

# P2X7 受体抑制剂对青春期创伤后应激障碍大鼠行为及肠道菌群的影响

徐晶晶,王新起,张洋,许旺旺,高进

(山东大学齐鲁医院(青岛)心理科,山东 青岛 266035)

**摘要:**目的 探讨嘌呤能离子通道型7(purinergic ligand-gated ion channel 7, P2X7)受体抑制剂对青春期创伤后应激障碍(post-traumatic stress disorder, PTSD)大鼠行为及肠道菌群的影响。方法 3周龄雄性Wistar大鼠按随机数字表法分为对照组、模型组和抑制剂组。通过单一延长应激和情景恐惧条件反射方法构建PTSD动物模型,并在应激后早期腹腔注射P2X7受体抑制剂亮蓝G进行干预。采用行为学实验评估大鼠行为表现,通过宏基因组绝对定量测序检测粪便菌群变化。结果 与模型组相比,P2X7受体抑制剂显著缩短大鼠僵住时间( $P=0.0499$ ),增加开放臂停留时间百分比( $P=0.004$ ),提升中央区域运动距离和停留时间百分比( $P=0.001$ ,  $P=0.003$ ),以及自发交替正确率( $P=0.008$ )。宏基因组绝对定量测序分析显示,P2X7受体抑制剂显著增加肠道菌群的总丰度( $P=0.003$ ),尤其是厚壁菌门( $P=0.002$ )、毛螺菌科( $P=0.006$ )和颤螺菌科( $P=0.003$ )的绝对丰度,并影响脂质代谢、异种生物降解和代谢、辅酶因子和维生素代谢等功能。此外,Spearman相关性分析显示,差异菌群的绝对丰度与PTSD样行为显著相关。结论 应激后早期给予P2X7受体抑制剂干预能够显著改善青春期大鼠的PTSD样行为,其作用可能与调节肠道菌群的总丰度、组成及代谢功能有关。

**关键词:**嘌呤能离子通道型7受体抑制剂;创伤后应激障碍;青春期;肠道菌群;宏基因组绝对定量测序

中图分类号:R395

文献标志码:A

## Effects of P2X7 receptor inhibitors on behaviour and gut microbiota in adolescent rats with post-traumatic stress disorder

XU Jingjing, WANG Xinqi, ZHANG Yang, XU Wangwang, GAO Jin

(Department of Clinical Psychology, Qilu Hospital (Qingdao), Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Qingdao 266035, Shandong, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effects of the purinergic ligand-gated ion channel 7 (P2X7) receptor inhibitor on behaviour and gut microbiota in adolescent rats with post-traumatic stress disorder (PTSD). **Methods** Three-week-old male Wistar rats were randomly assigned to three groups: control group, model group, and inhibitor group. An animal model of PTSD was established using single prolonged stress and contextual fear conditioning. Following stress induction, early intervention was administered via intraperitoneal injection of the P2X7 receptor inhibitor Brilliant Blue G. Behavioural tests were conducted to assess the rats' behaviour and metagenomic absolute quantification sequencing was employed to analyse alterations in the fecal microbiota. **Results** Compared to the model group, the P2X7 receptor inhibitor significantly reduced freezing time ( $P=0.0499$ ), increased the percentage of time spent in the open arms ( $P=0.004$ ), increased both movement distance and time spent in the central area ( $P=0.001$ ,  $P=0.003$ ), and improved the accuracy of spontaneous alternation ( $P=0.008$ ). Analysis of metagenomic absolute quantification sequencing revealed that the P2X7 receptor inhibitor increased the overall abundance of the gut microbiota ( $P=0.003$ ), particularly the absolute abundances of Bacillota ( $P=0.002$ ), Lachnospiraceae ( $P=0.006$ ) and Oscillospiraceae ( $P=0.003$ ). In

addition, metabolic functions including lipid metabolism, biodegradation and metabolism of xenobiotics, and metabolism of cofactors and vitamins were affected. Furthermore, Spearman correlation analysis revealed a significant association between the absolute abundances of the different microbiota and PTSD-like behaviour. **Conclusion** Early intervention with the P2X7 receptor inhibitor after stress exposure can significantly alleviate PTSD-like behaviour in adolescent rats. These effects may be related to modulation of the overall abundance, composition, and metabolic functions of the gut microbiota.

**Key words:** Purinergic ligand-gated ion channel 7 receptor inhibitor; Post-traumatic stress disorder; Adolescent; Gut microbiota; Metagenomic absolute quantification sequencing

创伤后应激障碍 (post-traumatic stress disorder, PTSD) 是一种常见且严重的精神障碍<sup>[1]</sup>, 青少年 PTSD 常伴随抑郁症和物质滥用, 显著增加自杀风险<sup>[2-3]</sup>。当前, 治疗青少年 PTSD 的方法主要包括心理治疗和选择性血清素再摄取抑制剂, 但其疗效尚不明确<sup>[4]</sup>。因此, 迫切需要探索新的治疗策略以改善青少年 PTSD 患者的症状。

肠道微生物通过调节免疫反应、应激反应和神经递质信号通路, 可能在 PTSD 的发病机制中扮演重要角色<sup>[5]</sup>。PTSD 易感大鼠的肠道微生物组成在属水平上显著变化, 这些变化与大鼠的焦虑指数密切相关<sup>[6]</sup>。此外, PTSD 患者的肠道菌群多样性和组成也显著变化, 并与认知功能障碍密切相关<sup>[7]</sup>。值得注意的是, 肠道微生物群的成熟与神经系统的发育同步进行, 青春期肠道微生物失调可能对大脑发育和行为产生深远影响<sup>[8]</sup>。因此, 深入探讨肠道微生物在行为调节中的作用, 有助于为青少年 PTSD 的治疗提供新的理论依据和临床干预策略。嘌呤能离子通道型 7 (purinergic ligand-gated ion channel 7, P2X7) 受体是一种三磷酸腺苷门控的非选择性阳离子通道, 广泛分布于多种免疫细胞、内皮细胞和上皮细胞<sup>[9]</sup>。研究指出, P2X7 受体在调节肠道微生物组成及维持肠道稳态中发挥关键作用, 不仅影响宿主的免疫反应, 还能改变微生物群落的组成与功能<sup>[10]</sup>。例如, 在酒精性肝损伤小鼠模型中, 腹腔注射 P2X7 受体抑制剂亮蓝 G 和 A438079 能够有效逆转酒精诱导的肠道损伤及微生物改变<sup>[11]</sup>。已有证据表明, P2X7 受体的激活可引发中枢及外周炎症, 促进成年大鼠出现 PTSD 样表现, 而使用 P2X7 受体抑制剂能有效减轻这些不良行为<sup>[12]</sup>。尽管如此, 目前针对 P2X7 受体抑制剂在青春期创伤后应激引发的 PTSD 相关行为及对肠道微生物变化影响的研究仍显不足。因此, 深入探索这一领域不仅可以填补现有研究的空白, 还有助于加深对青少年 PTSD 发病机制的理解, 为临床干预策

略提供新的理论支持。

以往对疾病及肠道微生物的研究多采用相对丰度分析, 这种方法可能会忽视样本间微生物总量的实际差异, 导致分析结果偏差<sup>[13]</sup>。本研究采用宏基因组绝对定量测序技术, 旨在提供更高的精确性与可靠性, 真实反映肠道菌群的丰度和组成, 为研究青春期创伤后应激及早期应用 P2X7 受体抑制剂干预的效果提供坚实数据支持。本研究以青春期 Wistar 大鼠为研究对象, 采用单一延长应激和情景恐惧条件反射方法建立 PTSD 动物模型。在应激后的早期阶段, 通过腹腔注射 P2X7 受体抑制剂亮蓝 G 进行干预, 评估其对模型大鼠行为表现、肠道菌群组成及功能的影响, 深入探讨 P2X7 受体抑制剂改善青春期大鼠 PTSD 相关行为的机制, 为揭示青少年 PTSD 的发病机制、开发治疗此病的新药提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物和主要试剂

21 只 3 周龄无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级雄性 Wistar 大鼠, 购自济南朋悦实验动物繁育有限公司, 饲养于山东大学齐鲁医院 (青岛) 实验动物中心的 SPF 级动物房。亮蓝 G 购自美国 Sigma 公司。本研究方案已获山东大学齐鲁医院 (青岛) 医学伦理委员会批准 (批准号: KYDWLL-202428)。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 动物模型的建立及给药方案

Wistar 大鼠在适应性饲养 1 周后, 按随机数字表法分为对照组、模型组和抑制剂组, 每组各 7 只。模型组和抑制剂组采用单一延长应激和情景恐惧条件反射的方法建立 PTSD 模型, 具体程序如下<sup>[14]</sup>: 束缚 2 h; 强迫游泳 20 min; 休息 15 min 后给予异氟烷麻醉至意识丧失; 苏醒后放置于恐惧实验箱中, 在 15 min 内进行 10 次足底电击 (1 mA, 6 s)。建模后

的第2天,抑制剂组大鼠接受腹腔注射 50 mg/kg 的亮蓝 G 溶液,持续 2 周。已有研究表明,连续 7 d 或每周 6 d、共 3 周的 50 mg/kg 亮蓝 G 的腹腔注射显著改善抑郁模型大鼠的行为表现<sup>[15-16]</sup>。模型组大鼠每天接受等剂量的生理盐水腹腔注射,对照组大鼠仅进行常规饲养而不予处理。

### 1.2.2 行为学测试

条件性恐惧实验用于评估大鼠的恐惧程度,将大鼠置于恐惧试验箱中,记录其在 6 min 内的活动,分析僵住时间。高架十字迷宫实验用于评估大鼠的焦虑样行为,将大鼠头朝一侧的开放臂放置于迷宫中央平台区,记录其在 5 min 内的活动,分析在开放臂的停留时间百分比。旷场实验用于评估大鼠的焦虑样行为,将大鼠放置于旷场中心,记录其在 5 min 内的活动,分析中央区域的运动距离和停留时间百分比。Y 迷宫实验用于评估大鼠的空间工作记忆能力,将大鼠放置在其中一臂末端,记录其在 5 min 内的活动,分析自发交替的正确率。

### 1.2.3 粪便样本的收集及宏基因组绝对定量测序

使用 1.5 mL 无菌离心管收集大鼠的新鲜粪便,液氮速冻后储存在 -80 °C 冰箱。每组随机选取 5 个样本送至上海天昊生物科技有限公司进行宏基因组绝对定量测序。使用 FastDNA<sup>®</sup> SPIN Kit 提取粪便基因组 DNA,并通过琼脂糖凝胶电泳和 Qubit 3.0 荧光计检测 DNA 的完整性及浓度。按总 DNA 质量的 0.1% 加入由 9 种随机序列组成的内标,确保覆盖 4 个 10 倍稀释的浓度梯度,混匀后用 Covaris ME220 进行片段化处理。片段化的 DNA 经末端修复、加 A 尾和接头连接后,构建测序文库,使用 MagicPure<sup>®</sup> Beads 筛选 500~600 bp 片段。通过 Agilent 2100 生物分析仪和 Kapa Library Quantification Kit 检测文库质量和浓度,最终在 Illumina NovaSeq 6000 平台上进行 150 bp 双端测序。测序

数据中,识别并移除内标序列,基于浓度梯度绘制标准曲线,计算样本中基因片段的绝对拷贝数,并进行物种及功能注释分析。

### 1.3 统计学处理

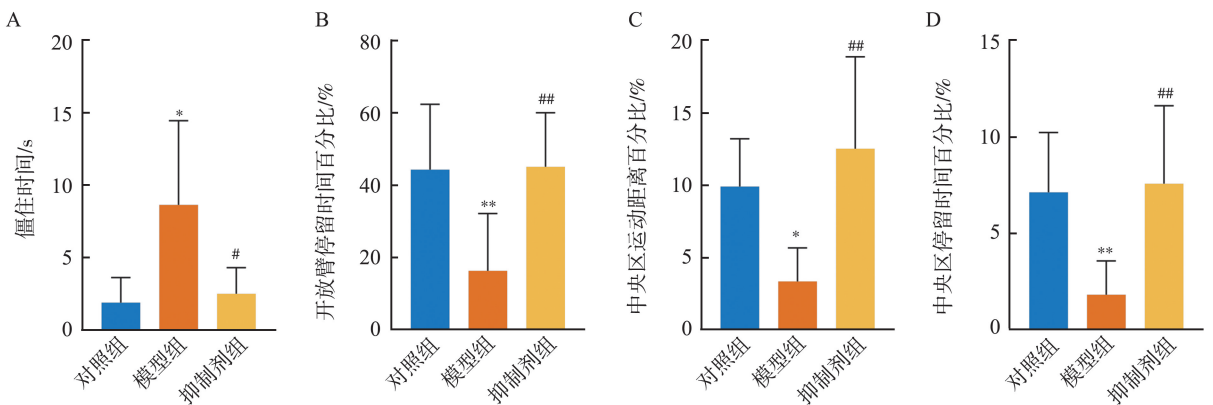
采用 SPSS 26.0 和 R 4.2 软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示。依据数据分布类型,多组间的比较采用单因素方差分析及 LSD 事后多重比较,或 Kruskal-Wallis 检验与 Bonferroni 事后检验。利用基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析(principal coordinate analysis, PCoA) 和非度量多维尺度分析(nonmetric multidimensional scaling, NMDS) 考察肠道菌群 Beta 多样性差异,使用置换多因素方差分析(permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA) 评估组间差异的显著性, Spearman 相关性分析确定差异肠道菌群绝对丰度与行为学指标之间的相关性。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 应激后早期应用 P2X7 受体抑制剂干预对青春期 PTSD 大鼠行为表现的影响

#### 2.1.1 亮蓝 G 改善青春期 PTSD 大鼠的恐惧和焦虑样行为

与对照组相比,模型组大鼠在条件性恐惧实验中的僵住时间显著增加( $P = 0.011$ ),在高架十字迷宫实验中的开放臂停留时间百分比显著下降( $P = 0.005$ ),在旷场实验中的中央区域运动距离和停留时间百分比显著降低( $P = 0.011, P = 0.005$ )。与模型组相比,抑制剂组大鼠的僵住时间显著缩短( $P = 0.0499$ ),开放臂停留时间百分比显著增加( $P = 0.004$ ),中央区域运动距离和停留时间百分比显著提高( $P = 0.001, P = 0.003$ ),见图 1。



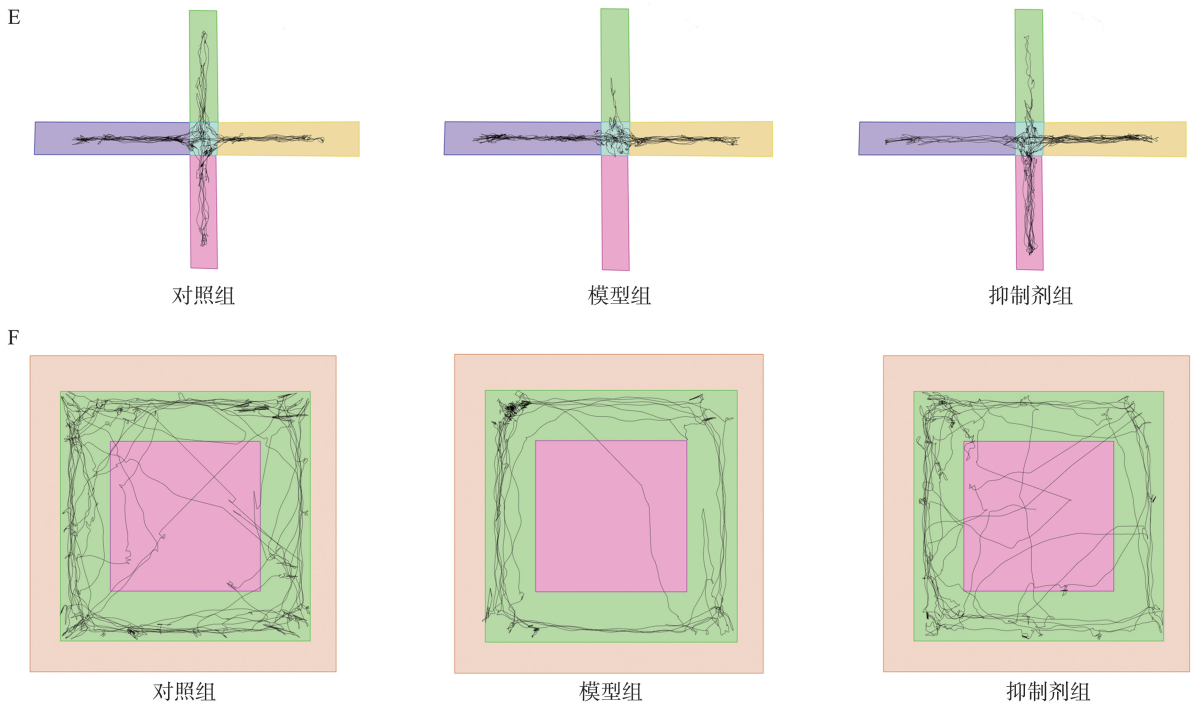


图1 亮蓝 G 对青春期 PTSD 大鼠恐惧和焦虑样行为的影响

A: 条件性恐惧实验中僵住时间; B: 高架十字迷宫实验中开放臂停留时间百分比; C: 旷场实验的中央区域运动距离百分比; D: 旷场实验的中央区域停留时间百分比; E: 大鼠高架十字迷宫实验轨迹图; F: 大鼠旷场实验轨迹图。

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs. 对照组; # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$  vs. 模型组

Figure 1 Effects of Brilliant Blue G on fear and anxiety-like behaviours in adolescent rats with PTSD

A: Freezing time in the fear conditioning test; B: The percentage of time spent in the open arms in the elevated plus maze test; C: The percentage of movement distance in the central area in the open field test; D: The percentage of time spent in the central area in the open field test; E: The representative trajectories of rats in the elevated plus maze test; F: The representative trajectories of rats in the open field test.

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

### 2.1.2 亮蓝 G 改善青春期 PTSD 大鼠的空间工作记忆能力

与对照组相比,模型组大鼠的自发交替正确率显著下降( $P = 0.003$ )。与模型组相比,抑制剂组大鼠的自发交替正确率显著提高( $P = 0.008$ ),见图 2。

## 2.2 应激后早期应用 P2X7 受体抑制剂干预对青春期 PTSD 大鼠肠道菌群的影响

### 2.2.1 Alpha 多样性分析

三组大鼠的 Observed\_species 指数( $P = 0.566$ )、Chao1 指数( $P = 0.961$ )和 Shannon 指数( $P = 0.878$ )比较,差异均无统计学意义,见表 1。这表明青春期创伤后应激经历和 P2X7 受体抑制剂对大鼠肠道微生物的物种丰富度及多样性均无显著影响。

表 1 各组大鼠肠道菌群 Alpha 多样性分析( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Table 1 Alpha diversity analysis of gut microbiota in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	Observed_species 指数	Chao1 指数	Shannon 指数
对照组	13 063.600±204.478	10 814.072±412.524	6.878±0.044
模型组	12 916.600±399.783	10 724.808±502.557	6.768±0.246
抑制剂组	12 993.600±333.343	10 827.626±228.450	6.823±0.104

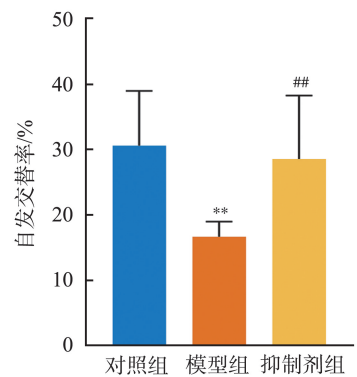


图2 亮蓝 G 对青春期 PTSD 大鼠空间工作记忆能力的影响  
\*\* $P < 0.01$  vs. 对照组; ## $P < 0.01$  vs. 模型组

Figure 2 Effects of Brilliant Blue G on spatial working memory ability in adolescent rats with PTSD  
\*\* $P < 0.01$  vs. control group; ## $P < 0.01$  vs. model group

### 2.2.2 Beta 多样性分析

PCoA 和 NMDS 分析结果显示,模型组的样本明显偏离对照组 ( $P = 0.046$ , PERMANOVA); 抑制剂组的样本明显偏离模型组 ( $P = 0.009$ , PERMANOVA), 但与对照组的样本相距较近 ( $P =$

$0.195$ , PERMANOVA)。这表明,青春期创伤后应激经历导致大鼠肠道菌群结构显著变化,而早期应用 P2X7 受体抑制剂干预能显著影响模型组大鼠的肠道菌群,使其结构更接近对照组,见图 3。

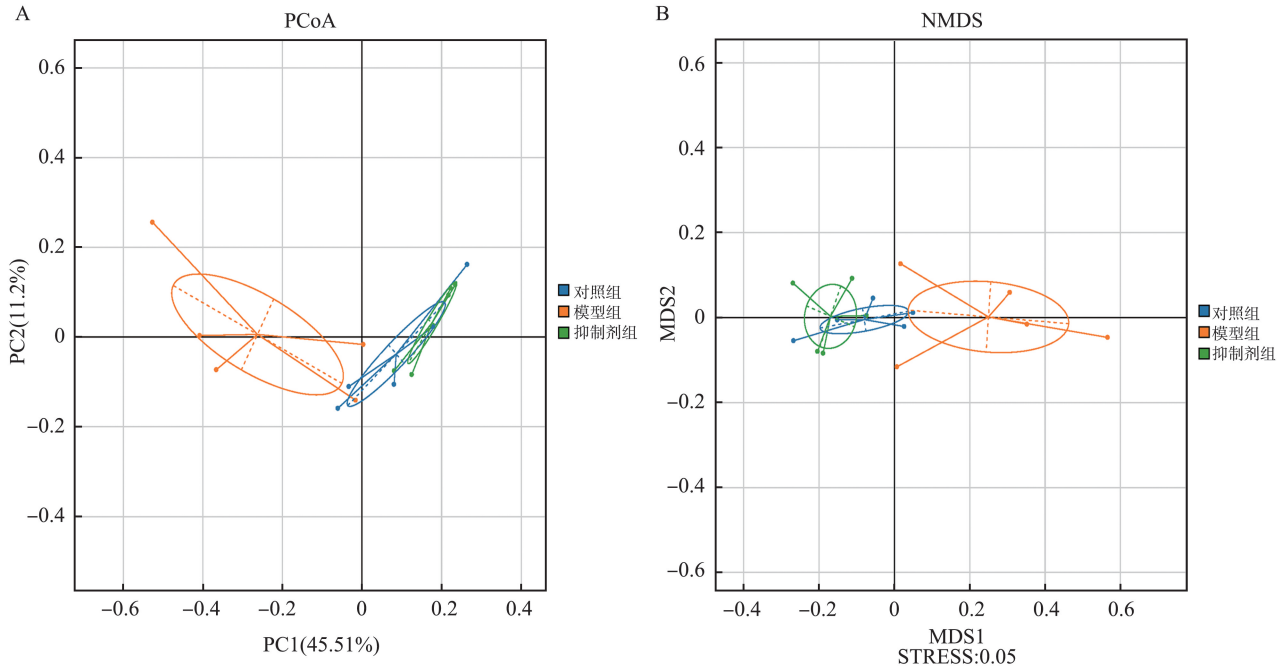


图3 各组大鼠肠道菌群 Beta 多样性分析

A: PCoA 分析; B: NMDS 分析。

Figure 3 Beta diversity analysis of gut microbiota in each group

A: PCoA analysis; B: NMDS analysis.

### 2.2.3 基于门水平的群落组成分析

在门水平上绝对丰度排名前 5 的菌群分布展示,见图 4A。结果表明,各组大鼠的主要优势菌门为厚壁菌门(Bacillota)和拟杆菌门(Bacteroidota),肠道菌群的总丰度和物种组成存在显著差异。与对照组相比,模型组的肠道菌群总丰度 ( $P = 0.015$ )、厚壁菌门 ( $P = 0.012$ ) 和放线菌门(Actinomycetota) ( $P = 0.006$ ) 的绝对丰度显著降低。而抑制剂组的菌群总丰度 ( $P = 0.003$ ) 和厚壁菌门 ( $P = 0.002$ ) 的绝对丰度则显著升高。这些结果提示,青春期创伤后应激经历显著改变了大鼠肠道菌群的总丰度及门水平上的物种绝对丰度,而早期应用 P2X7 受体抑制剂干预可以逆转绝大部分这些变化。

### 2.2.4 基于科水平的群落组成分析

在科水平上绝对丰度排名前 20 的菌群分布展示,见图 4B。结果显示,各组大鼠主要的优势菌科为毛螺菌科(Lachnospiraceae)和颤螺菌科

(Oscillospiraceae)。与对照组相比,模型组的毛螺菌科 ( $P = 0.018$ )、颤螺菌科 ( $P = 0.018$ )、鼠杆菌科(Muribaculaceae) ( $P = 0.021$ )、Acutalibacteraceae ( $P = 0.041$ )、乳杆菌科(Lactobacillaceae) ( $P = 0.017$ )、消化链球菌科(Peptostreptococcaceae) ( $P = 0.003$ ) 和埃格特菌科(Eggerthellaceae) ( $P = 0.014$ ) 绝对丰度显著降低。而抑制剂组的毛螺菌科 ( $P = 0.006$ )、颤螺菌科 ( $P = 0.003$ )、鼠杆菌科 ( $P = 0.006$ )、Acutalibacteraceae ( $P = 0.006$ )、瘤胃球菌科(Ruminococcaceae) ( $P = 0.027$ )、理研菌科(Rikenellaceae) ( $P = 0.003$ )、坦纳菌科(Tannerellaceae) ( $P = 0.040$ )、UBA1381 ( $P = 0.017$ ) 和消化链球菌科 ( $P = 0.014$ ) 的绝对丰度显著升高。这表明青春期创伤后应激经历显著改变了大鼠肠道菌群科水平上的绝对丰度,而早期应用 P2X7 受体抑制剂干预有效逆转了这些变化。

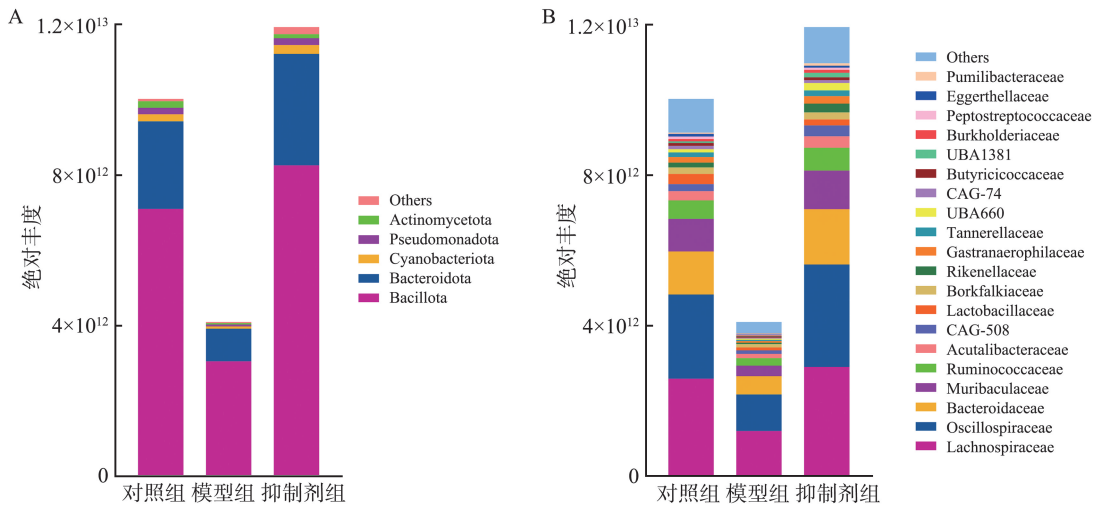


图4 各组大鼠肠道菌群在门水平和科水平上的物种组成柱状图

A: 门水平的物种绝对丰度柱状图; B: 科水平的物种绝对丰度柱状图。

Figure 4 Species barplot of the gut microbiota at the phylum and family levels in each group

A: Barplot of the absolute abundance of species at the phylum level; B: Barplot of the absolute abundance of species at the family level.

### 2.2.5 差异功能分析

将基因核酸序列比对到京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 数据库, 排名前6的差异代谢通路展示, 见图5。结果表明, 青春期创伤后应激经历显著影响

异种生物降解和代谢功能。而早期应用 P2X7 受体抑制剂干预显著改善脂质代谢、异种生物降解和代谢、辅酶因子和维生素代谢、核苷酸代谢、能量代谢和氨基酸代谢等功能。

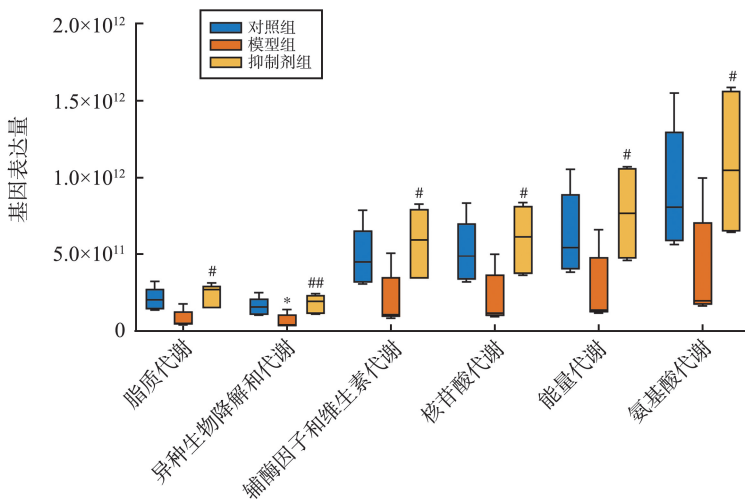


图5 菌群差异代谢通路分析

\* $P < 0.05$  vs. 对照组; # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$  vs. 模型组。

Figure 5 Analysis of differential metabolic pathways of the microbiota

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

### 2.3 肠道菌群物种组成与 PTSD 样行为相关性分析

为了进一步研究 P2X7 受体抑制剂干预过程中肠道菌群调控与 PTSD 样行为的相关性, 我们分析了差异菌群与行为学指标的相关性。Spearman 相关性分析热图显示, 厚壁菌门的绝对丰度与僵住时间呈显著负相关 ( $r = -0.610, P = 0.016$ ), 与中央区

停留时间呈显著正相关 ( $r = 0.539, P = 0.038$ )。毛螺菌科的绝对丰度与僵住时间呈显著负相关 ( $r = -0.574, P = 0.025$ )。颤螺菌科的绝对丰度与僵住时间呈显著负相关 ( $r = -0.551, P = 0.033$ ), 与中央区停留时间呈显著正相关 ( $r = 0.582, P = 0.023$ )。鼠杆菌科的绝对丰度与僵住时间呈显著负相关 ( $r = -0.653, P = 0.008$ ), 与中央区停留时间呈显著正相

关( $r=0.514, P=0.0498$ )。理研菌科的绝对丰度与僵住时间呈显著负相关( $r=-0.712, P=0.003$ ),与自发交替正确率呈显著正相关( $r=0.579, P=0.024$ )。坦纳菌科的绝对丰度与僵住时间呈显著负相关( $r=-0.669, P=0.006$ )。UBA1381的绝对丰度与僵住时间呈显著负相关( $r=-0.563, P=0.029$ )。

消化链球菌科的绝对丰度与僵住时间呈显著负相关( $r=-0.771, P=0.001$ ),与自发交替正确率呈显著正相关( $r=0.539, P=0.038$ ),见图6。结果提示,P2X7受体抑制剂改善青春期大鼠PTSD相关行为的作用可能与调节上述关键菌群的绝对丰度有关。

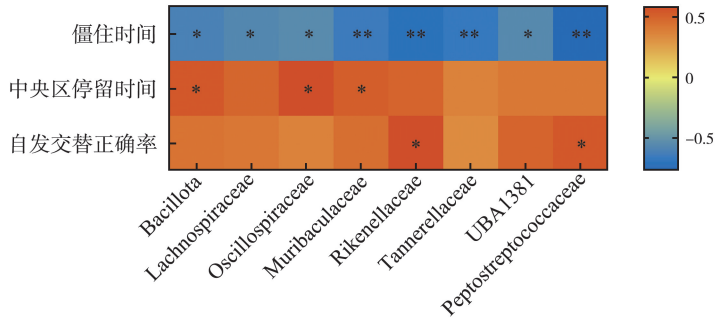


图6 肠道菌群与行为学指标的相关性热图(\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ )

Figure 6 Correlation heatmap between gut microbiota and behavioural indicators(\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ )

### 3 讨论

本研究揭示了P2X7受体在青春期创伤后应激引发的PTSD相关行为及肠道菌群调节中的关键作用,青春期创伤后应激经历导致大鼠出现显著的恐惧、焦虑样行为和空间工作记忆能力受损,同时伴随肠道菌群组成和代谢功能的明显紊乱。早期应用P2X7受体抑制剂干预显著改善了这些PTSD相关行为,并有效恢复了肠道菌群的组成和代谢功能。

以往研究表明<sup>[12]</sup>,P2X7受体抑制剂能显著改善成年大鼠的PTSD样行为。本研究首次评估了P2X7受体抑制剂对青春期PTSD模型大鼠行为的影响,结果显示相较于模型组,抑制剂组大鼠的僵住时间显著缩短,开放臂停留时间增加,中央区域的运动距离和停留时间显著提升,自发交替正确率也显著上调。这些结果表明,早期应用P2X7受体抑制剂干预能够有效改善青春期PTSD大鼠的恐惧和焦虑,不仅对行为有积极影响,还有助于认知功能的恢复,为其在青少年PTSD干预中的临床应用提供了理论基础。

近年来,肠道菌群的紊乱被认为与PTSD的发生密切相关。而关于P2X7受体抑制剂在PTSD干预中对肠道菌群的影响,尚无相关研究。本研究采用宏基因组绝对定量测序技术,能够准确反映样本中各微生物的丰度和组成,避免相对分析可能引起的偏差。研究结果显示,厚壁菌门和拟杆菌门是主要的优势菌门,这与青少年群体的肠道微生物组成相似<sup>[17]</sup>。经历青春期创伤后应激后,大鼠的肠道微

生物总丰度显著降低,这一变化在相对定量分析中往往难以察觉。具体而言,模型组大鼠的厚壁菌门及其下属的毛螺菌科、颤螺菌科和消化链球菌科,以及拟杆菌门的鼠杆菌科的绝对丰度均显著降低。此外,这些菌群的绝对丰度与恐惧、焦虑样行为和空间工作记忆能力显著相关。Liang等<sup>[18]</sup>研究发现与本研究结果相一致,厚壁菌门的菌群与焦虑症状的严重程度显著相关。在睡眠剥夺模型动物中,焦虑样行为和记忆功能下降伴随厚壁菌门和颤螺菌科的丰度降低<sup>[19]</sup>。毛螺菌科和鼠杆菌科菌群的变化与焦虑样行为密切相关<sup>[20]</sup>。伴有焦虑症状的抑郁症患者的消化链球菌科的相对比例显著低于无焦虑症状的患者<sup>[21]</sup>。本研究结果还表明,早期使用P2X7受体抑制剂干预能显著恢复肠道菌群的总丰度及各菌落的绝对丰度。这一发现支持了P2X7受体抑制剂通过调节肠道微生物来改善PTSD相关行为的假设,强调了其在调节肠道菌群及改善行为方面的潜在应用。

肠道微生物的代谢作用及其代谢产物通过微生物-肠-脑轴促进肠道与大脑之间的交流<sup>[22]</sup>。这一机制为理解肠道健康与心理健康之间的关系提供了重要基础。微生物群体的代谢产物,如色氨酸、短链脂肪酸和次级胆汁酸等,在调节宿主神经系统和免疫功能方面发挥关键作用<sup>[23]</sup>。本研究发现,抑制剂组与模型组大鼠在多条代谢通路上存在显著差异,主要涉及脂质代谢、异种生物降解和代谢、辅酶因子和维生素代谢、核苷酸代谢、能量代谢和氨基酸代谢。Mellon等<sup>[24]</sup>研究也表明,PTSD患者在这些代谢通路上存在紊乱。有研究指出,慢性应激诱导的青春期抑郁模型大鼠的肠道菌群代谢紊乱相较于成

年大鼠更为严重,主要以异种生物降解和代谢及免疫系统紊乱为特征<sup>[25]</sup>,提示青春期阶段在精神障碍发病机制中具有独特性。本研究结果显示,相较于对照组,模型组出现了显著的异种生物降解和代谢紊乱,提示这些变化在青春期 PTSD 的发病机制中起着关键作用。在后续研究中,我们计划比较 P2X7 受体抑制剂对青春期与成年 PTSD 大鼠肠道菌群及代谢功能的影响,以探讨其在改善青少年 PTSD 中的潜在优势。这将为未来的临床应用和个性化干预方案设计提供重要的理论支持。然而,尽管确认了这些菌群和代谢通路的差异,仍需进一步研究这些改变的具体病理机制,以深入理解其在青少年 PTSD 治疗中的潜在意义。我们推测,P2X7 受体抑制剂可能通过以下途径发挥作用:调节 T 滤泡辅助细胞的丰度,影响分泌型免疫球蛋白 A 的产生,从而重塑肠道微生物结构,促进代谢稳态<sup>[10]</sup>;调节 T 细胞功能,改善肠道屏障功能,从而影响肠道微生物的组成<sup>[26-27]</sup>。虽然已有文献支持这些推测,但关于 P2X7 受体抑制剂对肠道菌群组成及其代谢功能的具体作用机制仍需深入研究。

尽管本研究为青少年 PTSD 的发病机制和治疗提供了重要见解,但仍存在一些局限性:①研究主要基于动物模型,未来的临床研究需验证这些结果的外部有效性;②本研究的样本量相对较小,应扩大样本量以提高统计能力和结论的可靠性。

综上所述,本研究表明,青春期创伤后应激经历会导致大鼠出现 PTSD 相关行为,同时伴随肠道菌群的总丰度、组成和代谢功能的紊乱。早期应用 P2X7 受体抑制剂干预能够有效改善这些症状,并恢复肠道菌群组成及其代谢功能。该发现不仅为深入理解青少年 PTSD 的病理机制提供了新视角,也为未来的临床研究和干预策略提供了重要方向。

## 参考文献:

- [1] McLaughlin KA, Koenen KC, Hill ED, et al. Trauma exposure and posttraumatic stress disorder in a national sample of adolescents[J]. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2013, 52(8): 815-830.
- [2] Nooner KB, Oriana Linares L, Batinjane J, et al. Factors related to posttraumatic stress disorder in adolescence[J]. *Trauma Violence Abuse*, 2012, 13(3): 153-166.
- [3] An YY, Huang JL, Chen YR, et al. Longitudinal cross-lagged relationships between posttraumatic stress disorder and depression in adolescents following the Yancheng tornado in China[J]. *Psychol Trauma*, 2019, 11(7): 760-766.
- [4] Bandelow B, Allgulander C, Baldwin DS, et al. World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) guidelines for treatment of anxiety, obsessive-compulsive and posttraumatic stress disorders - Version 3. Part II: OCD and PTSD[J]. *World J Biol Psychiatry*, 2023, 24(2): 118-134.
- [5] Ke S, Hartmann J, Ressler KJ, et al. The emerging role of the gut microbiome in posttraumatic stress disorder[J]. *Brain Behav Immun*, 2023, 114: 360-370. doi:10.1016/j.bbi.2023.09.005
- [6] Tanelian A, Nankova B, Cheriyian A, et al. Differences in gut microbiota associated with stress resilience and susceptibility to single prolonged stress in female rodents[J]. *Neurobiol Stress*, 2023, 24: 100533. doi:10.1016/j.ynstr.2023.100533
- [7] Bajaj JS, Sikaroodi M, Fagan A, et al. Posttraumatic stress disorder is associated with altered gut microbiota that modulates cognitive performance in veterans with cirrhosis[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2019, 317(5): 661-669.
- [8] Lynch CMK, Cowan CSM, Bastiaanssen TFS, et al. Critical windows of early-life microbiota disruption on behaviour, neuroimmune function, and neurodevelopment[J]. *Brain Behav Immun*, 2023, 108: 309-327. doi: 10.1016/j.bbi.2022.12.008
- [9] Bartlett R, Stokes L, Sluyter R. The P2X7 receptor channel: recent developments and the use of P2X7 antagonists in models of disease[J]. *Pharmacol Rev*, 2014, 66(3): 638-675.
- [10] Perruzza L, Gargari G, Proietti M, et al. T follicular helper cells promote a beneficial gut ecosystem for host metabolic homeostasis by sensing microbiota-derived extracellular ATP[J]. *Cell Rep*, 2017, 18(11): 2566-2575.
- [11] Su QQ, Tian YY, Liu ZN, et al. Purinergic P2X7 receptor blockade mitigates alcohol-induced steatohepatitis and intestinal injury by regulating MEK1/2-ERK1/2 signaling and egr-1 activity[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 66: 52-61. doi:10.1016/j.intimp.2018.11.012
- [12] Torres-Rodríguez O, Rivera-Escobales Y, Castillo-Ocampo Y, et al. Purinergic P2X7 receptor-mediated inflammation precedes PTSD-related behaviors in rats[J]. *Brain Behav Immun*, 2023, 110: 107-118. doi:10.1016/j.bbi.2023.02.015
- [13] Vandeputte D, Kathagen G, D'hoë K, et al. Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load[J]. *Nature*, 2017, 551(7681): 507-511.
- [14] Zhao HY, Li Y, Luo T, et al. Preventing Post-Traumatic Stress Disorder (PTSD) in rats with pulsed 810 nm laser transcranial phototherapy[J]. *Transl Psychiatry*,

- 2023, 13(1): 281. doi:10.1038/s41398-023-02583-3
- [15] Ye TX, Zhou YP, Yang JX, et al. P2X7 receptor inhibition prevents atrial fibrillation in rodent models of depression[J]. *Europace*, 2024, 26(2): euae022. doi: 10.1093/europace/euae022
- [16] Pang F, Yang YH, Huang SQ, et al. Electroacupuncture alleviates depressive-like behavior by modulating the expression of P2X7/NLRP3/IL-1 $\beta$  of prefrontal cortex and liver in rats exposed to chronic unpredictable mild stress[J]. *Brain Sci*, 2023, 13(3): 436. doi:10.3390/brainsci13030436
- [17] Thapa S, Sheu JC, Venkatachalam A, et al. Gut microbiome in adolescent depression [J]. *J Affect Disord*, 2021, 292: 500-507. doi:10.1016/j.jad.2021.05.107
- [18] Liang JJ, Zhao YM, Xi Y, et al. Association between depression, anxiety symptoms and gut microbiota in Chinese elderly with functional constipation[J]. *Nutrients*, 2022, 14(23): 5013. doi:10.3390/nu14235013
- [19] Zhang L, Zhang SW, Jiang MZ, et al. *Limosilactobacillus reuteri* alleviates anxiety-like behavior and intestinal symptoms in two stressed mouse models[J]. *Nutrients*, 2024, 16(18): 3209. doi:10.3390/nu16183209
- [20] Vicentini FA, Szamosi JC, Rossi L, et al. Colitis-associated microbiota drives changes in behaviour in male mice in the absence of inflammation[J]. *Brain Behav Immun*, 2022, 102: 266-278. doi:10.1016/j.bbi.2022.03.001
- [21] Zheng SJ, Zhu YB, Wu WD, et al. A correlation study of intestinal microflora and first-episode depression in Chinese patients and healthy volunteers [J]. *Brain Behav*, 2021, 11(8): e02036. doi:10.1002/brb3.2036
- [22] Teichman EM, O'Riordan KJ, Gahan CGM, et al. When rhythms meet the blues: circadian interactions with the microbiota-gut-brain axis [J]. *Cell Metab*, 2020, 31(3): 448-471.
- [23] Ahmed H, Leyrolle Q, Koistinen V, et al. Microbiota-derived metabolites as drivers of gut-brain communication[J]. *Gut Microbes*, 2022, 14(1): 2102878. doi: 10.1080/19490976.2022.2102878
- [24] Mellon SH, Bersani FS, Lindqvist D, et al. Metabolomic analysis of male combat veterans with post traumatic stress disorder[J]. *PLoS One*, 2019, 14(3): e0213839. doi:10.1371/journal.pone.0213839
- [25] Wang J, Fan L, Teng T, et al. Adolescent male rats show altered gut microbiota composition associated with depressive-like behavior after chronic unpredictable mild stress: Differences from adult rats[J]. *J Psychiatr Res*, 2024, 173: 183-191. doi:10.1016/j.jpsychires.2024.03.026
- [26] Jiang ZF, Wu W, Hu HB, et al. P2X7 receptor as the regulator of T-cell function in intestinal barrier disruption [J]. *World J Gastroenterol*, 2022, 28(36): 5265-5279.
- [27] Liu J, Wang HW, Lin L, et al. Intestinal barrier damage involved in intestinal microflora changes in fluoride-induced mice [J]. *Chemosphere*, 2019, 234: 409-418. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.06.080

(编辑:李伟)