下观察并拍摄海马 CA1 区域, 计数尼氏染色阳性的神经元^[24]。

2.5 ELISA 检测海马组织 5-HT、DA、GABA、NE 及血清 CORT、CRH、ACTH 和结肠组织 BDNF、IL-1β、IL-6、TNF-α 水平

按照试剂盒说明书检测海马组织中 5-HT、DA、GABA、NE 及血清中 CORT、CRH、ACTH 和结肠组织中 BDNF、IL-1β、IL-6、TNF-α 的水平^[25]。

2.6 Western blotting 检测海马组织 BDNF、TrkB、CREB、p-CREB 和结肠组织 ZO-1、Occludin、PLVAP 蛋白表达

取小鼠海马、结肠组织, 匀浆后加入裂解液提取蛋白, 采用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品经

10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 用 5%牛血清白蛋白封闭后, 分别加入 BDNF、CREB、p-CREB、TrkB、ZO-1、Occludin、PLVAP 一抗, 4 °C 孵育过夜; 加入二抗, 室温孵育 1 h 后, 加入 ECL 化学发光试剂显影, 使用成像设备扫描, 并用 Image J 软件进行定量分析^[26]。

2.7 qRT-PCR 检测海马组织 BDNF、CREB、TrkB 基因表达

取小鼠海马组织, 按照试剂盒说明书提取总 RNA 并合成 cDNA, 进行 qRT-PCR 分析。引物序列见表 1, 将 β-actin 作为内参基因, 采用 2^{-ΔΔCt} 法计算目的基因相对表达量^[27]。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列 (5'-3')
BDNF	F: TACCTGGATGCCGCAACAT
	R: GCTGTGACCCACTCGCTAAT
CREB	F: GAGCAGACAACCAGCAGAGT
	R: TGGCATGGATACCTGGGCTA
TrkB	F: TGAAAAACAGCAACCTGCGG
	R: CCCGTCAGGATCAGGTCAGA
β-actin	F: CTGTGCTATGTTGCTCTA
	R: GTTGCCAATAGTGATGAC

2.8 免疫荧光检测海马组织 BDNF、CREB 表达

脑组织石蜡切片脱蜡后, 将切片浸入 pH 6.0 的柠檬酸缓冲液中, 在微波炉中高温加热 10 min, 静置 8 min, 再次在中高温下加热 10 min。冷却后, 用 PBS 冲洗切片 3 次, 每次 5 min。滴加山羊血清封闭液, 室温封闭 20 min。加入一抗, 室温孵育过夜; PBS 冲洗后加入二抗, 37 °C 孵育 30 min; PBS 冲洗后, 滴加 DAPI, 室温孵育 10 min; PBS 冲洗, 用抗荧光衰减封片剂封片。使用 OlyVIA 显微镜相机系统对切片进行成像, 使用 Image J 软件进行分析, 并计算平均荧光强度^[25]。

2.9 微生物多样性分析

在给药后第 21 天收集粪便样品, 并立即于 -80 °C 保存以提取细菌 DNA。使用 Zymo Research 粪便 DNA 试剂盒分离总细菌 DNA, 使用引物 515F (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 扩增细菌 16S rRNA 基因的 V4 区。使用 DNA 凝胶提取试剂盒纯化 PCR 产物, Qubit® 2.0 荧光计定量后, 采用 Illumina NovaSeq 平台对合格的文库进行测序。

2.10 川芎油抗抑郁机制的逆向验证

采用 CREB 特异性抑制剂 666-15 验证川芎油

是否通过 BDNF/TrkB/CREB 通路改善小鼠抑郁样症状^[28]。将 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、666-15 (10 mg/kg) 组和川芎油 (0.159 g/kg) + 666-15 (10 mg/kg) 组, 每组 8 只。小鼠适应性饲养 7 d 后, 666-15 组和川芎油 + 666-15 组每 2 天 ip 666-15 (10 mL/kg), 共 5 次; 对照组 ip 0.1% 聚山梨酯-80; 川芎油 + 666-15 组同时雾化吸入川芎油, 连续给药 28 d。于给药第 21 天收集粪便, 给药结束后对小鼠进行行为学实验, 处死小鼠, 分离海马和结肠组织, 按“2.6”“2.8”“2.9”项下方法进行 Western blotting、免疫荧光和微生物多样性分析。

2.11 统计学分析

所有实验数据均使用 GraphPad Prism 软件进行统计处理, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 并通过非配对双尾 *t* 检验或单因素方差 (ANOVA) 进行分析。

3 结果

3.1 川芎油的成分分析

如表 2 所示, GC-MS 分析鉴定出川芎油中的 19 个化合物, 苯酐类化合物占比最高, 其中 *Z*-藁本内酯与洋川芎内酯 A 合计高达 55.83%, 其次为 4-

羟基吲哚、新萘啶及亚油酸甲酯等。

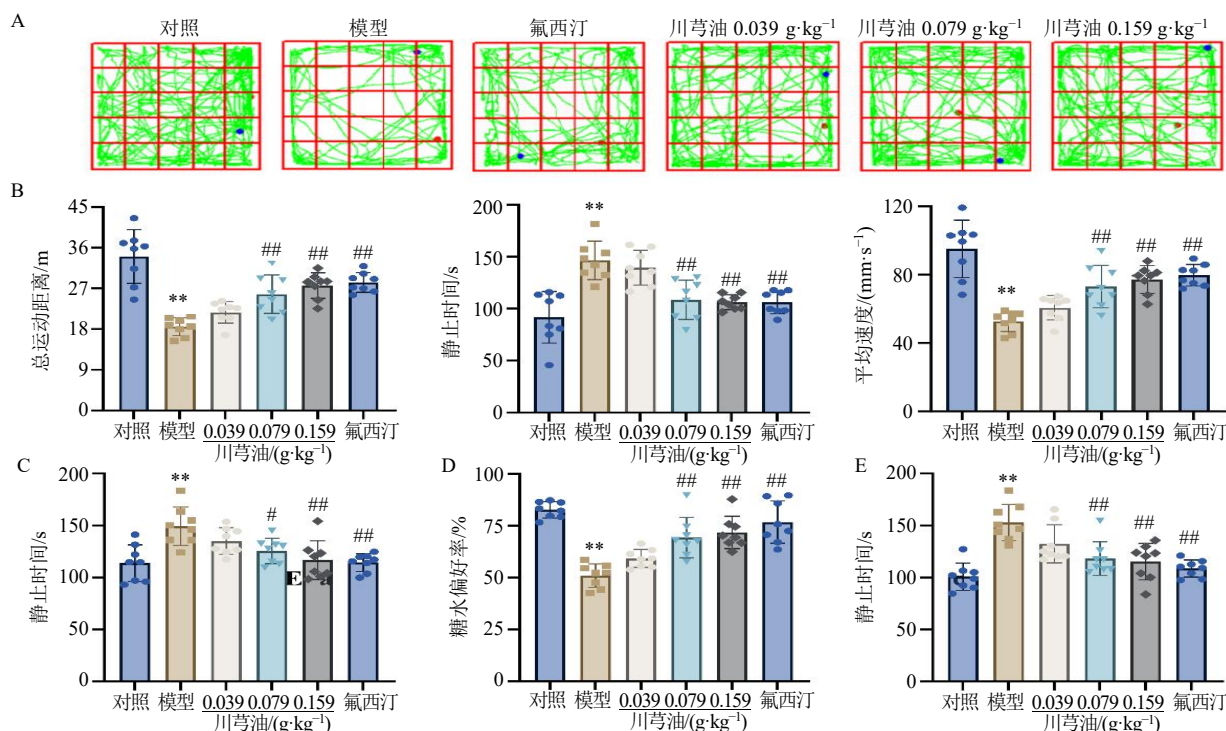
3.2 川芎油对 CUMS 小鼠抑郁样行为的影响

OFT 结果 (图 2-A、B) 显示, 与对照组比较,

表 2 川芎油的 GC-MS 分析

Table 2 GC-MS analysis of *Chuanxiong Rhizoma* oil

序号	化合物	<i>t</i> _R /min	分子式	占比/%
1	丙酸乙酯	4.323	C ₅ H ₁₀ O ₂	1.09
2	薄荷醇	14.360	C ₁₀ H ₂₀ O	0.61
3	β-蛇麻烯	15.805	C ₁₅ H ₂₄	1.54
4	丁基羟基甲苯	18.281	C ₁₅ H ₂₄ O	0.95
5	5-叔丁基间二甲苯	21.227	C ₁₂ H ₁₈	0.89
6	2'-羟基-5'-甲基苯乙酮	22.134	C ₉ H ₁₀ O ₂	0.87
7	棕榈酸甲酯	22.269	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	1.31
8	棕榈酸乙酯	22.739	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	0.69
9	棕榈酸	25.484	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.75
10	8-十八烯酸甲酯	25.573	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	2.30
11	13-十八烯酸	26.111	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0.90
12	亚油酸甲酯	26.380	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	6.98
13	亚油酸乙酯	26.951	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	2.68
14	4-羟基吲哚	27.287	C ₈ H ₇ NO	9.79
15	新蛇床子素	27.612	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	9.05
16	<i>N,N</i> -二甲基戊酰胺	27.881	C ₇ H ₁₅ NO	0.77
17	<i>Z</i> -藁本内酯	28.284	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	34.54
18	洋川芎内酯 A	28.912	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	21.29
19	棕榈酸	30.704	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	3.20



A-OFT的轨迹图; B-OFT中总运动距离、静止时间和平均速度; C-FST中静止时间; D-SPT中糖水偏好率; E-TST中静止时间; 与对照组比较: **P*<0.05 ***P*<0.01; 与模型组比较: #*P*<0.05 ##*P*<0.01, 图3~6同。

A-trajectory of OFT; B-total distance, immobility time and average velocity in OFT; C-immobility time in FST; D-sucrose preference rate in SPT; E-immobility time in TST; **P*<0.05 ***P*<0.01 vs control group; #*P*<0.05 ##*P*<0.01 vs model group, same as Figs. 3~6.

图 2 川芎油对 CUMS 小鼠抑郁样行为的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 2 Effect of *Chuanxiong Rhizoma* oil on depression like behavior in CUMS mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

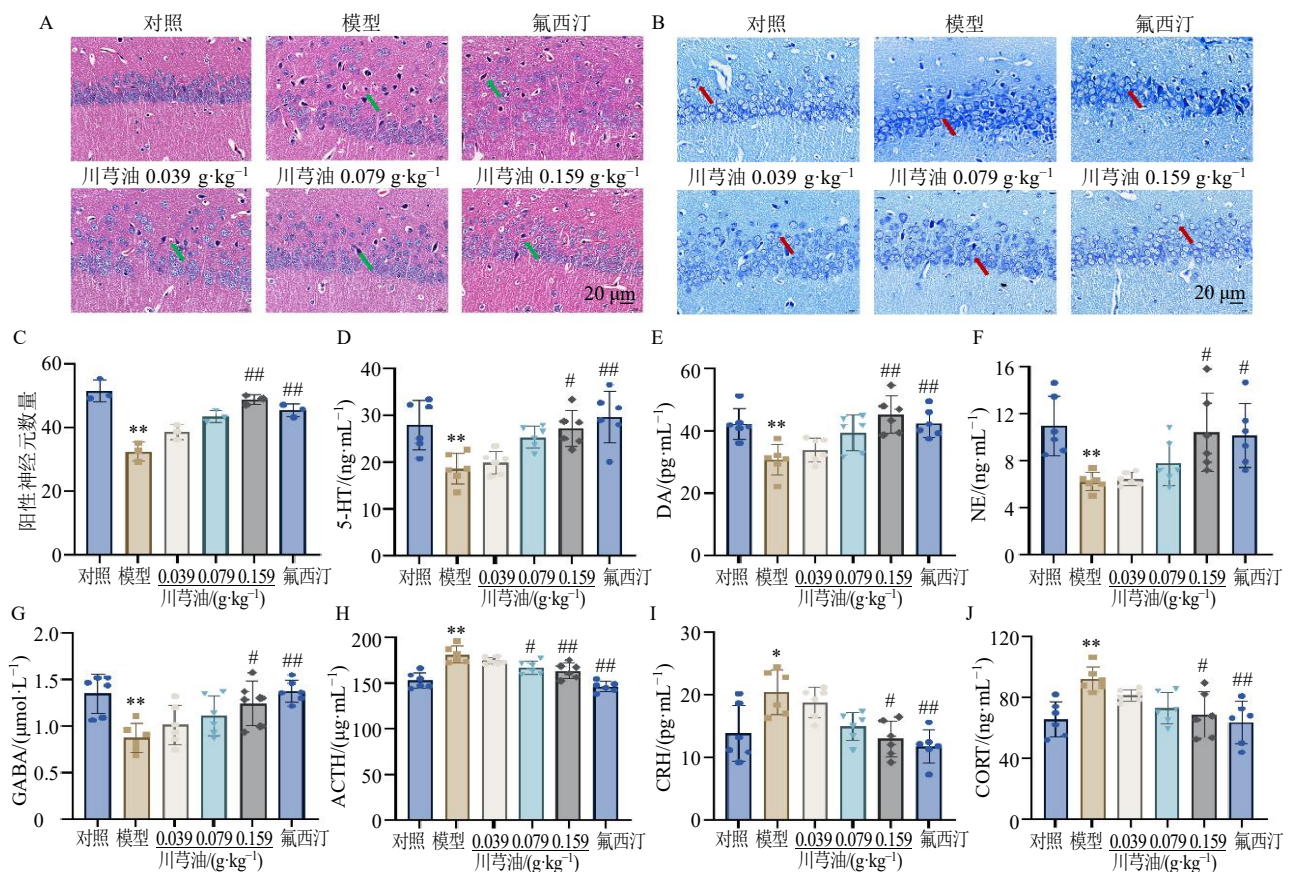
模型组小鼠总运动距离和平均速度显著降低 ($P < 0.01$), 静止时间显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 氟西汀组和川芎油中、高剂量组小鼠总运动距离和平均速度显著升高 ($P < 0.01$), 静止时间显著降低 ($P < 0.01$)。SPT 结果 (图 2-D) 显示, 与对照组比较, 模型组小鼠糖水偏好率显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 氟西汀组和川芎油中、高剂量组糖水偏好率显著升高 ($P < 0.01$)。FST (图 2-C) 和 TST (图 2-E) 结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠静止时间显著延长 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 氟西汀组和川芎油中、高剂量组静止时间显著缩短 ($P < 0.05, 0.01$)。以上结果表明, 川芎油能够改善 CUMS 诱导的小鼠抑郁样行为异常。

3.3 川芎油对 CUMS 小鼠海马 CA1 区神经元损伤的影响

HE 染色结果 (图 3-A) 显示, 对照组小鼠海马

CA1 区结构清晰, 锥体细胞完整, 形态清晰, 核大而圆, 核仁明显。与对照组相比, 模型组锥体细胞层受损, 锥体细胞不同程度坏死, 坏死细胞胞核固缩, 染色加深或核溶解消失, 坏死区域神经元排列散乱, 数量明显减少, 病变程度略重。与模型组比较, 各给药组神经元病理变化有不同程度的改善, 锥体细胞层较为完整, 少量细胞胞核固缩。其中, 氟西汀组和川芎油高剂量组的改善作用较为明显。以上结果表明川芎油可以减轻 CUMS 诱导的海马 CA1 区病变。

尼氏染色结果 (图 3-B、C) 显示, 与对照组比较, 模型组小鼠海马 CA1 区尼氏染色阳性神经元数量显著减少 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组海马 CA1 区尼氏染色阳性神经元数量增加, 表现出 CUMS 后脑部神经存在神经元损伤。其中, 氟西汀组和川芎油高剂量组尼氏染色阳性神经元数量显著



A-海马 CA1 区的 HE 染色结果 ($\times 400$), 箭头表示神经元退行性坏死; B、C-海马 CA1 区的尼氏染色结果 ($\times 400$); D~J-ELISA 检测海马组织中 5-HT、DA、NE、GABA 及血清中 ACTH、CRH、CORT 水平。

A-HE staining results of hippocampal CA1 region ($\times 400$), with arrows indicating neurodegenerative necrosis; B, C-Nissl staining results of hippocampal CA1 region ($\times 400$); D—J-levels of 5-HT, DA, NE, GABA in hippocampal tissue and ACTH, CRH, CORT in serum detected by ELISA.

图 3 川芎油对 CUMS 小鼠海马 CA1 区神经元损伤和抑郁相关生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effect of *Chuanxiong Rhizoma* oil on neuronal damage in hippocampal CA1 region and depression related biochemical indicators of CUMS mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

高于模型组 ($P < 0.05, 0.01$)。

3.4 川芎油对 CUMS 小鼠抑郁相关生化指标及 BDNF/TrkB/CREB 通路的影响

3.4.1 川芎油对抑郁小鼠海马组织中神经递质水平的影响 如图 3-D~G 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠海马组织中 5-HT、DA、NE、GABA 水平显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 氟西汀组和川芎油高剂量组小鼠海马组织中 5-HT、DA、NE、GABA 水平显著升高 ($P < 0.05, 0.01$), 表明川芎油可能通过调节神经递质水平改善 CUMS 小鼠的抑郁症状。

3.4.2 川芎油对抑郁小鼠血清中 HPA 轴相关激素水平的影响 如图 3-H~J 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清中 ACTH、CRH、CORT 水平明显升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 氟西汀组和川芎油高剂量组小鼠血清中 ACTH、CRH、CORT 水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), 川芎油中剂量组血清中 ACTH 水平显著降低 ($P < 0.05$), 表明川芎油可以有效调节 HPA 轴相关激素的分泌, 这可能是其改善 CUMS 小鼠抑郁症的原因之一。

3.4.3 川芎油对抑郁小鼠海马组织中 BDNF/TrkB/CREB 通路的影响 采用 Western Blotting 检测各组

小鼠海马组织中 BDNF、CREB、p-CREB、TrkB 蛋白表达水平, 结果如图 4-A~C 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠海马组织中 BDNF、p-CREB/CREB、TrkB 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01$); 与模型组比较, 川芎油高剂量组小鼠海马组织中 BDNF、p-CREB/CREB、TrkB 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05, 0.01$), 川芎油中剂量组 BDNF、TrkB 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05, 0.01$)。采用 qRT-PCR 检测各组小鼠海马组织中 BDNF、CREB、TrkB mRNA 表达水平, 结果如图 4-D 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠海马组织中 BDNF、CREB、TrkB mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 川芎油中、高剂量组海马组织中 BDNF、CREB、TrkB mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。采用免疫荧光检测各组小鼠海马组织中 BDNF、CREB 表达, 结果如图 5 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠海马组织中 BDNF、CREB 表达显著降低 ($P < 0.05, 0.01$); 与模型组比较, 川芎油高剂量组海马组织中 BDNF、CREB 表达显著升高 ($P < 0.05$)。

3.5 川芎油对 CUMS 小鼠肠道炎症因子及肠道屏障相关蛋白表达的影响

3.5.1 川芎油对 CUMS 小鼠肠道病理损伤的影响

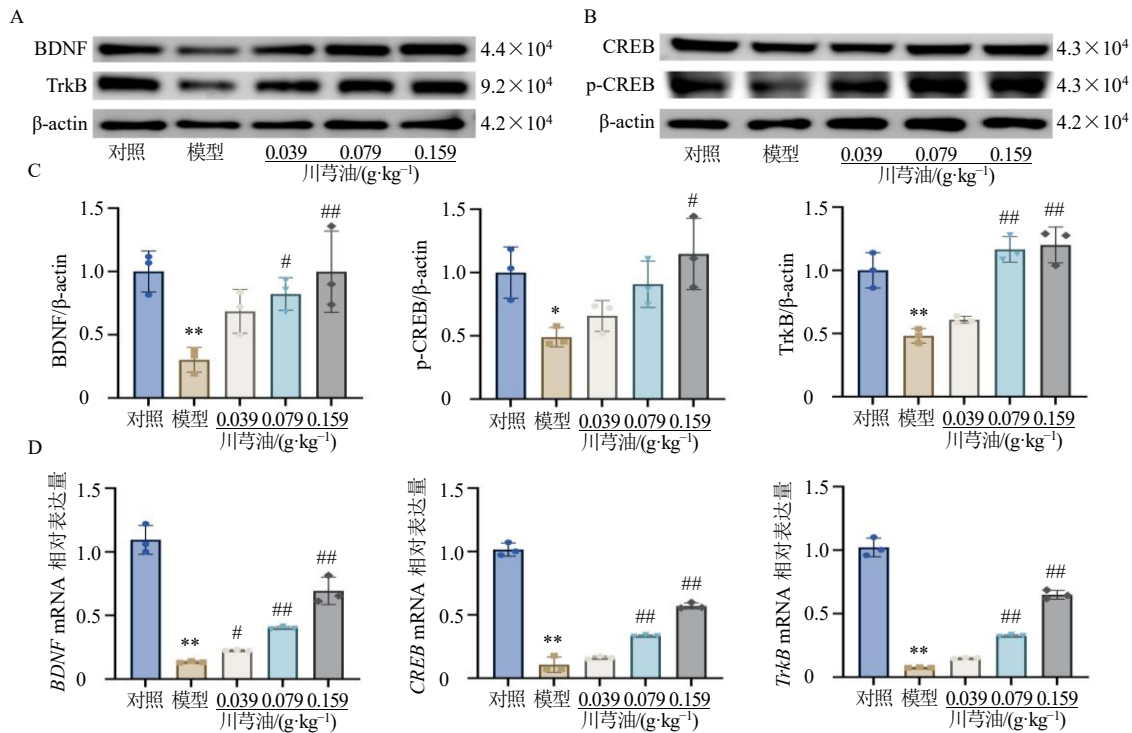


图 4 川芎油对 CUMS 小鼠海马组织中 BDNF/TrkB/CREB 通路相关蛋白 (A~C) 及基因 (D) 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of *Chuanxiong Rhizoma* oil on expressions of BDNF/TrkB/CREB pathway related proteins (A—C) and genes (D) in hippocampal tissue of CUMS mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

HE 染色结果如图 6-A 所示, 模型组小鼠结肠组织黏膜上皮脱离、固有层结缔组织增生、肠腺消失、轻微炎性细胞浸润。对照组和川芎油中、高剂量组结肠组织黏膜完整, 肠腺仅轻度扩张, 表明川芎油可改善 CUMS 小鼠结肠的组织病理学损伤。

3.5.2 川芎油对 CUMS 小鼠结肠组织中 BDNF、炎症因子水平的影响 如图 6-B 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠结肠组织中 BDNF 水平显著降低 ($P < 0.01$), TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 川芎油中、高剂量组结肠组织中 BDNF 水平显著升高 ($P < 0.01$), 川芎油高剂量组结肠组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01)。

3.5.3 川芎油对 CUMS 小鼠结肠组织中肠道屏障相关蛋白表达的影响 如图 6-C 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠结肠组织中 ZO-1、Occludin 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01), PV-1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 川芎油中、高剂量组结肠组织中 ZO-1、Occludin 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、0.01), 川芎油高剂量组 PV-1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。

3.6 川芎油对 CUMS 小鼠肠道菌群多样性的影响

采用 16S rRNA 高通量测序分析小鼠肠道菌群与抑郁症发生的相关性。由 α 多样性指数 (图 7-A~C)、 β 多样性主成分坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA, 图 7-D) 可以看出, 川芎油高剂量组能够逆转 CUMS 小鼠肠道菌群失衡。韦恩图 (图 7-E) 展示了所有样本总共识别 3 050 个操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU), 所有组共有 273 个 OTU。以上结果显示, 川芎油给药会引起抑郁小鼠肠道微生物群的变化, 展现出与健康小鼠相似的结构。根据门水平定量分析图 (图 7-F), 各组主要种群是厚壁菌门与拟杆菌门, 与对照组比较, 模型组拟杆菌门丰度降低, 厚壁菌门丰度升高; 与模型组比较, 川芎油给药后拟杆菌门丰度升高, 厚壁菌门丰度降低。模型组厚壁菌门丰度的增加主要由毛螺菌科 NK4A136 群驱动, 该菌属与短链脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFAs) 代谢相关, 其减少可能导致抗炎物质 (如丁酸) 水平下降, 加剧肠道炎症。在属水平上 (图 7-G), 与对照组比较, 模型组毛螺菌科 NK4A136 群与拟杆菌属的相对丰度发生显著变化, 而川芎油给药后能逆转毛螺菌科 NK4A136 群与拟杆菌属的变化。线性判别分析效应

大小 (linear discriminant analysis effect size, LEfSe) 软件使用线性判别分析 (linear discriminant analysis, LDA) 来估计每个物种丰度对多样性的影响, 并识别样本划分存在显著差异的群落或物种。结果如图 7-H、I 所示, 共有 21 个具有 LDA 分数 > 4 的类群。模型组中鉴别出包含百万菌属在内的 6 个类群。在给药组中, 共鉴定出包含瘤胃球菌属在内的 10 个类, 均为瘤胃球菌科家族成员, 可产生抗炎代谢物, 可能通过抑制 TNF- α 分泌改善肠道屏障功能。通过 Spearman 相关分析研究抑郁样行为、大脑中 BDNF 和神经递质水平、肠道炎症因子水平和肠道微生物群之间的关联, 结果见图 8。

3.7 基于 BDNF/TrkB/CREB 通路的川芎油抗抑郁作用的逆向验证结果

为了证实 BDNF/TrkB/CREB 通路川芎油抗抑郁的强相关作用, 采用 CREB 抑制剂 666-15 探究川芎油是否通过 BDNF/TrkB/CREB 通路改善小鼠抑郁样症状, 结果见图 9-A~C。与对照组比较, 666-15 组 OFT 中小鼠的总运动距离和平均速度显著降低 ($P < 0.05$), 静止时间显著升高 ($P < 0.01$), SPT 中糖水偏好率显著下降 ($P < 0.01$), FST、TST 中静止时间显著升高 ($P < 0.01$); 而 666-15+川芎油组能显著改善以上指标 ($P < 0.05$ 、0.01)。采用 Western blotting、免疫荧光检测小鼠海马中 BDNF、CREB 蛋白表达, 结果如图 9-D~I 所示, 与对照组比较, 666-15 组 BDNF、CREB 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01), 而川芎油能逆转 666-15 对 BDNF、CREB 蛋白表达的抑制作用 ($P < 0.05$ 、0.01)。

采用 16S rRNA 高通量测序分析小鼠肠道菌群与抑郁症发生的相关性。由 α 多样性指数 (图 10-A)、 β 多样性 PCoA (图 10-B) 可以看出, 川芎油能恢复 666-15 引起的小鼠肠道菌群紊乱 ($P < 0.01$)。韦恩图 (图 10-C) 展示了所有样本总共识别 1 932 个 OTU, 所有组共有 243 个 OTU。根据门水平定量分析图 (图 10-D), 各组主要种群是拟杆菌门和厚壁菌门, 与对照组比较, 666-15 组厚壁菌门丰度降低, 拟杆菌门丰度升高; 而川芎油能逆转以上变化。在属水平上 (图 10-E), 与对照组比较, 666-15 组拟杆菌门、毛螺菌科 NK4A136 群的相对丰度发生变化; 给予川芎油干预后能够逆转以上菌群变化。LEfSe 结果如图 10-F、G 所示, 共有 47 个具有 LDA 分数 > 3 的类群。666-15 组鉴别出包含拟杆菌属在内 16 个类群, 666-15+川芎油组共鉴定出毛螺菌科在内的 11 个类群。

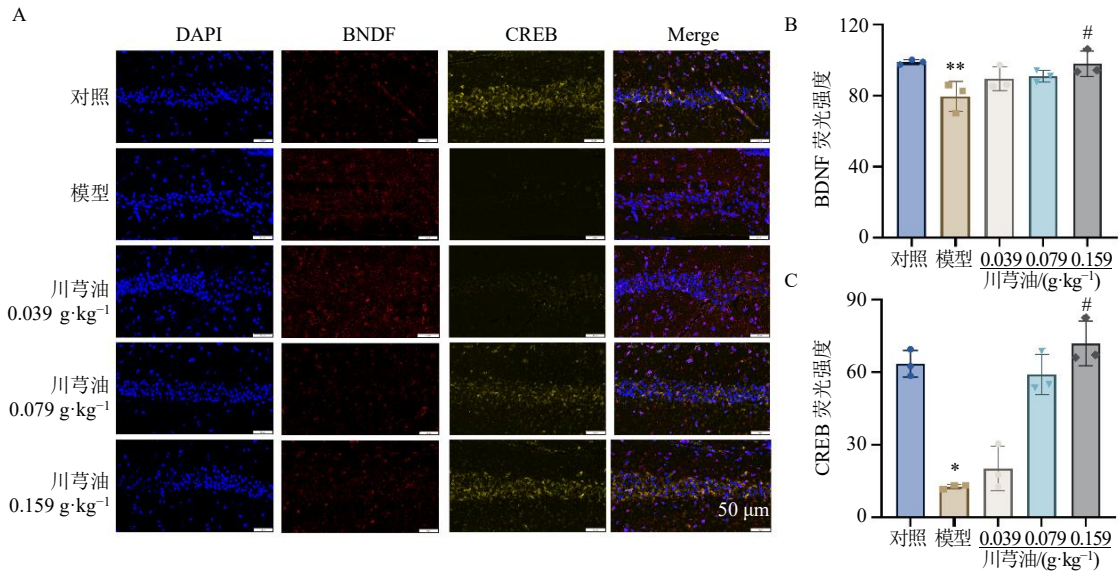
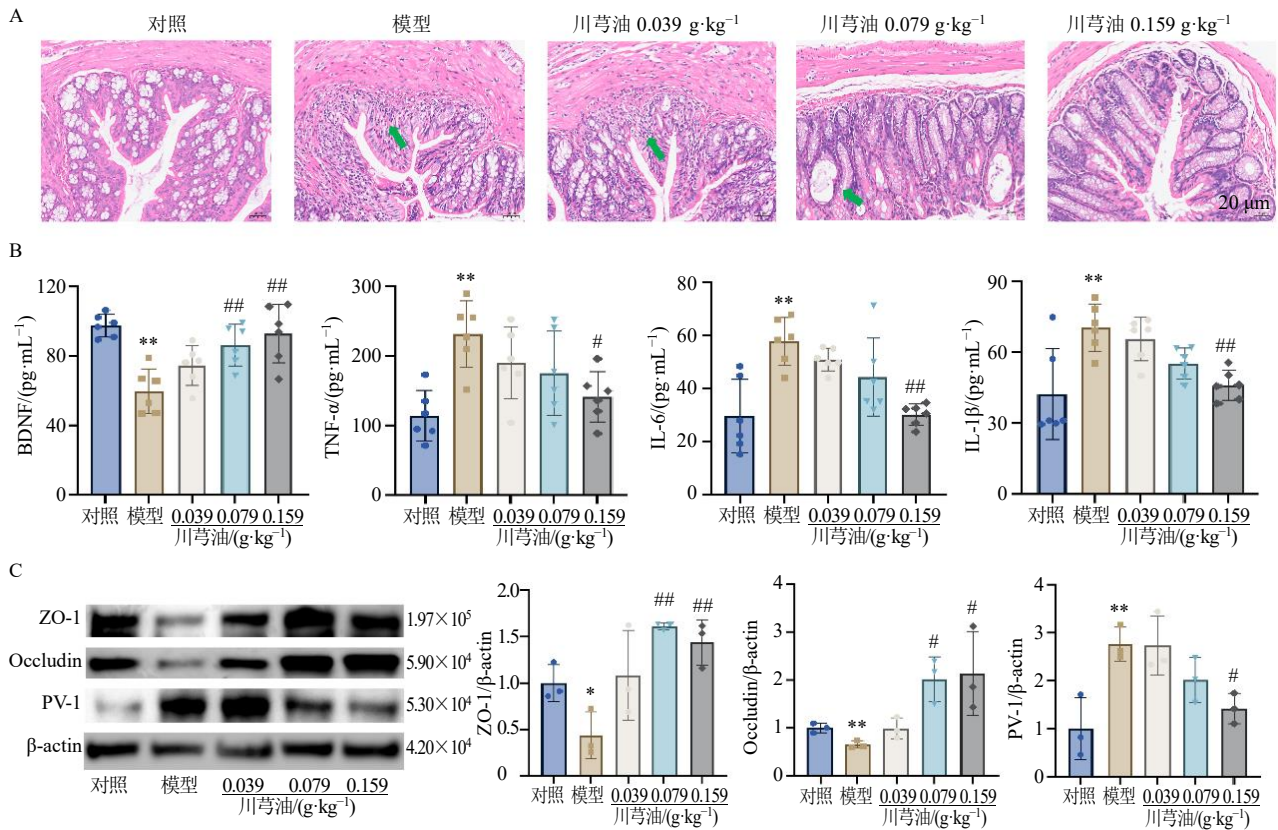


图5 免疫荧光检测各组小鼠海马CA1区BDNF和CREB表达(×40; $\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Immunofluorescence detection of BDNF and CREB expressions in hippocampal CA1 region of mice in each group (× 40; $\bar{x} \pm s, n = 3$)

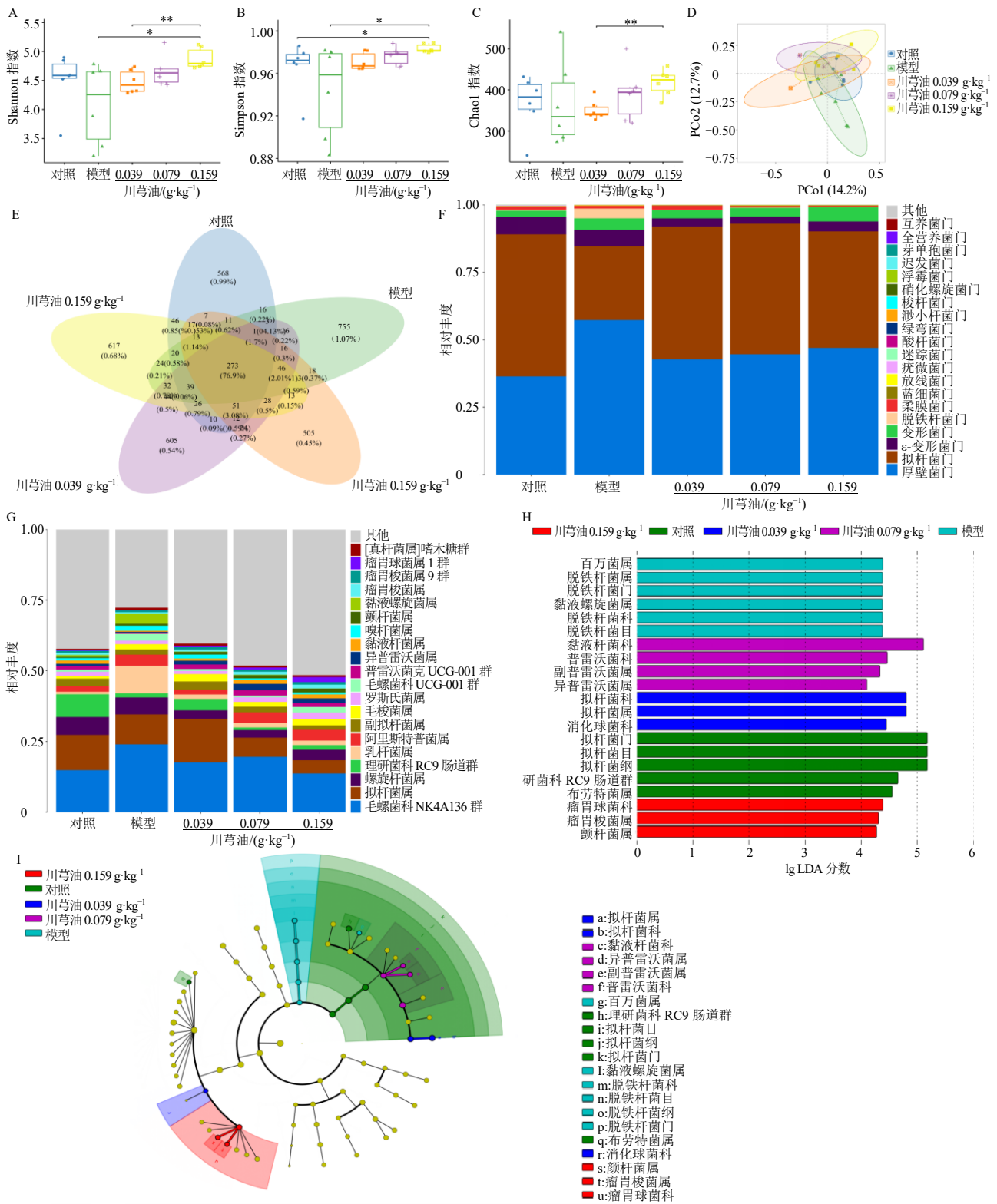


A-结肠组织HE染色结果(×400), 箭头表示损伤区域; B-结肠组织BDNF、TNF- α 、IL-6和IL-1 β 水平; C-结肠组织ZO-1、Occludin、PV-1蛋白表达。

A-HE staining results of colon tissue (× 400), with arrows indicating the damaged area; B-levels of BDNF, TNF- α , IL-6 and IL-1 β in colon tissue; C-ZO-1, Occludin and PV-1 protein expressions in colon tissue.

图6 川芎油对CUMS小鼠肠道炎症因子及肠道屏障相关蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Effect of *Chuanxiong Rhizoma* oil on expressions of intestinal inflammatory factors and intestinal barrier related proteins in CUMS mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)



A~C- α 多样性相关指数; D- β 多样性 PCoA 图; E-韦恩图; F-各组门水平上肠道细菌相对丰度; G-各组属水平上肠道细菌相对丰度; H、I-LfESe 分析结果。

A—C- α diversity-related indices; D-PCoA of β diversity; E-Venn diagram; F-relative abundance of gut bacteria at phylum level in each group; G-relative abundance of gut bacteria at genus level in each group; H, I-LfESe analysis results.

图 7 肠道微生物分析结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 7 Gut microbiome analysis results ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

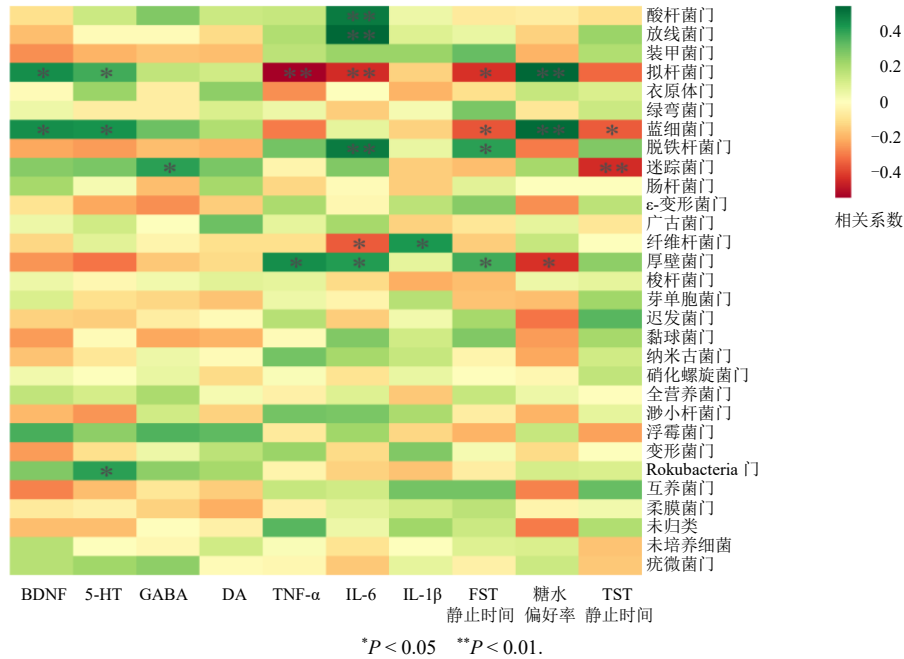
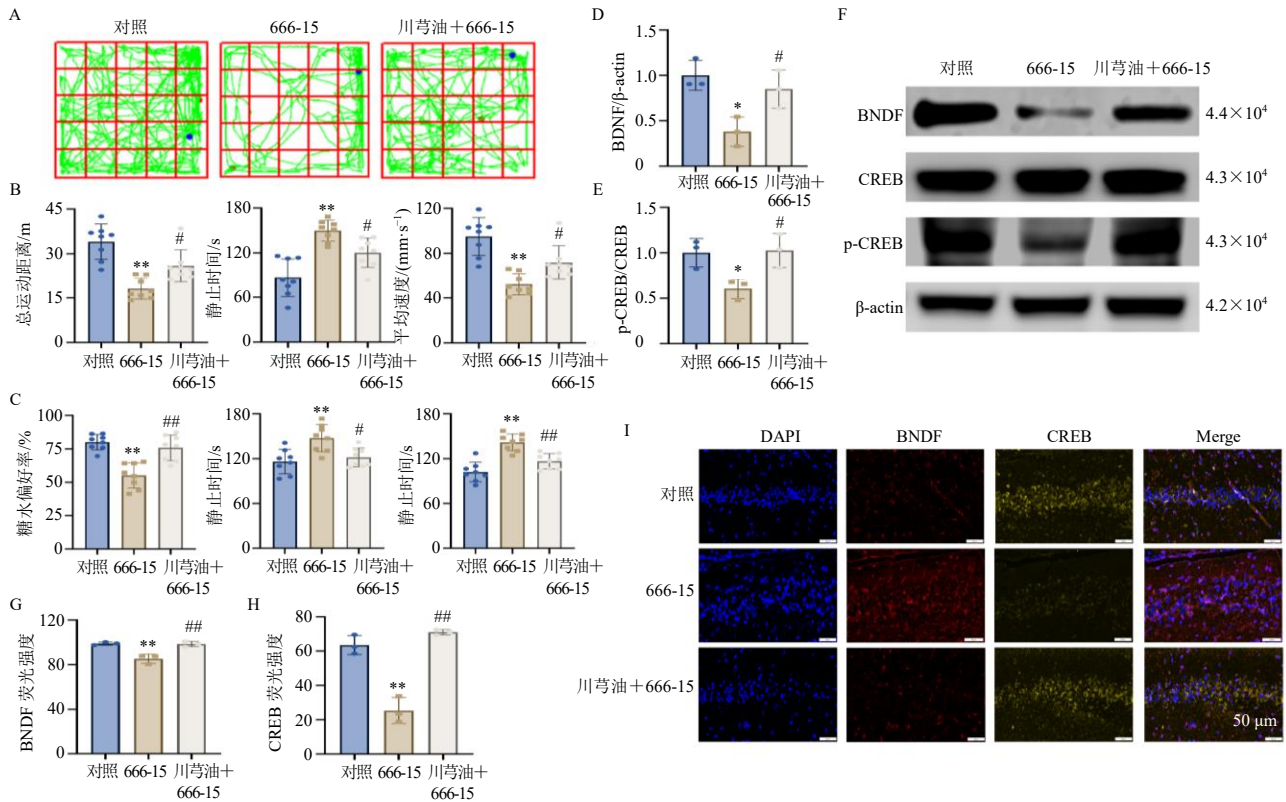


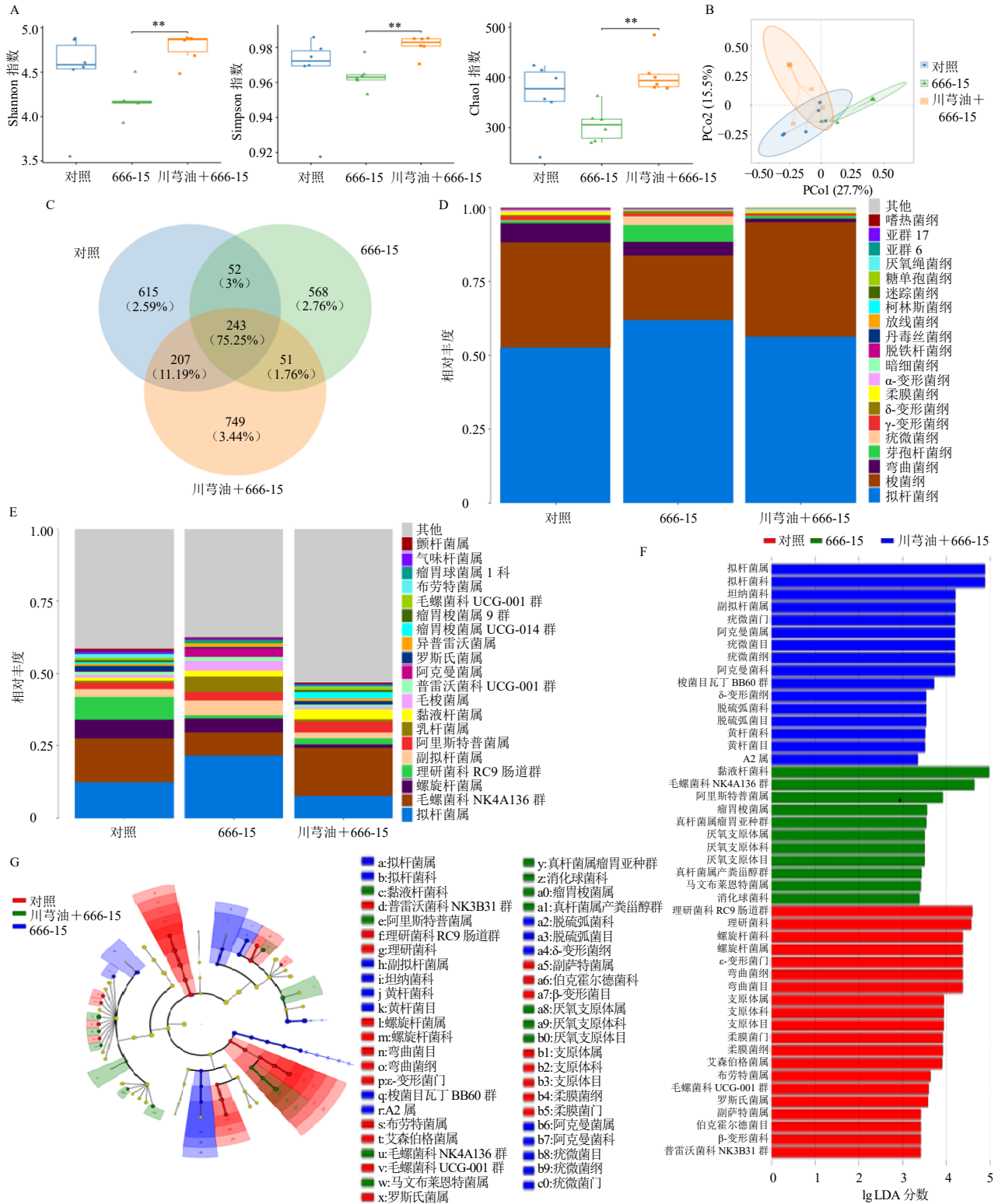
图 8 Spearman 相关性分析
Fig. 8 Spearman's correlation analysis



A-各组小鼠 OFT 的轨迹图; B-各组小鼠的总运动距离、静止时间、平均速度 ($n = 8$); C-各组小鼠 SPT、FST、TST 结果 ($n = 8$); D~F-海马 BDNF、CREB 蛋白表达 ($n = 3$); G~I-各组海马 CA1 区 BDNF、CREB 平均荧光强度 ($\times 40, n = 3$)。A-trajectory plots of OFT for mice in each group; B-total locomotor distance, immobility time and average velocity for mice in each group ($n = 8$); C-results of SPT, FST and TST for mice in each group ($n = 8$); D~F-expressions of BDNF and CREB proteins in hippocampal tissue ($n = 3$); G~I-mean fluorescence intensity of BDNF and CREB in hippocampal CA1 region ($\times 40, n = 3$)。A-各组小鼠 OFT 的轨迹图; B-各组小鼠的总运动距离、静止时间、平均速度 ($n = 8$); C-各组小鼠 SPT、FST、TST 结果 ($n = 8$); D~F-海马 BDNF、CREB 蛋白表达 ($n = 3$); G~I-各组海马 CA1 区 BDNF、CREB 平均荧光强度 ($\times 40, n = 3$)。

图 9 CREB 抑制剂对川芎油改善小鼠抑郁样症状的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 9 Effect of CREB inhibitor on improvement of depression like symptoms in mice by *Chuanxiong Rhizoma* oil ($\bar{x} \pm s$)



A- α 多样性相关指数; B- β 多样性 PCoA 图; C-韦恩图; D-各组属水平上肠道菌群相对丰度; E-各组门水平上肠道菌群相对丰度; F、G-LEfSe 分析结果。

A- α diversity-related indices; B-PCoA of β diversity; C-Venn diagrams; D-relative abundance of gut microbiota at genus level in each group; E-relative abundance of gut microbiota at phylum level in each group; F、G-LEfSe analysis results.

图 10 CREB 抑制剂对川芎油改善小鼠肠道菌群的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 10 Effect of CREB inhibitor on improvement of gut microbiota in mice by *Chuanxiong Rhizoma* oil ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

4 讨论

本研究基于抑郁症的复杂病理机制,结合“神经炎症假说”和“脑-肠轴假说”等前沿理论,系统探讨了经鼻雾化吸入川芎油在 CUMS 诱导的抑郁小鼠模型中的治疗作用及其作用机制。通过 GC-MS 分析明确了川芎油的主要活性成分为 Z-藁本内酯与洋川芎内酯 A,两者均属于苯酞类化合物,具有较强的抗炎、抗氧化及神经保护活性。与传统口服给药相比,经鼻给药可通过“鼻-脑通路”绕过血脑屏障,快速分布至海马等关键脑区,从而避免肝脏首过效应,提高生物利用度^[29]。在多种动物模型中,CUMS 模型因其能够较好地模拟人类在持续压力下的行为表现,如兴趣减退和快感缺失等典型抑郁症状,被认为是研究抑郁症的理想模型之一^[30]。通过对 OFT、SPT、FST 及 TST 的综合评估,发现川芎油能显著改善 CUMS 诱导的行为缺陷,包括自主活动减少和快感缺失行为,充分证明了其显著的抗抑郁疗效。HE 及尼氏染色结果表明,川芎油能够有效减轻海马 CA1 区锥体细胞的排列紊乱与坏死程度,并显著恢复尼氏体阳性神经元的数量,进一步确认了其对中枢神经系统的直接保护作用。

在机制层面,川芎油在中枢系统中发挥了多靶点调控作用。在分子水平上,川芎油显著上调 BDNF、TrkB 及 CREB 的表达,激活了 BDNF/TrkB/CREB 信号通路。然而,总 CREB 蛋白水平在 Western blotting 检测中变化相对不显著,而 p-CREB 的蛋白表达水平则呈现与 CREB mRNA 一致的上调趋势。这一结果反映了 CREB 信号通路调控的复杂性:CREB 的生物学活性主要取决于其磷酸化状态,而非总蛋白量的绝对变化。川芎油可能通过激活上游激酶[如蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA)、钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 IV (Ca²⁺/calmodulin dependent protein kinase type IV, CaMKIV) 等]优先促进 CREB 的磷酸化,从而在总蛋白量变化不大的情况下显著增强其转录活性^[31]。免疫荧光结果进一步支持了这一观点,海马 CA1 区 CREB 阳性信号增强,这可能反映了局部、细胞特异性或亚细胞水平的 CREB 表达或聚集变化,而 Western blotting 检测的则是整个海马组织的总蛋白,两者在敏感性及检测范围上存在差异^[32]。此外,川芎油还促进了海马组织中 5-HT、NE、DA 及 GABA 等单胺类及抑制性神经递质水平的恢复,显著纠正了 HPA 轴的过度激活状态。上述结果共同表明,川芎油通过调控

神经营养因子通路及神经递质系统,并结合对 HPA 轴功能的调节,实现了对抑郁状态的多层次干预。本研究通过引入 CREB 特异性抑制剂 666-15 进行逆向验证,发现 ip 666-15 足以诱发小鼠出现显著的抑郁样行为,印证了 CREB 信号通路在维持正常情绪状态中的重要作用^[28]。经鼻吸入川芎油能显著改善由 666-15 诱导的行为缺陷,表明川芎油的抗抑郁效应可能为通过上调 BDNF 及其受体 TrkB 的表达,激活未被 666-15 完全抑制的 CREB 分子或其他 CREB 家族成员;此外,也可能通过 CREB 非依赖的下游途径(如调控神经元突触相关蛋白),从而部分补偿、甚至绕过了药理水平的 CREB 抑制,最终实现神经保护与情绪改善^[9,33]。这凸显了川芎油通过 BDNF/TrkB/CREB 通路显著增强神经可塑性及其作用机制的多样性。

本研究观察到,经鼻吸入川芎油在改善中枢抑郁样行为的同时,亦能显著减轻远端结肠的炎症损伤、增强肠道屏障功能。有研究发现,CUMS 引起的 HPA 轴亢进是促进糖皮质激素的直接原因,且长期高糖皮质激素状态是损害肠道上皮紧密连接、增加肠黏膜通透性并诱发低度炎症的关键因素^[23,34-36]。本研究证实川芎油能在激活神经营养因子通路、增强神经可塑性的同时,降低血清中 CRH、ACTH、CORT 水平及结肠 BDNF 表达和促炎因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的表达,并上调紧密连接蛋白 ZO-1 和 Occludin 的表达。表明川芎油通过中枢途径(尤其是纠正 HPA 轴)有效缓解糖皮质激素对肠道的持续攻击,从而通过“脑-肠轴”这一自上而下的调控路径,为肠道屏障的修复和炎症的消退创造了决定性条件。川芎油还显著下调了肠道血管屏障标志蛋白 PV-1 的表达。已有研究表明,PV-1 的上调可能与肠道血管屏障损伤有关,从而导致肠道细菌或其代谢产物进入血液循环,引发全身性免疫应答及中枢小胶质细胞活化,进而加重焦虑及认知功能损害^[37-38]。因此,川芎油还可能通过“肠-脑轴”这一整体调控路径反向作用于中枢神经功能。

通过 16S rRNA 高通量测序分析,发现川芎油干预后可显著逆转厚壁菌门/拟杆菌门值异常上升的现象,降低了毛螺菌科 NK4A136 群的异常富集,恢复了拟杆菌属等有益菌的相对丰度^[39-40]。Spearman 相关性分析进一步揭示,拟杆菌门的丰度变化与肠道 BDNF 水平、海马 5-HT 水平呈显著正相关,而与肠道促炎因子呈显著负相关。表明川芎

油可能通过“脑-肠轴”作用改善肠道环境,进而促进有益菌属丰度的恢复,这些有益菌可能通过产生SCFAs等代谢产物,抑制炎症反应,从而参与“脑-肠轴”对抑郁样行为的整体改善^[41-42]。逆向验证实验结果显示,川芎油能有效拮抗666-15引发的肠道菌群紊乱,进一步支持了川芎油在调节肠道菌群方面的积极作用,并再次印证了其作用途径涵盖了“脑-肠”双向通讯。

本研究不仅从行为学及组织学层面证实了经鼻雾化吸入川芎油对CUMS抑郁模型小鼠的治疗效果,还在分子及系统层面上阐明了其潜在的作用路径,揭示了经鼻给药川芎油的多靶点抗抑郁机制,为中药活性成分的鼻腔给药提供了理论依据,为开发高效、安全的抗抑郁疗法开辟了新的方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Fang J L, Luo Y, Jin S H, *et al.* Ameliorative effect of anthocyanin on depression mice by increasing monoamine neurotransmitter and up-regulating BDNF expression [J]. *J Funct Foods*, 2020, 66: 103757.
- [2] Zhang Y L, Long Y, Yu S, *et al.* Natural volatile oils derived from herbal medicines: A promising therapy way for treating depressive disorder [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 164: 105376.
- [3] Chen B J, Li J J, Xie Y H, *et al.* Cang-ai volatile oil improves depressive-like behaviors and regulates DA and 5-HT metabolism in the brains of CUMS-induced rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 244: 112088.
- [4] Huang Y J, Lu K H, Lin Y E, *et al.* Garlic essential oil mediates acute and chronic mild stress-induced depression in rats via modulation of monoaminergic neurotransmission and brain-derived neurotrophic factor levels [J]. *Food Funct*, 2019, 10(12): 8094-8105.
- [5] Harmer C J, Duman R S, Cowen P J. How do antidepressants work? New perspectives for refining future treatment approaches [J]. *Lancet Psychiatry*, 2017, 4(5): 409-418.
- [6] Tabuteau H, Jones A, Anderson A, *et al.* Effect of AXS-05 (dextromethorphan-bupropion) in major depressive disorder: A randomized double-blind controlled trial [J]. *Am J Psychiatry*, 2022, 179(7): 490-499.
- [7] Murrough J W, Abdallah C G, Mathew S J. Targeting glutamate signalling in depression: Progress and prospects [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(7): 472-486.
- [8] Duman R S, Monteggia L M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders [J]. *Biol Psychiatry*, 2006, 59(12): 1116-1127.
- [9] Esvald E E, Tuvikene J, Sirp A, *et al.* CREB family transcription factors are major mediators of BDNF transcriptional autoregulation in cortical neurons [J]. *J Neurosci*, 2020, 40(7): 1405-1426.
- [10] Simpson C A, Diaz-Arteche C, Eliby D, *et al.* The gut microbiota in anxiety and depression-A systematic review [J]. *Clin Psychol Rev*, 2021, 83: 101943.
- [11] Mayneris-Perxachs J, Castells-Nobau A, Arnoriaga-Rodríguez M, *et al.* Microbiota alterations in proline metabolism impact depression [J]. *Cell Metab*, 2022, 34(5): 681-701.
- [12] Foster J A, Rinaman L, Cryan J F. Stress & the gut-brain axis: Regulation by the microbiome [J]. *Neurobiol Stress*, 2017, 7: 124-136.
- [13] Koyama S, Heinbockel T. The effects of essential oils and terpenes in relation to their routes of intake and application [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(5): 1558.
- [14] Cui J Q, Li M, Wei Y Y, *et al.* Inhalation aromatherapy via brain-targeted nasal delivery: Natural volatiles or essential oils on mood disorders [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 860043.
- [15] 龙宇, 张定堃, 郑川, 等. 川芎治疗脑卒中的理论溯源及研究进展 [J]. *中草药*, 2024, 55(18): 6372-6382.
- [16] Guo J M, Duan J N, Shang E X, *et al.* Determination of ligustilide in rat brain after nasal administration of essential oil from *Rhizoma Chuanxiong* [J]. *Fitoterapia*, 2009, 80(3): 168-172.
- [17] 吕小琴, 刘清泉. “越鞠丸, 解诸郁”详解 [J]. *环球中医药*, 2018, 11(5): 729-731.
- [18] Li D, Long Y, Yu S, *et al.* Research advances in cardio-cerebrovascular diseases of *Ligusticum chuanxiong* Hort [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 12: 832673.
- [19] Hu Y, He X F, Wu Y Y, *et al.* Sedative-hypnotic effect and mechanism of carbon nanofiber loaded with essential oils of *Ligusticum chuanxiong* (*Ligusticum chuanxiong* Hort.) and finger citron (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*) on mice models of insomnia [J]. *Biomolecules*, 2024, 14(9): 1102.
- [20] Liu S J, Fu J J, Liao Z Y, *et al.* Z-ligustilide alleviates atherosclerosis by reconstructing gut microbiota and sustaining gut barrier integrity through activation of cannabinoid receptor 2 [J]. *Phytomedicine*, 2024, 135: 156117.
- [21] Zeng J S, Ji Y F, Luan F, *et al.* Xiaoyaosan ethyl acetate fraction alleviates depression-like behaviors in CUMS mice by promoting hippocampal neurogenesis via modulating the IGF-1R β /PI3K/Akt signaling pathway [J].

- J Ethnopharmacol*, 2022, 288: 115005.
- [22] Wang S, Wang C H, Yu Z X, *et al.* Agarwood essential oil ameliorates restrain stress-induced anxiety and depression by inhibiting HPA axis hyperactivity [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3468.
- [23] Zhu R Z, Zhao X Q, Wu H, *et al.* Psychobiotics *Lactiplantibacillus plantarum* JYLP-326: Antidepressant-like effects on CUMS-induced depressed mouse model and alleviation of gut microbiota dysbiosis [J]. *J Affect Disord*, 2024, 354: 752-764.
- [24] Lu R R, Zhang L, Wang H H, *et al.* Echinacoside exerts antidepressant-like effects through enhancing BDNF-CREB pathway and inhibiting neuroinflammation via regulating microglia M1/M2 polarization and JAK1/STAT3 pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 13: 993483.
- [25] Rodríguez-Landa J F, Olmos-Vázquez O J, Quiñonez-Bailón C F, *et al.* Genistein reduces anxiety-like behavior during metestrus-diestrus phase without changing estradiol or progesterone levels in wistar rats [J]. *Metabolites*, 2025, 15(5): 311.
- [26] Liu E Y, Yang C L, Tsai J C, *et al.* Antidepressive mechanisms of rhynchophylline in mice with chronic unpredictable stress-induced depression [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 309: 116302.
- [27] Wang Y L, Wu H R, Zhang S S, *et al.* Catalpol ameliorates depressive-like behaviors in CUMS mice via oxidative stress-mediated NLRP3 inflammasome and neuroinflammation [J]. *Transl Psychiatry*, 2021, 11: 353.
- [28] Gao C, Wu M L, Du Q H, *et al.* Naringin mediates adult hippocampal neurogenesis for antidepression via activating CREB signaling [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 731831.
- [29] Lochhead J J, Davis T P. Perivascular and perineural pathways involved in brain delivery and distribution of drugs after intranasal administration [J]. *Pharmaceutics*, 2019, 11(11): 598.
- [30] Li H T, Li Y H, Zhang X F, *et al.* The combination of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg and *Aucklandia costus* Falc. volatile oils exerts antidepressant effects in a CUMS-induced rat model by regulating the HPA axis and levels of neurotransmitters [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 11: 614413.
- [31] Wang Y H, Liang Z H, Song W Y, *et al.* Traxoprodil produces antidepressant-like behaviors in chronic unpredictable mild stress mice through BDNF/ERK/CREB and AKT/FOXO/Bim signaling pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2023, 2023(1): 1131422.
- [32] Vilibic-Cavlek T, Barbic L, Stevanovic V, *et al.* Comparison of indirect immunofluorescence and western blot method in the diagnosis of hantavirus infections [J]. *World J Methodol*, 2021, 11(6): 294-301.
- [33] Juhasz G, Dunham J S, McKie S, *et al.* The CREB1-BDNF-NTRK2 pathway in depression: Multiple gene-cognition-environment interactions [J]. *Biol Psychiatry*, 2011, 69(8): 762-771.
- [34] Vanuytsel T, van Wanrooy S, Vanheel H, *et al.* Psychological stress and corticotropin-releasing hormone increase intestinal permeability in humans by a mast cell-dependent mechanism [J]. *Gut*, 2014, 63(8): 1293-1299.
- [35] Muller P A, Schneeberger M, Matheis F, *et al.* Microbiota modulate sympathetic neurons via a gut-brain circuit [J]. *Nature*, 2020, 583(7816): 441-446.
- [36] Herselman M F, Bailey S, Bobrovskaya L. The effects of stress and diet on the “brain-gut” and “gut-brain” pathways in animal models of stress and depression [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(4): 2013.
- [37] Bertocchi A, Carloni S, Ravenda P S, *et al.* Gut vascular barrier impairment leads to intestinal bacteria dissemination and colorectal cancer metastasis to liver [J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(5): 708-724.e11.
- [38] Carloni S, Bertocchi A, Mancinelli S, *et al.* Identification of a choroid plexus vascular barrier closing during intestinal inflammation [J]. *Science*, 2021, 374(6566): 439-448.
- [39] Li B Z, Yan Y Q, Zhang T G, *et al.* Quercetin reshapes gut microbiota homeostasis and modulates brain metabolic profile to regulate depression-like behaviors induced by CUMS in rats [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1362464.
- [40] Wang P, Ouyang H, Bi G F, *et al.* Schisandrol B alleviates depression-like behavior in mice by regulating bile acid homeostasis in the brain-liver-gut axis via the pregnane X receptor [J]. *Phytomedicine*, 2025, 137: 156340.
- [41] Peng Y Q, Du Y, Zhang Y Y, *et al.* Gegen Qinlian decoction alleviates depression-like behavior by modulating the gut microenvironment in CUMS rats [J]. *BMC Complementary Med Ther*, 2024, 24(1): 339.
- [42] Liu Q, Ding P, Zhu Y, *et al.* Super *Astragalus* polysaccharide in specific gut microbiota metabolism alleviates chronic unpredictable mild stress-induced cognitive deficits mice [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 283: 137394.