

# 加味柴胡桂枝汤通过抑制 JAK2/STAT3 信号通路改善慢性不可预见性温和应激模型小鼠的焦虑和抑郁状态

梁晓涛<sup>1</sup>, 梁小珊<sup>2</sup>, 熊一凡<sup>1</sup>, 谢诗如<sup>1</sup>, 朱晓煜<sup>1</sup>, 谢炜<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>南方医科大学中医药学院, 广东 广州 510515; <sup>2</sup>南方医科大学南方医院中医科, 广东 广州 510515

**摘要:**目的 探讨加味柴胡桂枝汤(MCGD)对慢性不可预见性温和应激模型(CUMS)小鼠焦虑抑郁的干预作用及机制。方法 通过文献检索获取加味柴胡桂枝汤的主要化学成分,使用多重数据库分析预测药理机制。动物实验验证:选用雄性 SPF C57BL/6J 小鼠,每日给予小鼠 2 次随机应激刺激,共持续 28 d,制备 CUMS 模型。以加味柴胡桂枝汤灌胃或氟西汀腹腔注射进行干预,根据干预方式的不同将小鼠分为对照组(Control)、慢性不可预见性温和应激模型组(CUMS)、氟西汀阳性对照组(FLX)、加味柴胡桂枝汤低剂量组(MCGD-L)、加味柴胡桂枝汤高剂量组(MCGD-H),15 只/组。利用蔗糖偏好、强迫游泳实验评估小鼠抑郁状态,利用旷场、高架十字实验评估小鼠焦虑状态,RT-qPCR 检测时钟基因、炎症因子,Western blotting 检测 JAK2/STAT3 通路表达水平,免疫荧光检测小胶质细胞的活化水平。结果 网络药理学结果显示,加味柴胡桂枝汤改善焦虑抑郁的主要活性成分为槲皮素、金合欢素、芒柄花素、川陈皮素、黄酮素等;GO 功能富集分析共得到 607 条信号通路,其中生物过程 447 条,细胞组分 61 条,分子功能 99 条;KEGG 富集分析显示,加味柴胡桂枝汤改善焦虑抑郁的通路主要涉及 JAK2/STAT3 和 NF- $\kappa$ B 信号通路。动物实验成功构建 CUMS 模型,氟西汀阳性对照组和加味柴胡桂枝汤治疗组小鼠焦虑、抑郁状态减轻。加味柴胡桂枝汤可降低 Iba1 的表达( $P < 0.01$ ),改善炎症相关指标( $P < 0.01$ ),逆转时钟基因昼夜节律紊乱( $P < 0.01$ );下调 JAK2, p-STAT3, p-NF- $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , IL-6 蛋白表达水平( $P < 0.01$ )。结论 加味柴胡桂枝汤能有效调节炎症通路,抑制 JAK2/STAT3 信号转导和小胶质细胞过度活化,改善焦虑抑郁状态。

**关键词:**加味柴胡桂枝汤;慢性不可预见性温和应激模型;JAK2/STAT3;网络药理学;焦虑;抑郁

## Modified *Chaihu Guizhi* Decoction alleviates anxiety- and depression-like behaviors in mice with chronic unpredictable mild stress by inhibiting the JAK2/STAT3 signaling pathway

LIANG Xiaotao<sup>1</sup>, LIANG Xiaoshan<sup>2</sup>, XIONG Yifan<sup>1</sup>, XIE Shiru<sup>1</sup>, ZHU Xiaoyu<sup>1</sup>, XIE Wei<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; <sup>2</sup>Department of Traditional Chinese Medicine, Nanfang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

**Abstract: Objective** To investigate the mechanisms of Modified *Chaihu Guizhi* Decoction (MCGD) for ameliorating anxiety- and depression-like behaviors in a mouse model of chronic unpredictable mild stress (CUMS). **Methods** The main chemical constituents of MCGD were identified through literature review, and network pharmacology analysis was performed to predict the potential pharmacological mechanisms of MCGD. For *in vivo* validation, male C57BL/6J mice were randomized into control group, CUMS model group, fluoxetine (FLX) treatment group, and low- and high-dose MCGD treatment groups ( $n = 15$ ), and in all but the control group, CUMS models were established by daily exposure to two randomized stressors for 28 consecutive days. Starting from 3 days prior to modeling, MCGD and fluoxetine treatments were administered daily via gavage and intraperitoneal injection, respectively. Depression- and anxiety-like behaviors of the mice were assessed using sucrose preference test, forced swim test, open field test and elevated plus maze test. The changes in mRNA expressions of the clock genes and inflammatory markers and expressions of the JAK2/STAT3 signaling proteins were detected using RT-qPCR and Western blotting, and immunofluorescence staining was used to detect microglia activation in the mice. **Results** The key active compounds in MCGD identified by network pharmacology analysis included quercetin, acacetin, formononetin, nobiletin, and baicalein. GO analysis identified 607 enriched pathways, and KEGG pathway enrichment revealed significant involvement of the JAK2/STAT3 and NF- $\kappa$ B signaling pathways. In the mouse models of CUMS, treatment with both fluoxetine and MCGD significantly alleviated anxiety- and depression-like behaviors. MCGD treatment significantly reduced Iba1 expression, improved the inflammatory markers, reversed the decrease in clock gene circadian rhythm amplitude, and obviously downregulated the expressions of JAK2, p-STAT3, p-NF- $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , and IL-6 proteins. **Conclusion** MCGD effectively alleviates anxiety- and depression-like behaviors in CUMS mice by modulating the inflammatory pathways and inhibiting the JAK2/STAT3 signaling pathway.

**Keywords:** Modified *Chaihu Guizhi* Decoction; chronic unpredictable mild stress model; JAK2/STAT3; network pharmacology; anxiety; depression

收稿日期:2025-07-25

基金项目:国家自然科学基金(82405378);第二届全国名中医工作室(G724290126);中国博士后科学基金(2024M761351,2025T181075);重大疑难疾病中西医临床协作项目

Supported by National Natural Science Foundation of China (82405378).

作者简介:梁晓涛,医师,博士,E-mail: 1092296938@qq.com

通信作者:谢炜,教授,主任医师,博士生导师,E-mail: xieweizn@126.com

抑郁障碍(MDD)是一种高发且高复发率的情感性障碍,约有3.8%的人口受到其影响,是导致全球疾病负担和自杀死亡的主要原因之一<sup>[1-3]</sup>。值得注意的是,约70%的MDD患者伴随节律紊乱及睡眠周期异常,导致病情加重或复发,影响抑郁的治疗及预后<sup>[4]</sup>。尽管现有

的选择性5-羟色胺再摄取抑制剂(SSRIs)、5-羟色胺-去甲肾上腺素再摄取抑制剂(SNRIs)等多种抗抑郁的药物广泛应用于临床,但仍有1/3患者对一线抗抑郁药反应不佳,伴随胃肠道反应、加剧焦虑抑郁障碍等问题,最终发展为难治性抑郁(TRD)<sup>[5-8]</sup>。可见,积极探寻MDD药物新靶点成为临床治疗亟需突破的一大难点。

传统中医药在情志疾病的治疗中具有长期实践基础和良好安全性。抑郁症属于“郁病”范畴,“肝之阴阳失和”是郁病及睡眠紊乱的共同致病因素,其体现在“肝主疏泄、藏血、舍魂”的功能失调。加味柴胡桂枝汤(MCGD)作为经方柴胡桂枝汤的加减化裁方,具有疏肝解郁、调和营卫的功效。谢炜教授运用柴胡桂枝汤治疗各种疑难杂症,尤其是失眠、焦虑和抑郁,疗效俱佳<sup>[9,10]</sup>。课题组前期研究表明柴胡桂枝汤及其活性成分能够改善小鼠的认知障碍,发挥抗炎及脑保护作用<sup>[11,12]</sup>。尽管MCGD的疗效已在临床实践中得到体现,但其作用机制尚未明确,特别是在调控神经炎症和昼夜节律方面的现代研究仍显不足。

神经炎症反应与昼夜节律系统之间存在双向调控关系<sup>[13-15]</sup>,共同介导抑郁样行为的发生发展<sup>[16]</sup>。Bmal1、Rev-erba $\alpha$ 等节律蛋白可以负调控炎症因子的表达(如IL-6、TNF- $\alpha$ ),维持中枢免疫稳态<sup>[17,18]</sup>。越来越多证据表明,抑郁动物模型常表现出昼夜活动节律减弱、睡眠-觉醒节律混乱、时钟蛋白节律紊乱等<sup>[19,20]</sup>。JAK2/STAT3作为炎症应答的重要调控轴,已被证实在中枢免疫激活及抑郁样行为中起关键作用<sup>[21]</sup>,其不仅参与免疫和炎症反应,也与昼夜节律的调控密切相关<sup>[22]</sup>。

本研究基于慢性不可预见性温和应激(CUMS)模型,旨在探讨MCGD是否通过调控JAK2/STAT3信号通路、抑制小胶质细胞活化和炎症因子释放,从而改善小鼠的焦虑抑郁样行为和昼夜节律紊乱,进而揭示其抗抑郁的潜在神经免疫机制。该研究不仅为加味柴胡桂枝汤抗抑郁作用提供现代药理学依据,也有望为抑郁障碍的干预提供新的思路 and 方向。

## 1 材料和方法

### 1.1 网络药理学方法

1.1.1 加味柴胡桂枝汤活性成分与靶点获取 加味柴胡桂枝汤由柴胡、黄芩、半夏、桂枝、白芍、人参、大枣、甘草、生姜、柏子仁、枳壳共11味中药饮片组成。其活性成分信息来源于中药系统药理学数据库(TCMSP, <http://tcmssp.com/tcmssp.php>)和BATMAN-TCM数据库(<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/index.php>)。在上述数据库中,活性化合物的筛选标准为口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 以及药物相似性(DL) $\geq 0.18$ 。

1.1.2 抑郁症疾病靶点基因获取 以“抑郁”为关键词,通过OMIM(<https://omim.org>)、TTD(<http://db.idrblab.net/ttd/>)和GeneCards(<https://www.genecards.org/>)三个数据库中检索预测抑郁症相关的靶点基因数据。筛选疾病相关靶标的标准为相关性评分(Relevance Score) $> 1$ ,并对结果进行整合与去重,最终获得抑郁症的疾病相关靶点。

1.1.3 Venn图制作 将加味柴胡桂枝汤的相关靶点与抑郁症的疾病靶点取交集,获得加味柴胡桂枝汤对抑郁症的共同靶点,通过微生物信-在线生物信息学分析、可视化云平台([www.bioinformatics.com.cn](http://www.bioinformatics.com.cn))构建Venn图,直观展示靶点重叠情况。

1.1.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建 将加味柴胡桂枝汤与抑郁症的共同靶点基因导入STRING数据库([www.string-db.org](http://www.string-db.org))进行蛋白质-蛋白质相互作用分析,分析模式设定为“Multiple proteins”,物种限定为“Homo sapiens”。经过数据预处理,设定置信度(Confidence Score) $\geq 0.4$ 。

1.1.5 GO功能富集和KEGG通路富集分析 GO注释从生物过程(BP)、细胞成分(CC)和分子功能(MF)3个方面描述和定义基因产物的功能;KEGG是一个整合基因组、化学和系统功能信息的数据库。将共同靶点导入Metascape数据库(<https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)进行GO功能富集和KEGG通路分析,筛选标准为调整后的 $P \leq 0.05$ ,以明确可能的作用机制和通路。

1.1.6 分子对接 将加味柴胡桂枝汤的核心活性成分与PPI网络中筛选出的核心靶点进行分子对接。在RCSB PDB数据库获取核心靶点蛋白三维结构,并使用Molecular Operating Environment(MOE)软件(版本:2019.0102)对受体蛋白三维结构进行去水和加氢等预处理,建立靶蛋白数据库。使用MOE软件将活性成分和受体蛋白进行分子对接,然后得到活性成分与受体蛋白之间结合的活性位点及结合能,对接结果以3D图像展示。以上数据库检索时间为2025年7月。

### 1.2 动物实验

1.2.1 试剂及仪器 中药饮片(南方医科大学南方医院中药房);生理盐水(万物生物科技有限公司);4%多聚甲醛溶液(科隆化学品有限公司);OCT包埋胶(Sakura);Iba1抗体(Synaptic systems);p-STAT3、STAT3、p-NF- $\kappa$ B、NF- $\kappa$ B、IL-1 $\beta$ 、IL-6抗体(Cell Signaling Technology), JAK2抗体(Proteintech),  $\beta$ -actin抗体(赛维尔), Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) HRP、Goat Anti-Mouse IgG (H+L) HRP抗体(Affinity);5417R台式冷冻高速离心机(Bio.Tck);冰冻切片机(上海徕卡显微系统贸易有限公司);蔡司荧光共聚焦显微镜LSM980(ZEISS)。

1.2.2 实验动物及分组 SPF级C57BL/6J小鼠,雄性,6~8周龄[南方医科大学实验动物中心提供,合格证号:SYXK(粤)2021-0167]。经南方医院动物实验伦理委员会批准(伦理批号:IACUC-LAC-20250402-004)。根据干预方式的不同,小鼠共分为5组:对照组(Control)、慢性不可预见性温和应激模型组(CUMS)、阳性对照药物氟西汀组(FLX)、加味柴胡桂枝汤低剂量组(MCGD-L)、加味柴胡桂枝汤高剂量组(MCGD-H),15只组。氟西汀组和加味柴胡桂枝汤低、高剂量组造模前提前3 d开始给药。给药方式如下:氟西汀组通过腹腔注射,10 mg/kg,1次/d;加味柴胡桂枝汤组通过灌胃,1次/d,0.3 mL/次。

1.2.3 小鼠慢性不可预测性温和应激模型的构建 以慢性、不可避免且不可预测的方式使小鼠每天暴露于不同类型的压力源数次,持续28 d<sup>[23]</sup>。应激刺激因素包括:异味污染笼6 h;异物放置6 h;湿笼17 h(潮湿垫料);空笼17 h(垫料撤除);合笼2 h;鼠笼45°倾斜12 h;彻夜光照;光照周期干扰(如昼夜节律反转、黑暗期突然开灯或光照期突然关灯);噪声刺激(15 min);闪光(10 min);冰水游泳5 min(15℃)等。应用半随机方法将上述刺激因子随机分配,每天安排2种刺激。连续接受28 d的应激刺激,相同刺激因子不得连续出现。将正常对照组小鼠置于另外房间,5只/笼,于正常室温及光照条件下给予正常喂养。

1.2.4 行为学检测小鼠焦虑抑郁样行为 所有行为实验均在上午9点~下午6点进行。实验过程中的行为通过配备红外感光CCD摄像机的自动行为追踪系统(Smart 3.0.06)进行记录、存储和分析。

1.2.4.1 蔗糖偏好实验(SPT) 快感缺乏是抑郁症的主要症状之一。测试前2 d,将小鼠单笼饲养,在笼内随机左右对称放置两瓶水供小鼠自由饮用,其中一个装有清水,另一个装有1%的蔗糖溶液。测试前禁食禁水16 h,测试当天12 h/次交换瓶子的位置,并记录24 h内两个水瓶的液体消耗量。小鼠的蔗糖偏好以蔗糖摄入量占总液体摄入量的百分比计算。蔗糖偏好度的计算公式如下:蔗糖偏好指数(%)=(蔗糖摄入量/总液体摄入)×100%。

1.2.4.2 强迫游泳实验(FST) 在直径12 cm,高40 cm的透明游泳桶中注入新鲜的水(24±1)℃,水位高度为25 cm,确保小鼠进入游泳桶时鼠尾不会接触桶底。依次将每只小鼠置于游泳桶中,视频记录。实验时进行强迫游泳6 min,小鼠首先适应1 min,从第2分钟开始记录后续5 min内小鼠的不动时间(即小鼠在水中停止挣扎,或动物呈漂浮状态,四肢偶尔划动以保持头部浮在水面)。实验结束后,迅速将小鼠从水中取出,在温室烘干,轻放回饲养笼内。

1.2.4.3 旷场实验(OFT) 敞箱装置是长宽各为50 cm、高50 cm,内壁为白色。将小鼠放入中心方格内,观察实

验小鼠的活动,记录每只小鼠5 min内活动总距离及中央区域的活动距离和时间。完成每只小鼠实验后均用酒精将装置清洁干净,以免上次动物残留的信息(如动物的尿液、粪便、气味)影响下次测试结果。

1.2.4.4 高架实验(EPM) 将小鼠放入标准高架十字迷宫:两个开放臂和闭合臂互相垂直呈十字交叉,距离地面高100 cm,每个臂长30 cm,宽5 cm,其中闭合臂有高15 cm不透明隔板包围。实验持续5 min,记录小鼠在开放臂和闭合臂的停留时间及探索次数。

1.2.5 实时荧光定量PCR 测量时钟蛋白基因表达水平的昼夜变化需要在24 h内分5个时间点进行取材,ZT0为早晨6点,ZT6为中午12点,以此类推<sup>[20,24]</sup>。各组小鼠于24 h内每隔6 h(ZT0、ZT6、ZT12、ZT18和ZT24)取材海马组织,每个时间点3只/组。使用TRIzol试剂提取海马组织总RNA,提取和上机操作同前。本实验涉及的引物由北京擎科生物科技有限公司合成制作(表1)。

表1 本研究涉及引物序列

Tab.1 Primer sequences used for RT-qPCR in this study

Primer name	Sequence
IFN-γ Forward	AGCAACAACATAAGCGTCATTGA
IFN-γ Reverse	TGACCTCAAACCTGGCAATACTC
TNF-α Forward	GCCTCCCTCTCATCAGTTCTATG
TNF-α Reverse	ACCTGGGAGTAGACAAGGTACAA
IL-1β Forward	GCAACTGTTCTGAACTCAACT
IL-1β Reverse	ATCTTTTGGGGTCCGTCAACT
IL-4 Forward	TCCTCACAGCAACGAAGAACA
IL-4 Reverse	AGGCATCGAAAAGCCCGAAA
IL-6 Forward	ACAACCACGGCCTTCCCTACTT
IL-6 Reverse	CACGATTTCCCAGAGAACATGTG
IL-10 Forward	GGTTGCCAAGCCTTATCGGA
IL-10 Reverse	AGACACCTTGGTCTTGGAGCTTA
Bmal1 Forward	CTCCAGGAGGCAAGAAGATTC
Bmal1 Reverse	ATAGTCCAGTGAAGGAATG
Clock Forward	TTCCTTCTTAGAGACGAGACT
Clock Reverse	CTAAATGCTACCCTGAGGATAGAG
Cry1 Forward	GATCCACCATTTAGCCAGACAC
Cry1 Reverse	ACAGCCACATCCAACCTCCA
Cry2 Forward	CAAGCACTTGAACGGAAGG
Cry2 Reverse	GAAGAGGCGGCAGGAGAG
Per1 Forward	CAGGCTAACCGGAATATTACCAGC
Per1 Reverse	CACAGCCACAGAGAAGGTGTCTGG
Per2 Forward	CCACACTTGCTCCGAAATA
Per2 Reverse	ACTGCCTCTGGACTGGAAGA
GAPDH Forward	CAACTACATGGTCTACATGTTC
GAPDH Reverse	CTCGCTCCTGGAAGATG

1.2.6 Western blotting 使用含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的RIPA缓冲液提取海马组织总蛋白。提取的蛋白质通过SDS-PAGE分离后,转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜。使用5% BCA封闭溶液在室温下封闭膜以阻断非特异性结合。随后,将膜与稀释的一抗孵育,在4 °C条件下过夜。一抗包括:JAK2(1:1000)、p-STAT3(1:1000)、STAT3(1:1000)、p-NF- $\kappa$ B(1:1000)、NF- $\kappa$ B(1:1500)、IL-1 $\beta$ (1:1000)、IL-6(1:1000)及 $\beta$ -actin(1:1500)。次日,用HRP偶联的二抗[Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) HRP和Goat Anti-Mouse IgG (H+L) HRP, 1:7000]在室温下孵育。最后,通过Western blotting分析系统获得相关数据。

1.2.7 免疫荧光染色 首先,将组织切片在室温下用4%多聚甲醛固定15 min,随后用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗。接着,用0.1% Triton X-100透化切片15 min,并使用2.5%山羊血清封闭1 h,以阻断抗体的非特异性结合。随后,将切片与Iba1抗体(1:300)在4 °C下孵育过夜。次日,用PBS清洗切片后,在室温下与荧光标记的Alexa Fluor 488偶联抗大鼠IgG抗体孵育1 h。最后,用DAPI对切片进行复染,并使用蔡司荧光共聚焦显微镜进行观察和成像。

### 1.3 统计学分析

采用Cosinor软件的昼夜节律余弦拟合法对时钟蛋白基因昼夜表达水平进行测定,计算时钟蛋白基因mRNA振荡的节律振幅。分析采用非线性回归方程: $y = \text{baseline} + \text{amplitude} \times \cos(\text{frequency} \times x + \text{phase shift})$ ,该方法可精确量化数据中的节律性变化模式。在GraphPad Prism 8软件中,利用24 h昼夜节律周期的余弦变换对时钟蛋白基因mRNA振荡的时间变量数据进行分析<sup>[20, 24]</sup>。

所有统计分析均使用GraphPad Prism 8软件完成。除非另有说明,数据均以均数 $\pm$ 标准差表示。统计检验包括Kruskal-Wallis检验、非配对 $t$ 检验以及单因素方差分析(ANOVA),并结合事后多重比较检验以进一步分析组间差异。统计学显著性水平设定为 $P < 0.05$ 。所有实验都重复3次。

## 2 结果

### 2.1 网络药理学结果

2.1.1 加味柴胡桂枝汤活性成分及其靶点的筛选 通过检索TCMSP数据库,获得单味药的活性成分,共得到活性成分244个。其中柴胡17个、桂枝7个、白芍13个、黄芩36个、半夏13个、人参22个、大枣29个、生姜5个、甘草92个、枳壳5个、柏子仁5个。剔除重复单体33个,最终获得211个活性成分。其中,槲皮素、黄芩素、芒柄花素、川陈皮素等为MCGD的核心活性成分。

2.1.2 加味柴胡桂枝汤改善抑郁症核心靶点的筛选 将加味柴胡桂枝汤活性成分的276个药物靶点与焦虑、抑郁相关的9143个潜在疾病靶点进行交集分析,得到233个共同靶点。通过STRING数据库生成PPI网络后,导入Cytoscape软件进行可视化和网络分析,识别出排名靠前的核心靶点蛋白,如IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF、AKT1、STAT3、TP53等。

2.1.3 “成分-靶点-疾病”网络图构建 将加味柴胡桂枝汤的单味药物、药物对应的有效化学成分、化学成分对应的靶点信息导入Cytoscape软件中,绘制“药物-成分-靶点-疾病”可视化网络图(图1)。中部方形节点为疾病与药物的共同靶点,四周椭圆形节点代表药物成分,按中药来源分类排列,节点之间的连线代表靶点与药物活性成分之间的作用关系。

靶点与药物成分之间的关联度由低到高,如图例所示节点由黄色变化为紫色,由此获得加味柴胡桂枝汤治疗抑郁症的关键药物成分。以关联度 $\geq 30$ 为标准,筛选获得关键药物成分包括quercetin(槲皮素)、acacetin(金合欢素)、kaempferol(山奈酚)、7-Methoxy-2-methyl isoflavone(7-甲氧基-2-甲基异黄酮)、formononetin(芒柄花素)、nobiletin(川陈皮素)、isorhamnetin(异鼠李素)、Medicarpin(美迪紫檀素)、baicalein(黄芩素)等,这些关键药物成分主要来自加味柴胡桂枝汤中的柴胡、黄芩、白芍、半夏、甘草、枳壳等中药(表2)。

2.1.4 GO功能富集和KEGG通路分析 GO功能富集分析共得到607条信号通路,其中生物过程447条,细胞组分61条,分子功能99条,靶基因涉及生物过程包括细胞对炎症的反应,蛋白激酶结合等;KEGG共富集到185条通路,关键靶点涉及JAK2/STAT3及NF- $\kappa$ B相关信号通路。

2.1.5 分子对接 选取JAK2和STAT3反向追溯其关联活性化合物,将这2个靶点与加味柴胡桂枝汤核心活性成分单体进行分子对接(表3),加味柴胡桂枝汤的主要活性成分与2个靶点的结合能均较低,提示药物可能通过JAK2、STAT3发挥作用。

JAK2与CH9(quercetin), CH10(isorhamnetin), HQ1(acacetin), BS4(kaempferol)和ZK4(nobiletin)亲和力较佳,化合物与靶蛋白结合效果良好。其中,JAK2与CH9结合能为-6.45 kcal/mol,CH9的3,4-二羟基与JAK2的Leu551形成氢键;JAK2与CH10结合能为-6.7 kcal/mol,CH10的3,4-二羟基与JAK2的Asn782形成氢键;JAK2与HQ1结合能为-6.48 kcal/mol,HQ1的3,4-二羟基与JAK2的Gly632形成氢键;JAK2与BS4结合能为-6.4 kcal/mol,BS4的3,4-二羟基与JAK2的Leu551形成氢键;JAK2与ZK4结合能为-6.27 kcal/mol,ZK4的3,4-二羟基与JAK2的Thr576形成氢键发生相互作用(表3,图2)。

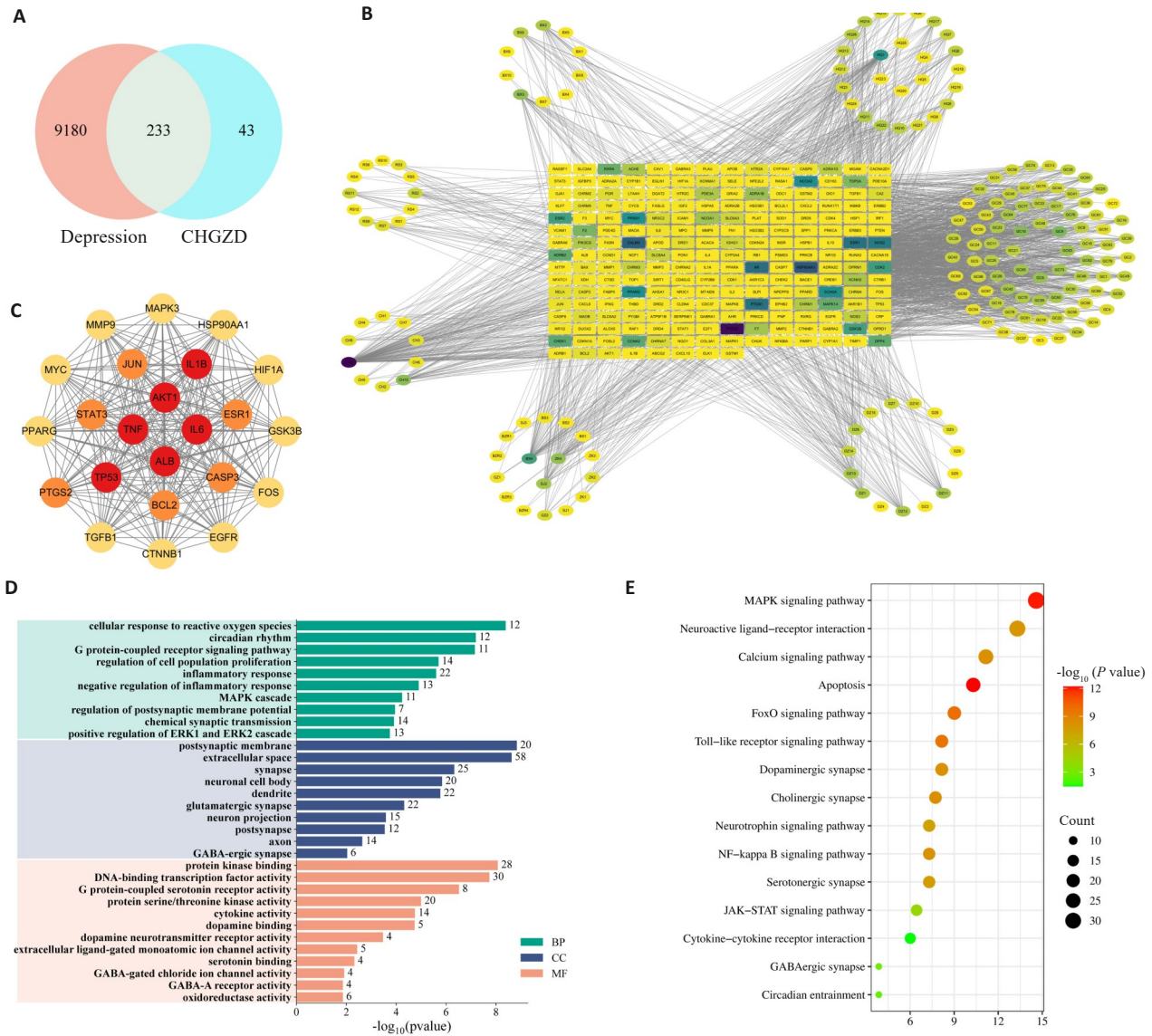


图1 网络药理学探讨加味柴胡桂枝汤(MCGD)减轻慢性不可预测性温和应激模型(CUMS)焦虑抑郁状态的作用机制  
 Fig.1 Network pharmacology analysis of the mechanisms by which Modified *Chaihu Guizhi* Decoction (MCGD) alleviates anxiety- and depression-like behavior in CUMS. **A:** Venn diagram of shared targets between MCGD and depression. **B:** Component-target-disease map. **C:** Core intersection targets. **D:** Gene Ontology (GO) analysis of the shared targets, categorized into Biological Processes (BP), Molecular Functions (MF), and Cellular Components (CC). **E:** Bubble chart of Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis for the shared targets.

表2 加味柴胡桂枝汤治疗抑郁症的关键活性成分

Tab.2 Key active components in Modified *Chaihu Guizhi* Decoction (MCGD) for treatment of depression

Code	ID	Name	Relevance	Source
CH9	MOL000098	Quercetin	128	Chinese thorawax root
HQ1	MOL001689	Acacetin	62	Baikal skullleap root
BS4	MOL000422	Kaempferol	55	White peony root
GC9	MOL003896	7-Methoxy-2-methyl Isoflavone	40	Liquorice root
GC10	MOL000392	Formononetin	36	Liquorice root
ZK4	MOL005828	Nobiletin	33	Submature bitter orange
CH10	MOL000354	Isorhamnetin	32	Chinese thorawax root
GC6	MOL002565	Medicarpin	32	Liquorice root
BX3	MOL002714	Baicalein	31	Ternate pinellia
GC63	MOL000497	Licochalcone a	30	Liquorice root

表3 加味柴胡桂枝汤治疗抑郁症核心活性成分与核心靶分子 JAK2、STAT3对接结合能

Tab. 3 Binding energies of the core active components of MCGD for depression treatment for docking with the core target molecules JAK2 and STAT3

Target	Sample	Estimated $\Delta G$ (kcal/mol)
JAK2	CH9	-6.45
JAK2	HQ1	-6.48
JAK2	BS4	-6.40
JAK2	GC9	-5.53
JAK2	GC10	-6.27
JAK2	ZK4	-6.27
JAK2	CH10	-6.7
JAK2	GC6	-5.73
JAK2	BX3	-5.43
JAK2	GC63	-6.13
STAT3	CH9	-5.48
STAT3	HQ1	-5.16
STAT3	BS4	-5.08
STAT3	GC9	-5.9
STAT3	GC10	-5.09
STAT3	ZK4	-7.44
STAT3	CH10	-5.64
STAT3	GC6	-5.02
STAT3	BX3	-4.78
STAT3	GC63	-5.8

STAT3 与 CH9(quercetin), CH10(isorhamnetin), GC9 (7-Methoxy-2-methyl isoflavone), GC63 (licochalcone a)和 ZK4(nobiletin)亲和力较佳,化合物与靶蛋白结合效果良好。其中, STAT3 与 CH9 结合能为 -5.48 kcal/mol, CH9 的 3, 4-二羟基与 STAT3 的 Lys548 形成氢键; STAT3 与 CH10 结合能为 -5.64 kcal/mol, CH10 的 3, 4-二羟基与 STAT3 的 Lys548 形成氢键; STAT3 与 GC9 结合能为 -5.9 kcal/mol, GC9 的 3, 4-二羟基与 STAT3 的 Asp371 形成氢键; STAT3 与 GC63 结合能为 -5.8 kcal/mol, GC63 的 3, 4-二羟基与 STAT3 的 Asn489 形成氢键; STAT3 与 ZK4 结合能为 -7.44 kcal/mol, ZK4 的 3, 4-二羟基与 STAT3 的 Asn489 形成氢键发生相互作用(表3,图3)。

## 2.2 动物实验结果

2.2.1 加味柴胡桂枝汤改善 CUMS 小鼠的抑郁样行为与对照组比较, CUMS 模型组出现明显的抑郁样行为, 表现为蔗糖偏好指数下降( $P < 0.01$ ), 强迫游泳不动时间显著增加( $P < 0.01$ ), 游泳时间减少( $P < 0.01$ )。与 CUMS 模型组比较, 加味柴胡桂枝汤低、高剂量组和氟西汀组改善小鼠抑郁样行为, 提升糖水偏好指数和游泳时间( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 降低强迫游泳不动时

间( $P < 0.01$ ,图4)。

2.2.2 加味柴胡桂枝汤改善 CUMS 小鼠的焦虑样行为与对照组比较, CUMS 模型组出现明显的焦虑样行为, 表现为旷场中心区域活动时间占比减少( $P < 0.01$ ), 总活动距离没有差异( $P > 0.05$ ); 高架十字实验开放臂活动时间占比和探索次数减少( $P < 0.01$ )。与 CUMS 模型组比较, 加味柴胡桂枝汤低、高剂量组和氟西汀组改善小鼠焦虑样行为, 增加旷场中心区域活动时间占比( $P < 0.01$ ), 增加开放臂活动时间占比和探索次数( $P < 0.01$ ,图5)。

2.2.3 加味柴胡桂枝汤下调小鼠海马组织炎症水平与对照组比较, CUMS 模型组小鼠海马组织促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  表达水平升高( $P < 0.01$ ), 抑炎因子 IL-4、IL-10 表达水平下降( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与 CUMS 模型组比较, 加味柴胡桂枝汤低、高剂量组和氟西汀组小鼠可下调促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  表达水平( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 上调抑炎因子 IL-4、IL-10 表达水平( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,图6)。

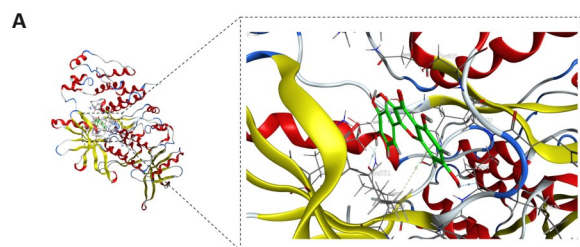
2.2.4 加味柴胡桂枝汤下调 JAK2/STAT3 信号通路与对照组比较, CUMS 模型组小鼠 JAK2、p-STAT3/STAT3、p-NF- $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B、IL-1 $\beta$ 、IL-6 蛋白表达水平升高( $P < 0.01$ )。与 CUMS 模型组比较, 加味柴胡桂枝汤低、高剂量组和氟西汀组小鼠可下调 JAK2、p-STAT3/STAT3、p-NF- $\kappa$ B/NF- $\kappa$ B、IL-1 $\beta$ 、IL-6 蛋白表达水平( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,图7)。

2.2.5 加味柴胡桂枝汤可逆转 CUMS 小鼠的昼夜节律蛋白表达紊乱与对照组比较, CUMS 模型组小鼠 Bmal1、Clock、Per1、Per2 昼夜振荡水平降低( $P < 0.05$ ), Cry1、Cry2 无变化( $P > 0.05$ )。与 CUMS 模型组比较, 加味柴胡桂枝汤低、高剂量组和氟西汀组可部分逆转 Bmal1、Clock、Per1、Per2 昼夜振荡水平的降低( $P < 0.05$ ,图8)。

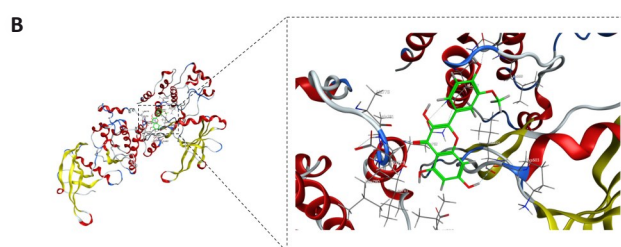
2.2.6 加味柴胡桂枝汤下调海马 CA1 区小胶质细胞的活化与对照组比较, CUMS 模型组小鼠 Iba1<sup>+</sup> 阳性细胞数量升高( $P < 0.01$ )。小胶质细胞分支总长度明显减少( $P < 0.01$ )。与 CUMS 模型组比较, 加味柴胡桂枝汤低、高剂量组和氟西汀组小鼠可降低 Iba1<sup>+</sup> 阳性细胞数量( $P < 0.01$ ), 增加小胶质细胞分支总长度( $P < 0.01$ ,图9)。

## 3 讨论

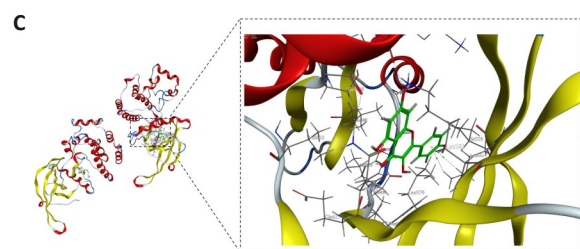
抑郁症作为一种复杂的精神疾病,其病因涉及多种生理、心理及社会因素<sup>[25]</sup>,其核心症状包括情绪低落,兴趣减退、失眠焦虑等。一项大型纵向队列研究的数据揭示了失眠和昼夜节律紊乱是抑郁症的独特风险因素<sup>[26]</sup>。针对抑郁症的临床治疗提示,共病睡眠障碍的抑郁症患者的治疗预后往往较差<sup>[27]</sup>。近年研究反复证实抑郁发作与失眠之间的双向联系<sup>[28]</sup>,但睡眠-觉醒节律究竟如



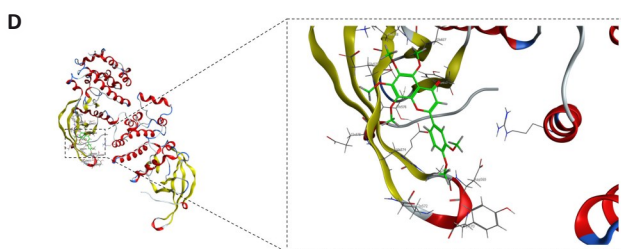
CH9 quercetin



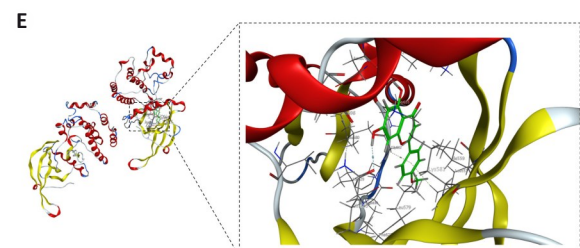
CH10 isorhamnetin



BS4 kaempferol



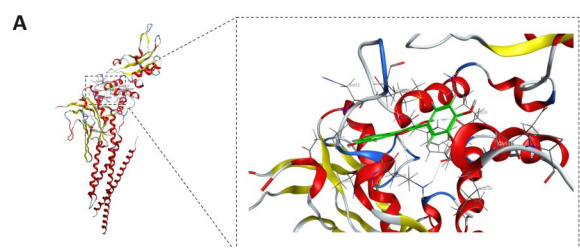
ZK4 nobiletin



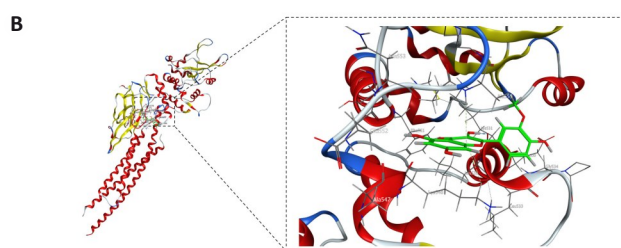
HQ1 acacetin

图2 分子对接结果可视化

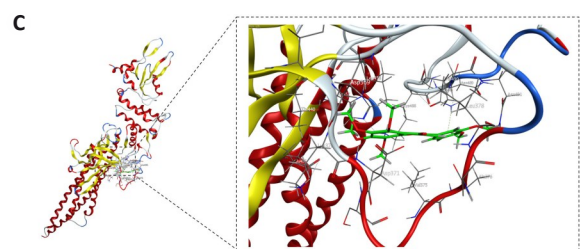
Fig.2 Visualization of the results of molecular docking analysis. A: Docked molecular conformation of JAK2 with CH9. B: Molecular conformation of JAK2 docked with CH10. C: Molecular conformation of JAK2 docked with BS4. D: Molecular conformation of JAK2 docked with ZK4. E: Molecular conformation of JAK2 docked with HQ1.



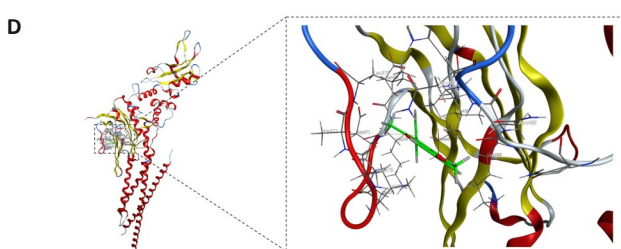
Ch9 quercetin



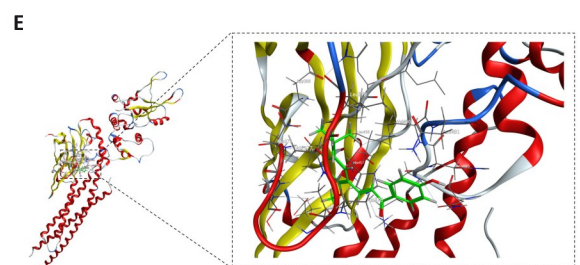
CH10 isorhamnetin



ZK4 nobiletin



GC9 7-methoxy-2-methyl isoflavone



GC63 licochalcone a

图3 分子对接结果可视化

Fig.3 Visualization of the results of molecular docking analysis. A: Docked molecular conformation of STAT3 with CH9. B: Molecular conformation of STAT3 docked with CH10. C: Molecular conformation of STAT3 docked with ZK4. D: Molecular conformation of STAT3 docked with GC9. E: Molecular conformation of STAT3 docked with GC63.

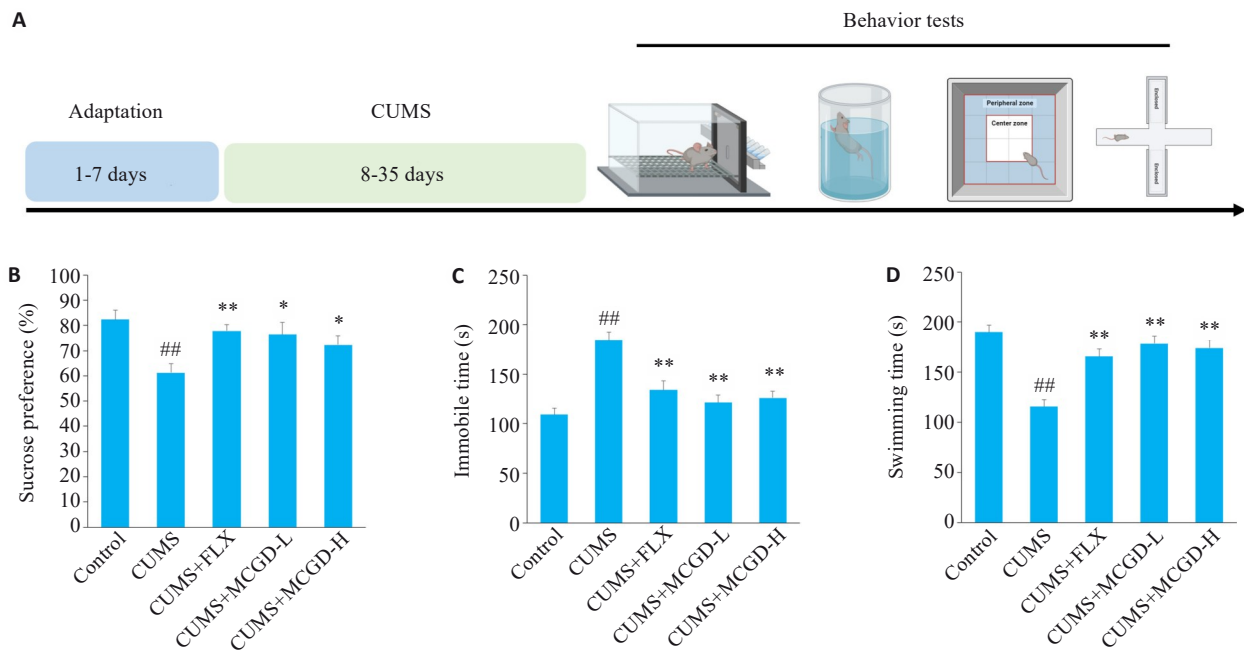


图4 加味柴胡桂枝汤显著改善CUMS小鼠的抑郁样行为

Fig.4 MCGD significantly improves depression-like behavior in CUMS mice. A: Experimental design. B: Sucrose preference percentage in the sucrose preference test (SPT). C: Immobility time in the forced swim test (FST). D: Swimming times in the FST. Data are presented as *Mean±SD* ( $n=15$ ). Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test. <sup>##</sup> $P<0.01$  vs Control group; <sup>\*</sup> $P<0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P<0.01$  vs CUMS group.

何参与抑郁的病理生理学途径仍未阐明。

目前,中枢神经系统的炎症反应与免疫激活,尤其是小胶质细胞的过度激活,已成为解释抑郁发病机制的重要理论基础<sup>[29-31]</sup>。小胶质细胞作为大脑常驻的巨噬细胞,不仅表现出内在的昼夜节律,还能受生物钟基因,如 *Bmal1*、*REV-ERB $\alpha$*  调节,影响其特定的功能,包括调节神经炎症,突触吞噬作用,营养支持及代谢等<sup>[32]</sup>。因此,抑郁所引起的节律紊乱可能与小胶质细胞激活介导的免疫炎症失调有关。本研究通过构建慢性不可预见性温和应激(CUMS)小鼠模型,系统探讨了加味柴胡桂枝汤(MCGD)对其行为学改变及相关分子机制的干预作用,验证了其通过调控 *JAK2/STAT3* 信号通路发挥抗抑郁效应及逆转昼夜节律紊乱的科学依据,具有显著的创新性与实践意义。

加味柴胡桂枝汤既能宽胸散结,理气行中,改善焦虑抑郁,又能调和营卫阴阳,改善睡眠障碍<sup>[10]</sup>。柴胡与黄芩配伍,一透一清,和解少阳;白芍与桂枝配伍,一散一收,一阴一阳,使营卫调和,血脉和利;半夏与生姜相须为用,且能助卫;人参、大枣、甘草三药合用,补益脾胃;在原方基础上,加枳壳理气宽中,加柏子仁养心安神<sup>[10, 33, 34]</sup>。首先,本研究基于网络药理学方法系统探讨加味柴胡桂枝汤的关键活性成分及其潜在的作用机制。研究结果显示,该复方中的关键活性分子,包括槲皮素、金合欢素、山奈酚、黄芩素、川陈皮素等,主要通过抗炎、抗氧化及抗凋亡等特性对情绪和精神心理状态产生影

响,协同发挥抗抑郁效应。这些关键活性成分的抗抑郁作用在不同抑郁症相关模型中也得到了验证。具体而言,槲皮素通过抑制活性氧(ROS)、增强超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)和谷胱甘肽-转移酶(GST)活性,降低 *IL-6*、*IL-1 $\beta$* 、*TNF- $\alpha$*  表达水平,抑制小胶质细胞活化发挥对抗抑郁症的神经保护作用<sup>[35]</sup>。此外,槲皮素还能降低下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴的兴奋性,显著改善CUMS大鼠抑郁行为<sup>[36]</sup>。山奈酚可促进小胶质细胞M2极化,显著减轻前额叶皮质的神经炎症,改善LPS诱导的抑郁样行为<sup>[37]</sup>。黄芩素通过调控 *BDNF/TrkB/CREB* 信号通路,显著降低 *TNF- $\alpha$* 、*IL-6* 等促炎因子表达,调节突触可塑性,改善小鼠内毒素诱导的抑郁样行为<sup>[38]</sup>。川陈皮素通过靶向 *PKM2* 和激活糖酵解信号通路减轻了斑马鱼夜间人工光诱发的抑郁样行为<sup>[39]</sup>。综上,加味柴胡桂枝汤通过多组分协同调控免疫细胞活性及炎症反应网络,维持神经元正常生理功能,最终实现抗抑郁作用。

CUMS作为一种广泛应用于抑郁症动物实验的模型,能诱发类似人类抑郁行为的表型,如快感缺失、活动减少等,其优势在于能较好模拟慢性应激导致的精神病理过程。本研究结果显示,CUMS小鼠表现出典型的抑郁样行为,包括蔗糖偏好下降、强迫游泳不动时间延长,以及焦虑样行为如旷场中心区域活动时间减少、高架十字迷宫开放臂探索降低等,表明模型构建成功。经MCGD干预后,行为指标明显改善,与阳性对照氟西汀

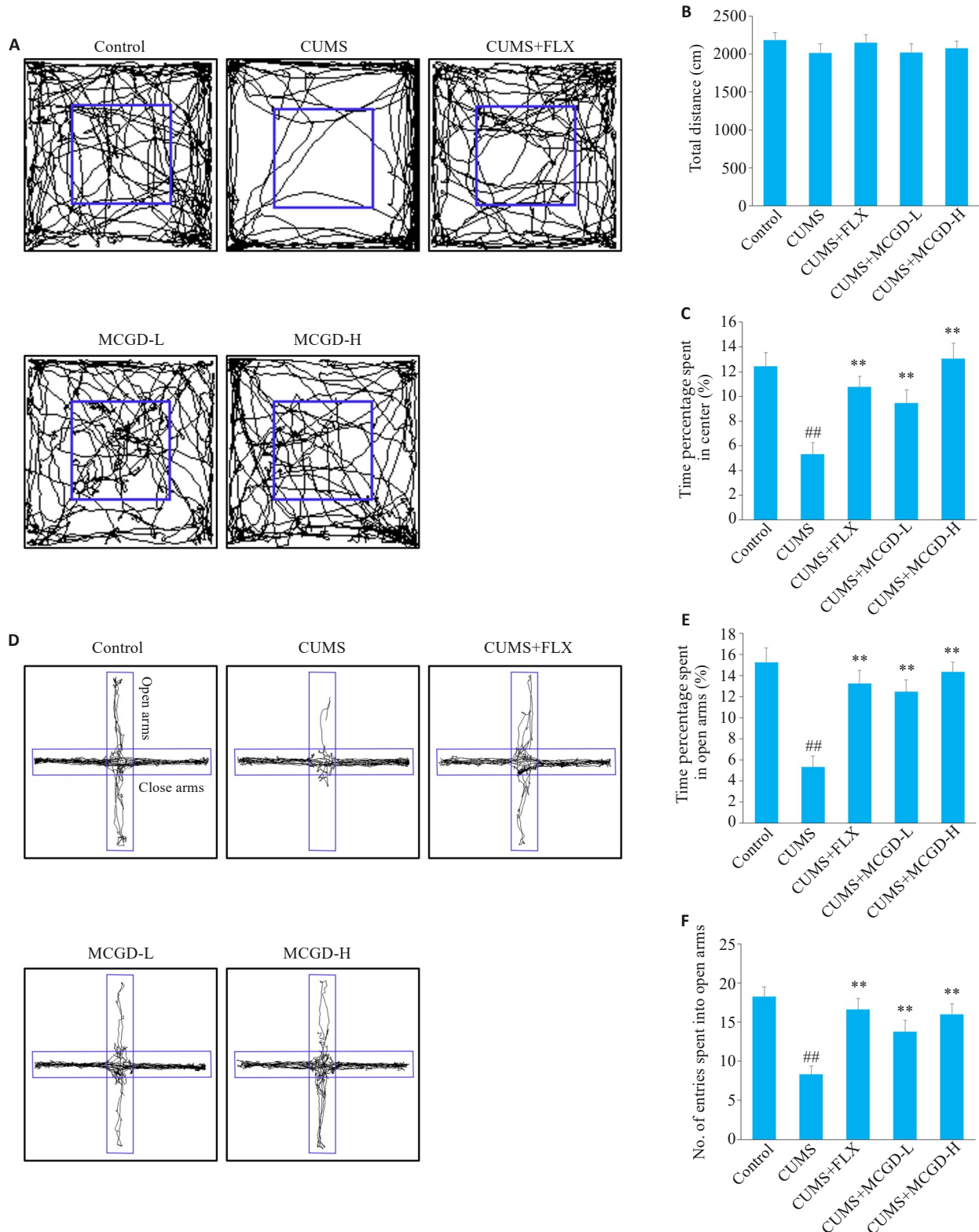


图5 加味柴胡桂枝汤显著改善CUMS小鼠的焦虑样行为

Fig.5 MCGD significantly improves anxiety-like behavior in CUMS mice. A: Trajectory map in the open field test (OFT). B: Total distance in OFT. C: Time percentage spent in center of OFT. D: Trajectory map in the elevated plus maze test (EPM). E: Time percentage spent in open arms of EPM. F: Number of entries spent into open arms of EPM. Data are presented as Mean±SD (n=15). Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test. <sup>##</sup>P<0.01 vs Control group; <sup>\*\*</sup>P<0.01 vs CUMS group.

组相近,提示该方具有良好的抗焦虑抑郁作用。该结果与前期临床经验报道一致,进一步支持其治疗情志病的有效性<sup>[9]</sup>。

其次,进一步对MCGD-焦虑抑郁-炎症的潜在作用靶点进行GO功能及KEGG通路富集分析,结果显示JAK2/STAT3及NF-κB通路参与其中。JAK2/STAT3

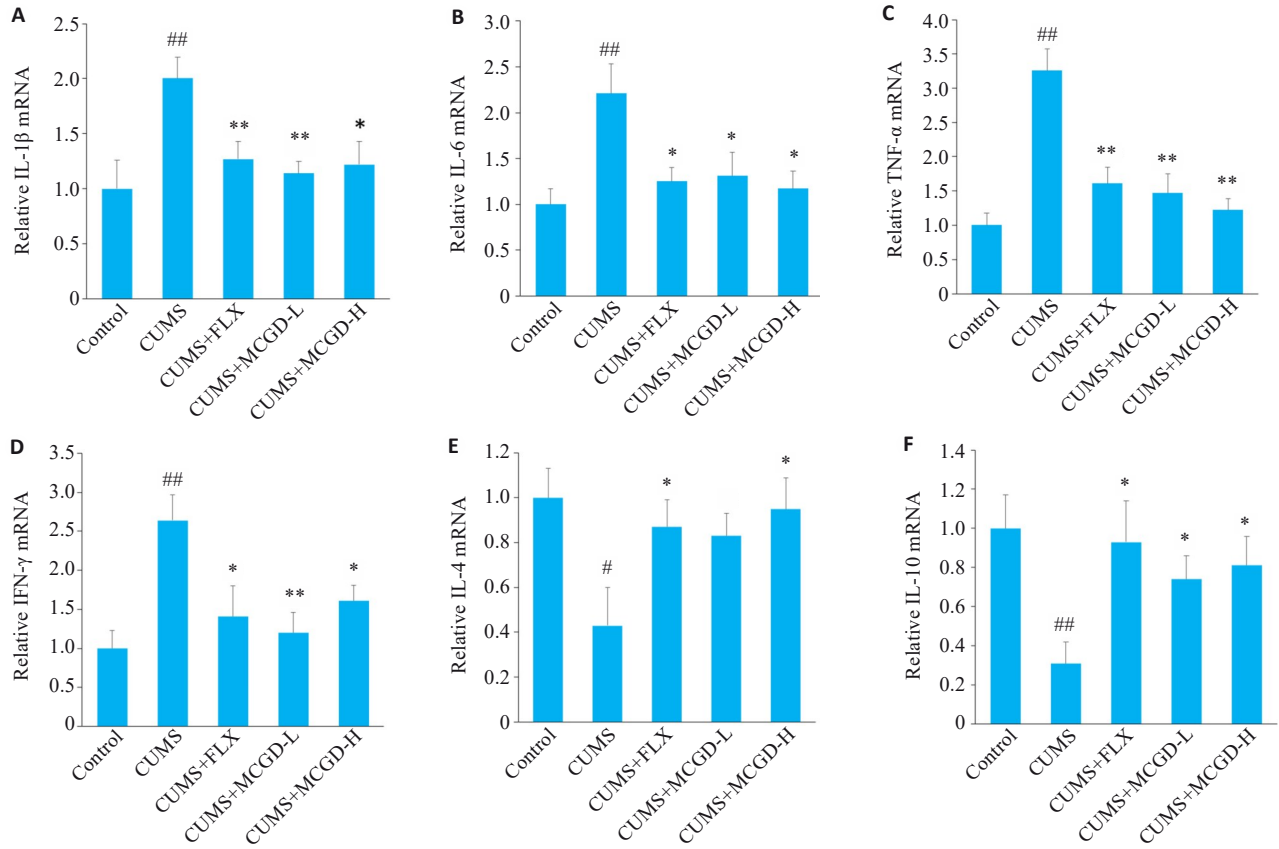


图6 加味柴胡桂枝汤对CUMS小鼠海马组织炎症因子表达水平的影响

Fig.6 Effects of MCGD on mRNA expression of inflammatory factors in the hippocampus of CUMS mice. A: Relative mRNA level of IL-1β. B: Relative mRNA level of IL-6. C: Relative mRNA level of TNF-α. D: Relative mRNA level of IFN-γ. E: Relative mRNA level of IL-4. F: Relative mRNA level of IL-10. Data are presented as Mean±SD (n=6). Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test. #P<0.05, ##P<0.01 vs Control group, \*P<0.05, \*\*P<0.01 vs CUMS group.

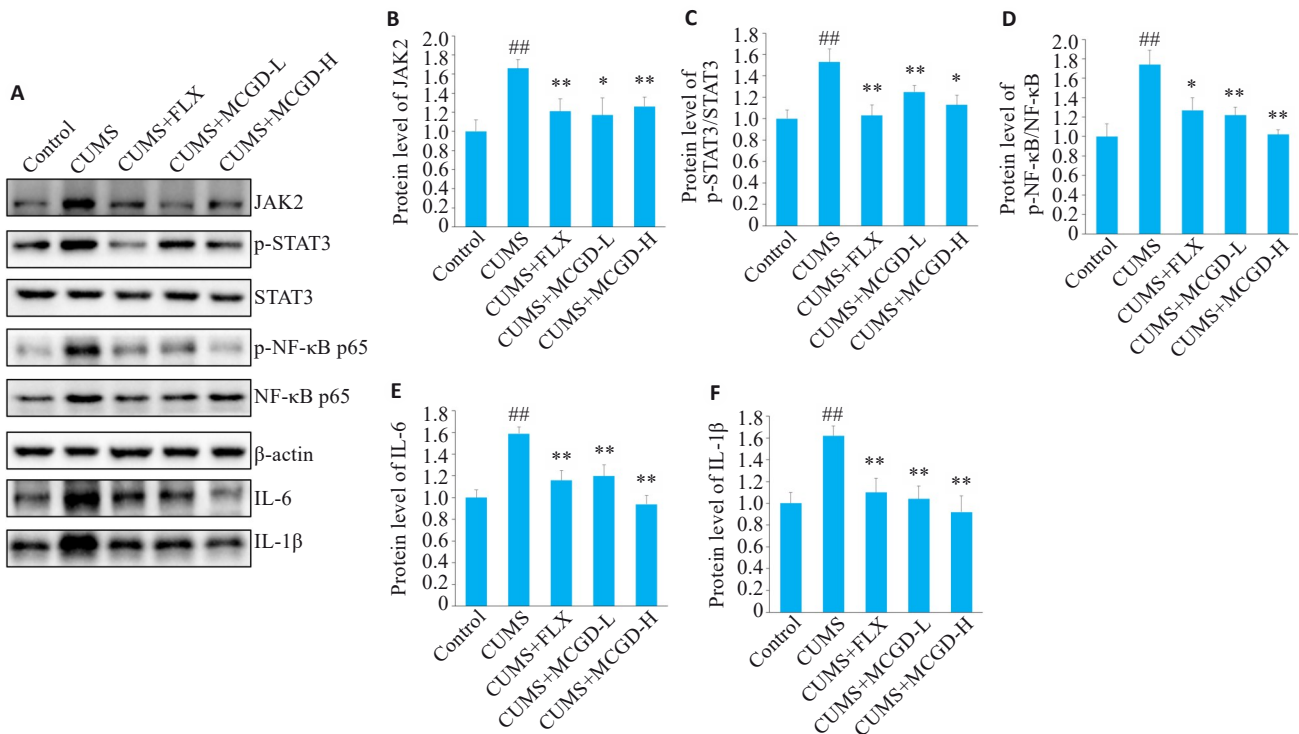


图7 加味柴胡桂枝汤对CUMS小鼠海马组织JAK2/STAT3信号通路的调控作用

Fig.7 Effects of MCGD on the JAK2/STAT3 signaling pathway in the hippocampus of CUMS mice. A: Protein bands of JAK2, p-STAT3, STAT3, p-NF-κB, NF-κB, IL-1β, and IL-6 detected by Western blotting. B-F: Quantitative analysis of JAK2, p-STAT3, STAT3, p-NF-κB, NF-κB, IL-6, and IL-1β protein expression levels. Data are presented as Mean±SD (n=3). Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test. ##P<0.01 vs Control group; \*P<0.05, \*\*P<0.01 vs CUMS group.

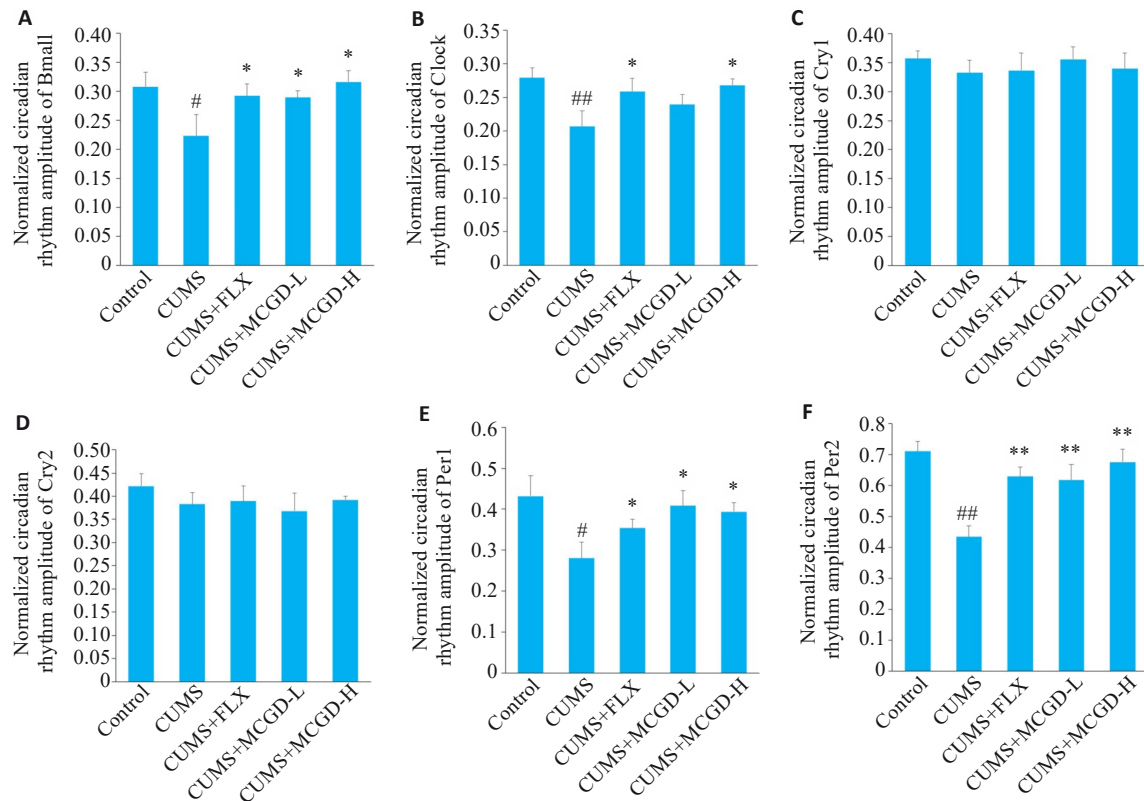


图8 加味柴胡桂枝汤对CUMS小鼠海马组织时钟蛋白基因表达水平的调控作用

Fig. 8 Regulatory effect of MCGD on expression levels of clock protein genes in the hippocampus of CUMS mice. A: Normalized circadian rhythm amplitude of Bmal1. B: Normalized circadian rhythm amplitude of Clock1. C: Normalized circadian rhythm amplitude of Cry1. D: Normalized circadian rhythm amplitude of Cry2. E: Normalized circadian rhythm amplitude of Per1. F: Normalized circadian rhythm amplitude of Per2. Data are presented as Mean±SD (n=3). Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test. #P<0.05, ##P<0.01 vs Control group; \*P<0.05, \*\*P<0.01 vs CUMS group.

通路是介导中枢神经炎症反应的重要信号轴,其异常激活与小胶质细胞激活、神经元损伤及抑郁症状密切相关<sup>[40-42]</sup>。王英等<sup>[43]</sup>揭示温阳解郁方能抑制小胶质细胞向M1型极化以减少促炎因子释放而调节母婴分离结合束缚应激型小鼠的抑郁样行为;杨晓珊等<sup>[44]</sup>发现下调IL-6,阻断JAK2/STAT3信号通路可改善海马突触可塑性损伤,进而减轻抑郁大鼠的病情。本研究发现,CUMS小鼠中小胶质细胞显著激活,总分支长度变短,伴随JAK2、p-STAT3、p-NF-κB表达显著上调。而MCGD干预可有效下调小胶质细胞过度激活和抑制JAK2/STAT3通路,并降低炎症因子IL-1β、IL-6表达,提示其可能通过阻断JAK2/STAT3信号激活过程,从而减轻神经炎症。这一结果揭示MCGD通过调控小胶质细胞激活和炎症信号通路在中枢发挥神经保护及抗抑郁作用,具有明确的机制基础。

此外,本研究关注抑郁障碍和昼夜节律之间的联系。近年来,越来越多证据表明昼夜节律失调与情绪障碍间存在双向关联性,其分子调控网络已成为潜在治疗靶点<sup>[19,20]</sup>。昼夜节律系统由下丘脑视交叉上核(SCN)中主时钟及外周组织时钟协同构成,Bmal1为维持正常

昼夜节律核心时钟基因之一。课题组前期工作证实,SCN主时钟与外周时钟之间存在神经连接,外周组织的时钟蛋白节律改变参与焦虑抑郁样行为的调控<sup>[20,24]</sup>。亦有研究指出,脂多糖诱导的大鼠抑郁样行为模型中观察到神经炎症级联反应,其机制可能与Bmal1表达动态失衡相关<sup>[45]</sup>。本研究结果发现,CUMS小鼠Bmal1、Clock等关键节律因子振荡节律受损。而MCGD干预可部分恢复其振幅,提示其具有调节节律基因表达的能力。这一发现与中医“调和营卫”理论中强调机体时序协调性的治疗思想形成呼应,为阐释中药复方在节律相关疾病中的作用机制提供了新的实验依据。

本研究在继承传统名方应用基础上,融合现代网络药理学与动物实验证据,具有以下创新点:(1)首次从分子水平明确了MCGD通过抑制JAK2/STAT3信号通路及小胶质细胞活化改善情绪障碍的作用机制;(2)观察到MCGD对节律基因表达异常具有调节作用,揭示了中医药在昼夜节律相关疾病领域的作用机制,为其临床应用提供科学依据;(3)结合网络药理学筛选活性成分与靶点,为中药复方药效物质基础研究提供了理论支撑。

需要指出的是,尽管本研究通过Western blotting

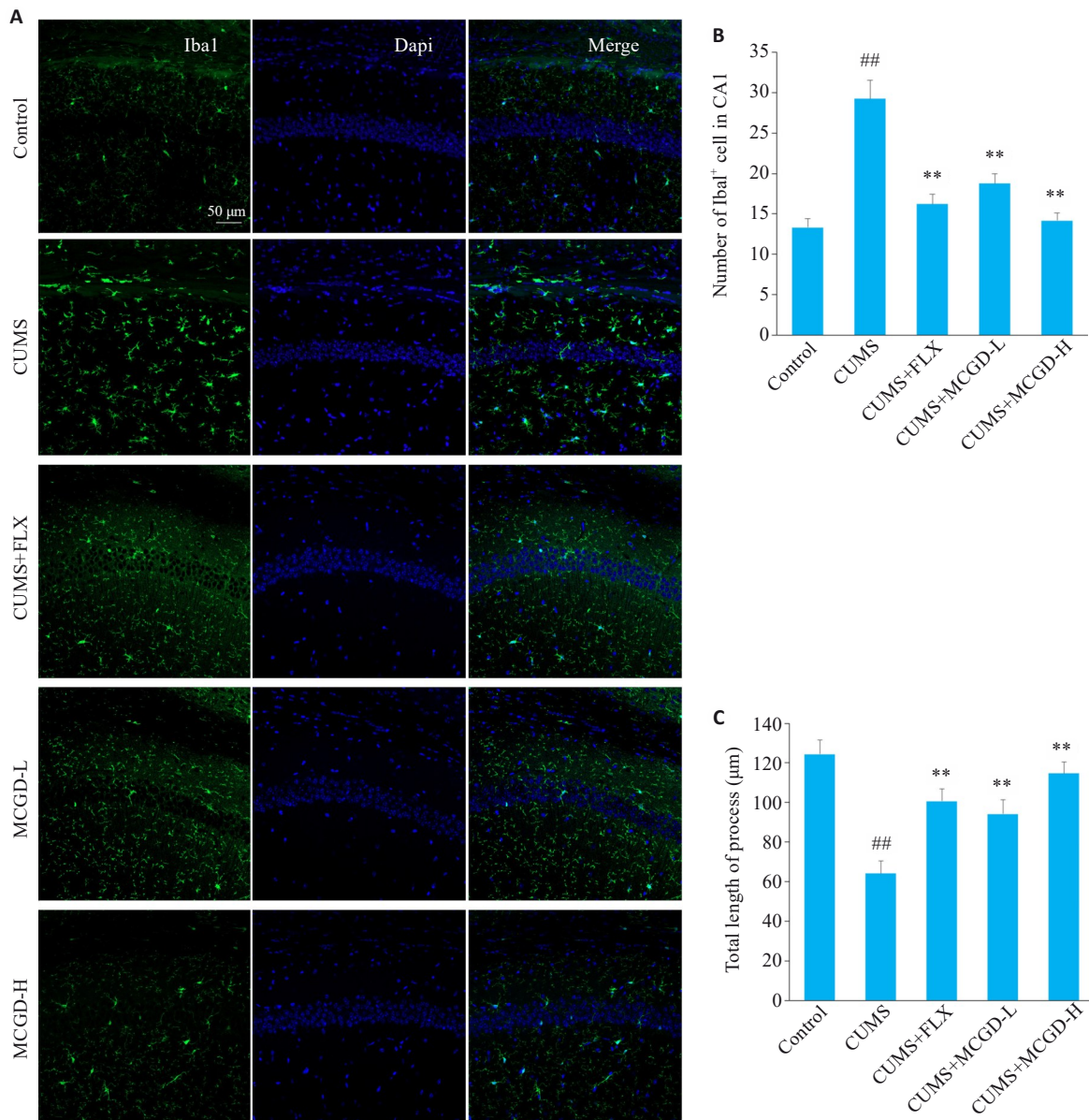


图9 加味柴胡桂枝汤对CUMS小鼠海马CA1区小胶质细胞活化水平的影响

Fig.9 Effects of MCGD on microglia activation level in the hippocampal CA1 region of CUMS mice. A: Immunofluorescence images of Iba1 expression (Original magnification: ×200). B: Statistics of Iba1<sup>+</sup> cells in the hippocampal CA1 region. C: Statistics of microglia total length of process in the hippocampal CA1 region. Each group included 3 mice, and 4 slices were analyzed per mouse. Data are presented as Mean±SD. Statistical analysis was performed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test. <sup>##</sup>P<0.01 vs Control group; <sup>\*\*</sup>P<0.01 vs CUMS group.

等实验手段初步验证了MCGD可通过下调JAK2/STAT3信号通路相关蛋白表达,进而抑制小胶质细胞活化、改善炎症状态和焦虑抑郁样行为,但未进一步采用STAT3抑制剂或敲除模型进行反向验证,这是本研究的局限之一。由于实验周期和技术平台限制,尚未能在本研究中补充相应数据。我们已在后续课题设计中纳入STAT3特异性抑制剂的干预实验,以进一步明确MCGD作用是否依赖于该通路的激活状态,从而更加系统地阐明其作用机制。

综上所述,加味柴胡桂枝汤可通过调控JAK2/STAT3信号通路、抑制小胶质细胞活化、改善神经炎症

状态以及恢复昼夜节律紊乱,有效缓解CUMS诱导的小鼠焦虑抑郁样行为。本研究为中医药干预情志疾病提供了科学依据,也为开发安全有效的天然抗抑郁药物提供了新的思路和潜在靶点。

**Declaration of interests:** The authors declare no competing interests.

**参考文献:**

[1] McIntyre RS, Berk M, Brietzke E, et al. Bipolar disorders[J]. Lancet, 2020, 396(10265): 1841-56.  
 [2] Malhi GS, Mann JJ. Depression[J]. Lancet, 2018, 392(10161): 2299-312.

- [3] Otte C, Gold SM, Penninx BW, et al. Major depressive disorder[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16065.
- [4] Hickie IB, Rogers NL. Novel melatonin-based therapies: potential advances in the treatment of major depression[J]. *Lancet*, 2011, 378(9791): 621-31.
- [5] Marwaha S, Palmer E, Suppes T, et al. Novel and emerging treatments for major depression[J]. *Lancet*, 2023, 401(10371): 141-53.
- [6] Jha MK, Mathew SJ. Pharmacotherapies for treatment-resistant depression: how antipsychotics fit in the rapidly evolving therapeutic landscape[J]. *Am J Psychiatry*, 2023, 180(3): 190-9.
- [7] Crowell AL, Riva-Posse P, Holtzheimer PE, et al. Long-term outcomes of subcallosal cingulate deep brain stimulation for treatment-resistant depression[J]. *Am J Psychiatry*, 2019, 176(11): 949-56.
- [8] Lundberg J, Cars T, Lööv SÅ, et al. Association of treatment-resistant depression with patient outcomes and health care resource utilization in a population-wide study[J]. *JAMA Psychiatry*, 2023, 80(2): 167-75.
- [9] 梁小珊, 熊一凡, 梁晓涛, 等. 谢炜教授基于“少阳为枢”理论运用柴胡桂枝汤临床辨治经验[J]. *河北中医*, 2020, 42(7): 977-80.
- [10] 梁晓涛, 梁小珊, 杨路, 等. 谢炜教授“调肝安神, 调和阴阳”辨治失眠[J]. *环球中医药*, 2021, 14(10): 1815-8.
- [11] 熊一凡, 梁小珊, 梁晓涛, 等. 柴胡皂甙a减轻戊四氮诱发的皮质酮抑郁模型小鼠的急性癫痫发作: 基于小胶质细胞介导的炎症反应[J]. *南方医科大学学报*, 2024, 44(3): 515-22.
- [12] Zhu XY, Huang YY, Qiu J, et al. Chaihu Guizhi Decoction prevents cognitive, memory impairments and sensorimotor gating deficit induced by N-methyl-D-aspartate receptor antibody in mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 337(Pt 1): 118806.
- [13] Kanan MF, Sheehan PW, Haines JN, et al. Neuronal deletion of the circadian clock gene *Bmal1* induces cell-autonomous dopaminergic neurodegeneration[J]. *JCI Insight*, 2024, 9(2): e162771.
- [14] Guzmán-Ruiz MA, Guerrero-Vargas NN, Lagunes-Cruz A, et al. Circadian modulation of microglial physiological processes and immune responses[J]. *Glia*, 2023, 71(2): 155-67.
- [15] Brooks JF 2nd, Behrendt CL, Ruhn KA, et al. The microbiota coordinates diurnal rhythms in innate immunity with the circadian clock[J]. *Cell*, 2021, 184(16): 4154-67.e12.
- [16] Yang BQ, Han Y, Hu SQ, et al. Polystyrene microplastics induce depression-like behavior in zebrafish *via* neuroinflammation and circadian rhythm disruption[J]. *Sci Total Environ*, 2025, 959: 178085.
- [17] Kou L, Chi XS, Sun YD, et al. The circadian clock protein Rev-erba provides neuroprotection and attenuates neuroinflammation against Parkinson's disease *via* the microglial NLRP3 inflammasome[J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1): 133.
- [18] Lananna BV, Nadarajah CJ, Izumo M, et al. Cell-autonomous regulation of astrocyte activation by the circadian clock protein *BMAL1*[J]. *Cell Rep*, 2018, 25(1): 1-9. e5.
- [19] Yao D, Li R, Hao JH, et al. Melatonin alleviates depression-like behaviors and cognitive dysfunction in mice by regulating the circadian rhythm of AQP4 polarization[J]. *Transl Psychiatry*, 2023, 13(1): 310.
- [20] Liang XT, Ding YW, Zhu XY, et al. Suprachiasmatic nucleus dysfunction induces anxiety- and depression-like behaviors *via* activating the BDNF-TrkB pathway of the striatum[J]. *Transl Psychiatry*, 2025, 15(1): 92.
- [21] Chen X, Gan YT, Zhang KQ, et al. microRNA-204-5p deficiency within the vmPFC region contributes to neuroinflammation and behavioral disorders *via* the JAK2/STAT3 signaling pathway in rats[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2025, 12(10): e2403080.
- [22] Cavadini G, Petrzilka S, Kohler P, et al. *TNF*-alpha suppresses the expression of clock genes by interfering with E-box-mediated transcription[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(31): 12843-8.
- [23] Song N, Liu ZH, Gao Y, et al. NAc-DBS corrects depression-like behaviors in CUMS mouse model *via* disinhibition of DA neurons in the VTA[J]. *Mol Psychiatry*, 2024, 29(5): 1550-66.
- [24] Liang XS, Liang XT, Zhao YY, et al. Dysregulation of the suprachiasmatic nucleus disturbs the circadian rhythm and aggravates epileptic seizures by inducing hippocampal GABAergic dysfunction in C57BL/6 mice[J]. *J Pineal Res*, 2024, 76(5): e12993.
- [25] Pizzagalli DA, Roberts AC. Prefrontal cortex and depression[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2022, 47(1): 225-46.
- [26] Luo HR, Wang XQ, Zhang YL, et al. Can circadian rhythm predict changes in neurocognitive functioning in bipolar disorder: protocol of a 12-month longitudinal cohort study based on research domain criteria[J]. *Ann Med*, 2023, 55(2): 2240422.
- [27] Mirchandaney R, Asarnow LD, Kaplan KA. Recent advances in sleep and depression[J]. *Curr Opin Psychiatry*, 2023, 36(1): 34-40.
- [28] Crouse JJ, Carpenter JS, Song YJC, et al. Circadian rhythm sleep-wake disturbances and depression in young people: implications for prevention and early intervention[J]. *Lancet Psychiatry*, 2021, 8(9): 813-23.
- [29] Hao WZ, Ma QY, Wang L, et al. Gut dysbiosis induces the development of depression-like behavior through abnormal synapse pruning in microglia-mediated by complement C3[J]. *Microbiome*, 2024, 12(1): 34.
- [30] Xian X, Cai LL, Li Y, et al. Neuron secrete exosomes containing miR-9-5p to promote polarization of M1 microglia in depression[J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 122.
- [31] Shen SY, Liang LF, Shi TL, et al. Microglia-derived interleukin-6 triggers astrocyte apoptosis in the hippocampus and mediates depression-like behavior[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2025, 12(11): e2412556.
- [32] Brécier A, Li VW, Smith CS, et al. Circadian rhythms and glial cells of the central nervous system[J]. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 2023, 98(2): 520-39.
- [33] 刘日群, 李字棋, 肖淑华, 等. 理气药抗抑郁作用及机制研究进展[J]. *中草药*, 2024, 55(10): 3558-68.
- [34] 倪雨婷, 张欢欢, 赵丹丹, 等. 酸枣仁-柏子仁组分调控睡眠障碍中神经递质的研究[J]. *黑龙江医药*, 2023, 36(05): 1000-4.
- [35] Agrawal K, Chakraborty P, Dewanjee S, et al. Neuropharmacological interventions of quercetin and its derivatives in neurological and psychological disorders[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2023, 144: 104955.
- [36] Wang MY, Wei X, Jia YG, et al. Quercetin alleviates chronic unpredictable mild stress-induced depression-like behavior by inhibiting NMDAR1 with  $\alpha 2\delta -1$  in rats[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2024, 30(4): e14724.
- [37] Su P, Liu LM, Gong YH, et al. Kaempferol improves depression-like

- behaviors through shifting microglia polarization and suppressing NLRP3 *via* tilting the balance of PPAR $\gamma$  and STAT1 signaling[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 143(Pt 3): 113538.
- [38] Liu HT, Lin YN, Tsai MC, et al. Baicalein exerts therapeutic effects against endotoxin-induced depression-like behavior in mice by decreasing inflammatory cytokines and increasing brain-derived neurotrophic factor levels[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(5): 947.
- [39] Zhang ML, Li XP, Gao LF, et al. Nobiletin, an activator of the pyruvate kinase isozyme M1/M2 protein, upregulated the glycolytic signalling pathway and alleviated depressive-like behaviour caused by artificial light exposure at night in zebrafish[J]. *Food Chem*, 2025, 463(Pt 2): 141328.
- [40] Jin Y, Kang YL, Wang MH, et al. Targeting polarized phenotype of microglia *via* IL6/JAK2/STAT3 signaling to reduce NSCLC brain metastasis[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 52.
- [41] Hao ZZ, Ji R, Su YJ, et al. Indole-3-propionic acid attenuates neuroinflammation and cognitive deficits by inhibiting the RAGE-JAK2-STAT3 signaling pathway[J]. *J Agric Food Chem*, 2025, 73(9): 5208-22.
- [42] Liu PP, Liu XH, Ren MJ, et al. Neuronal cathepsin S increases neuroinflammation and causes cognitive decline *via* CX3CL1-CX3CR1 axis and JAK2-STAT3 pathway in aging and Alzheimer's disease[J]. *Aging Cell*, 2025, 24(2): e14393.
- [43] 王英, 巩子汉, 梁文青, 等. 基于JAK2/STAT3信号通路探讨温阳解郁方调节小鼠海马小胶质细胞激活的机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(8): 88-96.
- [44] 杨晓珊, 王瑞瑞, 李英, 等. IL-6介导JAK/STAT信号通路在胶原诱导性关节炎大鼠抑郁发生中的作用机制研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(17): 2053-8.
- [45] Xu DD, Hou ZQ, Xu YY, et al. Potential role of Bmal1 in lipopolysaccharide-induced depression-like behavior and its associated "inflammatory storm" [J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2024, 19(1): 4.

(编辑:经媛)