山西大学学报(自然科学版)47(6):1277－1288,2024
Journal of Shanxi University(Nat. Sci. Ed.)

DOI:10.13451/j.sxu.ns.2023150

有氧运动抗抑郁的海马代谢组学机制研究

郑洁[1,2],侯江涛[1],向欢[1],田俊生[3],秦雪梅[3],韩雨梅[1*]

(1.山西大学 体育学院,山西 太原 030006;
2.岳阳职业技术学院,湖南 岳阳 414000;
3.山西大学 中医药现代研究中心,山西 太原 030006)

摘　要:本文基于液相色谱仪-质谱仪(Liquid chromatograph-mass spectrometer,LC-MS)代谢组学技术结合网络药理学方法,探讨有氧运动对慢性不可预知温和应激(Chronic unpredictable mild stress, CUMS)抑郁模型大鼠海马组织代谢谱的调控以及运动抗抑郁可能的作用机制。将大鼠随机分为对照组(C)、模型组(D)、有氧运动组(E)和模型运动组(DE),除C组和E组正常饲养外,DE组和E组进行有氧运动干预。采用行为学指标评估大鼠抑郁样行为,LC-MS代谢组学技术检测海马组织代谢物的变化及相关代谢途径,运用网络分析工具分析有氧运动抗抑郁的潜在靶点和信号通路。结果显示,与C组相比,D组大鼠体重、糖水偏爱率、穿越格数及直立次数均显著降低(P<0.01),有氧运动干预后,DE组大鼠糖水偏爱、穿越格数及直立次数均显著增加(P<0.05,P<0.01),海马LC-MS共鉴定出16个与抑郁症相关的差异代谢物,有氧运动后显著回调肌酸、黄嘌呤、N-乙酰天冬氨酸、*L*-苯丙氨酸、酪氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸和次黄嘌呤等8种代谢物,这表明有氧运动能够改善CUMS大鼠的抑郁样行为,且运动干预能够显著回调海马区氨基酸类代谢物的水平;网络药理学结果发现有氧运动干预抑郁症的靶点有99个,京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG)通路富集显示163条信号通路,表明有氧运动可能通过调控丝氨酸/苏氨酸激酶1(AKT1-AKT serine/threonine kinase 1 Gene,AKT1)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(Mammalian target of rapamycin,mTOR)、复合基因座(GNAS complex locus,GNAS)、FOS、环腺苷酸反应元件结合蛋白1(CAMP responsive element binding protein 1,CREB1)核心靶点作用于PI3K-AKT、cAMP、多巴胺能神经突触等信号通路干预抑郁症。

关键词:有氧运动;抑郁症;LC-MS代谢组学;海马;网络药理学
中图分类号:G804.2　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:0253-2395(2024)06-1277-12

A Study on the Hippocampal Metabolomics Mechanism of Aerobic Exercise in Antidepressant Effects

ZHENG Jie[1,2], HOU Jiangtao[1], XIANG Huan[1], TIAN Junsheng[3], QIN Xuemei[3], HAN Yumei[1*]

(1. *School of Physical Education, Shanxi University, Taiyuan* 030006*, China;*
2. *Yueyang Vocational Technical College, Yueyang* 414000*, China;*
3. *Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan* 030006*, China*)

Abstract: In this paper, we investigated the regulation of metabolic profiles in hippocampal tissues of rats with chronic unpredictable mild stress (CUMS) model of depression by aerobic exercise based on LC-MS metabolomics combined with the network pharmacology approach, and the possible mechanisms of antidepressant effects of exercise. The rats were randomly divided into control (C),

收稿日期:2023-04-20;**接受日期**:2023-09-12
基金项目:山西省基础研究计划项目(202103021224027)
作者简介:郑洁(1999-),女,山西运城人,硕士研究生,研究方向为运动与健康促进。E-mail:zhengjievv@163.com
* **通信作者**:韩雨梅(HAN Yumei), E-mail:hanyumei@sxu.edu.cn
引文格式:郑洁,侯江涛,向欢,等.有氧运动抗抑郁的海马代谢组学机制研究[J].山西大学学报(自然科学版),2024,47(6):1277-1288. DOI:10.13451/j.sxu.ns.2023150

model (D), aerobic exercise (E), and depression model with exercise (DE) groups. Except for C and E groups, which were normally housed, the DE and E groups were undergone aerobic exercise intervention. Behavioral indicators were used to assess depression-like behavior in rats, LC-MS metabolomics techniques were used to detect changes in hippocampal tissue metabolites and related pathways, and pharmacological network analysis tools were used to analyze the potential targets and pathways of aerobic exercise against depression. The results showed that the body weight, the sugar water preference, the number of crossing and the number of rearing were significantly lower in D group compared to C group (P<0.01), and the sugar water preference, the number of crossing and the number of rearing were significantly increased in DE groups after aerobic exercise intervention (P<0.05, P<0.01). A total of 16 differential metabolites associated with depression were identified by hippocampal LC-MS, and eight metabolites, including creatine, xanthine, N-acetyl aspartate, L-phenylalanine, tyrosine, glutamine, glutamate, and hypoxanthine, were significantly recovered after aerobic exercise, suggesting that aerobic exercise ameliorates depressive-like behavior in CUMS rats and that the exercise intervention significantly modulates the levels of amino acid metabolites in the hippocampus; the network pharmacology results identified 99 targets for aerobic exercise to intervene depression, and the KEGG pathway enrichment revealed 163 pathways, suggesting that aerobic exercise may act on PI3K-AKT, cAMP, dopaminergic synapses, and other signaling pathways through modulation of AKT1, MTOR, GNAS, FOS, and CREB1 to intervene in depression.

Key words: aerobic exercise; depression; LC-MS metabolomics; hippocampus; Network pharmacology

0 引言

抑郁症是一种慢性反复发作的精神类疾病[1-2]。世界卫生组织2022年3月发布的报告显示,新型冠状病毒感染疫情导致全球焦虑和抑郁患病率增加25%。抑郁症发病机制复杂,目前其病理机制研究主要集中于海马、额叶皮质和纹状体等中枢神经系统[3]。海马是情绪控制和障碍有关的关键脑区,在机体的应激调节中发挥重要作用[4-5]。抑郁状态下的海马体结构和功能会发生特定变化[6-7],然而海马组织的代谢特征尚未完全阐明。

有氧运动作为一种安全高效且无副作用的运动疗法,在预防和治疗抑郁症方面具有良好的效果[8-10]。Kallies等发现有氧运动的抗抑郁作用与人体血清脑源性神经营养因子(Brain-derived neurotrophic factor,BDNF)的水平变化有关[11-12]。有氧运动还可以提高人体γ-氨基丁酸((Gamma-aminobutyric acid,GABA)含量,降低谷氨酸系统和同型半胱氨酸的神经毒性作用,以及增加海马miRNA-223水平,抑制Toll样受体4(Toll-like receptor 4,TLR4)、髓样分化因子88(Myeloid differentiation primary response protein 88,MyD88)和核因子κB(Nuclear factor kappa-B,NF-κB)表达,从而减轻海马炎症反应来改善患者的抑郁症状和认知功能[13-14]。

代谢组学是研究机体整体代谢轮廓的一种组学技术,可精准检测内源性化合物的变化情况,已经广泛运用在传染病预防、药物研制与开发、以及疾病机制研究等方面,近年来已成为运动人体科学研究领域最新的组学研究平台之一。网络药理学从生物网络调控角度探索药物-靶点-疾病的相互作用关系,为抗抑郁的作用研究提供了新模式。

课题组前期采用核磁共振(Nuclear magnetic resonance spectroscopy,NMR)、液相色谱仪-质谱仪(Liquid chromatograph-mass spectrometer,LC-MS)代谢组学技术对大鼠肌肉组织和血清生物样品进行检测,发现抑郁大鼠骨骼肌脂质代谢发生紊乱、血清中氨基酸代谢和能量代谢紊乱,有氧运动干预后抑郁大鼠代谢紊乱的情况得到明显回调[15-16]。目前,在体育科学研究领域,代谢组学技术多用于阐释人体/模型动物对特定运动方案/运动模式的代谢应激或代谢适应的规律研究[17-18],基于LC-MS代谢组学技术研究有氧运动改善抑郁模型动物海马代谢组学的研究尚未见报道。

本研究采用LC-MS代谢组学技术研究有氧运动对抑郁大鼠海马组织代谢轮廓的调控作用,首次基于生物网络系统分析寻找有氧运动干预抑郁症的作用靶点及信号通路,旨在全面揭示有氧运动抗抑郁的代谢机制。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂

仪器有超高效液相色谱-质谱联用仪

(Thermo-Fisher Dionex UltiMate 3000 UHPLC-Q Exactive Orbitrap-MS),使用ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(2.1 mm × 100 mm,1.8 μm)(美国Waters公司),Neofuge 13R高速台式冷冻离心机(上海力申科学仪器有限公司),真空冷冻干燥机(上海知信仪器技术有限公司)。主要试剂有色谱纯乙腈、纯甲酸、纯甲醇,均购自美国Thermo公司。

1.2 抑郁模型的建立和有氧运动方案

无特定病原体(Specific pathogen Free,SPF)级Sprague-Dawley大鼠(SD)(8周龄,雄性)32只,随机分为4组(n = 8),即对照组(C)、单纯有氧运动组(E)、慢性不可预知温和应激(Chronic unpredictable mild stress,CUMS)模型组(D)和模型运动组(DE)。除C组和E组外,D组和DE组的大鼠单独饲养,并每天随机给予一种刺激,持续21 d。每周6 d给予大鼠刺激源,第7 d进行行为学测试。有氧运动方案采用三级负荷方案,每次30 min,每周运动6次,连续4周。建模过程和运动方案依据课题组前期方法[16]。

1.3 行为学测试

行为学测试通过体重测量(Body weight,BW)、糖水偏爱实验(Sucrose preference test,SPT)和旷场实验(Open field test,OFT)进行评估。详细测试流程参考文献[19]。

1.4 大鼠海马代谢组学分析

1.4.1 样本预处理

最后一次有氧运动后于次日早晨麻醉大鼠,收集海马组织并立即置于液氮中,随后转移至−80 ℃冰箱保存。

取出样本于4 ℃下解冻,加入体积分数0.2%甲酸乙腈匀浆,差速离心取上清液,真空冷冻干燥;再用体积分数70%乙腈进行复溶,离心后用注射器收集上清液。质量控制(Quality Control,QC)样本在提取每组样本匀浆液10 μL后按样本预处理方法制备。

1.4.2 LC-MS分析条件

流动相:A(含体积分数0.1%甲酸水溶液),B(含体积分数0.1%甲酸乙腈溶液),采用不同的洗脱梯度,流速为0.3 mL/min,进样量5 μL,柱温40 ℃。

采用电喷雾电离(ESI)方法,毛细管温度、鞘气流速、辅助气流速、以及喷雾电压精确调控。分辨率设置为MS Full Scan 35000 FWHM以及MS /MS17500 FWHM,碰撞能量为12 eV,24 eV和37 eV。

1.4.3 数据处理

采用Compound Discoverer 2.0软件对采集所得的LC-MS/MS数据进行分析,处理后导出Excel文件,其中包含m/z、保留时间、峰值面积等数据。将峰值面积数据进行归一化后使用SIMCA-P 14.1软件进行多元统计分析。

通过HMDB数据库并结合二级碎片离子对差异变量进行鉴定指认,将鉴定所得差异代谢物数据通过Metabo Analyst 3.0进行通路富集分析。

1.5 有氧运动干预抑郁症的网络药理学分析

1.5.1 有氧运动与抑郁症相关靶点基因预测及蛋白质互作网络(protein-protein interaction networks,PPI)构建

使用Genecards数据库分别输入关键词“Aerobic exercise”和“Depression”进行搜索,将搜索到的有氧运动和抑郁症相关靶标基因导出后取交集基因,得到有氧运动干预抑郁症的潜在靶点基因。

将潜在靶点基因导入STRING11.5平台,Organism设为Homo sapiens,Minimum required interaction score设为0.4,构建蛋白质-蛋白质相互作用网络(PPI),最后通过Cytoscape3.7.2软件进行可视化分析。

1.5.2 有氧运动与抑郁症靶点基因本体论(Gene Ontology,GO)和KEGG富集分析

将上述交集靶点导入Metascape3.5数据库进行生物信息富集分析,对分析结果得到的P值进行筛选,选取P≤1的前20条结果。

1.5.3 靶点-通路网络构建及核心靶点筛选

将交集靶点与KEGG富集分析得到的生物信息整合后导入Cytoscape3.7.2中构建靶点-通路图。

1.6 统计学分析

运用SPSS27.0和GraphPad Prism 8.0对数据进行统计处理,符合正态分布的数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,行为学结果采用双因素方

差分析,对代谢组学结果进行多元统计分析,组间差异采用t检验,$P<0.05$为差异具有统计学意义,$P<0.01$为具有极显著性差异。使用Metascape3.5数据库对网络药理学结果进行生物信息富集分析。

动物实验操作严格遵循《实验动物管理条例》,并获得山西大学科学研究委员会的批准,实验方案均经山西大学科学研究伦理委员会批准(SXULL2020069)。

2 研究结果

2.1 有氧运动干预后大鼠行为学指标的变化

慢性应激21 d后,与C组相比,D组大鼠体重、糖水偏爱、穿越格数以及直立次数均显著降低($P<0.01$),表明CUMS模型成功复制。有氧运动干预28天后,与D组相比,DE组的大鼠糖水偏爱率显著升高($P<0.01$)[图1(b)],表明有氧运动可显著改善抑郁大鼠快感缺失的情况;旷场实验穿越格数和直立次数均显著增加($P<0.01$)[图1(c)—(d)],表明有氧运动能够显著改善抑郁大鼠的空间活动和探索能力。行为学结果显示有氧运动能改善慢性应激所致的大鼠抑郁样行为,提示有氧运动具有显著的抗抑郁作用。

2.2 有氧运动干预后大鼠海马组织LC-MS代谢组学变化

2.2.1 多元统计分析

采用无监督主成分分析(Principal component analysis,PCA)模式对QC样本进行聚类分析考察仪器系统的稳定性。结果显示,在PCA得分图中,C组和D组分离,且QC样品聚类良好[图2(a)]。表明建立的分析方法稳定可靠,满足大批量进样的分析要求。

构建偏最小二乘法判别分析(Partial least squares discrimination analysis,PLS-DA)模型验证实验,如图2(b)所示,模型良好,不存在过拟合现象($R^2 = 0.978$,$Q^2 = 0.497$)。对C组和D组进行有监督的正交偏最小二乘判别分析(orthogonal PLS-DA,OPLS-DA)分析,以筛选出与抑郁症相关的差异变量。OPLS-DA得分图显示C组和D组可明显分开[图2(c)],表明抑郁大鼠海马代谢轮廓发生了显著变化,结合S-plot图[图2(d)]中VIP>1[VIP:变量投影重要性

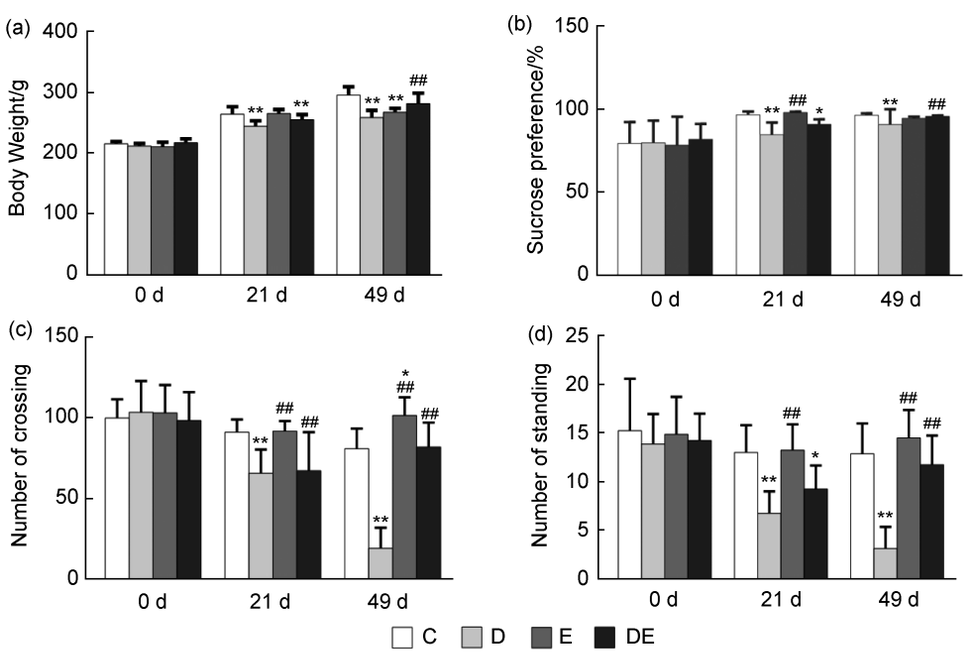


图1 有氧运动对不同组别大鼠抑郁样行为的影响

(a)体重;(b)糖水偏爱率;(c)穿越格数;(d)直立次数。

与对照组比较:$^{*}P<0.05$,$^{**}P<0.01$;与模型组比较:$^{\#}P<0.05$ $^{\#\#}P<0.01$

Fig. 1 Effects of aerobic exercise on depression-like behavior in different groups of rats

(a) Body weight; (b) Sugar preference rate; (c) Number of crossing; (d) Number of standing. $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ vs control group; $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$ vs model group.

(Variance importance)]及 t 检验($P<0.05$)筛选C组与D组之间显著改变的差异变量;此外,对D组和DE组进行OPLS-DA分析[图2(e)],结果显示D组和DE组显著分离,表明有氧运动能够调节抑郁大鼠海马代谢谱。上述结果表明,有氧运动干预后,CUMS造模所致的大鼠海马组织代谢紊乱得到改善。

2.2.2 差异代谢物分析

各代谢物的保留时间(RT)、质荷比(m/z)以及VIP值如表1所示。代谢物鉴定结果发现16个与抑郁症有关的差异代谢物,其中8个是有氧运动改善抑郁的潜在生物标志物。

与C组相比,D组大鼠海马组织中胆碱、N-乙酰丙氨酸、4-叔丁基苯酚等6种代谢物水平显著升高;谷氨酸、谷氨酰胺、L-苯丙氨酸、N-乙酰天冬氨酸、酪氨酸、次黄嘌呤等10种代谢物水平显著降低。有氧运动干预后,8种代谢物水平显著回调,其中L-苯丙氨酸、次黄嘌呤、N-乙酰天冬氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺和酪氨酸水平显著升高,肌酸和黄嘌呤水平下降。结果表明,有氧运动干预后,抑郁大鼠模型海马组织的代谢物可以被明显调节,海马组织代谢紊乱的情况得到改善。各代谢物相对含量如图3所示。

2.2.3 代谢通路分析

将差异代谢物导入Metabo Analyst中进行代谢通路分析,代谢通路影响值(impact value)>0.1被视为贡献值最大的代谢通路。共筛选得5条与抑郁显著相关的代谢通路[图4(A)],

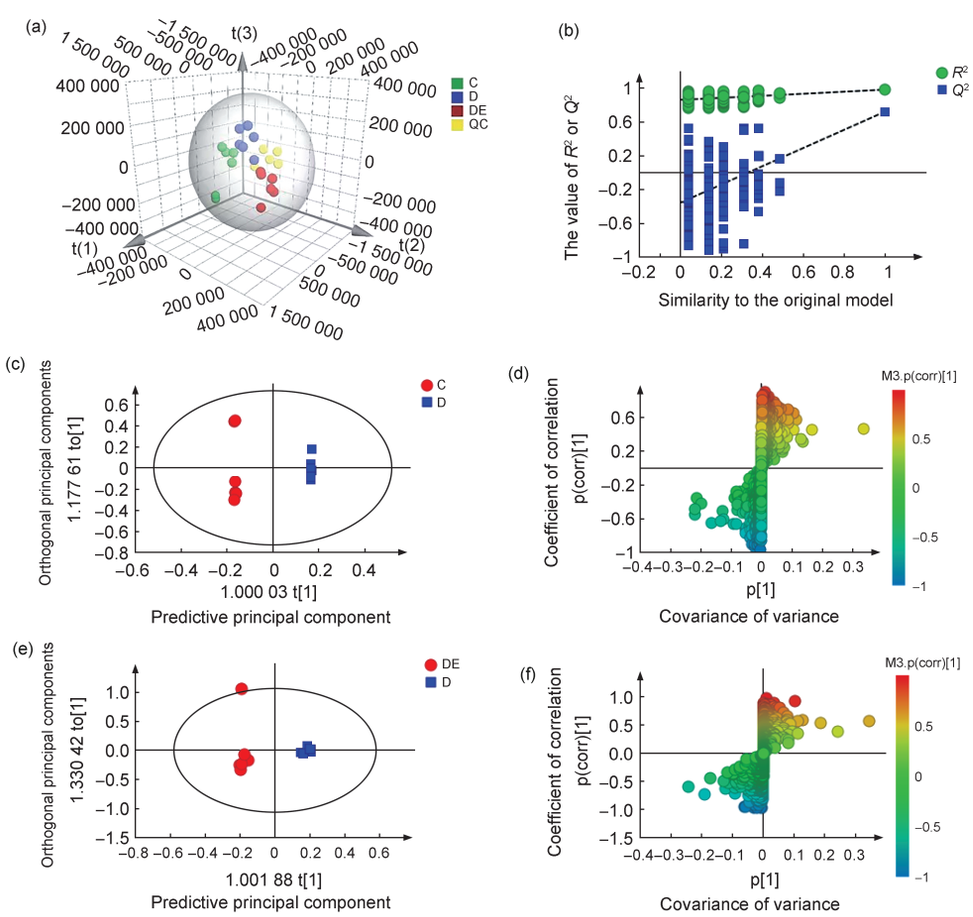


图2 海马组织LC-MS多元统计

(a) C组、D组、DE组、QC组PCA评分图;(b) PLS-DA模型验证图;(c) C组和D组OPLS-DA评分图;(d) C组和D组S-Plot图;(e) D组和DE组OPLS-DA评分图;(f) D组和DE组的S-Plot图。QC:质量控制,PLS-DA偏最小二乘判别分析,OPLS-DA正交偏最小二乘判别分析。

Fig. 2 PCA scores of the LC-MS multivariate statistics of the hippocampus in groups

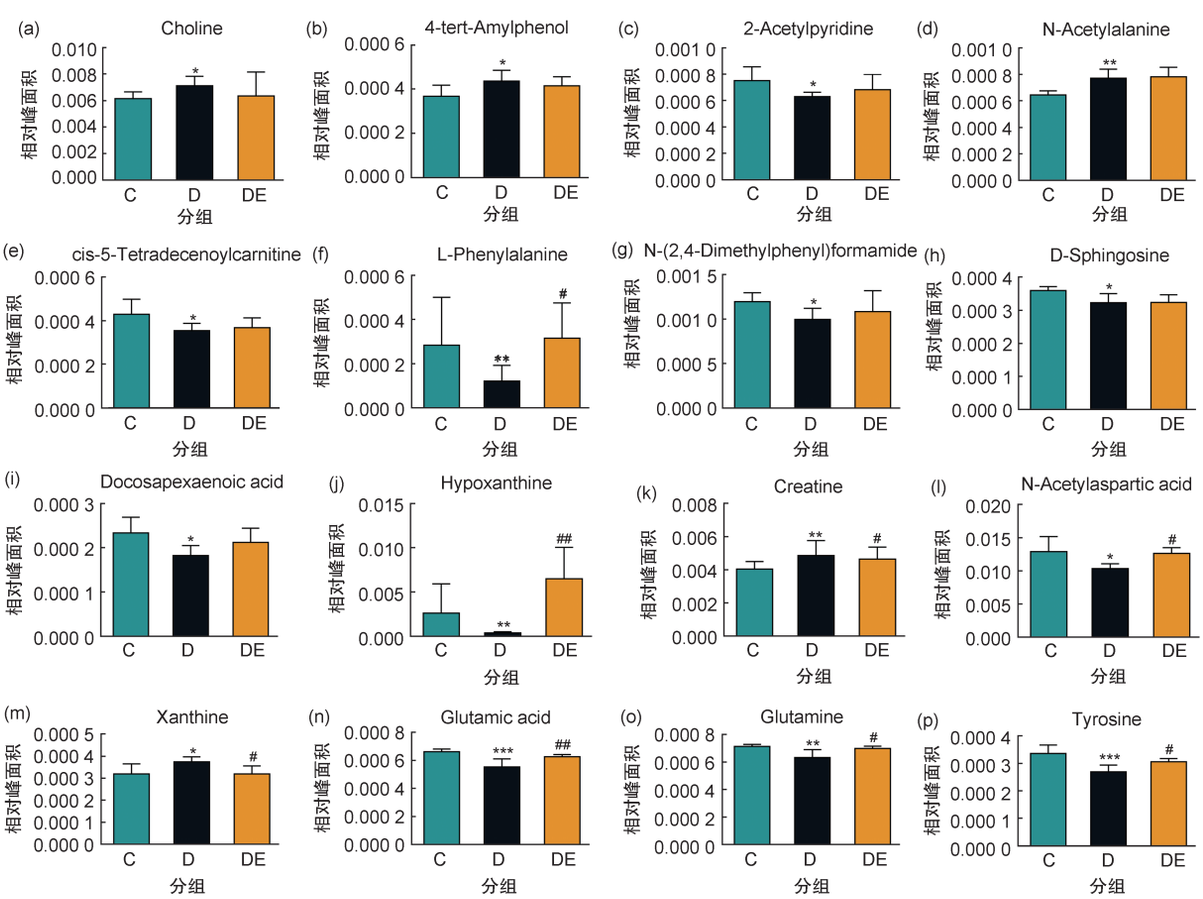
(a) C, D, DE, and QC; (b) PLS-DA model verification diagram; (c) OPLS-DA score chart of group C and group D; (d) Group C and Group D S-Plot; (e) OPLS-DA score chart of group D and group DE; (f) S-Plot of groups D and DE. QC: Quality control, PLS-DA partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA orthogonal partial least squares discriminant analysis.

表1 CUMS大鼠海马组织差异代谢物

Table 1 Differential metabolites of hippocampal tissue in CUMS rats

No.	Metabolites	*RT*/min	*m/z*	VIP	D/C	DE/D
1	Choline	0.82	103.099 99	6.168 1	↑*	—
2	4-test-Amylphenol	17.28	352.260 99	1.674 6	↑*	—
3	2-Acetylpyridine	5.29	121.052 82	2.215 3	↓*	—
4	N-Acetylalanine	1.07	131.058 26	2.386 0	↑**	—
5	*cis*-5-Tetradecenoylcarnitine	14.89	369.287 62	1.753 7	↓*	—
6	*L*-Phenylalanine	2.03	165.078 98	2.724 7	↓**	↑#
7	N-(2,4-Dimethylphenyl)formamide	6.61	149.084 08	2.883 6	↓*	—
8	*D*-Sphingosine	10.77	299.282 18	1.222 6	↓*	—
9	Docosahexaenoic acid	17.01	328.240 05	1.426 5	↑*	—
10	Hypoxanthine	1.14	136.038 48	7.977 5	↓**	↑##
11	Creatine	0.88	131.069 51	5.610 3	↑**	↓#
12	N-Acetylaspartic acid	1.12	175.048 12	6.743 5	↓*	↑#
13	Xanthine	3.63	152.033 38	1.512 9	↑*	↓#
14	*L*-Glutamic acid	0.83	147.053 19	1.062 5	↓***	↑##
15	Glutamine	0.83	146.069 11	1.342 9	↓**	↑#
16	Tyrosine	1.95	181.073 80	1.143 6	↓***	↑#

注:↓,↑分别表示CUMS组代谢物显著降低和升高;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<0.001。



注: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<0.001。

图3 各组大鼠海马组织差异代谢物相对含量图(n = 6,$\bar{x}\pm s$)

Fig. 3 Relative content of different metabolites in hippocampal tissue of rats in each group (n = 6, $\bar{x}\pm s$)

主要包括苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成;谷氨酰胺和谷氨酸代谢;丙氨酸,天冬氨酸和谷氨酸代谢;苯丙氨酸代谢;精氨酸生物合成。CUMS模型影响的5条代谢通路中,有氧运动均能对其进行调节[图4(B)]。

其中苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成以及苯丙氨酸代谢与神经递质的合成有关,谷氨酰胺和谷氨酸反应转化的中间代谢物在TCA循环中发挥一定作用,丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢与精氨酸生物合成都属于氨基酸代谢,提示有氧运动发挥抗抑郁作用的潜在机制涉及多条氨基酸代谢途径。

2.3 网络药理学分析

2.3.1 有氧运动-抑郁症相关靶点获取及PPI网络构建

对获得的"Aerobic exercise"和"Depression"相关靶点进行筛选后删除重复值过滤到270和379个相关靶点,比对后获得99个交集靶点(图5)。将交集靶点上传至String11.5数据库,获得PPI网络信息后运用Cytoscape中的MCODE插件进行分析,推测AKT1、INS、IL6、ALB等为主要靶点(图6)。

Module被认为是PPI网络中具有生物学意义的子网,其内部网络表示特定的拓扑或功能特征[20]。本研究运用Cytoscape中的MCODE插件通过分子复合体检测算法对蛋白之间的相互作用关系进行分析,得到连接密度最高的潜在Module,然后根据*P*值保留Module中前3个最佳评分的生物学进程并描述其功能(表2)。

2.3.2 GO功能富集和KEGG通路富集

对有氧运动干预抑郁症的相关靶点进行生物信息分析(图7)。GO富集分析表明有氧运动主要通过涉及分泌调节、对营养水平的反应、血液循环等生物学过程干预抑郁症[图7(a)]。KEGG通路富集分析结果显示了有氧运动干预抑郁症排名前20的信号通路[图7(d)],富集程度显著的关键通路包括癌通路、多巴胺能神经突触、寿命调节途径、TH17细胞分化等。

2.3.3 靶点-通路网络图构建

构建"靶点-通路"网络图,通过分析有氧运动干预抑郁症靶点网络拓扑参数,得到核心作用靶点(图8)。网络拓扑参数分析结果如表3所示,有氧运动通过多靶点干预抑郁症,并根据Degree值判断核心靶点。其中AKT1的Degree值为11,BetweennessCentrality值为0.126,ClosenessCentrality值为0.507,预测AKT1为有氧运动干预抑郁症的核心靶点,MTOR(9,0.063,0.447)、GNAS(9,0.071,0.453)、FOS(9,0.075,0.465)、CREB1(8,0.067,0.414)为相对重要的靶点(表3)。

3 讨论

运动干预对抑郁症的积极效应已得到研究

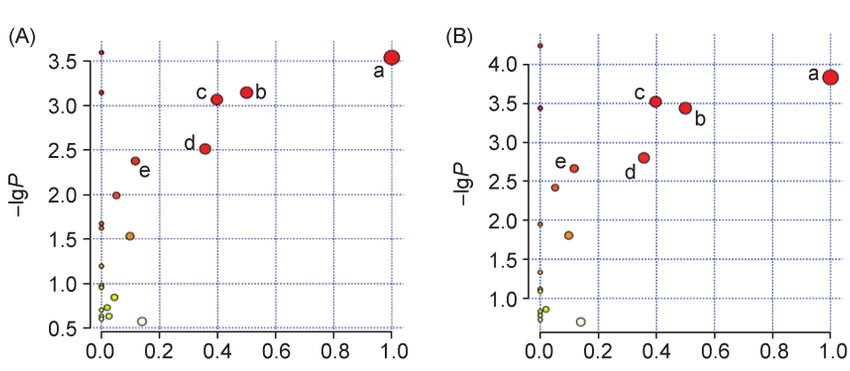


图4 Met-PA通路分析图

(A)与抑郁症有关的代谢通路;(B)有氧运动调节的代谢通路;a:苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成;b:谷氨酰胺和谷氨酸代谢;c:丙氨酸,天冬氨酸和谷氨酸代谢;d:苯丙氨酸代谢;e:精氨酸生物合成。

Fig. 4 Met-PA path analysis

(A) Metabolic pathways associated with depression; (B) Metabolic pathways regulated by aerobic exercise; a: Biosynthesis of phenylalanine, tyrosine, and tryptophan; b: glutamine and glutamate metabolism; c: Alanine, aspartic acid, and glutamic acid metabolism; d: phenylalanine metabolism; e: arginine biosynthesis.

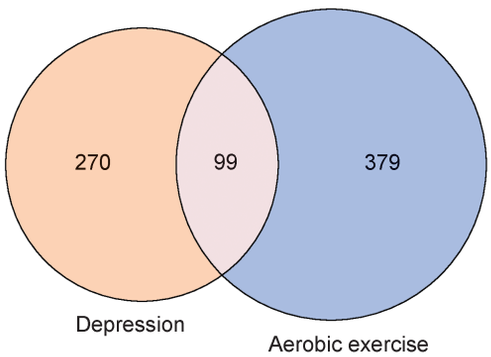


图5 运动靶点和疾病靶点VENN图

Fig. 5 VENN diagram of motor targets and disease targets

证实,但其作用机制尚未完全阐明。代谢组学是探讨疾病发病病理机制的优势技术,通过对生物样本的检测从小分子代谢物层面发现疾病相关的生物标志物。课题组前期使用NMR代谢组学技术对CUMS抑郁模型大鼠不同生物样本进行了分析,对运动干预改善抑郁症的代谢调控机制进行了初步研究。本研究采用灵敏度更高、检测更精准的LC-MS代谢组学技术全面深入阐释了有氧运动对CUMS大鼠海马组织代谢谱的调控作用,并结合网络药理学技术方法预测了有氧运动干预抑郁症的核心蛋白靶点和涉及的信号通路。

3.1 有氧运动调节抑郁大鼠海马代谢组学分析

芳香族氨基酸(如苯丙氨酸和酪氨酸)是多巴胺(DA)等儿茶酚胺类神经递质的合成前体[21-22],临床研究发现抑郁症患者血清和尿液中苯丙氨酸水平显著下降[23-24],在抑郁症患者脑内发现DA失调是抑郁症的主要症状[25]。因此,苯丙氨酸和酪氨酸在中枢和外周的浓度变化被认为与抑郁症的发病有关。本研究发现,与对照组相比,CUMS大鼠海马组织苯丙氨酸和酪氨酸的水平均降低,有氧运动干预后大鼠海马苯丙氨酸和酪氨酸的水平显著回调,提示有氧运动能够对苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成途径产生积极的调控作用,从而改善抑郁样行为。

谷氨酸能系统失调会诱导细胞兴奋毒性,导致多种神经退行性疾病病理发生[26]。Madeira等发现患有阿尔茨海默病和抑郁症患者的脑脊液中谷氨酸和谷氨酰胺水平均显著升高[27]。谷氨酸通过谷氨酸脱氢酶和谷氨酰胺两种途径产生[28]。谷氨酰胺是人体细胞内外丰富的游离氨基酸,其稳态在能量代谢和维持神经功能方面发挥关键作用,谷氨酰胺合成减少会阻碍

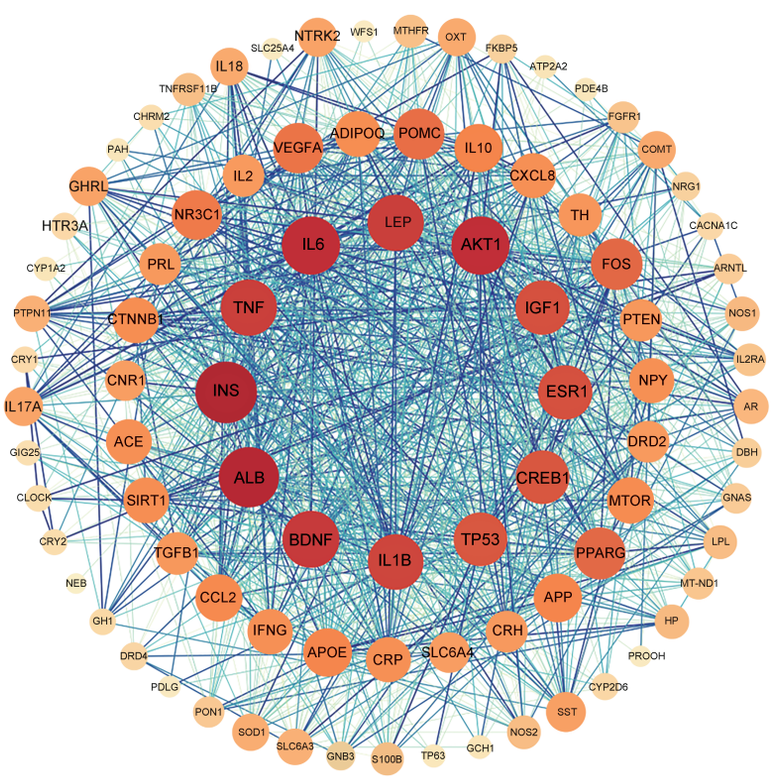


图6 有氧运动-抑郁症靶点PPI网络

Fig. 6 Aerobic exercise - Depression target PPI Network

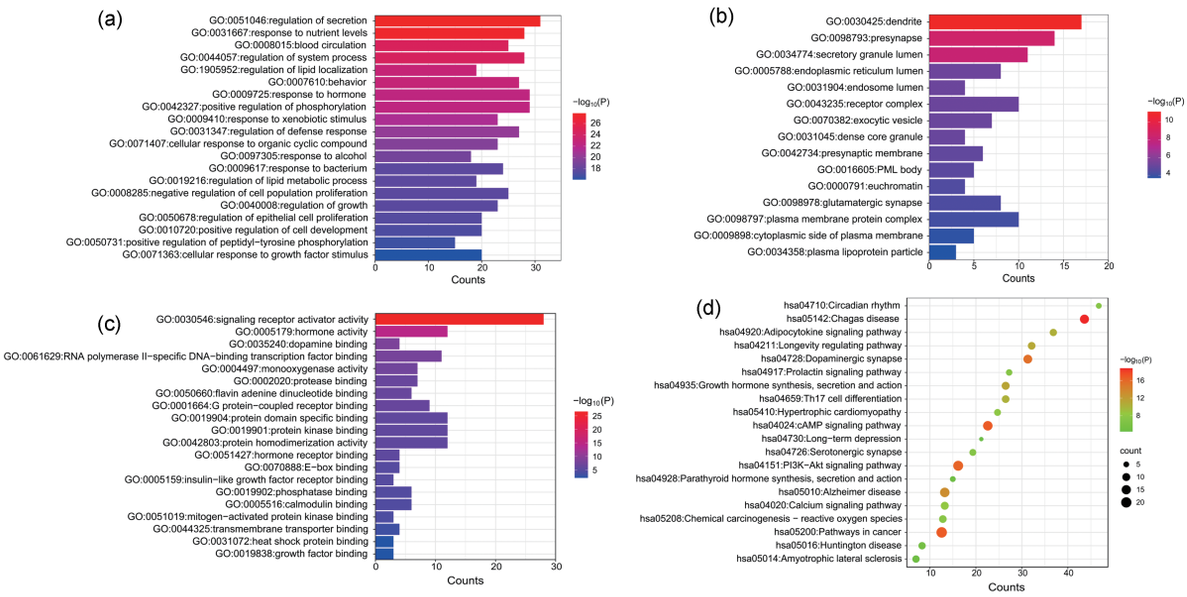


图7 有氧运动干预抑郁症的潜在靶点富集分析

(a) GO-BP分析;(b) GO-CC分析;(c) GO-MF分析;(d) KEGG分析。

Fig. 7 Enrichment analysis of potential targets of aerobic exercise in depression intervention

(a) GO-BP analysis; (b) GO-CC analysis; (c) GO-MF analysis; (d) KEGG analysis.

表2 有氧运动-抑郁症靶点PPI网络功能

Table 2 PPI network function of aerobic exercise-depression target

MCODE	GO	Description	lg*P*
MCODE_1	GO:0071407	cellular response to an organic cyclic compound	−11.5
MCODE_1	GO:0007187	G protein-coupled receptor signaling pathway, coupled to cyclic nucleotide second messenger	−10.8
MCODE_1	GO:0050804	modulation of chemical synaptic transmission	−9.7

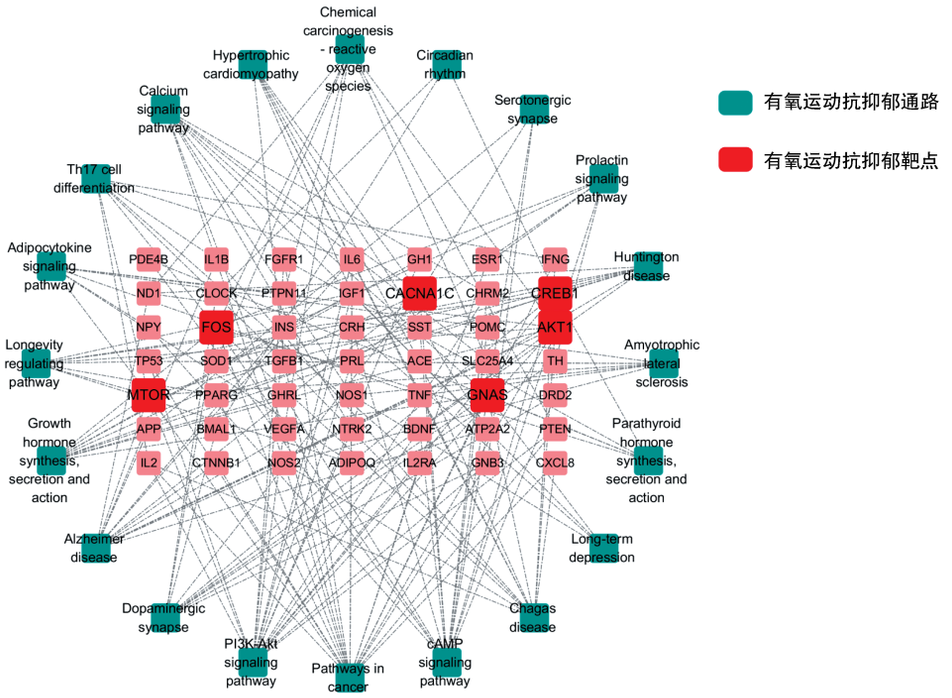
神经元代谢并影响神经递质合成,导致神经功能发生障碍,产生抑郁样行为[29]。临床研究利用质子磁共振波谱检测发现抑郁症患者脑内谷氨酸水平升高[30],课题组前期采用^{1}H NMR技术发现CUMS大鼠海马和尿液中谷氨酸和谷氨酰胺水平显著升高,有氧运动能显著回调其代谢水平,本研究中对抑郁大鼠海马组织的LC-MS检测结果与上述^{1}H NMR结果完全一致,进一步确证了谷氨酸-谷氨酰胺能系统在有氧运动抗抑郁中发挥的重要作用。

能量代谢紊乱将会导致神经生理功能障碍,继而引发神经退行性疾病[31]。N-乙酰天冬氨酸(NAA)与脑神经能量代谢密切相关。研究发现,伴有焦虑障碍的抑郁症患者其前扣带回皮层NAA水平下降,这可能是由于受到下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA)的影响[32]。本研究发现CUMS大鼠海马组织中NAA水平下降,提示抑郁大鼠脑内能量代谢发生障碍,而有氧运动可显著使其水平上升,表明有氧运动可能通过调控NAA代谢水平改善抑郁大鼠脑内能量代谢紊乱。

次黄嘌呤与黄嘌呤一起,广泛存在于动植物体中,与ATP形成密切相关[33-34]。本实验中,CUMS大鼠海马中次黄嘌呤含量明显下降,表明抑郁状态会影响机体能量产生,经过28天有氧运动后明显回调了次黄嘌呤的含量;黄嘌呤水平在CUMS大鼠中升高,运动干预后明显恢复。另有研究发现,在CUMS大鼠大脑皮层中黄嘌呤含量同样显著增加,并且发现黄嘌呤氧化酶(XOD)活性增强[35],因此推测,黄嘌呤过度合成会促使氧化应激,诱发抑郁症。本研究中,运动后均可回调黄嘌呤和次黄嘌呤的含量,提示有氧运动可能通过改善其水平发挥抗抑郁作用。

3.2 基于网络药理学探讨有氧运动干预抑郁症的作用机制

网络系统分析结果发现,有氧运动可以通过多靶点途径调控机体信号通路进而发挥抗抑郁作



注:绿色为通路,红色为靶点;颜色越深说明该靶点越重要。

图8 有氧运动干预抑郁症靶点-通路图

Fig. 8 Target of aerobic exercise in depression - pathway diagram

表3 有氧运动干预抑郁症靶点网络节点特征参数

Table 3 Characteristic parameters of target network nodes of aerobic exercise intervention in depression

靶点名称	度值	介度	紧密度
AKT1	11	0.126 128 95	0.507 462 69
MTOR	9	0.063 301 49	0.447 368 42
GNAS	9	0.071 861 44	0.453 333 33
FOS	9	0.075 041 23	0.465 753 42
CREB1	8	0.067 850 59	0.414 634 15
CACNA1C	7	0.042 240 34	0.409 638 55
IGF1	6	0.027 028 85	0.400 000 00
IL6	6	0.020 702 14	0.400 000 00
TP53	5	0.014 994 69	0.382 022 47
TNF	5	0.017 294 26	0.357 894 74
NOS2	5	0.014 968 05	0.377 777 78

用。对靶点网络拓扑参数进行分析,预测AKT1、mTOR、GNAS、FOS、CREB1在有氧运动干预抑郁症中起关键作用。中枢神经系统的AKT抑制会导致焦虑和抑郁精神障碍发生,AKT激活依赖于PI3K途径,mTOR是PI3K-AKT的下游靶点,研究发现降低前额叶皮层下缘的mTOR表达会引发小鼠的抑郁样行为[36],而有氧运动和抗阻运动均能增加相关脑区P-mTOR水平[37-38]。CREB1在神经系统和肌肉再生中起着关键作用,提高CREB1的表达能够改善抑郁症状[39]。GNAS和FOS蛋白参与细胞生长和分裂等一系列生物过程,在一项心脏代谢疾病和情绪障碍相关基因的研究中,发现*GNAS*可能是情绪障碍发生的潜在基因,提示*GNAS*基因突变可能与重度抑郁症有关[40]。以上结果表明,有氧运动抗抑郁具有多靶点特征,靶点之间相互连接并共同作用于信号通路从而发挥抗抑郁作用。

4 结论

有氧运动可以改善CUMS引起的大鼠抑郁样行为,并能够显著回调CUMS大鼠海马组织内部分差异代谢物水平,这些代谢物主要涉及氨基酸代谢途径;有氧运动可能通过调控AKT1、MTOR、GNAS、FOS、CREB1核心靶点,进而作用于PI3K-AKT、cAMP、多巴胺能神经突触等信号通路发挥抗抑郁作用。

参考文献:

[1] ZHANG X C, WOUD M L, BECKER E S, *et al*. Do Health-related Factors Predict Major Depression? A Longitudinal Epidemiologic Study[J]. *Clin Psychol Psychother*, 2018, **25** (3): 378-387. DOI: 10.1002/cpp.2171.

[2] 高贵元, 黄捷, 刘丹, 等. 抑郁症的发病机制及抗抑郁药物的研究进展[J]. 中国医药导报, 2021, **18**(1): 52−55. DOI: 10.3969/j.issn.1672-0946.2002.02.003.
GAO G Y, HUANG J, LIU D, *et al*. The Pathogenesis of Depression and the Research Progress of Antidepres-sants [J]. *China Med Her*, 2021, **18**(1): 52−55. DOI: 10.3969/j.issn.1672-0946.2002.02.003.

[3] MACMASTER F P, CARREY N, LANGEVIN L M, *et al*. Disorder-specific Volumetric Brain Difference in Adolescent Major Depressive Disorder and Bipolar Depression[J]. *Brain Imaging Behav*, 2014, **8**(1): 119−127. DOI: 10.1007/s11682-013-9264-x.

[4] 连嘉惠, 张治楠, 梁丽艳, 等. 抑郁状态下海马突触可塑性变化及相关机制[J]. 医学综述, 2019, **25**(13):2541−2547. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2019.13.010
LIAN J H, ZHANG Z N, LIANG L Y, *et al*. Biology of Depression: *Hippocampus* and Synaptic Plasticity[J]. *Med Recapitul*, 2019, **25**(13): 2541−2547. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2019.13.010

[5] PILAR-CUÉLLAR F, VIDAL R, DÍAZ A, *et al*. Neural Plasticity and Proliferation in the Generation of Antidepressant Effects: Hippocampal Implication[J]. *Neural Plast*, 2013, **2013**: 537265. DOI: 10.1155/2013/537265.

[6] YAO Z J, FU Y, WU J F, *et al*. Morphological Changes in Subregions of Hippocampus and Amygdala in Major Depressive Disorder Patients[J]. *Brain Imaging Behav*, 2020, **14**(3): 653−667. DOI: 10.1007/s11682-018-0003-1.

[7] LIANG X, TANG J, CHAO F-L, *et al*. Exercise Improves Depressive Symptoms by Increasing the Number of Excitatory Synapses in the Hippocampus of CUS-induced Depression Model Rats[J]. *Behav Brain Res*, 2019, **374**: 112115. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.112115.

[8] OLSON R L, BRUSH C J, EHMANN P J, *et al*. A Randomized Trial of Aerobic Exercise on Cognitive Control in Major Depression[J]. *Clin Neurophysiol*, 2017, **128**(6): 903−913. DOI: 10.1016/j.clinph.2017.01.023.

[9] KWOK J Y Y, KWAN J C Y, AUYEUNG M, *et al*. Effects of Mindfulness *Yoga* Vs Stretching and Resistance Training Exercises on Anxiety and Depression for People with Parkinson Disease: a Randomized Clinical Trial[J]. *JAMA Neurol*, 2019, **76**(7): 755−763. DOI: 10.1001/jamaneurol.2019.0534.

[10] KANDOLA A, ASHDOWN-FRANKS G, HENDRIKSE J, *et al*. Physical Activity and Depression: Towards Understanding the Antidepressant Mechanisms of Physical Activity[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2019, **107**: 525−539. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2019.09.040.

[11] KALLIES G, RAPP M A, FYDRICH T, *et al*. Serum Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF) at Rest and after Acute Aerobic Exercise in Major Depressive Disorder[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2019, **102**: 212−215. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2018.12.015.

[12] 严翊, 宋鸽, 朱文阁, 等. 不同运动方式锻炼人群的血液代谢组学特征对比[J]. 北京体育大学学报, 2021, **44**(5): 34−46. DOI: 10.19582/j.cnki.11-3785/g8.2021.05.003.
YAN Y, SONG G, ZHU W G, *et al*. Comparison of Blood Metabonomics Characteristics of People Exercised by Different Exercise Modes[J]. *J Beijing Sport Univ*, 2021, **44**(5): 34−46. DOI: 10.19582/j.cnki.11-3785/g8.2021.05.003.

[13] KANG J, WANG D, DUAN Y C, *et al*. Aerobic Exercise Prevents Depression via Alleviating *Hippocampus* Injury in Chronic Stressed Depression Rats[J]. *Brain Sci*, 2020, **11**(1): 9. DOI: 10.3390/brainsci11010009.

[14] QU H L, LIU R L, CHEN J Q, *et al*. Aerobic Exercise Inhibits CUMS-depressed Mice Hippocampal Inflammatory Response via Activating Hippocampal miR-223/TLR4/MyD88-NF- κB Pathway[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, **17**(8): 2676. DOI: 10.3390/ijerph17082676.

[15] LIU X Y, XUE X, TIAN J S, *et al*. Skeletal Muscle Metabolomic Responses to Endurance and Resistance Training in Rats under Chronic Unpredictable Mild Stress [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2021, **18**(4): 1645. DOI: 10.3390/ijerph18041645.

[16] LIU X Y, HAN Y M, ZHOU S, *et al*. Serum Metabolomic Responses to Aerobic Exercise in Rats under Chronic Unpredictable Mild Stress[J]. *Sci Rep*, 2022, **12**: 4888. DOI: 10.1038/s41598-022-09102-2.

[17] STANDER Z, LUIES L, MIENIE L J, *et al*. The Unaided Recovery of Marathon-induced Serum Metabolome Alterations[J]. *Sci Rep*, 2020, **10**: 11060. DOI: 10.1038/s41598-020-67884-9.

[18] ZHOU W B, ZENG G, LYU C, *et al*. The Effect of Exhaustive Exercise on Plasma Metabolic Profiles of Male and Female Rats. *J Sports Sci Med*. 2019 Jun 1;**18**(2): 253−263. PMID: 31191095.

[19] JI C, ZHAO W D, ZHENG J, *et al*. Mechanism of the Effect of Xiaoyao Powder Treatment on Exercise Capacity of Depressed Rats: A Stable Isotope Tracer Metabolomic Study[J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2022, **45**(9/10/11/12): 143−155. DOI: 10.1080/10826076.2022.2163499.

[20] BADER G D, HOGUE C W V. An Automated Method for Finding Molecular Complexes in Large Protein Interaction Networks[J]. *BMC Bioinformatics*, 2003, **4**: 2. DOI: 10.1186/1471-2105-4-2.

[21] FLYDAL M I, MARTINEZ A. Phenylalanine Hydroxylase: Function, Structure, and Regulation[J]. *IUBMB Life*, 2013, **65**(4): 341−349. DOI: 10.1002/iub.1150.

[22] BOKU S K, NAKAGAWA S, TODA H, *et al*. Neural Basis of Major Depressive Disorder: Beyond Monoamine Hy-

pothesis[J]. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2018, **72**(1): 3−12. DOI: 10.1111/pcn.12604.

[23] LEBLHUBER F, STEINER K, FUCHS D. Treatment of Patients with Geriatric Depression with Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation[J].*J Neural Transm*, 2019, **126**(8): 1105−1110. DOI: 10.1007/s00702-019-02037-5.

[24] ZHAO S G, KHOO S, NG S C, *et al*. Brain Functional Network and Amino Acid Metabolism Association in Females with Subclinical Depression[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, **19**(6): 3321. DOI: 10.3390/ijerph19063321.

[25] BELUJON P, GRACE A A. Dopamine System Dysregulation in Major Depressive Disorders[J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2017, **20**(12): 1036−1046. DOI: 10.1093/ijnp/pyx056.

[26] NICIU M J, IONESCU D F, RICHARDS E M, *et al*. Glutamate and Its Receptors in the Pathophysiology and Treatment of Major Depressive Disorder[J]. *J Neural Transm*, 2014, **121**(8): 907−924. DOI: 10.1007/s00702-013-1130-x.

[27] MADEIRA C, VARGAS-LOPES C, BRANDÃO C O, *et al*. Elevated Glutamate and Glutamine Levels in the Cerebrospinal Fluid of Patients with Probable Alzheimer's Disease and Depression[J]. *Front Psychiatry*, 2018, **9**: 561. DOI: 10.3389/fpsyt.2018.00561.

[28] HAROON E, FLEISCHER C C, FELGER J C, *et al*. Conceptual Convergence: Increased Inflammation is Associated with Increased Basal Ganglia Glutamate in Patients with Major Depression[J]. *Mol Psychiatry*, 2016, **21**(10): 1351−1357. DOI: 10.1038/mp.2015.206.

[29] ANDERSEN J V, SCHOUSBOE A. Glial Glutamine Homeostasis in Health and Disease[J].*Neurochem Res*, 2023, **48**(4): 1100−1128. DOI: 10.1007/s11064-022-03771-1.

[30] MORIGUCHI S, TAKAMIYA A, NODA Y, *et al*. Glutamatergic Neurometabolite Levels in Major Depressive Disorder: A Systematic Review and Meta-analysis of Proton Magnetic Resonance Spectroscopy Studies[J]. *Mol Psychiatry*, 2019, **24**(7): 952−964. DOI: 10.1038/s41380-018-0252-9.

[31] RAPPENEAU V, WILMES L, TOUMA C. Molecular Correlates of Mitochondrial Dysfunctions in Major Depression: Evidence from Clinical and Rodent Studies[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2020, **109**: 103555. DOI: 10.1016/j.mcn.2020.103555.

[32] BONNEKOH L M, SEIDENBECHER S, KNIGGE K, *et al*. Long-term Cortisol Stress Response in Depression and Comorbid Anxiety is Linked with Reduced N-acetylaspartate in the Anterior Cingulate Cortex[J]. *World J Biol Psychiatry*, 2023, **24**(1): 34−45. DOI: 10.1080/15622975.2022.2058084.

[33] TORRES R J, PRIOR C, GARCIA M G, *et al*. A Review of the Implication of Hypoxanthine Excess in the Physiopathology of Lesch-Nyhan Disease[J]. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2016, **35**(10/11/12): 507−516. DOI: 10.1080/15257770.2016.1147579.

[34] MARRACCINI C, MEROLLE L, CASALI E, *et al*. Proof of Concept: Hypoxanthine from Stored Red Blood Cells Induces Neutrophil Activation[J]. *Blood Transfus*, 2022, **20**(2): 120−6. DOI: 10.2450/2020.0208-20.

[35] CHEN J J, LI T, QIN X M, *et al*. Integration of Non-targeted Metabolomics and Targeted Quantitative Analysis to Elucidate the Synergistic Antidepressant Effect of *Bupleurum chinense* DC -*Paeonia Lactiflora* Pall Herb Pair by Regulating Purine Metabolism[J]. *Front Pharmacol*, 2022, **13**: 900459. DOI: 10.3389/fphar.2022.900459.

[36] GARRO-MARTÍNEZ E, FULLANA M N, FLORENSA-ZANUY E, *et al*. MTOR Knockdown in the Infralimbic Cortex Evokes a Depressive-like State in Mouse[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(16): 8671. DOI: 10.3390/ijms22168671.

[37] LLOYD B A, HAKE H S, ISHIWATA T, *et al*. Exercise Increases mTOR Signaling in Brain Regions Involved in Cognition and Emotional Behavior[J]. *Behav Brain Res*, 2017, **323**: 56−67. DOI: 10.1016/j.bbr.2017.01.033.

[38] MAZO C E, D'LUGOS A C, SWEENEY K R, *et al*. The Effects of Acute Aerobic and Resistance Exercise on mTOR Signaling and Autophagy Markers in Untrained Human Skeletal Muscle[J].*Eur J Appl Physiol*, 2021, **121**(10): 2913−2924. DOI: 10.1007/s00421-021-04758-6.

[39] YANG W, LIU M, ZHANG Q W, *et al*. Knockdown of miR-124 Reduces Depression-like Behavior by Targeting CREB1 and BDNF[J]. *Curr Neurovascular Res*, 2020, **17**(2): 196−203. DOI: 10.2174/1567202617666200319141755.

[40] AMARE A T, SCHUBERT K O, KLINGLER-HOFFMANN M, *et al*. The Genetic Overlap Between Mood Disorders and Cardiometabolic Diseases: A Systematic Review of Genome Wide and Candid ate Gene Studies [J]. *Transl Psychiatry*, 2017, **7**(1): e1007. DOI: 10.1038/tp.2016.261.