论著·神经科学

二氢杨梅素通过抑制LCN2/NLRP3轴促进星形胶质细胞A2型极化抑制神经元铁死亡改善帕金森病小鼠抑郁样行为

吕梦林,刘小倩,张宝文,寇现娟　　武汉体育学院运动医学院,湖北武汉

［摘要］ **目的**　抑郁样行为是帕金森病(Parkinson's disease, PD)中最常见的非运动症状之一,严重影响患者的生活质量。二氢杨梅素(dihydromyricetin, DHM)是一种天然黄酮类化合物,具有一定神经保护作用,但其是否能够改善PD抑郁样行为及其分子机制尚不明确。本研究拟探究DHM改善PD抑郁样行为的潜在作用机制,并筛选和验证其可能调控的关键分子靶点。**方法**　将32只7周龄雄性C57BL/6J小鼠[体质量(24.5±1.5) g]按随机数字表法分为4组(n=8):对照(Control)组、模型(PD)组、阳性对照美多芭干预(PD+Madopar)组和DHM干预(PD+DHM)组。除Control组外,其余各组采用腹腔注射1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine hydrochloride, MPTP)建立亚急性PD小鼠模型。采用转棒、爬杆、悬挂实验评估小鼠运动能力,采用开放旷场、强迫游泳、悬尾实验检测小鼠抑郁样行为。基于网络药理学、数据集挖掘和分子对接技术预测DHM治疗PD的关键靶点。利用Western blotting和免疫荧光等技术检测DHM对突触可塑性、星形胶质细胞极化和铁死亡的影响。进一步通过细胞条件培养基实验以验证DHM改善PD抑郁样行为的预测机制。**结果**　与PD组相比,PD+DHM组小鼠在转棒实验中的停留时间以及悬挂实验中的支撑时间显著延长(P<0.001),爬杆实验中的下杆时间显著缩短(P=0.005 5),旷场实验中的总路程明显增多(P<0.001),平均速度加快(P<0.001),中心活动距离和活动时间显著增加(P<0.01),强迫游泳和悬尾实验中,小鼠的平均不动时间明显缩短(P<0.01)。网络药理学和分子对接确定脂质运载蛋白2(lipocalin 2, LCN2)/NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermal protein domain associcated protein 3,NLRP3)轴为DHM的潜在作用靶点。与PD组相比,DHM干预后逆转了神经元的丢失和尼氏小体的减少,并上调了脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)、突触蛋白I(synapsin I, SYN1)、突触后密度蛋白95(postsynaptic density 95, PSD95)等突触可塑性指标的表达(P<0.01)。DHM干预后LCN2、NLRP3和星形胶质细胞A1型标志物补体C3(complement component 3, C3)的表达与PD组相比均显著下调(P<0.001),A2型标志物S100钙结合蛋白A10(S100 calcium binding protein A10, S100A10)的表达显著增加(P<0.01)。免疫荧光显示,与PD组相比,PD+DHM组小鼠额叶皮层GFAP/C3阳性细胞数目显著减少而GFAP/S100A10细胞数目显著增加(P<0.05)。此外,与PD组相比,PD+DHM组小鼠额叶皮层组织中酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(acyl-CoA synthetase long chain family member 4, ACSL4)、转铁蛋白受体(transferrin receptor, TFRC)表达显著降低(P<0.01),GPX4、SLC7A11蛋白的表达显著升高(P<0.001)。细胞实验进一步证实DHM及NLRP3抑制剂MCC950预处理的条件培养基逆转了多巴胺能神经元铁死亡相关指标的异常表达(P<0.01)。**结论**　DHM可能通过抑制LCN2/NLRP3轴促进星形胶质细胞向A2型极化,缓解星形胶质细胞极化失衡与神经元铁死亡,进而改善PD小鼠抑郁样行为。

［关键词］ 二氢杨梅素;帕金森病;铁死亡;星形胶质细胞
［中图法分类号］ R285.5;R742.5;R749.4　　［文献标志码］ A

［基金项目］ 湖北省自然科学基金中医药创新发展联合基金重点项目(2024AFD242);湖北省高校优秀中青年科技创新团队项目(T2024019)
［通信作者］ 寇现娟,E-mail:kouxianjuan@126.com

2097-0927/Copyright © 2026, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议 (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)
引用格式:吕梦林,刘小倩,张宝文,等. 二氢杨梅素通过抑制LCN2/NLRP3轴促进星形胶质细胞A2型极化抑制神经元铁死亡改善帕金森病小鼠抑郁样行为[J]. 陆军军医大学学报,2026,48(10):1339-1352. DOI:10.16016/j.2097-0927.202601069.

Citation:LÜ M L,L X Q,ZHANG B W,*et al*. Dihydromyricetin ameliorates depressive-like behaviors in Parkinson's disease mice by promoting A2 astrocyte polarization and inhibiting neuronal ferroptosis *via* suppression of the LCN2/NLRP3 axis[J]. J Army Med Univ,2026,48(10):1339-1352. DOI:10.16016/j.2097-0927.202601069.

Dihydromyricetin ameliorates depressive-like behaviors in Parkinson's disease mice by promoting A2 astrocyte polarization and inhibiting neuronal ferroptosis *via* suppression of the LCN2/NLRP3 axis

LÜ Menglin, LIU Xiaoqian, ZHANG Baowen, KOU Xianjuan College of Sports Medicine, Wuhan Sports University, Wuhan, Hubei, China

[**Abstract**] Objective Depressive-like behaviors is one of the most prevalent non-motor symptoms in Parkinson's disease (PD), severely compromising patients' quality of life. Dihydromyricetin (DHM), a natural flavonoid, exhibits neuroprotective effects, but its ability to ameliorate PD-related depressive-like behaviors and the underlying mechanisms remain unclear. This study aimed to investigate DHM's mechanism for improving depressive-like behaviors in PD and identify its key molecular targets. Methods Thirty-two 7 weeks old male C57BL/6J mice (weighting 24.5±1.5 g) were randomly divided into 4 groups (n=8): Control, PD model, PD+Madopar (positive control), and PD+DHM. Except the control group, all groups received intraperitoneal 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) to establish subacute PD models. Motor function was assessed *via* rotarod, pole and wire hang tests; depressive-like behaviors were evaluated using the open field, forced swimming, and tail suspension tests. Network pharmacology, dataset mining, and molecular docking predicted DHM's key targets for PD treatment. Western blotting and immunofluorescence detected DHM's effects on synaptic plasticity, astrocyte polarization, and ferroptosis. Conditioned medium experiments further validated the predicted mechanisms. Results Compared with the PD group, PD+DHM mice showed significantly prolonged rotarod duration and suspension time (P<0.001), reduced pole descent time (P=0.005 5), increased total distance (P<0.001) and velocity (P<0.001) in open field test, with higher central activity distance/time ratios (P<0.01), and shorter immobility times in forced swimming and suspension tests (P<0.01). Network pharmacology and molecular docking identified the Lipocalin-2 (LCN2)/NOD-like receptor thermal protein domain associcated protein 3 (NLRP3) axis as DHM's potential target. DHM intervention reversed neuronal loss and Nissl body reduction while upregulating synaptic plasticity markers BDNF, SYN1 and PSD95, compared with the PD group (P<0.01). DHM significantly downregulated LCN2, NLRP3, and A1-astrocyte marker complement component 3 (C3; P<0.001), but upregulated A2-marker S100 calcium binding protein A10 (S100A10; P<0.01). Compared with the PD gruop, immunofluorescence revealed reduced GFAP/C3-positive cells and increased GFAP/S100A10 cells in the prefrontal cortex of PD+DHM group (P<0.05). Additionally, DHM decreased acyl-CoA synthetase long chain family member 4 (ACSL4) and Transferrin receptor (TFRC) expression (P<0.001), while increasing GPX4 and SLC7A11 levels (P<0.001) in the prefrontal cortex. Conditioned medium experiments confirmed that DHM and NLRP3 inhibitor MCC950 reversed abnormal ferroptosis-related changes in dopaminergic neurons (P<0.01). Conclusion DHM may ameliorate depressive-like behaviors in PD mice by inhibiting the LCN2/NLRP3 axis which promotes A2-astrocyte polarization, mitigates imbalance in astrocyte polarization and alleviates neuronal ferroptosis.

[**Key words**] dihydromyricetin; Parkinson's disease; ferroptosis; astrocytes

Supported by the Key Project of Traditional Chinese Medicine Joint Fund for Innovation and Development of Natural Science Foundation of Hubei Province (2024AFD242) and the Program for Excellent Young and Middle-Aged Science and Technology Innovation Team Program for Higher Education Institutions of Hubei Province (T2024019). Corresponding author: KOU Xianjuan, E-mail: kouxianjuan@126.com

作为第二常见的神经退行性疾病,帕金森病(Parkinson's disease, PD)患病率正持续攀升,预计到2050年全球患者数量将达2 520万[1]。该病的典型病理特征是黑质致密部多巴胺能神经元的进行性丧失、α-突触核蛋白(α-synuclein, α-syn)的异常聚集和路易体的形成,并由此导致震颤、运动迟缓和姿势障碍等,

运动功能障碍[2-3]。但越来越多的研究表明,PD的非运动功能症状,如抑郁样行为、认知功能障碍等往往在运动症状出现前就已存在,并贯穿PD的整个病程,其中抑郁样行为作为PD最常见的非运动症状,发病率高达38%,且只有1/4的患者可以得到有效的治疗[4]。此外,患者临床上常表现为兴趣减退、睡眠障碍甚至出现自杀倾向,不仅降低运动的主动性,还会增加运动迟缓及步态冻结的风险,提示其作为前驱性标志物的重要价值[5-6]。因此,探究科学有效的手段治疗抑郁,对PD患者的预后具有重要意义。

PD的发病机制涉及多种因素,包括炎症反应、氧化应激、线粒体功能障碍等。近年来,铁死亡作为一种新型的程序性细胞死亡方式,其典型特征包括铁蓄积引发的脂质过氧化以及细胞内活性氧水平的异常升高。已有研究表明,PD患者脑中存在铁含量过高、还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)降低及脂质过氧化水平升高等铁死亡典型特征,广泛影响神经环路功能[7-9]。因此,深入理解PD中铁死亡的调控机制,对于寻找更精准的治疗靶点至关重要。

二氢杨梅素(dihydromyricetin, DHM)是一种广泛存在于藤茶、葡萄科等植物中的天然黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化和神经保护等作用[10]。本课题组前期研究发现,DHM能够降低6-羟基多巴胺诱导的PD小鼠模型中的细胞凋亡和氧化应激水平[11]。此外,DHM在1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine hydrochloride, MPTP)联合丙磺舒诱导的慢性PD小鼠模型中下调了坏死性凋亡、凋亡和神经炎症相关指标的表达,恢复了自噬水平,并最终改善了PD小鼠认知功能障碍[12-13]。另有研究表明,DHM可靶向铁死亡减轻脑缺血再灌注及急性肾损伤[14-15]。然而,DHM是否能够通过调节铁死亡相关通路改善PD抑郁样行为仍鲜有研究,且其作用机制尚待进一步探讨。因此,本研究利用网络药理学、公共数据集挖掘及分子对接技术,筛选DHM改善PD抑郁样行为的潜在作用靶点,并进一步结合MPTP诱导的亚急性PD小鼠模型及体外细胞实验进行验证,旨在重点探究DHM调控铁死亡改善PD抑郁样行为的分子机制,为PD非运动症状的防治提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药物与试剂 MPTP盐酸盐、1-甲基-4-苯基吡啶离子(1-methyl-4-phenylpy ridinium iodide, MPP^+)购自美国Sigma-Aldrich公司;DHM购自美国ALB Technology Limited公司;NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)抑制剂MCC950购自美国MedChemExpress公司;微量还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)及组织铁含量测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所;尼氏染液购自武汉塞维尔生物科技有限公司;Prime Script RT试剂盒购自日本TaKaRa公司;胰蛋白酶-EDTA消化液、青-链霉素、高糖DMEM培养基购自美国Gibco公司。谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)抗体、溶质载体家族7成员11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)抗体、酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(Acyl-coA synthetase long chain family member 4, ACSL4)抗体购自上海Abmart公司;NLRP3抗体、脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)抗体购自武汉塞维尔生物科技有限公司;转铁蛋白受体(transferrin receptor, TFRC)抗体、脂质运载蛋白2(lipocalin 2, LCN2)抗体购自武汉艾必赛生物科技有限公司;突触蛋白I(synapsin I, SYN1)抗体、突触后密度蛋白95(postsynaptic density-95, PSD95)抗体购自上海赛信通生物试剂有限公司;补体C3(complement component 3, C3)、S100钙结合蛋白A10(S100 calcium binding protein A10, S100A10)抗体购自杭州华安生物技术有限公司;胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)抗体购自武汉三鹰生物科技有限公司。

1.1.2 实验动物 32只7周龄健康雄性C57BL/6J小鼠[体质量(24.5±1.5) g]购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2019-0004,实验单位使用许可证号:SYXK(鄂)2021-0087,实验动物质量合格证号:430727220102284237。所有动物实验程序遵循中国实验动物福利相关规定,并经武汉体育学院动物伦理委员会审查批准(S0087-20220920-01)。小鼠饲养环境为SPF级动物房,12 h光照与12 h黑暗交替进行,温度为23~25 ℃,湿度为40%~60%,定期更换垫料,保证所有小鼠可自由进食和饮水,饲料由武汉市万千佳兴生物科技有限公司提供。正式实验前进行适应性饲养,以降低环境变化对动物造成的应激。为减少动物疼痛和不适,实验过程中尽量采用温和抓取和规范操作,减少不必要的刺激。注射、行为学检测及取材等操作均由经过培训的实验人员完成。实验期间每天监测并记录小鼠体质量、摄食饮水情况、精神状态、被毛状态、活动能力及

异常行为。若小鼠出现持续体质量下降超过20%、明显脱水、持续蜷缩或不能自主摄食饮水、活动能力严重下降、呼吸困难、严重外伤或濒死状态等情况,即判定达到人道终点,并按照伦理要求及时实施安乐死。实验过程中未观察到与实验处理相关的意外死亡、严重损伤或其他非预期不良事件。

1.2 方法

1.2.1 网络药理学及分子对接 在TCMSP(https://www.tcmsp-e.com)数据库获取DHM的结构mol文件并在PubChem(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)数据库中进行验证。随后将验证后文件上传至Swiss TargetPrediction(https://swisstargetprediction.ch/)、pharmmapper(https://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/index.html)等数据库中预测作用靶点,取交集后得到DHM的最终靶点。以"Parkinson's disease"为关键词,在Genecards(https://www.genecards.org/)、DisGeNet(https://disgenet.com/)数据库进行检索,获取PD相关致病靶点。随后,从基因表达综合(Gene Expression Omnibus, GEO)数据库中获取GSE7707数据集,该数据集基于GPL1261芯片分析平台,包括PD小鼠中多个脑区的基因表达变化,limma包标准化后分析额叶皮层差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),筛选标准为:$P<0.05$,且$|Log_2FC|>1$。最后,将DHM的潜在作用靶点、PD相关致病靶点以及GSE7707数据集中额叶皮层差异表达基因集,进行Venn分析,得到DHM在PD额叶皮层中可能发挥作用的潜在关键靶点。

分别从PDB(https://www.rcsb.org/)数据库、TCMSP数据库中获取关键靶点蛋白结构的pdb文件和DHM结构的mol文件;使用Pymol 4.6.0软件对蛋白结构和小分子结构进行预处理;随后,通过AutoDock Tools 1.5.7软件为蛋白和小分子加氢、计算电荷,设置对接盒子和进行分子对接并获取最低结合能分子结构。最后,使用Pymol 4.6.0对结果进行可视化。

1.2.2 动物分组与给药 适应性喂养1周后,将32只C57BL/6J小鼠按随机数字表法分为(n=8):对照(Control)组、模型(PD)组、阳性对照美多芭干预(PD+Madopar)组和DHM干预(PD+DHM)组。参考相关文献和团队前期研究,进行亚急性PD小鼠模型制备:PD组、PD+DHM组和PD+Madopar组小鼠腹腔注射MPTP[(30 mg/(kg·d)],每天1次,共干预5 d[16-17]。同时,Control组注入等体积的生理盐水。PD+Madopar组、PD+DHM组在造模开始前10 d腹腔注射Madopar[75 mg/(kg·d)]和DHM[10 mg/(kg·d)],每天1次,共干预15 d[18]。

1.2.3 动物运动功能检测 为评估小鼠运动能力以及模型是否制备成功,采用转棒实验、爬杆实验和悬挂实验评价各组小鼠的运动协调能力、平衡能力及肌肉力量。转棒实验正式测试前进行3 d适应性训练,转棒速度分别为:10 r/min、15 r/min、25 r/min,单次时长为5 min。测试时,先将小鼠放置于转棒仪上适应60 s,随后将转棒速度设置为5~30 r/min,记录小鼠掉落前的持续时间。爬杆实验采用爬杆装置进行3 d爬杆训练,测试时,记录小鼠从转头到杆底的下杆总时间。悬挂实验采用悬挂道具同样训练3 d后进行测试,记录小鼠支撑的时间。

1.2.4 动物抑郁样行为检测 抑郁样行为学实验用于评价各组小鼠自主活动能力、探索行为及抑郁样行为变化,包括开放旷场实验、悬尾实验和强迫游泳实验。开放旷场实验采用的不透光的方形旷场,将小鼠放置于旷场中央,使用VisuTrack软件自动追踪和分析10 min内的运动轨迹,记录小鼠移动距离、平均速度以及中心活动时间和路程占比。悬尾实验将小鼠尾尖2 cm处粘贴胶布,并将其倒悬,使用软件记录4 min内小鼠静止不动的时间。强迫游泳实验采用水温23~25 ℃的圆柱形透明水缸,通过软件分析后4 min内小鼠停止挣扎的不动时间,用以评估其抑郁样行为。

1.2.5 细胞分组与干预 小鼠小脑星形胶质细胞C8-D1A,接种于6孔板,待细胞融合至60%~80%时,采用MPTP的有毒代谢物MPP^+处理,模拟PD诱导刺激。NLRP3抑制组采用特异性的NLRP3抑制剂MCC950预处理。具体分组处理如下:Control组(更换无血清培养基培养24 h);MPP^+组(200 μmol/L MPP^+处理24 h);MPP^++DHM组(50 μmol/L DHM预处理2 h后,MPP^+处理24 h);MPP^++MCC950组(10 μmol/L MCC950预处理2 h后,加入MPP^+处理24 h)[19-20]。处理后收集细胞及上清,以4 ℃、1 000×g离心10 min,过滤后制得条件培养基(conditioned medium, CM)。将融合至60%~80%的小鼠多巴胺能神经元细胞SN4741分别与各CM共培养24 h。随后收集细胞并进行后续相关检测。

1.2.6 小鼠额叶皮层尼氏染色 干预结束后,次日麻醉小鼠,眼球取血。随后,每组取3只小鼠脑组织,经多聚甲醛固定24 h后石蜡包埋并切片。切片常规脱水,置于50~60 ℃尼氏染色液浸染30 min。95%乙醇迅速分化,经乙醇、二甲苯脱水、封片。用显微镜观察尼氏小体并统计各组单位视野下尼氏小体的数量。

1.2.7 小鼠额叶皮层免疫荧光染色 石蜡切片经脱蜡、水化、抗原修复及封闭后,与相应一抗于4 ℃孵育48 h。避光条件下加入对应荧光二抗孵育1 h,DAPI复染细胞核,封片后于荧光显微镜下观察。使用Image J软件计算GFAP分别与S100A10及C3的共染细胞数。

1.2.8 小鼠额叶皮层Western blotting检测 每组按随机数字表法选取3只小鼠,麻醉后,提取额叶皮层组织,匀浆超声后,加热变性制备蛋白样品。经制胶、上样、电泳、转膜、脱脂奶粉室温封闭、洗膜后,加入对应的一抗,孵育过夜,洗膜,二抗室温孵育,发光液显影,凝胶成像分析仪摄取图像,计算目标蛋白的灰度值。

1.2.9 小鼠额叶皮层RT-qPCR检测 TRIzol法提取小鼠额叶皮层组织(每组3只)及细胞总RNA,使用反转录试剂盒Prime Script RT合成cDNA,并进行实时荧光定量PCR检测。基因相对表达量采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算,所用引物序列见表1。

表1 引物序列

Table 1 Primer Sequences

Genes	Sequences(5'→3')
BDNF	Forward: AGGGGAAAATGTTCCAACAGG
	Reverse: CGCAGCTCTCATGCAACTGA
SYN1	Forward: AGCTCAACAAATCCCAGTCTCT
	Reverse: CGGATGGTCTCAGCTTTCAC
PSD95	Forward: TGAGATCAGTCATAGCAGCTACT
	Reverse: CTTCCTCCCCTAGCAGGTCC
LCN2	Forward: TGGCCCTGAGTGTCATGTG
	Reverse: CTCTTGTAGCTCATAGATGGTGC
NLRP3	Forward: ATTACCCGCCCGAGAAAGG
	Reverse: TCGCAGCAAAGATCCACACAG
S100A10	Forward: TGGAAACCATGATGCTTACGTT
	Reverse: GAAGCCCACTTTGCCATCTC
C3	Forward: TAGAGGCCCATGATGCTCAG
	Reverse: AAGTTTGCCACCACTGTCAC
GPX4	Forward: CTGTCCCACACTCTGTGCC
	Reverse: GCAGGTCCTTCTCGATCACC
ACSL4	Forward: CTGGCTGTTAAGACGCGGTG
	Reverse: GCCGACAATAAAGTACACTTACAGA
SLC7A11	Forward: GGACGCTACATCCTGGAACC
	Reverse: CCAGCTGACACTCGTGCTAT
FTH1	Forward: TTCATTGAGACGCATTACCTG
	Reverse: AAAGAGATATTCTGCCATGCC
GAPDH	Forward: GGTTGTCTCCTGCGACTTCA
	Reverse: TGGTCCAGGGTTTCTTACTCC

1.3 统计学分析

计量资料按实际测量值记录。图像数据采用Image J软件进行定量分析,统计分析及作图采用GraphPad Prism 9.5软件完成。所有数据以$\bar{x}\pm s$表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用多重比较检验。$P<0.05$表示差异具有统计学意义。所有实验独立重复3次。

2 结果

2.1 DHM缓解PD小鼠运动功能障碍

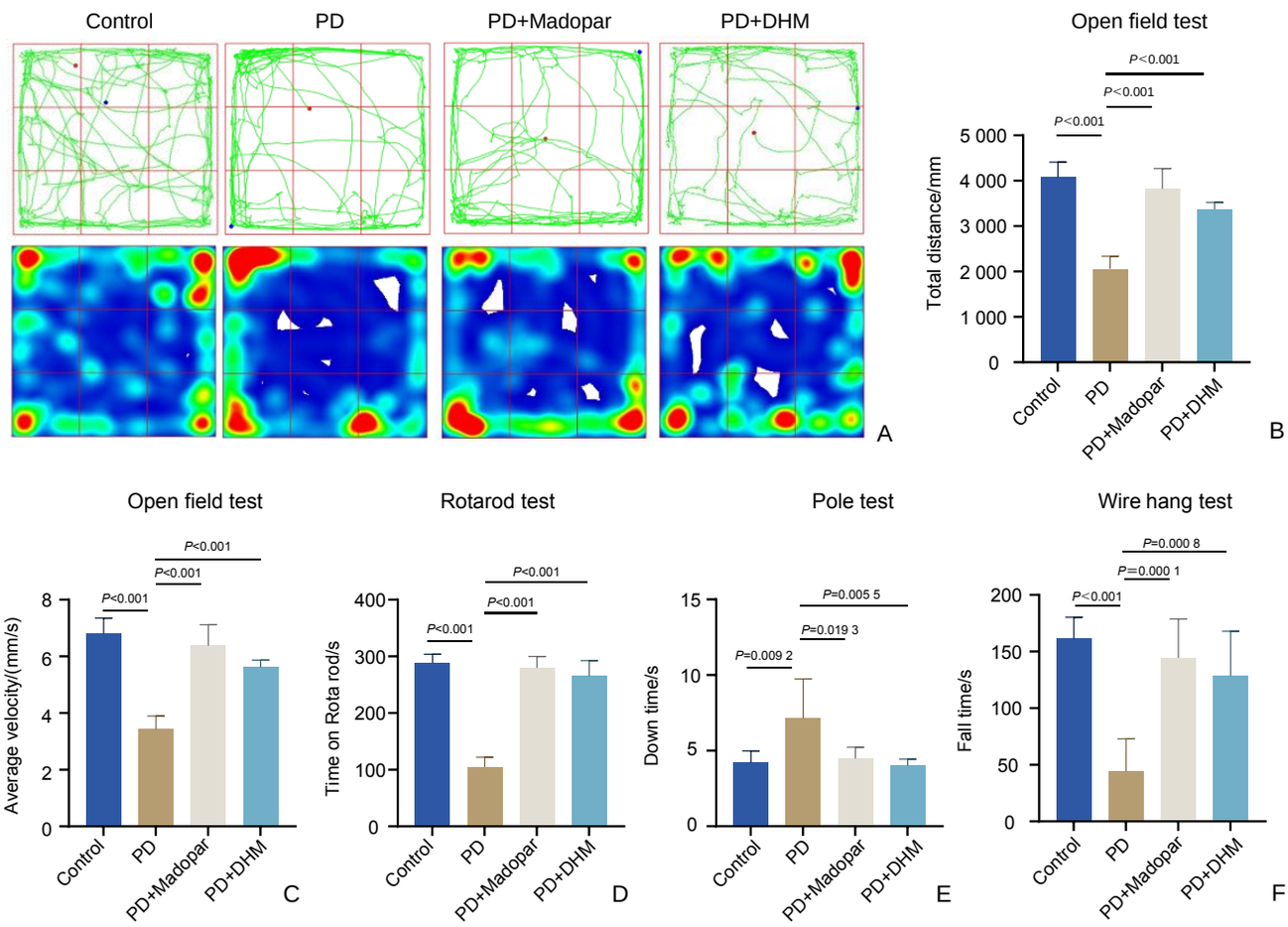
为检验模型的建立情况以及DHM对PD小鼠运动能力的影响,对各组小鼠进行行为学检测。与Control组相比,PD组小鼠活动总路程明显缩短($P<0.001$,图1A、B),活动平均速度明显减慢($P<0.001$,图1C)。与PD组相比,PD+Madopar组和PD+DHM干预组小鼠旷场活动总路程明显增多($P<0.001$,图1B),活动的平均速度加快($P<0.001$,图1C)。与Control组相比,PD组小鼠在转棒实验中的持续时间显著下降($P<0.001$,图1D),爬杆实验中的下杆时间显著增加($P<0.01$,图1E),悬挂实验中的支撑时间显著下降($P<0.001$,图1F)。而与PD组相比,PD+Madopar组和PD+DHM组小鼠在转棒实验中的持续时间以及悬挂实验中的支撑时间显著延长($P<0.001$,图1D、F),爬杆实验中的下杆时间显著缩短($P<0.05$,图1E),二者均表现出改善运动功能障碍的作用。结果提示,MPTP成功诱导PD小鼠模型,而DHM干预同阳性对照Madopar均能够改善PD小鼠的运动功能缺陷,且二者间差异无统计学意义。

2.2 DHM缓解PD小鼠抑郁样行为

采用开放旷场实验、强迫游泳实验及悬尾实验评估DHM对PD小鼠抑郁样行为的影响。与Control组相比,PD组小鼠中心活动距离和活动时间显著下降($P<0.01$,图2A、B),强迫游泳实验与悬尾实验的不动时间均显著增加($P<0.001$,图2C、D),提示PD小鼠出现抑郁样行为。与PD组相比,PD+DHM组和PD+Madopar组小鼠中心活动距离和时间比例显著增加($P<0.01$,图2A、B),不动时间明显缩短($P<0.01$,图2C、D)。以上结果提示PD小鼠伴有明显的抑郁样行为,而DHM干预同Madopar均能够缓解MPTP诱导的抑郁样行为。

2.3 DHM改善PD小鼠额叶皮层突触可塑性

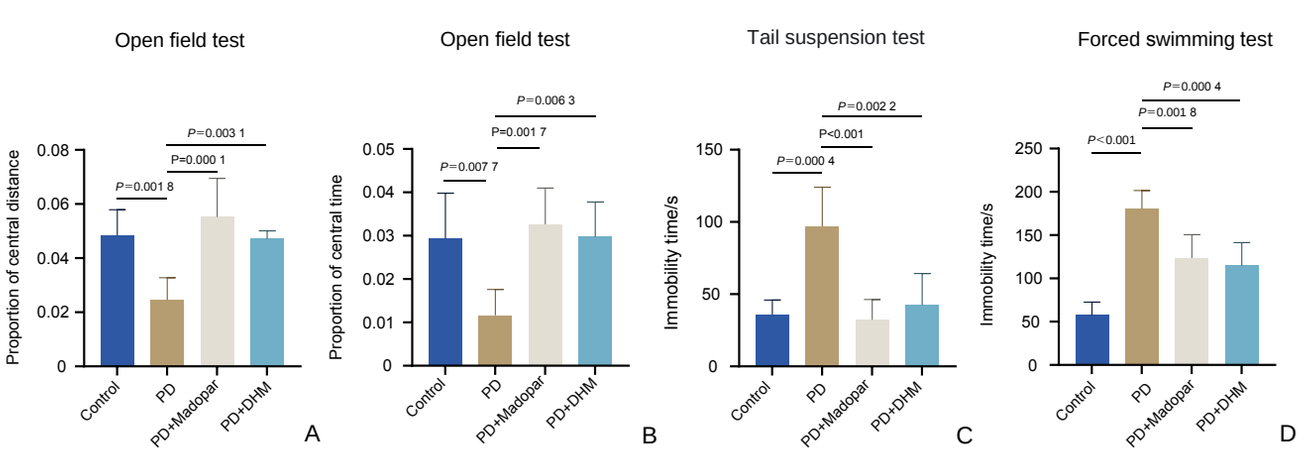
为明确DHM对小鼠额叶皮层突触可塑性的影响,对各组小鼠额叶皮层突触可塑性相关指标进行检测。结果显示,Control组额叶皮层神经元分布均匀,



A: Locomotor trajectory of mice in open field test (top), and the correpsponding activity heatmap (bottom); B: Total distance in open field test; C: Average velocity in open field test; D: Latency to fall in rotarod test; E: Total time to descend (from turning head to reaching the bottom) in pole test; F: Endurance time in wire hanging test

图 1 DHM对PD小鼠运动能力的影响 (n=6, $\bar{x}\pm s$)

Figure 1 Effects of DHM on motor performance in PD mice (n=6, $\bar{x}\pm s$)



A: Percentage of distance travelled in the center zone; B: Percentage of time spent in the center zone; C: Immobility time in the tail suspension test; D: Immobility time in the forced swimming test

图 2 DHM对PD小鼠抑郁样行为的影响 (n=6, $\bar{x}\pm s$)

Figure 2 Effects of DHM on depression-like behavior in PD mice (n=6, $\bar{x}\pm s$)

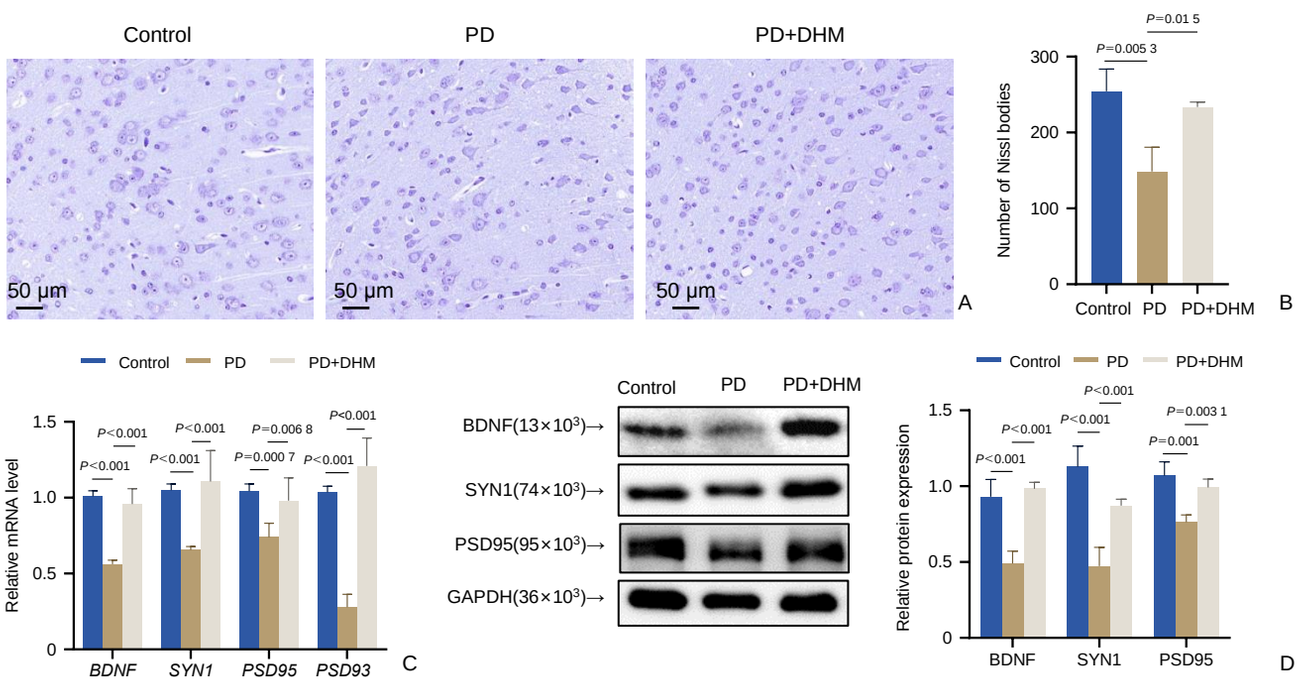
数量多,胞体大,尼氏体丰富。而与Control组相比,PD组小鼠额叶皮层神经元数量减少,神经元胞体萎缩,细胞核固缩,尼氏体数量减少(P=0.005 3,图3A、B)。此外,与Control组相比,PD组小鼠*BDNF*、*SYN1*、*PSD95*和*PSD93*等指标的转录水平显著下降(P<0.001),DHM干预后均显著改善(P<0.01,图3C)。与上述结果相一致,Western blotting结果显示,DHM干预显著上调了BDNF、SYN1、PSD95蛋白相对表达量(P<0.01,图3D),表明DHM干预能够有效改善MPTP诱导的PD小鼠突触可塑性损伤。

2.4　DHM改善PD小鼠抑郁样行为的网络药理学研究及验证

通过pharmmapper、SwissTargetPrediction数据库获取DHM作用靶点376个,与PD致病靶点取交集后得到317个共同靶点。为进一步聚焦于PD额叶皮层病变,通过GSE7707数据集获得PD额叶皮层相关DEGs,包括51个上调基因,24个下调基因。Venn分析取交集后,得到DHM在PD额叶皮层中可能发挥作用的潜在关键靶点,包括:磷脂酰乙醇胺N-甲基转移酶(phosphatidylethanolamine N-methyltransferase, PNMT)、LCN2、S100钙结合蛋白A9(S100 calcium binding protein A9, S100A9),见图4A。分子对接结果发现,PNMT、LCN2、S100A9与DHM的结合能分别是-3.32、-6.89、-3.06 kcal/mol(图4B)。而结果同样显示,*LCN2*的表达在PD额叶皮层中显著增加(P<0.001,图4C)。综上,LCN2较其他基因编码蛋白变化最明显且结合能最低。因此,后续选择LCN2作为DHM在PD额叶皮层中的关键靶点进行探究和验证。同时,LCN2可能通过NLRP3通路介导铁死亡和神经炎症。RT-qPCR及Western blotting结果显示,与Control组相比,PD组LCN2、NLRP3表达均显著升高(P<0.01);而与PD组相比,PD+DHM组二者表达均显著下调(P<0.001,图4D、E)。以上结果提示LCN2/NLRP3轴可能是DHM改善PD的潜在治疗靶点。

2.5　DHM调节额叶皮层星形胶质细胞极化表型

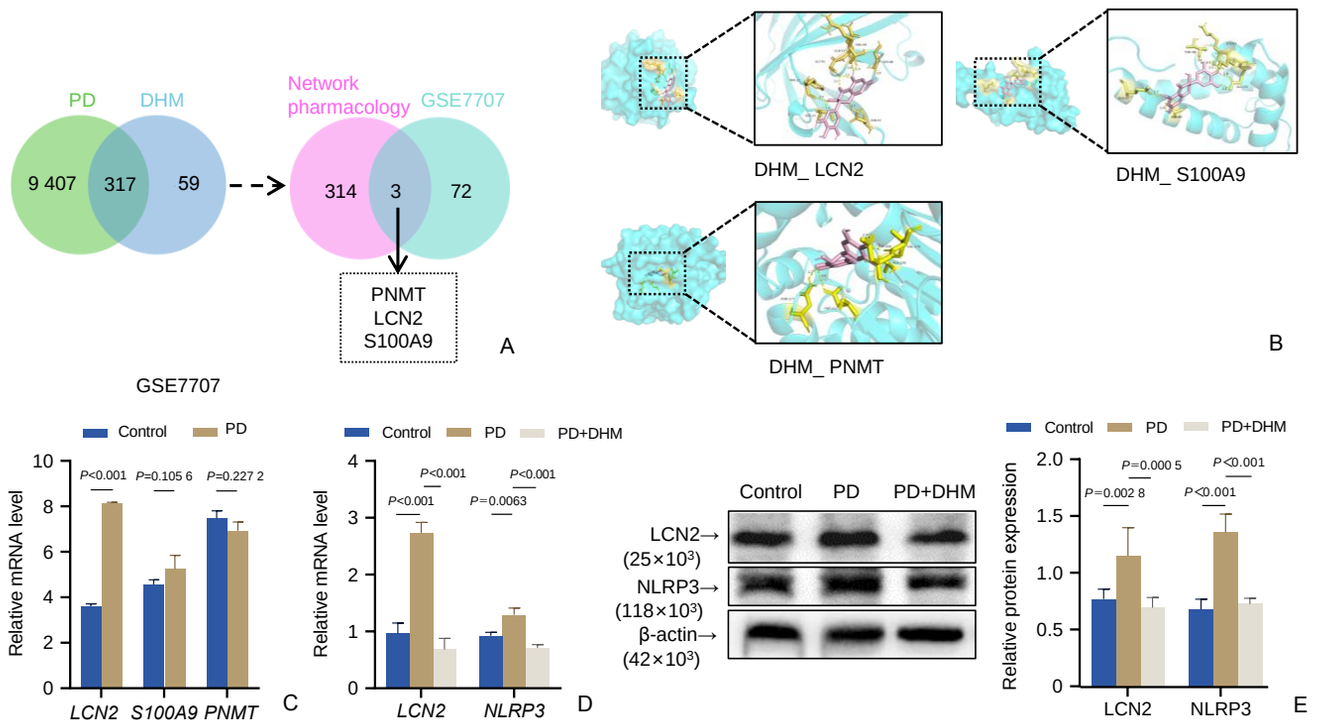
为探究DHM干预是否影响星形胶质细胞极化,对小鼠额叶皮层组织中GFAP,A1型标志物C3和A2型标志物S100A10进行检测。与Control比较,PD组小鼠额叶皮层GFAP/C3阳性细胞数目显著增加(P<0.05,图5A、C),GFAP/S100A10阳性细胞数目显著下降(P<0.05,图5B、D),而DHM干预可显著性逆转PD组的表达情况。从转录与蛋白水平上看,与Control组比较,PD组的A1型相关标志物C3表达显著升高(P<0.001),而A2型相关标志物S100A10表达显著降低



A: Cortical Nissl staining results; B: Statistical analysis of Nissl bodies(n=3, $\bar{x}\pm s$); C: Synaptic plasticity-related mRNA expression levels in the cortex(n=4, $\bar{x}\pm s$); D: Representative Western blot images and statistical analysis of BDNF, SYN1 and PSD95(n=4, $\bar{x}\pm s$)

图3　DHM对PD小鼠额叶皮层突触可塑性的影响

Figure 3　Effects of DHM on synaptic plasticity in the frontal cortex of PD mice



A: Venn diagram of final targets for DHM intervention in PD; B: Molecular docking diagrams of LCN2, S100A9 and PNMT with DHM; C: Transcriptional profiles of 3 key mRNA in the GSE7707 dataset (bioinformatics data); D: *LCN2/NLRP3* mRNA expression levels in the animal model (animal experimental data, n=4, $\bar{x}\pm s$); E: Representative Western blot images and statistical analysis of LCN2 and NLRP3 expression (animal experimental data, n=4, $\bar{x}\pm s$)

图 4 网络药理学联合数据集分析 DHM 作用 PD 的相关靶点及验证

Figure 4 Network pharmacology combined with dataset analysis to identify and validate DHM-targeted genes associated with PD

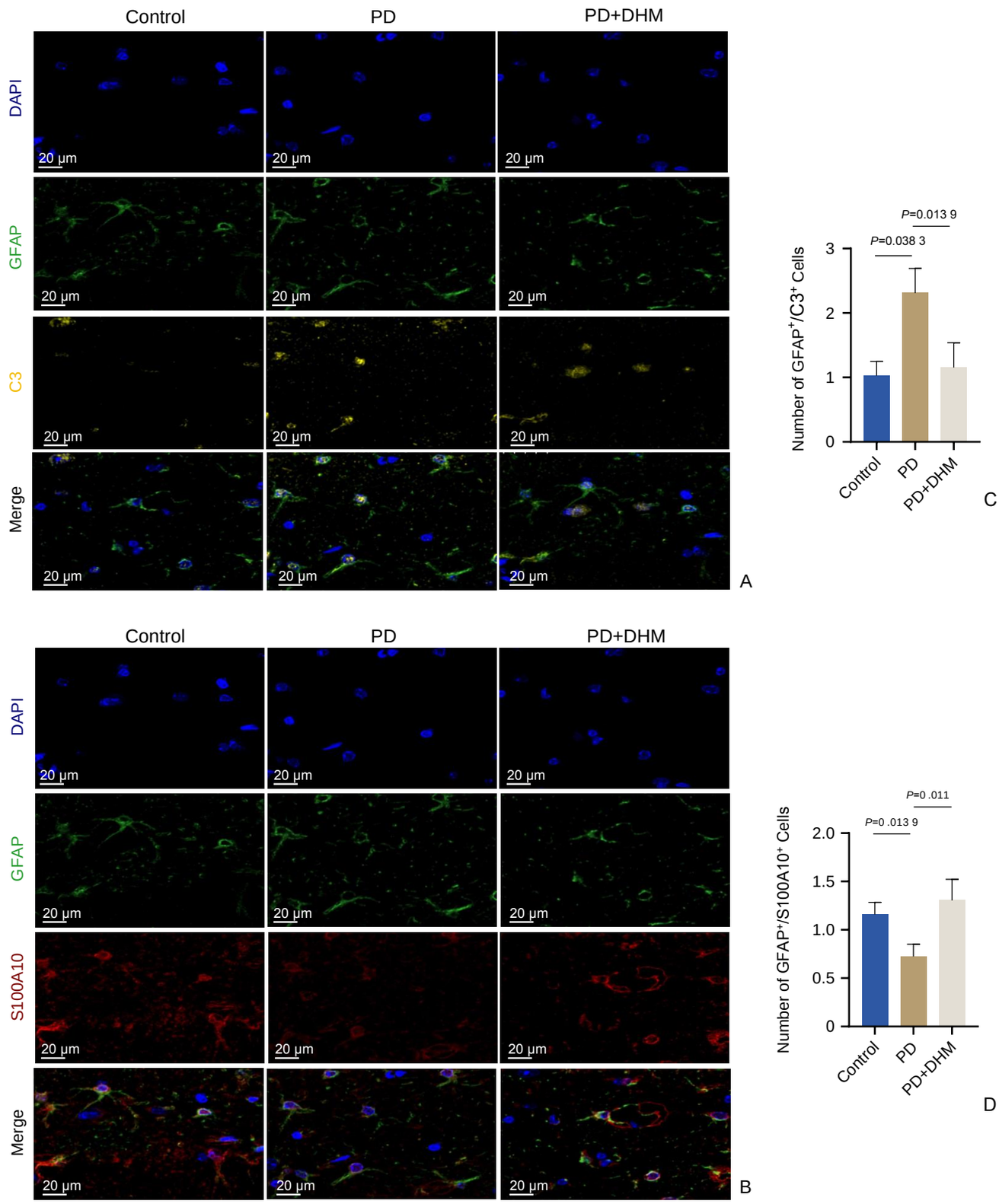
(P<0.01)。与 PD 组比较,PD+DHM 组 C3 表达水平显著降低(P<0.01),S100A10表达水平显著升高(P<0.01,图 6)。上述结果表明 PD 小鼠额叶皮层组织内 A1 型星形胶质细胞过度激活,而 DHM 干预后抑制了 A1 型星形胶质细胞过度激活,并促进其向 A2 表型转化。

2.6 DHM 减轻 PD 小鼠额叶皮层神经元铁死亡

为明确 DHM 对额叶皮层神经元铁死亡的影响,本研究检测各组小鼠额叶皮层铁死亡标志物的表达情况。RT-qPCR 结果显示,PD 组小鼠额叶皮层中铁死亡相关基因 *GPX4*、*SLC7A11* 和铁蛋白重链 1(ferritin heavy chain 1,FTH1)的表达较 Control 组明显降低(P<0.05),*ACSL4* 表达明显升高(P<0.001,图 7A)。与 PD 组比较,PD+DHM 组小鼠 *GPX4*、*SLC7A11* 和 *FTH1* 的表达逆转(P<0.01),*ACSL4* 表达明显降低(P<0.01,图 7A)。同时,采用试剂盒检测额叶皮层组织中 Fe^{2+}、GSH 和 MDA 的释放,结果显示,与 Control 组相比,PD 组小鼠额叶皮层 Fe^{2+}、MDA 含量显著增多(P<0.05),GSH 含量减少(P<0.05)。DHM 干预后 Fe^{2+}、MDA 含量降低(P<0.05),GSH 含量增加(P=0.002 5,图 7B~D)。Western blotting 检测结果同样表明,DHM 干预抑制了 PD 组小鼠额叶皮层组织中 ACSL4、TFRC 蛋白表达水平的增加(P<0.001),增加了 GPX4、SLC7A11(P<0.001)蛋白的表达(图 7E)。以上结果表明,DHM 可在一定程度上减轻 PD 小鼠额叶皮层细胞铁死亡。

2.7 DHM 通过 NLRP3 抑制星形胶质细胞 A1 型极化来抑制神经元细胞铁死亡

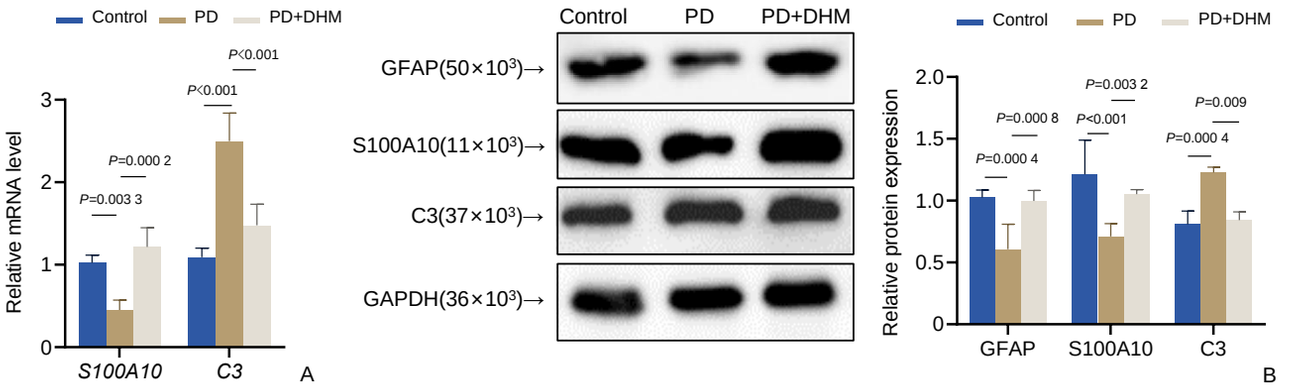
为了进一步验证 DHM 是否通过抑制 NLRP3 来改善 PD 抑郁样行为,通过 MPP^+ 处理 C8-D1A 细胞 24 h,构建体外 PD 模型。RT-qPCR 结果显示,与 Control 组相比,MPP^+ 组 *NLRP3*、*C3* 表达显著增加(P<0.001),*S100A10* 表达显著下降(P=0.042 9,图 8A),提示 MPP^+ 处理 24 h 可以诱导 C8-D1A 细胞 A1 型极化。NLRP3 抑制剂 MCC950 和 DHM 处理均降低了 C8-D1A 细胞 *NLRP3* 及 A1 型标志物 *C3* 的表达(P<0.05),增加了 A2 型标志物 *S100A10* 的表达(P<0.05,图 8A),表明 DHM 可能通过抑制 NLRP3 炎症小体的激活来抑制星形胶质细胞 A1 型极化,并促进其向 A2 型转化。接下来为了进一步探究星形胶质细胞的分泌物是否会影响多



A: Immunofluorescence co-staining of GFAP and C3; B: Immunofluorescence co-staining of GFAP and S100A10; C: Number of GFAP and C3 co-staining cells; D: Number of GFAP and S100A10 co-staining cells

图 5 额叶皮层星形胶质细胞极化的免疫荧光染色结果（n=3，$\bar{x}\pm s$）

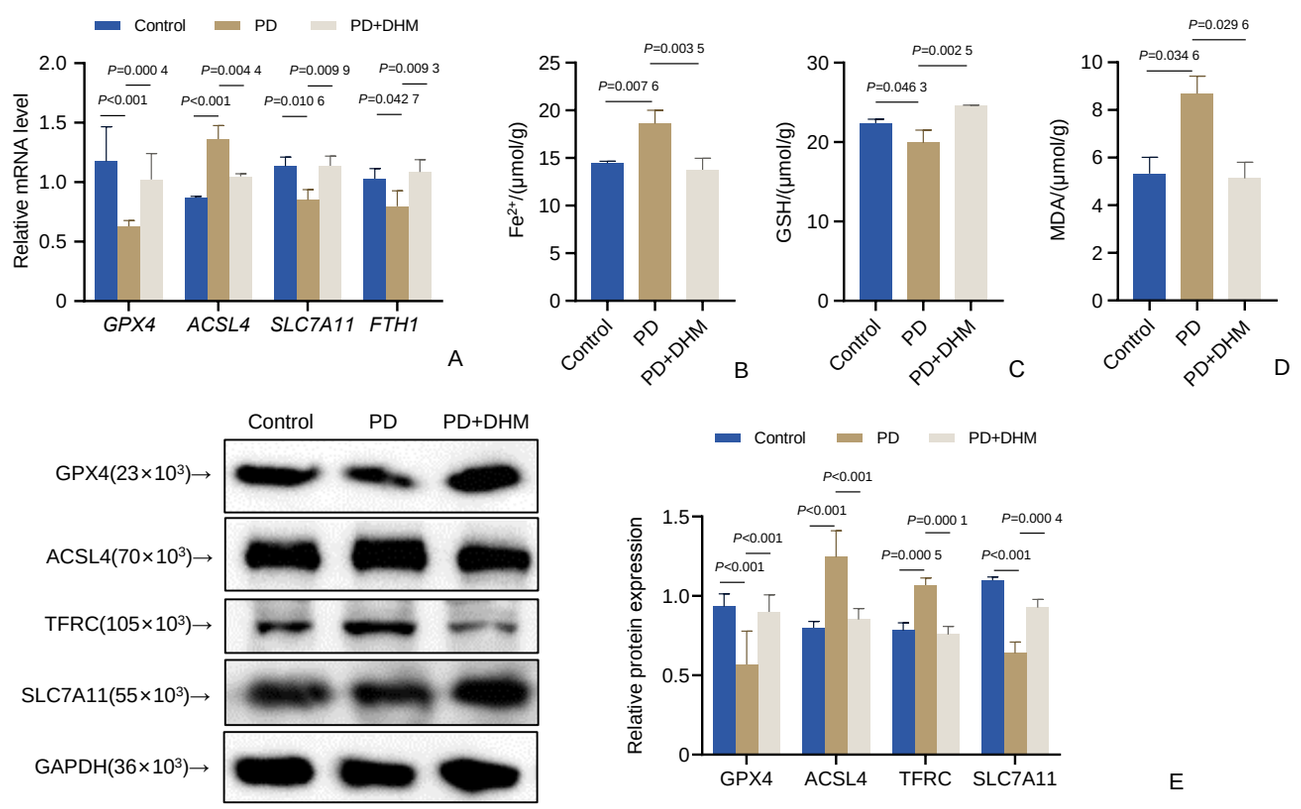
Figure 5 Immunofluorescence staining results of astrocyte polarization in the frontal cortex（n=3，$\bar{x}\pm s$）



A: *S100A10/C3* mRNA expression levels; B: Representative Western blot images and statistical analysis of astrocytes and their polarization phenotypes

图 6 DHM对PD小鼠额叶皮层星形胶质细胞极化表型的影响(n=4, $\bar{x}\pm s$)

Figure 6 Effects of DHM on the polarization phenotype of cortical astrocytes in PD mice (n=4, $\bar{x}\pm s$)

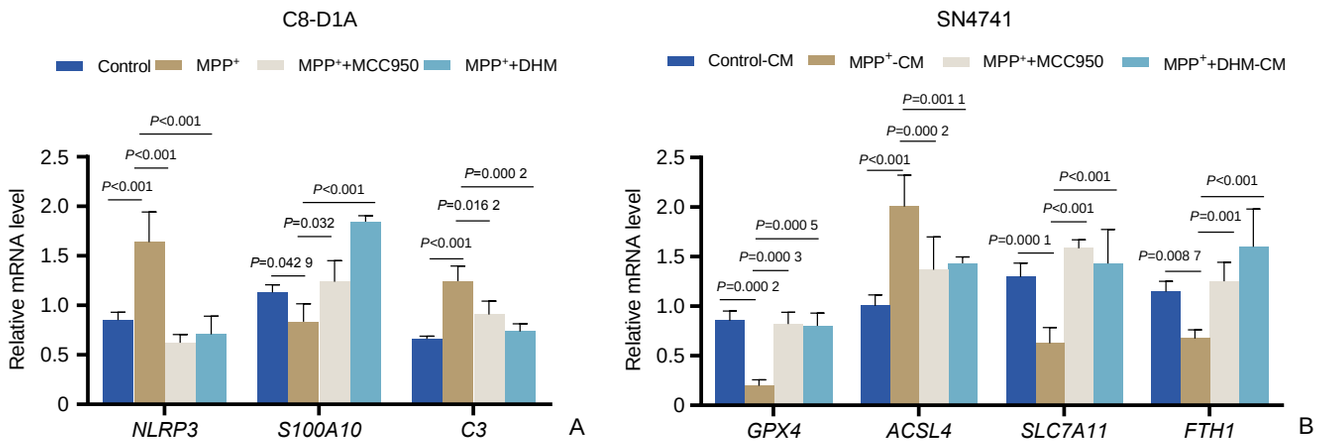


A: Ferroptosis-related mRNA expression levels; B: Fe^{2+} content in the frontal cortex; C: GSH content in the frontal cortex; D: MDA content in the frontal cortex; E: Representative Western blot images and statistical analysis of ferroptosis in frontal lobe neurons

图 7 DHM对PD小鼠额叶皮层细胞铁死亡的影响(n=4,$\bar{x}\pm s$)

Figure 7 Effects of DHM on ferroptosis in PD mouse frontal cortex (n=4,$\bar{x}\pm s$)

巴胺能神经元细胞发生铁死亡,采用C8-D1A细胞的条件培养基处理SN4741细胞,结果显示,与Control-CM相比,MPP^+-CM组*GPX4*、*SLC7A11*和*FTH1*的转录水平显著下降(P<0.01),*ACSL4*表达显著升高(P<0.001),而DHM-CM、MCC950-CM干预逆转了上述铁死亡相关指标的表达(P<0.01,图8B)。以上结果表明,DHM减轻PD小鼠皮层细胞铁死亡的作用可能源于抑制了NLRP3介导的星形胶质细胞A1型极化。



A: Polarization-related mRNA expression in C8-D1A cells; B: Ferroptosis-related mRNA expression in SN4741 cells

图 8　DHM对星形胶质细胞极化及多巴胺能神经元细胞铁死亡的影响

Figure 8　Effects of DHM on astrocyte polarization and ferroptosis in dopaminergic neuronal cells

3　讨论

目前PD治疗方法主要包括药物治疗和手术治疗,但药物的“剂末现象”和“开关效应”等不良反应以及昂贵的手术费用限制了其广泛应用[21]。DHM作为一种天然产物,已被证实具有较少的副作用和广泛的生物学效应。因此,本研究基于课题组前期研究[12],探究DHM改善PD小鼠伴抑郁样行为的潜在作用靶点及分子机制,并通过动物实验和细胞实验进行验证,以期为PD抑郁样行为的防治提供新的视角。

3.1　DHM可有效改善PD小鼠的抑郁样行为及突触可塑性

本研究采用的亚急性PD小鼠模型已被证实具有与PD患者相似的病理特征,并表现出伴抑郁样行为[17, 22]。抑郁的发生并非局限于单一脑区的损伤,而可能与多脑区情绪环路的功能失衡有关,例如额叶-边缘系统及外侧缰核-中脑单胺系统的环路功能失衡。研究表明,抑郁典型的病理特征是额叶皮层突触结构受损以及大量神经元的丢失[23]。PD伴抑郁样行为患者常表现为额叶、颞部及部分边缘区域皮层变薄,白质异常[24],外侧缰核神经元活动异常升高,并伴随细胞色素氧化酶活性增强[25-26]。此外,动物实验同样表明,抑郁型PD小鼠突触可塑性指标PSD95及脑连接性相关蛋白表达降低[27]。与上述研究一致,本研究发现PD小鼠额叶突触可塑性受损且伴随神经元丢失,而DHM干预后表现出与阳性对照Madopar相当的治疗效果,提示其在PD抑郁样行为防治中的潜在应用价值。但需要指出的是,PD相关抑郁并非仅由单一皮层区域损伤决定,而本研究尚未明确DHM是否同时调控外侧缰核的异常兴奋及其对单胺系统的抑制作用,后续可进一步深入探讨,从而更完整地阐明DHM改善PD抑郁样行为的机制。

3.2　网络药理学揭示LCN2/NLRP3轴是DHM改善PD的关键潜在靶点

网络药理学和数据集分析结果提示,LCN2可能是DHM在PD额叶皮层中发挥作用的关键靶点。研究发现,PD患者血浆LCN2表达水平显著高于健康人群,与非运动功能障碍呈现负相关,且与双侧黑质铁沉积水平呈正相关[28]。LCN2作为一种活化星形胶质细胞的分泌蛋白,可通过阻碍24p3R和α-syn的结合,阻止星形胶质细胞对α-syn的摄取和破坏铁稳态,从而加剧PD的发生发展[29]。另有研究表明,LCN2可调节星形胶质细胞极化和下游炎症相关通路,增强炎症反应并加重神经损伤[30-31]。而*LCN2*基因敲除小鼠显著抑制了NLRP3炎症小体的形成和炎症反应,破坏了细胞内铁输入和输出的稳态[32]。因此,本研究进一步将LCN/NLRP3介导的铁稳态失调作为DHM改善PD的潜在机制进行验证。检测发现与上述研究一致,LCN2、NLRP3表达显著增加,而DHM干预后能够显著降低。

3.3　DHM抑制A1型并促进A2型星形胶质细胞极化

星形胶质细胞极化在PD的发生发展中发挥着关键作用,本研究发现,PD组GFAP表达显著下降,GFAP/C3阳性细胞数目显著增加,而GFAP/S100A10阳性细胞数目显著下降,提示星形胶质细胞表型可能向促炎性A1型转化。病理刺激可诱导星形胶质细胞极化,但其整体的反应模式可能并非单一的、以GFAP大量积聚为特征的终末活化[33]。另有研究表明,

GFAP表达的适度减少与胶质瘢痕屏障作用的减弱相关,并为轴突再生和突触可塑性提供了更有利的微环境[34]。因此,本研究模型中,GFAP整体下调可能是一种侧重于神经发生的代偿性变化。而DHM干预后可通过抑制LCN2/NLRP3轴,减少星形胶质细胞的A1型极化,促进星形胶质细胞向A2型极化转变,从而发挥神经保护性作用。

3.4 DHM抑制NLRP3介导的星形胶质细胞A1型极化抑制神经元铁死亡

PD小鼠已被证明存在典型的铁死亡特征。WANG等[35]和黄丽平等[36]发现PD小鼠GSH含量及SLC7A11、GPX4转录和蛋白表达水平降低。本研究结果与上述结果一致,PD小鼠铁死亡特征明显而DHM干预后通过上调SLC7A11/GSH/GPX4轴,重塑细胞的还原性缓冲体系,增强细胞的抗氧化能力。此外,细胞铁死亡常伴随脂代谢的紊乱,ACSL4是决定该过程的关键代谢酶[37]。SHCHEPINOV等[38]的研究发现,脂质过氧化参与PD的病理机制,补充氘代多不饱和脂肪酸可缓解PD小鼠黑质纹状体损伤。此外,万钰铃等[39]发现PD小鼠黑质ACSL4蛋白表达升高,脂质代谢异常。而本研究同样显示,DHM干预可以抑制ACSL4、MDA的表达,从底物源头上减轻PD小鼠铁死亡的程度。另有研究表明,PD患者和动物模型脑内存在较高含量铁离子及铁代谢途径的异常变化,且与病情严重程度密切相关[40],同时,相关研究也揭示,患者体内涉及铁代谢的关键蛋白也表现出功能异常,如FTH1表达水平降低和TRF1蛋白表达水平升高[36]。而本研究发现DHM可调节细胞铁代谢和重塑脑内铁稳态,增强了铁的螯合与储存能力,避免芬顿反应驱动的脂质过氧化[41]。综上所述,DHM对PD额叶皮层中铁死亡的干预呈现出一个多模态、协同互补的作用网络。然而,需要指出的是,DHM是否还会通过其他情绪环路的关键节点,如外侧缰核-铁死亡通路发挥抗抑郁效应,目前仍缺乏直接证据,值得在后续研究中进一步验证。

C8-D1A细胞源自小鼠星形胶质细胞,被广泛用于研究星形胶质细胞在神经科学和脑部疾病等各种病理条件下的作用[42]。本研究发现,DHM和MCC950均可抑制NLRP3的表达从而抑制C8-D1A细胞A1型极化,促进A2型极化。此外,研究表明,星形胶质细胞可分泌神经保护因子保护多巴胺神经元免受铁死亡的影响[43-44]。基于此,本研究发现,DHM可能通过抑制NLRP3炎症小体的激活促进星形胶质细胞A2型极化进而影响其分泌的细胞因子,改善神经元微环境,从而抑制多巴胺能神经元细胞铁死亡。

综上所述,本研究在动物实验与细胞实验的基础上联合数据库挖掘、网络药理学与分子对接技术,证实DHM具有改善PD小鼠抑郁样行为的作用。其作用机制可能是通过抑制LCN2/NLRP3轴促进星形胶质细胞A2型极化,缓解星形胶质细胞极化失衡与神经元铁死亡的恶性循环,进而改善PD小鼠抑郁样行为。本研究验证了DHM通过LCN2/NLRP3这一新靶点在PD及其并发症中的作用,为临床防治PD伴抑郁样行为提供了理论依据。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献:

[1] SU D N, CUI Y S, HE C Z, *et al*. Projections for prevalence of Parkinson's disease and its driving factors in 195 countries and territories to 2050: modelling study of Global Burden of Disease Study 2021[J]. BMJ, 2025, 388: e080952. DOI: 10.1136/bmj-2024-080952.

[2] ARMSTRONG M J, OKUN M S. Diagnosis and treatment of Parkinson disease: a review[J]. JAMA, 2020, 323(6): 548-560. DOI:10.1001/jama.2019.22360.

[3] 李静, 胡晓飞, 周振华. 帕金森病运动亚型患者运动症状及认知功能进展特征: 3年纵向研究[J]. 第三军医大学学报, 2020, 42(13): 1273-1278. DOI:10.16016/j.1000-5404.202001202.
LI J, HU X F, ZHOU Z H. Progression characteristics of motor symptoms and cognitive function in patients with motor subtype of Parkinson's disease: a 3-year longitudinal study[J]. J Third Mil Med Univ, 2020, 42(13): 1273-1278. DOI: 10.16016/j.1000-5404.202001202.

[4] GALLAGHER D A, LEES A J, SCHRAG A. What are the most important nonmotor symptoms in patients with Parkinson's disease and are we missing them?[J]. Mov Disord, 2010, 25(15): 2493-2500. DOI:10.1002/mds.23394.

[5] PRANGE S, KLINGER H, LAURENCIN C, *et al*. Depression in patients with Parkinson's disease: current understanding of its neurobiology and implications for treatment[J]. Drugs Aging, 2022, 39(6): 417-439. DOI: 10.1007/s40266-022-00942-1.

[6] KRITZINGER C, VOLLSTEDT E J, HÜCKELHEIM K, *et al*. Qualitative characteristics of depression in Parkinson's patients and controls[J]. Behav Neurol, 2015, 2015: 961372. DOI: 10.1155/2015/961372.

[7] XIAO Z X, WANG X Y, PAN X N, *et al*. Mitochondrial iron dyshomeostasis and its potential as a therapeutic target for Parkinson's disease[J]. Exp Neurol, 2024, 372: 114614. DOI:10.1016/j.expneurol.2023.114614.

[8] MANISCALCHI A, BENZI JUNCOS O N, CONDE M A, *et al*. New insights on neurodegeneration triggered by iron accumulation: Intersections with neutral lipid metabolism,

ferroptosis, and motor impairment[J]. Redox Biol, 2024, 71: 103074. DOI:10.1016/j.redox.2024.103074.

[9] ZHOU M H, XU K Y, GE J X, *et al*. Targeting ferroptosis in Parkinson's disease: mechanisms and emerging therapeutic strategies[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(23): 13042. DOI: 10.3390/ijms252313042.

[10] CHEN Y, ZHENG Y Y, CHEN R X, *et al*. Dihydromyricetin attenuates diabetic cardiomyopathy by inhibiting oxidative stress, inflammation and necroptosis *via* sirtuin 3 activation[J]. Antioxidants, 2023, 12(1): 200. DOI:10.3390/antiox12010200.

[11] KOU X J, LI J, BIAN J, *et al*. Ampelopsin attenuates 6-OHDA-induced neurotoxicity by regulating GSK-3β/NRF2/ARE signalling[J]. J Funct Foods, 2015, 19: 765-774. DOI:10.1016/j.jff.2015.10.010.

[12] 童诗逸, 张蒙, 盛科研, 等. 二氢杨梅素抑制坏死性凋亡信号通路改善帕金森病小鼠认知功能障碍的作用机制[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(3): 296-302. DOI: 10.19378/j.issn.1003-9783.2023.03.002.
TONG S Y, ZHANG M, SHENG K Y, *et al*. Mechanisms of dihydromyricetin mediated necroptosis signaling pathway in improving cognitive dysfunction in mice with Parkinson's disease[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2023, 34(3): 296-302. DOI: 10.19378/j. issn. 1003-9783.2023.03.002.

[13] 张蒙, 张源源, 牛梦竹, 等. 双氢杨梅素通过诱导自噬减轻慢性帕金森病小鼠的细胞焦亡和坏死性凋亡[J]. 南方医科大学学报, 2023, 43(8): 1268-1278. DOI:10.12122/j.issn.1673-4254.2023.08.02.
ZHANG M, ZHANG Y Y, NIU M Z, *et al*. Dihydromyricetin alleviates pyroptosis and necroptosis in mice with MPTP-induced chronic Parkinson's disease by inducing autophagy[J]. J South Med Univ, 2023, 43(8): 1268-1278. DOI:10.12122/j.issn.1673-4254.2023.08.02.

[14] XIE J B, ZHANG T T, LI P C, *et al*. Dihydromyricetin attenuates cerebral ischemia reperfusion injury by inhibiting SPHK1/mTOR signaling and targeting ferroptosis[J]. Drug Des Devel Ther, 2022, 16: 3071-3085. DOI: 10.2147/DDDT.S378786.

[15] XU Z M, ZHANG M J, WANG W W, *et al*. Dihydromyricetin attenuates cisplatin-induced acute kidney injury by reducing oxidative stress, inflammation and ferroptosis[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2023, 473: 116595. DOI:10.1016/j.taap.2023.116595.

[16] ZHANG Q S, HENG Y, MOU Z, *et al*. Reassessment of subacute MPTP-treated mice as animal model of Parkinson's disease[J]. Acta Pharmacol Sin, 2017, 38(10): 1317-1328. DOI:10.1038/aps.2017.49.

[17] 张宝文, 吕梦林, 陈丹丹, 等. 40 Hz光闪烁刺激调节NAD^+/Sirt1/PGC-1α信号通路对帕金森病伴抑郁小鼠的影响[J]. 中国激光, 2025, 52(15): 113-125. DOI:10.3788/CJL250452.
ZHANG B W, LYU M L, CHEN D D, *et al*. Effects of 40 Hz light flicker stimulation on NAD^+/Sirt1/PGC-1α signaling pathway in Parkinson's disease with depression mice[J]. Chin J Lasers, 2025, 52(15): 113-125. DOI: 10.3788/CJL250452.

[18] REN Z X, ZHAO Y F, CAO T, *et al*. Dihydromyricetin protects neurons in an MPTP-induced model of Parkinson's disease by suppressing glycogen synthase kinase-3 beta activity[J]. Acta Pharmacol Sin, 2016, 37(10): 1315-1324. DOI:10.1038/aps.2016.42.

[19] JIANG S Y, TIAN T, YAO H, *et al*. The cGAS-STING-YY1 axis accelerates progression of neurodegeneration in a mouse model of Parkinson's disease *via* LCN2-dependent astrocyte senescence[J]. Cell Death Differ, 2023, 30(10): 2280-2292. DOI:10.1038/s41418-023-01216-y.

[20] 刘醒然, 牛梦竹, 高原, 等. 二氢杨梅素改善糖尿病肾病的关键靶分子的筛选与验证[J]. 陆军军医大学学报, 2025, 47(21): 2663-2677. DOI: 10.16016/j. 2097-0927. 202507095.
LIU X R, NIU M Z, GAO Y, *et al*. Screening and validation of key molecular targets for dihydromyricetin in ameliorating diabetic nephropathy[J]. J Army Med Univ, 2025, 47(21): 2663-2677. DOI:10.16016/j.2097-0927.202507095.

[21] BASHIR B, VISHWAS S, GUPTA G, *et al*. Does drug repurposing bridge the gaps in management of Parkinson's disease? Unravelling the facts and fallacies[J]. Ageing Res Rev, 2025, 105: 102693. DOI:10.1016/j.arr.2025.102693.

[22] KIM J H, YOON H J, CHOI Y, *et al*. 6-Shogaol, a neuro-nutraceutical derived from ginger, alleviates motor symptoms and depression-like behaviors and modulates the release of monoamine neurotransmitters in Parkinson's disease mice[J]. Eur J Nutr, 2025, 64(3): 116. DOI: 10.1007/s00394-025-03639-4.

[23] 郑淇, 徐晓敏, 王思萌, 等. 中医药在帕金森病与抑郁共病中的作用机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2026, 32(4): 268-276. DOI: 10.13422/j. cnki. syfjx. 20251902.
ZHENG Q, XU X M, WANG S M, *et al*. Mechanism of traditional Chinese medicine in comorbidity of Parkinson's disease and depression: a review[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2026, 32(4): 268-276. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20251902.

[24] FELDMANN A, ILLES Z, KOSZTOLANYI P, *et al*. Morphometric changes of gray matter in Parkinson's disease with depression: a voxel-based morphometry study[J]. Mov Disord, 2008, 23(1): 42-46. DOI:10.1002/mds.21765.

[25] BROWNE C A, HAMMACK R, LUCKI I. Dysregulation of the lateral habenula in major depressive disorder[J]. Front Synaptic Neurosci, 2018, 10: 46. DOI: 10.3389/fnsyn.2018.00046.

[26] LUO X F, ZHANG B L, LI J C, *et al*. Lateral habenula as a link between dopaminergic and serotonergic systems contributes to depressive symptoms in Parkinson's disease [J]. Brain Res Bull, 2015, 110: 40-46. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2014.11.006.

[27] MIQUEL RIO L, JERICÓ ESCOLAR J, SARRIÉS SERRANO U, *et al*. Early synaptic changes and reduced brain connectivity in PD-like mice with depressive phenotype [J]. npj Park Dis, 2025, 11: 242. DOI: 10.1038/s41531-025-01073-1.

[28] FAN Y Y, LI X H, MA J J, *et al*. Increased plasma lipocalin-2 levels are associated with nonmotor symptoms and neuroimaging features in patients with Parkinson's disease[J]. J Neurosci Res, 2024, 102(2): e25303. DOI: 10.1002/jnr.25303.

[29] JIAO Y Y, TIAN T, ZHU Z, *et al*. Extracellular LCN2 binding to 24p3R in astrocytes impedes α-synuclein endocytosis in Parkinson's disease[J]. Adv Sci, 2025, 12(39): e01694. DOI:10.1002/advs.202501694.

[30] TAN Q Q, ZHANG C X, RAO X Q, *et al*. The interaction of lipocalin-2 and astrocytes in neuroinflammation: mechanisms and therapeutic application [J]. Front Immunol, 2024, 15: 1358719. DOI: 10.3389/fimmu. 2024.1358719.

[31] LI J J, XU P F, HONG Y, *et al*. Lipocalin-2-mediated astrocyte pyroptosis promotes neuroinflammatory injury *via* NLRP3 inflammasome activation in cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. J Neuroinflammation, 2023, 20(1): 148. DOI:10.1186/s12974-023-02819-5.

[32] WEN Y Y, ZHAO C L, CHEN J, *et al*. Gandouling regulates ferroptosis and improves neuroinflammation in Wilson's disease through the LCN2/NLRP3 signaling pathway[J]. J Inflamm Res, 2024, 17: 5599-5618. DOI: 10.2147/JIR.S465341.

[33] ZHANG L S, XU Z Z, JIA Z H, *et al*. Modulating mTOR-dependent astrocyte substate transitions to alleviate neurodegeneration[J]. Nat Aging, 2025, 5(3): 468-485. DOI:10.1038/s43587-024-00792-z.

[34] CHOI I, CHOI D J, YANG H J, *et al*. PINK1 expression increases during brain development and stem cell differentiation, and affects the development of GFAP-positive astrocytes [J]. Mol Brain, 2016, 9: 5. DOI: 10.1186/s13041-016-0186-6.

[35] WANG H Q, WU S, JIANG X D, *et al*. Acteoside alleviates salsolinol-induced Parkinson's disease by inhibiting ferroptosis *via* activating Nrf2/SLC7A11/GPX4 pathway [J]. Exp Neurol, 2025, 385: 115084. DOI: 10.1016/j. expneurol. 2024.115084.

[36] 黄丽平, 邓敏贞, 冯真英, 等. 石菖蒲新苯丙素类化合物HDDM对帕金森病小鼠多巴胺能神经元的保护机制[J]. 中药新药与临床药理, 2025, 36(9): 1483-1491. DOI:10.19378/j.issn.1003-9783.2025.09.008.
HUANG L P, DENG M Z, FENG Z Y, *et al*. Neuroprotective mechanism of acori tatarinowii rhizoma-derived novel phenylpropanoids HDDM on dopaminergic neurons in Parkinson's disease mice[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2025, 36(9): 1483-1491. DOI: 10.19378/j.issn.1003-9783.2025.09.008.

[37] DOLL S, PRONETH B, TYURINA Y Y, *et al*. ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition[J]. Nat Chem Biol, 2017, 13(1): 91-98. DOI: 10.1038/nchembio.2239.

[38] SHCHEPINOV M S, CHOU V P, POLLOCK E, *et al*. Isotopic reinforcement of essential polyunsaturated fatty acids diminishes nigrostriatal degeneration in a mouse model of Parkinson's disease[J]. Toxicol Lett, 2011, 207(2): 97-103. DOI:10.1016/j.toxlet.2011.07.020.

[39] 万钰铃, 陈彦君, 陈静文, 等. 帕宁Ⅰ号方对帕金森病小鼠多巴胺能神经元氧化应激介导的铁死亡途径的影响[J]. 上海中医药杂志, 2024, 58(9): 80-90. DOI:10.16305/j.1007-1334.2024.2312042.
WAN Y L, CHEN Y J, CHEN J W, *et al*. Effects of Paning Ⅰ formula on oxidative stress-mediated ferroptosis pathway in dopaminergic neurons of PD mice [J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2024, 58(9): 80-90. DOI: 10.16305/j. 1007-1334.2024.2312042.

[40] PYATIGORSKAYA N, SHARMAN M, CORVOL J C, *et al*. High nigral iron deposition in LRRK2 and Parkin mutation carriers using R2* relaxometry[J]. Mov Disord, 2015, 30(8): 1077-1084. DOI:10.1002/mds.26218.

[41] STOCKWELL B R, FRIEDMANN ANGELI J P, BAYIR H, *et al*. Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. Cell, 2017, 171(2): 273-285. DOI:10.1016/j.cell.2017.09.021.

[42] WONG M, AHMED A, LUO W J, *et al*. Combined manganese-iron exposure reduced oxidative stress is associated with the NRF2/NQO1 pathway in astrocytic C8-D1A cells[J]. Biol Trace Elem Res, 2026, 204(2): 786-802. DOI:10.1007/s12011-025-04708-9.

[43] ISHII T, WARABI E, MANN G E. Circadian control of BDNF-mediated Nrf2 activation in astrocytes protects dopaminergic neurons from ferroptosis[J]. Free Radic Biol Med, 2019, 133: 169-178. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed. 2018. 09.002.

[44] SCHIPPER H M, SONG W, TAVITIAN A, *et al*. The sinister face of heme oxygenase-1 in brain aging and disease [J]. Prog Neurobiol, 2019, 172: 40-70. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2018.06.008.

(**收稿**:2026-01-19;**修回**:2026-03-18)
(编辑 刘秋池)