

基于 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路探讨香附挥发油对产后抑郁小鼠的干预作用

李溢涵^{1,2}, 杨萍^{1,2}, 刘红华¹, 袁宁^{1,2*}

1.湖南中医药大学临床医学院, 湖南 长沙 410208; 2.湖南省第二人民医院(湖南省脑科医院), 湖南 长沙 410007

【摘要】目的 评价香附挥发油对产后抑郁(PPD)的干预作用,并探讨其与海马神经炎症及 Toll 样受体 4/核因子 κ B/NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(TLR4/NF- κ B/NLRP3)信号通路的关系。**方法** 采用网络药理学预测香附挥发油的潜在作用靶点与富集通路。将雌性 C57BL/6 小鼠随机分为正常对照组、模型组、香附组和氟西汀组,每组 6 只。除正常对照组外,其余各组采用激素模拟妊娠后突然停撤法建立 PPD 模型;正常对照组和模型组灌胃给予生理盐水,香附组灌胃给予香附挥发油 50 mg/kg·d,氟西汀组腹腔注射氟西汀 10 mg/kg·d,连续干预 2 周。采用行为学实验评价小鼠抑郁样行为及药物干预效果;HE 染色观察小鼠海马组织病理变化;ELISA 检测小鼠血清和海马组织中诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、环氧合酶-2(COX-2)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)和干扰素- γ (IFN- γ)水平;免疫荧光染色检测小鼠海马齿状回区 NLRP3 和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)阳性表达;Western blot 检测小鼠海马组织 Toll 样受体 4(TLR4)、髓样分化因子 88(MyD88)、磷酸化核因子- κ B p65/核因子- κ B p65(p-p65/p65)、肿瘤坏死因子受体相关因子 6(TRAF6)、NLRP3 和 Caspase-1 蛋白表达水平。**结果** 网络药理学结果显示,香附挥发油相关靶点主要富集于 Toll 样受体、TNF、NF- κ B、NOD 样受体等炎症相关信号通路。动物实验结果显示,第 0 周各组小鼠糖水偏好率、强迫游泳不动时间及悬尾不动时间比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。第 5 周,与正常对照组比较,模型组小鼠糖水偏好率降低,强迫游泳不动时间和悬尾不动时间延长($P<0.01$);血清及海马组织中 iNOS、COX-2、TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 水平均升高($P<0.01$);海马齿状回 NLRP3 和 Caspase-1 阳性表达升高($P<0.01$);海马组织 TLR4、MyD88、p-p65/p65、TRAF6、NLRP3 及 Caspase-1 蛋白表达水平均升高($P<0.01$)。与模型组比较,香附组和氟西汀组小鼠糖水偏好率升高,强迫游泳不动时间和悬尾不动时间缩短($P<0.01$);

收稿日期: 2025-12-10

[基金项目]湖南省自然科学基金项目(2023JJ60293, 2024JJ9356, 2024JJ8139);湖南省卫健委高层次人才重点科研项目(20230412);湖南省中医药管理局中医医院管理项目(B2023133);湖南省卫生健康委员会科研项目(D202314056707)。

[通讯作者]*袁宁,女,博士,主任医师,硕士研究生导师, E-mail: 214723726@qq.com。

血清及海马组织中 iNOS、COX-2、TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 水平均降低 ($P<0.01$)；海马齿状回 NLRP3 和 Caspase-1 阳性表达降低 ($P<0.01$)；香附组和氟西汀组海马组织 TLR4、MyD88、p-p65/p65、TRAF6、NLRP3 蛋白表达水平均降低 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$)，香附组 Caspase-1 蛋白表达水平降低 ($P<0.05$)，氟西汀组 Caspase-1 蛋白表达呈下降趋势，但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。结论 香附挥发油可能通过抑制 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路介导的海马神经炎症而发挥抗产后抑郁作用，为其作为产后抑郁潜在干预药物提供实验依据。

【关键词】产后抑郁；香附挥发油；TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路；炎症因子

Intervention effects of Xiangfu (*Cyperi Rhizoma*) volatile oil on postpartum depression in mice via the TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway

LI Yihan^{1,2}, YANG Ping^{1,2}, LIU Honghua¹, YUAN Ning^{1,2*}

1. School of Clinical Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

2. The Second People's Hospital of Hunan Province (Brain Hospital of Hunan Province), Changsha, Hunan 410007, China

〔Abstract〕 **Objective** To evaluate the intervention effects of Xiangfu (*Cyperi Rhizoma*) volatile oil on postpartum depression (PPD) and to explore its relationship with hippocampal neuroinflammation and the Toll-like receptor 4/nuclear factor- κ B/NOD-like receptor pyrin domain-containing protein 3 (TLR4/NF- κ B/NLRP3) signaling pathway. **Methods** Network pharmacology was used to predict the potential targets and enriched pathways of Xiangfu (*Cyperi Rhizoma*) volatile oil. Female C57BL/6 mice were randomly divided into normal control group, model group, Xiangfu (*Cyperi Rhizoma*) volatile oil group, and fluoxetine group, with six mice in each group. Except for the normal control group, PPD models were established in the other groups by abrupt withdrawal of hormones following hormone-simulated pregnancy. The normal control and model groups were given normal saline by gavage, the Xiangfu (*Cyperi Rhizoma*) volatile oil group received Xiangfu (*Cyperi Rhizoma*) volatile oil 50 mg/kg·d by gavage, and the fluoxetine group received fluoxetine 10 mg/kg·d intraperitoneally, for two consecutive weeks. Behavioral tests were performed to

evaluate depressive-like behaviors and drug intervention effects. HE staining was used to observe hippocampal pathological changes. ELISA was used to determine the levels of inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), and interferon- γ (IFN- γ) in serum and hippocampal tissue. Immunofluorescence staining was performed to measure the positive expression levels of NLRP3 and cysteinyl aspartate-specific protease-1 (Caspase-1) in the hippocampal dentate gyrus. Western blot was used to determine the protein expression levels of TLR4, myeloid differentiation factor 88 (MyD88), phosphorylated nuclear factor- κ B p65/nuclear factor- κ B p65 (p-p65/p65), tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF6), NLRP3, and Caspase-1 in hippocampal tissue. **Results** Network pharmacology analysis showed that the targets related to Xiangfu (Cyperus Rhizoma) volatile oil were mainly enriched in inflammation-related signaling pathways, including Toll-like receptor, TNF, NF- κ B, and NOD-like receptor pathways. In the animal experiments, at week 0, there were no statistically significant differences among groups in sucrose preference rate, forced swimming immobility time, or tail suspension immobility time ($P>0.05$). At week 5, compared with the normal control group, the model group showed a decreased sucrose preference rate, prolonged forced swimming immobility time and tail suspension immobility time ($P<0.01$), increased levels of iNOS, COX-2, TNF- α , IL-1 β , and IFN- γ in serum and hippocampal tissue ($P<0.01$), elevated positive expression levels of NLRP3 and Caspase-1 in the hippocampal dentate gyrus ($P<0.01$), and upregulated protein expression levels of TLR4, MyD88, p-p65/p65, TRAF6, NLRP3, and Caspase-1 in hippocampal tissue ($P<0.01$). Compared with the model group, both the Xiangfu (Cyperus Rhizoma) volatile oil and fluoxetine groups exhibited increased sucrose preference rate, shortened forced swimming immobility time and tail suspension immobility time ($P<0.01$), reduced levels of iNOS, COX-2, TNF- α , IL-1 β , and IFN- γ in serum and hippocampal tissue ($P<0.01$), decreased positive expression levels of NLRP3 and Caspase-1 in the hippocampal dentate gyrus ($P<0.01$), and downregulated protein expression levels of TLR4, MyD88, p-p65/p65, TRAF6, and NLRP3 in hippocampal tissue ($P<0.01$ or $P<0.05$). Additionally, the Xiangfu (Cyperus Rhizoma) volatile oil group showed decreased caspase-1 protein expression ($P<0.05$), while the fluoxetine group showed a decreasing trend in caspase-1 protein expression without statistical significance ($P>0.05$). **Conclusion** Xiangfu

(*Cyperi Rhizoma*) volatile oil may exert antidepressant effects on PPD by inhibiting hippocampal neuroinflammation mediated by the TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway, providing experimental evidence for its potential as an intervention drug for PPD.

(**Keywords**) postpartum depression; Xiangfu (*Cyperi Rhizoma*) volatile oil; TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway; inflammatory factor

产后抑郁 (postpartum depression, PPD) 是产后女性常见的精神心理障碍, 主要表现为持续性情绪低落、兴趣减退、焦虑、易激惹等, 并可影响母婴互动; 严重者可出现自伤、自杀倾向^[1-3]。作为一种常见且严重的精神障碍, 产后抑郁影响 7%~19% 的产后妇女^[4-6]。研究表明, 与正常母亲的孩子相比, 产后抑郁患者的子女在智力和运动发育方面更易出现延迟, 并对压力表现出更高的反应性^[7]。与健康母亲相比, 产后抑郁的母亲更难识别婴儿的需求并与其建立联系^[8-10]。选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂是目前治疗产后抑郁的一线药物^[11], 但其疗效存在个体差异, 且可能通过母乳影响婴儿神经发育^[12]。因此, 开发新型抗产后抑郁药物仍是临床亟待解决的问题。

香附 (*Cyperi Rhizoma*), 又名香草头, 是一种传统中药。根据《本草纲目·第八卷·草部·香附子、莎草》, 香附“性平, 辛、微苦、微甘”, 香附在中医理论中以理气、疏肝解郁、止痛及调经见长^[13]。现代药理学研究表明, 香附提取物具有抗氧化、抗肿瘤和神经保护等多种生物活性^[14-15]。其挥发油中的主要活性成分 α -塞吡酮已被证实可通过增强神经可塑性发挥抗抑郁作用^[16-17]。近年来, 神经炎症被认为是产后抑郁的关键病理环节之一, 多项研究已证实, 炎症与抑郁之间存在密切联系^[18]。海马体在调节情绪与认知相关功能方面至关重要^[11], 并被认为是 PPD 治疗的关键靶点。Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4)/核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B)/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) 信号通路是介导神经炎症的经典通路, 在抑郁障碍的发生发展中发挥核心作用^[19]。初步的网络药理学分析提示, 香附挥发油可能通过调控该炎症通路发挥疗效, 但其对 PPD 的干预作用及具体分子机制尚不明确。基于此, 本研究建立了激素诱导的 PPD 小鼠模型, 评价了香附挥发油的抗抑郁样作用, 并从海马神经炎症角度探讨 TLR4/NF- κ B/NLRP3 通路在其中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

选用无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级 C57BL/6J 雌性小鼠 (17~19 g, 湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 许可证号: SCXK (湘) 2021-0002), 饲养于湖南安生美药物研究院的 SPF

级屏障环境中。所有动物实验程序均经湖南安生美药物研究院有限公司实验动物伦理委员会审查并批准（伦理审查编号：IACUC-KY2024028）。

1.1.2 药物与试剂

中药香附（北京同仁堂药店，批号：201803）；盐酸氟西汀溶液（美国 Eli Lilly 公司，批号：001PD5）。小鼠诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase, iNOS）酶联免疫吸附测定（enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA）试剂盒（武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司，货号：E-EL-M0696）；小鼠环氧合酶-2（cyclooxygenase-2, COX-2）ELISA 试剂盒（武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司，货号：CSB-E12910m）；小鼠肿瘤坏死因子- α （tumor necrosis factor- α , TNF- α ）ELISA 试剂盒（武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司，货号：E-MSEL-M0002）；小鼠白细胞介素-1 β （interleukin-1 β , IL-1 β ）ELISA 试剂盒（武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司，货号：EK2195）；小鼠干扰素- γ （interferon- γ , IFN- γ ）ELISA 试剂盒（武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司，货号：E-MSEL-M0007）；二喹啉甲酸（bicinchoninic acid, BCA）蛋白定量试剂盒（上海碧云天生物技术有限公司，货号：P0012S）；TRIzol 试剂（美国 Thermo Fisher 公司，货号：15596026）；NLRP3 抗体（1：100，武汉博斯特生物科技有限公司，货号：BA3677）；半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1（cysteinyI aspartate specific proteinase-1, Caspase-1）抗体（1：100，英国 Abcam 公司，货号：ab207802）；异硫氰酸荧光素（fluorescein isothiocyanate, FITC）标记兔抗免疫球蛋白 G（immunoglobulin G, IgG）（美国 Santa Cruz 公司，货号：sc-437004）；四甲基异硫氰酸罗丹明（tetramethylrhodamine isothiocyanate, TRITC）标记鼠抗 IgG（北京中杉金桥公司，货号：ZA-0448）。兔抗 TLR4（武汉博斯特生物科技有限公司，货号：A00017-2）；兔抗髓样分化因子 88（myeloid differentiation factor 88, MyD88）（武汉博斯特生物科技有限公司，货号：PB9148）；兔抗磷酸化核因子 κ B p65（武汉博斯特生物科技有限公司，货号：A11736-3）；兔抗 NF- κ B p65（武汉博斯特生物科技有限公司，货号：BA0610）；兔抗肿瘤坏死因子受体相关因子 6（TNF receptor-associated factor 6, TRAF6）（武汉博斯特生物科技有限公司，货号：BM4061）；兔抗 NLRP3（武汉博斯特生物科技有限公司，货号：BA3677）；兔抗 Caspase-1（武汉博斯特生物科技有限公司，货号：M00048-2）；鼠抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH）（武汉博斯特生物科技有限公司，货号：BM1623）；辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase, HRP）标记山羊抗兔 IgG 二抗（武汉博斯特生物科技有限公司，货号：BA1061）。

1.1.3 主要仪器

生物组织脱水机、组织摊片机、组织包埋机（金华市华速科技有限公司，型号：HS-1500、HS-1125、ES-300）；石蜡切片机（金华市华速科技有限公司，型号：HS-3315）；冷冻切片机（德国 Leica Biosystems

公司, 型号: CM1950); 光学显微镜(日本 Olympus 公司, 型号: BX53); 共聚焦激光扫描显微镜(德国蔡司公司, 型号: LSM880); 冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司, 型号: 5427R); 酶标仪(美国 Molecular Devices 公司, 型号: SpectraMax M5); 电泳仪及电泳槽(美国 Bio-Rad 公司, 型号: PowerPac Basic); 转膜仪(Bio-Rad 公司, 型号: Trans-Blot Turbo); 化学发光成像系统(Bio-Rad 公司, 型号: ChemiDoc MP); 尾悬实验视频分析系统(上海吉量软件科技有限公司, 型号: JLBhev-STGM-1); 动物行为视频采集与分析系统(深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司, 型号: SMART V3.0)

1.1.4 香附挥发油的制备

挥发油的提取按《中华人民共和国药典》2020 年版^[20](四部通则 2204 挥发油测定法)进行。将药材加工为粗粉, 精密称取 100 g, 置于圆底烧瓶中, 按药材质量与蒸馏水 1:10 的比例加入蒸馏水, 浸泡过夜。随后加热至沸并保持微沸 6 h, 静置 30 min。将萃取器下层的挥发油馏分收集至离心管中, 以 13 000 r/min(离心半径为 8.5 cm)离心 5 min, 取上清液。提取挥发油得率为 0.55%(1 mL/100 g)。所得挥发油转入棕色玻璃瓶避光保存。

1.1.5 产后抑郁动物模型的建立

采用激素模拟妊娠后突然停撤法建立产后抑郁样小鼠模型^[21]。该方法通过卵巢切除降低内源性卵巢激素干扰, 随后外源性给予雌二醇和黄体酮以模拟妊娠期卵巢激素升高状态, 停药后形成类似产后早期的激素快速下降过程。既往研究显示, 激素模拟妊娠后撤退可诱导啮齿动物出现快感缺失、行为绝望、焦虑或动机下降等情绪相关行为改变, 是研究产后激素波动与情绪障碍关系的常用模型之一^[22-23]。但产后抑郁的发生并非仅由激素变化决定, 还可能涉及神经炎症、HPA 轴异常、神经递质紊乱及社会心理因素等多重机制。将雌性 C57BL/6 小鼠随机分为正常对照组(简称对照组)、模型组、香附组和氟西汀组(每组 n=6)。除对照组外, 其余各组小鼠均接受双侧卵巢及输卵管切除术: 腹腔注射 1%戊巴比妥钠麻醉后, 于背部两侧腰肋部做小切口暴露卵巢, 结扎血管后完整切除卵巢及输卵管并逐层缝合。对照组实施假手术, 仅切除卵巢周围少量脂肪组织, 保留卵巢及输卵管完整。术后单笼饲养, 通过阴道涂片监测动情周期, 取材经甲苯胺蓝染色后镜检, 连续 5 d 涂片均提示无动情周期即判定去势成功。

随后对去势小鼠进行为期 23 d 的激素处理: 前 16 天每日皮下注射雌二醇 2.5 μ g 与黄体酮 5 mg(均溶于 0.1 mL 甘油, 共 0.2 mL), 模拟妊娠早中期激素水平; 后 7 天每日仅注射雌二醇 50 μ g(溶于 0.1 mL 甘油), 模拟妊娠晚期高雌激素状态。对照组同期给予同体积甘油(前 16 d 0.2 mL, 后 7 d 0.1 mL)。第 24 天全组停药, 模拟分娩后激素急剧撤退(即为产后第 2 天)。激素撤退后, 采用糖水偏好实验、悬尾实验和强迫游泳实验评价小鼠抑郁样表型。糖水偏好实验主要用于评价快感缺

失，悬尾实验和强迫游泳实验主要用于评价行为绝望样表现^[24-25]。与对照组比较，模型组小鼠糖水偏好率降低，悬尾实验和强迫游泳实验不动时间延长，提示激素撤退后小鼠出现抑郁样行为表型。

1.1.6 药物干预

PPD 模型组与对照组小鼠灌胃给予生理盐水（10 mL/kg·d）。氟西汀组小鼠腹腔注射氟西汀（10 mg/kg·d）^[26]；香附组小鼠每日灌胃给予香附挥发油^[27]（50 mg/kg·d）。干预 2 周后，进行糖水偏好实验、悬尾实验及强迫游泳实验。

1.2 方法

1.2.1 香附活性成分筛选及潜在作用靶点收集

采用中药系统药理学数据库与分析平台（Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TCMSP, <https://tcmsp-e.com/>）筛选香附的主要活性成分。该数据库提供详细的药代动力学信息，包括类药性（drug-likeness, DL）和口服生物利用度（oral bioavailability, OB）等指标。成分筛选标准设定为 $OB \geq 30\%$ 且 $DL > 0.2$ 。随后使用 PubChem 数据库（<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>），用于检索化合物结构信息。

1.2.2 产后抑郁相关靶点筛选及 GO、KEGG 富集分析

为识别潜在治疗靶点，使用“产后抑郁”作为关键词，从 GeneCards 数据库（<https://www.genecards.org/>）和比较毒理基因组学数据库（comparative toxicogenomics database, CTD, <http://ctdbase.org/>）检索与产后抑郁相关的基因。将这些疾病相关靶点与香附的药物靶点求交集，并通过维恩图对交集结果进行可视化。随后，利用 KOBAS 在线平台（<http://bioinfo.org/kobas/>）对潜在靶点进行基因本体论（gene ontology, GO）和京都基因与基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG）富集分析。此外，使用 Cytoscape 3.7.1 软件构建化合物-靶点-通路网络，以可视化香附、其活性成分及相应靶点之间的相互作用。

1.2.3 抑郁行为学评估

糖水偏好实验：建模前，每只小鼠连续 3 天给予两瓶 2%蔗糖溶液以适应。在测试前 24 h，将小鼠单笼饲养并禁食、禁水。测试时分别给予一瓶 2%蔗糖溶液和一瓶纯水。1 h 后交换两瓶位置，并记录小鼠在 2 h 内的消耗量。实验前和实验第 5 周，分别对每只小鼠进行 1 次糖水偏好实验。糖水偏好率按以下公式计算：糖水偏好率 = $(\text{糖水摄入量} / \text{总液体摄入量}) \times 100\%$ ^[28]。强迫游泳实验：在玻璃圆柱中进行（直径=18 cm；高度=25 cm），圆柱内加入维持在 24~26 °C 的水，水位约 15 cm。每只小鼠的 FST 测试时长为 6 min，期间监测小鼠行为。通过视频记录系统记录并分析静置时间，重点分析测试后 4 min 的静置时间^[29]。悬尾实验：采用上海吉量软件公司尾悬法视频分析系统进行悬尾实验。将小鼠用胶带悬挂于支架边缘（距离桌面 30 cm），胶带黏附位置距小鼠尾尖 1 cm。悬

挂 5 min, 记录最后 4 min 内小鼠不动的时长, 即小鼠在空中停止挣扎或仅表现为轻微肢体运动的时间^[30]。

1.2.4 海马组织与血样采集

行为学评估结束后, 使用戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 麻醉处死小鼠。采集小鼠血液, 分离血清并于 -20 °C 保存备用。取海马组织用生理盐水洗涤后, 置于液氮中保存用于分析。另取部分组织置于 10% 甲醛溶液中固定用于形态学分析。

1.2.5 HE 染色

取 10% 甲醛固定的小鼠海马组织, 依次进行脱水、石蜡包埋等操作。将组织切片 (3~10 μm), 置于约 40 °C 的水浴中。烘干后进行 HE 染色, 随后在显微镜下进行海马组织病理学检查。

1.2.6 ELISA 检测

处死小鼠后, 于冰上采集其海马组织和血清样本用于进一步分析。采用 ELISA 方法检测药物干预后各组小鼠血清和海马组织中炎症介质 iNOS、COX-2 及炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IFN- γ 的水平。

1.2.7 Western blot 分析

处死小鼠后, 于冰上取其海马组织。提取组织蛋白, 并采用 BCA 法测定裂解液中的蛋白浓度。配制 SDS-PAGE 胶分离蛋白, 将胶上的蛋白转移到 PVDF 膜上。取封闭液室温封闭 1 h 后, 将膜置于 4 °C 分别与以下一抗孵育过夜: 兔抗 TLR4 (1:1 000)、兔抗 MyD88 (1:1 000)、兔抗 p-p65 (1:1 000)、兔抗 p65 (1:1 000)、兔抗 TRAF6 (1:1 000)、兔抗 NLRP3 (1:100)、兔抗 Caspase-1 (1:1 000) 及鼠抗 GAPDH (内参, 1:5 000)。用 PBST 洗涤 4 次后, 根据一抗来源分别加入相应稀释度的 HRP 标记山羊抗兔 IgG 二抗 (1:5 000), 于室温孵育 1 h。收集各蛋白条带及其内参的灰度值, 计算每个样本的蛋白灰度比值。

1.2.8 免疫荧光染色

通过免疫荧光染色检测 NLRP3 与 Caspase-1 的表达。将小鼠脑组织固定、冷冻、切片 (5 μm), 并置于经明胶处理的载玻片上。用 PBS 清洗 2 次后, 将切片置于含 0.03% 过氧化氢的 80% 甲醇溶液中处理 30 min, 随后用含 0.25% TritonX-100 和 5% 牛血清白蛋白的通透封闭液封闭 2 h。再次用 PBS 清洗 2 次。加入 NLRP3 (1:100) 和 Caspase-1 (1:100), 4 °C 孵育过夜。PBS 冲洗后, 于暗处 37 °C 孵育加入 FITC 标记的兔抗 IgG (1:200) 和 TRITC 标记的鼠抗 IgG (1:200) 各 1 h。DAPI 用于细胞核染色。孵育过程避光进行。以缺失一抗的实验作为阴性对照以验证免疫印迹的特异性, 未见信号。使用蔡司共聚焦显微镜在 400 倍放大下观察细胞质中 TRITC 信号 (NLRP3) 和核及细胞质中的 FITC 信号 (Caspase-1)。在相同脑区内选取多个视野, 测定阳性表达面积及对应视野总面积。

积，计算阳性表达面积占视野总面积的比例。阳性表达率按以下公式计算：阳性表达率/%=阳性表达面积/视野总面积×100%。

1.2.9 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.0 进行数据处理与统计分析。结果以“平均值±标准差”表示。两组间比较采用 *t* 检验；多组间比较采用单因素方差分析（*one-way ANOVA*），并进行 *Tukey* 事后检验。统计学显著性以 *P*<0.05 为标准。

2 结果

2.1 药物靶基因与药物-成分-靶点网络图

通过 TCMSP 数据库以口服生物利用度（OB）≥ 30%、类药性（DL）> 0.2 为筛选标准鉴定出香附的 9 种主要活性化合物。从 PubChem 数据库共检索到与这些化合物对应的 4 718 个潜在靶基因。以“产后抑郁”为关键词，从 GeneCards 与 CTD 数据库获取产后抑郁相关基因。将其与香附的靶点取交集后，共得到 44 个共同潜在靶基因。随后使用 Cytoscape 构建药物-成分-靶点网络，以可视化香附、其活性成分及其潜在靶点之间的相互作用。详见图 1A-B、表 1。

表 1 香附的活性成分
Table 1 Active components of Xiangfu (Cyperi Rhizoma)

名称	Mol ID	分子量	肠渗透性	OB/%	DL	靶点数量
金圣草黄素	MOL003044	300.28	0.39	35.85	0.27	17
异鼠李素	MOL000354	316.28	0.31	49.6	0.31	69
8-异戊烯基山柰酚	MOL003542	354.38	0.53	38.04	0.39	2
谷甾醇	MOL000359	414.79	1.32	36.91	0.75	1
延胡索碱	MOL004071	355.47	1	73.94	0.64	3
山柰酚	MOL000422	286.25	0.26	41.88	0.24	283
豆甾醇	MOL000449	412.77	1.44	43.83	0.76	45
木犀草素	MOL000006	286.25	0.19	36.16	0.25	304
槲皮素	MOL000098	302.25	0.05	46.43	0.28	4 605

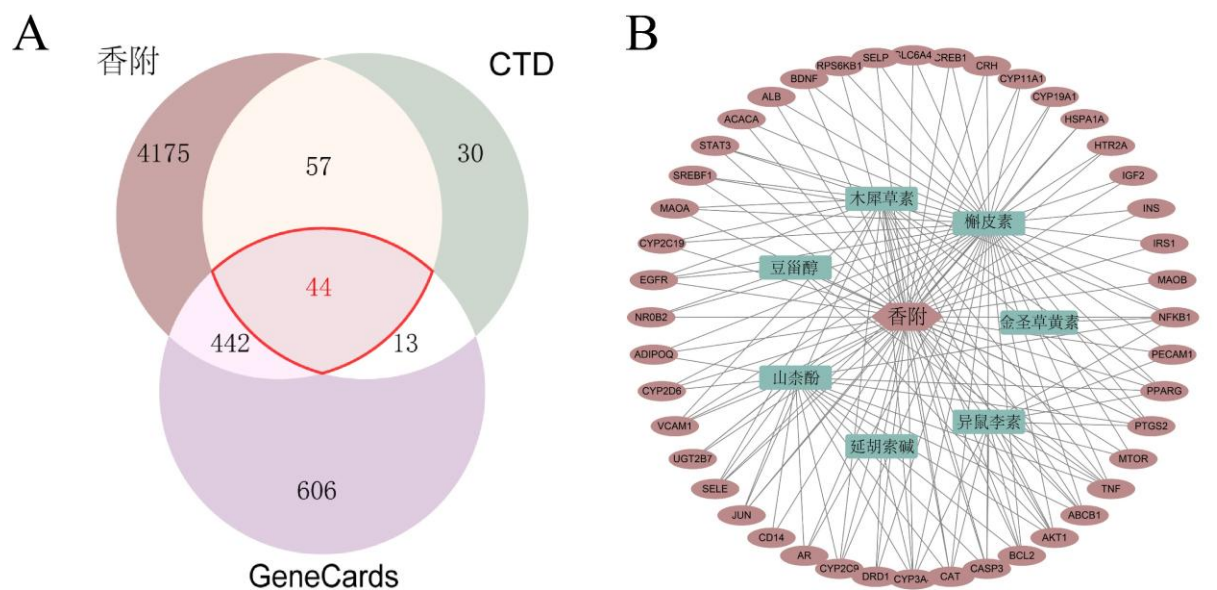


图 1 香附的靶点与网络分析

Fig.1 Targets and network analysis of Xiangfu (Cyperi Rhizoma)

注：A.与产后抑郁相关的香附、CTD 和 GeneCards 数据库交集靶点的维恩图；B.香附的药物-成分-靶点网络。

2.2 GO 和 KEGG 通路分析

通过 KOBAS 在线平台对筛选获得的 44 个潜在靶点进行功能注释与通路富集分析。KEGG 通路分析显示，这些靶点在 MAPK 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、NF- κ B 信号通路、凋亡通路、Toll 样受体信号通路、炎症性肠病、细胞黏附分子、NOD 样受体信号通路、细胞衰老以及 TGF- β 信号通路中显著富集。GO 生物过程分析表明，这些靶点主要与炎症反应、细胞因子介导的信号通路、氧化还原过程、缺氧反应、脂多糖介导的信号通路、NIK/NF- κ B 信号通路的正向调控、细胞凋亡过程、氧化应激反应、生长因子活性以及 Toll 样受体 4 信号通路等过程密切相关。详见图 2A-B。

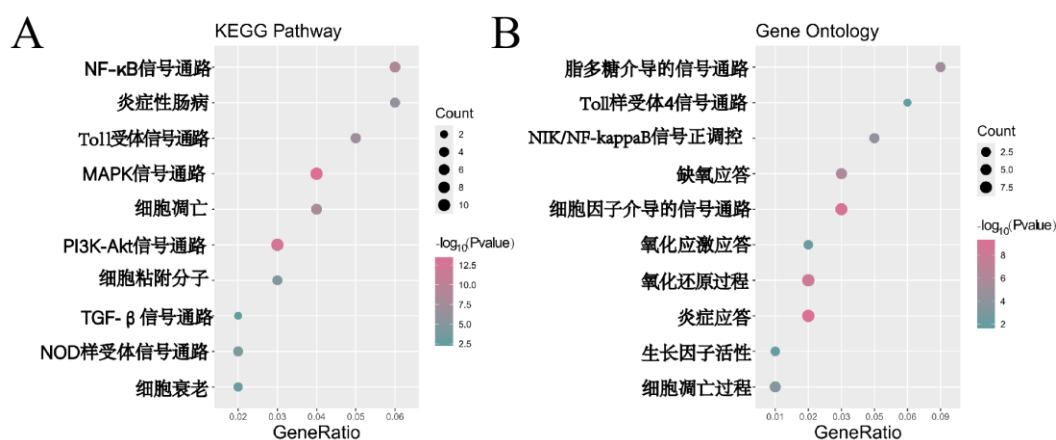


图 2 富集分析气泡图

Fig.2 Bubble plot of enrichment analysis

注：A.KEGG 富集分析气泡图；B.GO 富集分析气泡图。

2.3 香附挥发油干预对 PPD 模型小鼠行为学变化的影响

在第 0 周，对照组、模型组、香附组和氟西汀组小鼠的糖水偏好率、强迫游泳不动时间及悬尾不动时间比较，差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。到第 5 周，与对照组相比，PPD 模型小鼠的糖水偏好率显著降低 ($P<0.01$)，同时强迫游泳不动时间和悬尾不动时间显著延长 ($P<0.01$)。与模型组相比，香附组和氟西汀组的糖水偏好率显著提高 ($P<0.01$ ，图 3A)，且强迫游泳和悬尾不动时间明显缩短 ($P<0.01$)。详见图 3A-C。

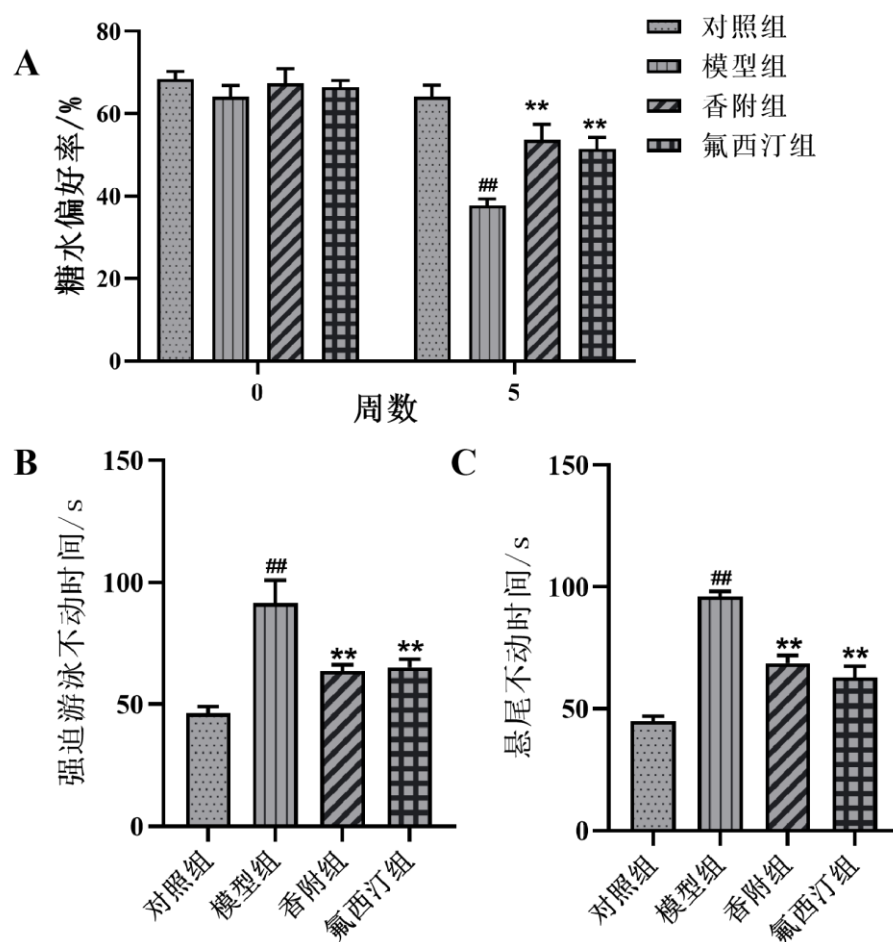


图 3 香附挥发油对 PPD 模型小鼠行为学变化的影响

Fig.3 Effects of Xiangfu (Cyperi Rhizoma) volatile oil on behavioral changes in PPD model mice

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

2.4 香附挥发油对 PPD 模型小鼠海马形态的影响

HE 染色结果显示，对照组小鼠海马神经元排列紧密有序，细胞间隙均匀，形态与大小正常，无炎性细胞浸润及深染萎缩的细胞核。相比之下，模型组小鼠的神经元排列紊乱，可见神经元碎片，细胞间隙增大，细胞形态异常，包括明显的核固缩、细胞空泡形成。经香附挥发油或氟西汀处理后，

与模型组相比，神经元病理学改变明显改善，表现为细胞排列紊乱减轻、核固缩减轻、细胞空泡减少及炎性浸润减弱。详见图 4。

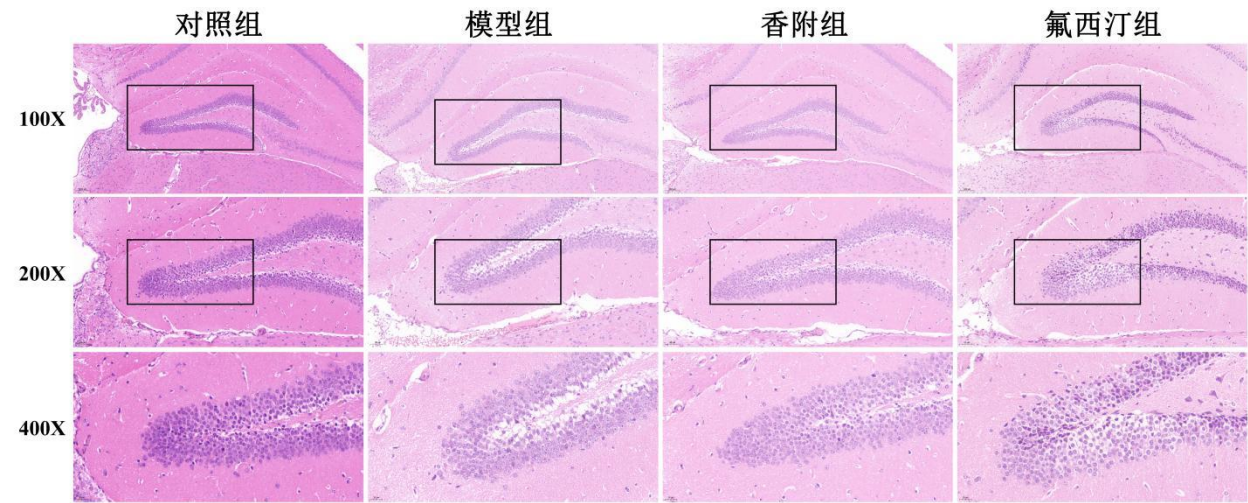


图 4 香附挥发油对 PPD 模型小鼠海马组织形态学的影响

Fig.4 Effects of Xiangfu (Cyperi Rhizoma) volatile oil on hippocampal morphology in PPD model mice
注：黑色方框表示用于高倍镜观察的海马目标区域。

2.5 香附挥发油对 PPD 小鼠血清及海马组织中炎症介质与细胞因子的影响

与对照组相比，PPD 模型组血清及海马组织中炎症介质（iNOS、COX-2）和细胞因子（TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ ）水平均显著升高（ $P<0.01$ ）。与模型组相比，香附组和氟西汀组血清及海马组织中 iNOS、COX-2 及 TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 水平均显著下调（ $P<0.01$ ）。详见图 5-6。

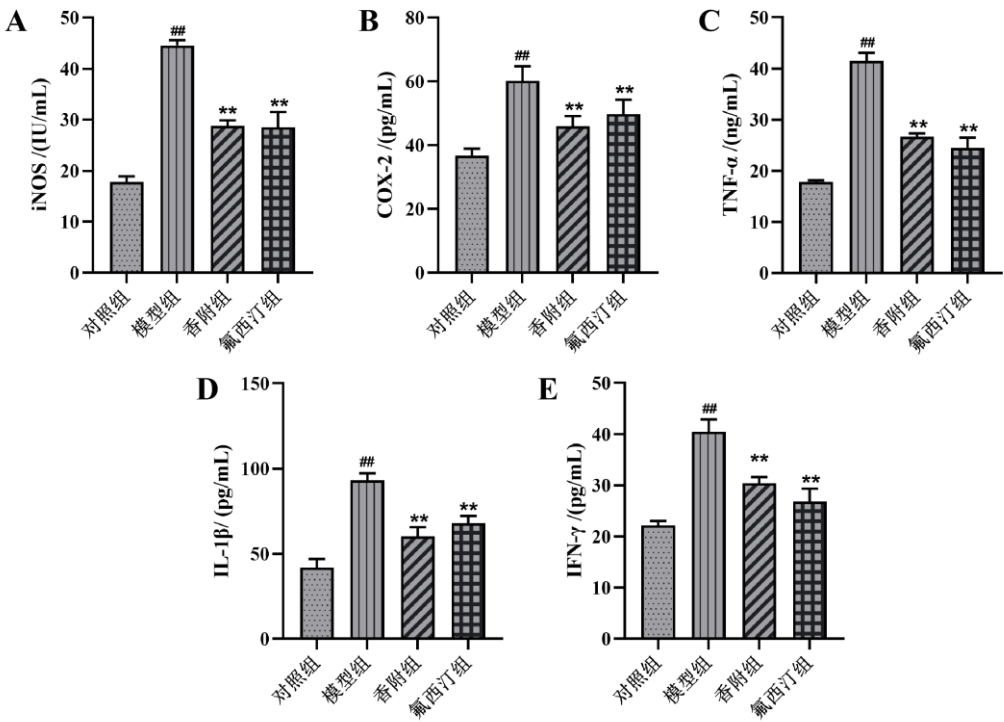


图 5 香附挥发油对 PPD 小鼠血清中炎性介质及因子的影响

Fig.5 Effects of Xiangfu (Cyperi Rhizoma) volatile oil on inflammatory mediators and cytokines in serum from PPD model mice

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

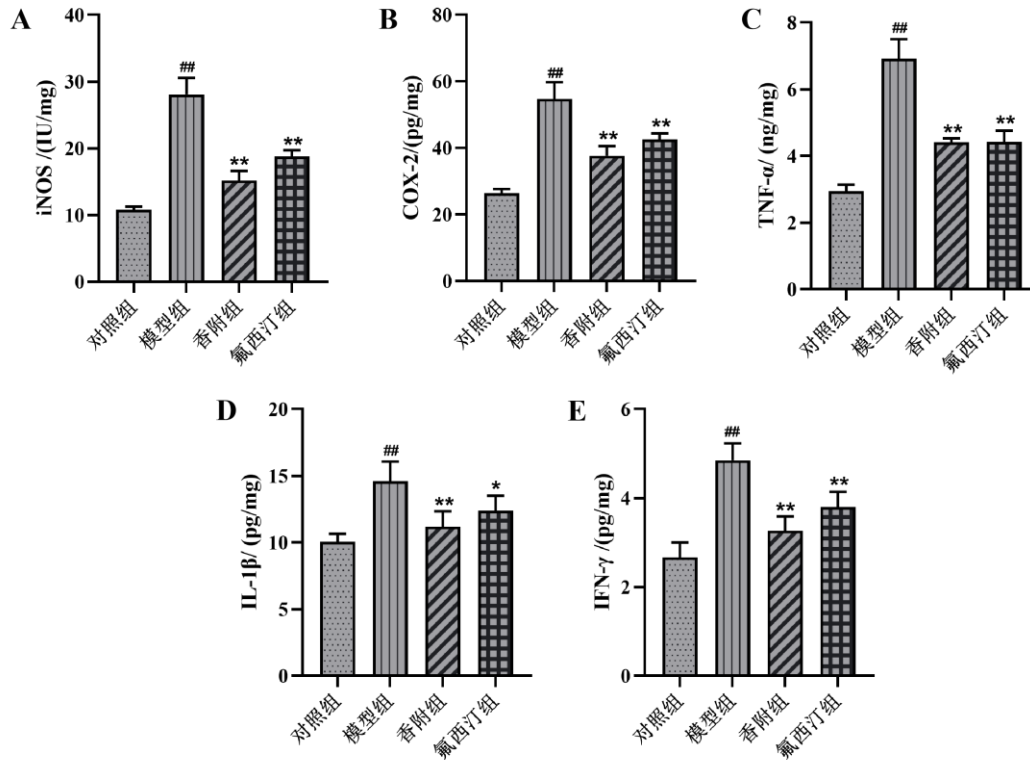


图 6 香附挥发油对 PPD 小鼠海马组织炎性介质和因子的影响

Fig.6 Effects of Xiangfu (Cyperi Rhizoma) volatile oil on inflammatory mediators and cytokines in hippocampal tissue of PPD model mice

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

2.6 香附挥发油对产后抑郁小鼠海马区 NLRP3/Caspase-1 表达的影响

NLRP3 和 Caspase-1 在细胞质中呈阳性表达。与对照组相比，模型组小鼠海马齿状回中 NLRP3 和 Caspase-1 的表达显著上调 ($P<0.01$)，而经香附挥发油或氟西汀处理后，NLRP3 和 Caspase-1 表达明显降低 ($P<0.01$)。详见图 7-8。

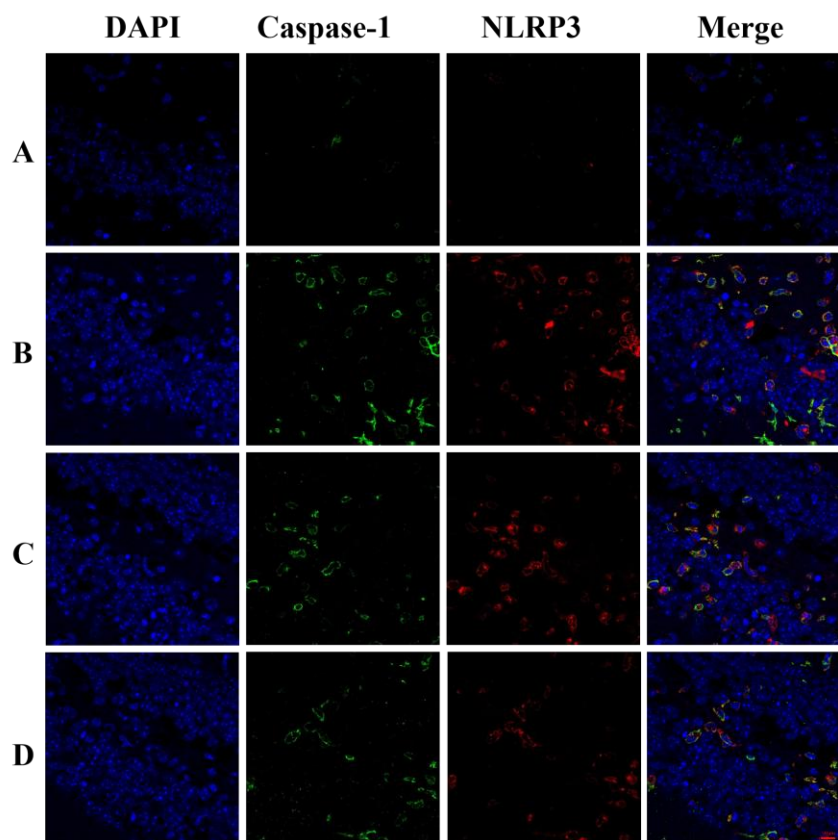


图 7 小鼠海马区 NLRP3 和 Caspase-1 的免疫荧光结果 ($\times 400$, 比例尺=40 μm)

Fig.7 Immunofluorescence results of NLRP3 and Caspase-1 in the mouse hippocampal region ($\times 400$, scale bar=40 μm)

注: A.对照组; B.模型组; C.香附组; D.氟西汀组。

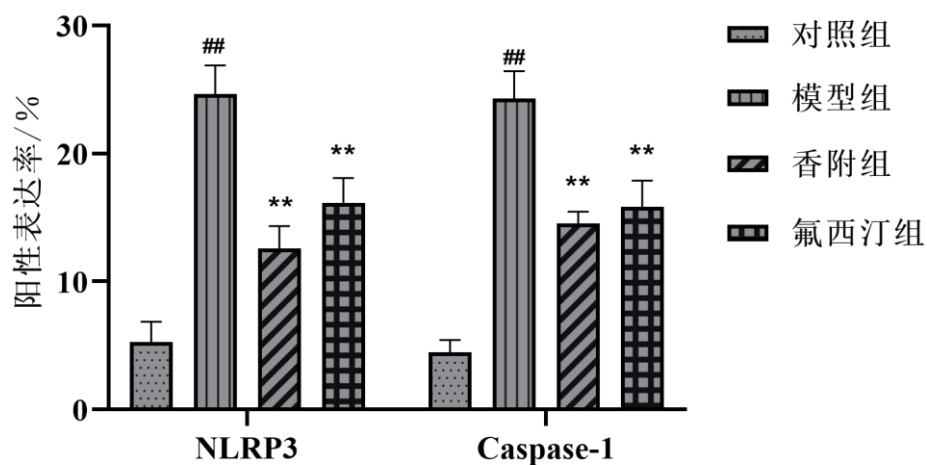


图 8 各组小鼠海马区 NLRP3 和 Caspase-1 的阳性表达水平

Fig.8 Positive expression levels of NLRP3 and Caspase-1 in the hippocampal region of mice in each group

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

2.7 香附挥发油对产后抑郁小鼠海马区 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路的影响

与对照组相比,模型组小鼠海马组织中 TLR4、MyD88、p-p65/p65、TRAF6、NLRP3 及 Caspase-1 蛋白表达水平均显著升高 ($P<0.01$)。与模型组相比,香附组和氟西汀组上述通路蛋白 (TLR4、MyD88、p-p65/p65、TRAF6、NLRP3) 表达均显著下调 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$); 香附组 Caspase-1 表达亦显著降低 ($P<0.05$), 氟西汀组 Caspase-1 呈下降趋势,但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。详见图 9。

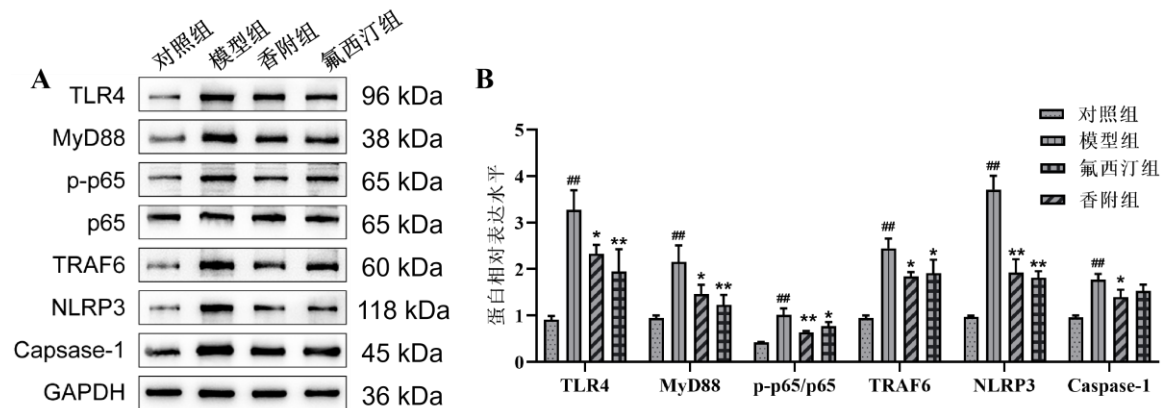


图 9 香附挥发油对产后抑郁小鼠海马区 TLR4/NF-κB/NLRP3 信号通路的影响

Fig.9 Effects of Xiangfu (Cyperi Rhizoma) volatile oil on the TLR4/NF-κB/NLRP3 signaling pathway in the hippocampal region of PPD model mice

注: 与对照组相比, ## $P<0.01$; 与模型组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

3 讨论

本研究结合网络药理学预测与动物实验验证,探讨了香附挥发油对产后抑郁小鼠的干预作用及其可能机制。行为学结果显示,香附挥发油可显著提高小鼠糖水偏好,缩短悬尾及强迫游泳不动时间,减轻海马组织神经元排列紊乱及细胞形态异常。上述行为学与组织学结果表明,香附挥发油具有改善抑郁样表型及保护海马神经元的效应。

产后抑郁的发病与围产期激素波动、神经炎症等多种因素密切相关^[31-35]。促炎性细胞因子可破坏血脑屏障通透性,促进外周免疫信号向中枢传递,加重抑郁进程^[36-37]。已有报道显示,919 颗粒可通过调节外周血 IL-1 β 水平发挥干预作用^[38]。Li 等^[39]发现,参芪解郁方可抑制海马炎症反应,从而减轻产后抑郁大鼠的抑郁样行为。上述研究提示靶向神经炎症可能是干预产后抑郁的有效策略。本研究中,模型组小鼠血清与海马组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 水平均显著升高,香附挥发油干预后上述指标明显下调,与上述研究结论一致,进一步支持了神经炎症在产后抑郁发病中的重要作用。

海马是参与情绪调节、应激反应和学习记忆的重要脑区,其结构和功能改变与抑郁障碍密切相关^[40-41]。近期研究提示,海马可能是产后抑郁干预的重要脑区^[42]。Xu 等^[43]发现,肠道菌群紊乱可通过海马 NLRP3 介导的神经炎症促进产后抑郁样行为的发生,提示海马炎性小体的异常激活是产

后抑郁的重要病理环节。此外, Ren 等^[44]报道 S-氯胺酮通过增强海马突触可塑性改善产后抑郁小鼠的抑郁样行为, Xu 等^[45]发现茶多酚通过促进 GSK3 β 磷酸化缓解产后焦虑与抑郁症状。结合 ELISA 及 Western blot 结果, 香附挥发油可降低海马组织中炎症因子水平并抑制 NLRP3 相关蛋白表达, 说明其海马保护作用可能与抑制局部神经炎症有关。网络药理学分析显示, 香附挥发油中槲皮素、木犀草素、山柰酚等活性成分具有广泛的靶点谱。其中, 槲皮素可通过抑制神经炎症和氧化应激改善皮质酮诱导的小鼠抑郁样行为^[46], 木犀草素对 β -淀粉样蛋白诱导的皮层神经元毒性具有保护作用^[47]。交集分析共获得 44 个共同靶点, 功能富集主要涉及 MAPK、PI3K-Akt、NF- κ B 和 Toll 样受体等炎症相关通路^[48-50], 与本研究聚焦的 TLR4/NF- κ B/NLRP3 炎症轴高度吻合。近期一项综述亦系统总结了中药通过 NLRP3/TLR4 介导的炎症通路调控肠-脑轴、改善抑郁症状的研究进展^[51], 进一步佐证了本研究所关注通路的合理性。

TLR4/NF- κ B/NLRP3 通路是参与炎症反应调控的重要信号通路。TLR4 活化后经 MyD88 和 TRAF6 传递信号, 促进 NF- κ B 核转位和转录激活, 进而上调 NLRP3 炎性小体的组装, 驱动 Caspase-1 活化及 IL-1 β 、IL-18 等促炎性细胞因子的成熟释放^[52-53]。Du 等^[53]发现酸枣仁汤可通过抑制 TLR4/NF- κ B/NLRP3 炎症信号通路改善抑郁样行为; 本研究结果与上述报道一致: 模型组小鼠海马组织中 TLR4、MyD88、TRAF6、p-p65/p65、NLRP3 及 Caspase-1 蛋白表达均显著上调, 免疫荧光检测亦显示 NLRP3 和 Caspase-1 表达增强; 香附挥发油干预后, 上述蛋白表达均明显下调。同时, 香附挥发油显著降低了血清与海马组织中 iNOS、COX-2、TNF- α 、IL-1 β 和 IFN- γ 的表达水平。iNOS 和 COX-2 作为 NF- κ B 下游的重要炎症效应分子, 其表达下调进一步印证了香附挥发油对该通路的抑制作用。近期研究亦表明, 多种天然产物可通过下调 iNOS 和 COX-2 的表达发挥抗神经炎症效应^[54]。本研究中, 氟西汀组相关炎症指标较模型组亦有改善, 提示香附挥发油和氟西汀均可在一定程度上减轻 PPD 模型小鼠的神经炎症反应, 但二者作用差异仍需进一步比较验证。

香附作为传统理气解郁药物, 已显示出抗抑郁、抗氧化和抗炎等多种药理活性^[55-57]。其挥发油成分在行为学测试中显示出显著的抗抑郁效果^[58], 其挥发油中的关键活性成分 α -塞吡酮可通过激活 Akt/Nrf2/HO-1 通路并抑制 NF- κ B 信号减轻 BV-2 小胶质细胞的炎症反应, 还可通过刺激 SIRT3 介导的神经可塑性发挥抗抑郁作用^[16]。Qiao 等^[59]发现, α -塞吡酮可通过调节激素、抑制炎症和氧化应激改善乳腺增生合并慢性应激大鼠的抑郁样行为。此外, MOHANTY 等^[60]采用气相色谱-质谱分析联合网络药理学和分子对接方法系统揭示了香附精油的抗炎活性及其潜在靶点, 为香附挥发油的抗炎机制研究提供了新的佐证。上述研究表明, 香附挥发油中多种活性成分可能通过协同调控炎症相关信号通路发挥抗产后抑郁作用。

综上所述, 本研究从行为学、组织病理学和分子机制层面证实了香附挥发油可通过抑制海马TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路介导的神经炎症反应, 改善激素撤退诱导的产后抑郁样行为, 为其作为产后抑郁干预候选药物提供了实验依据。但挥发油中各活性成分的具体贡献及量效关系仍有待明确, 后续研究可进一步结合成分拆分与多通路检测, 以全面揭示香附挥发油抗产后抑郁的作用机制。

参考文献

- [1] Rodríguez M C M. Efficacy of brexanolone in postpartum depression[J]. *European Psychiatry*, 2023, 66(S1): S827.
- [2] Deligiannidis K M, Meltzer-Brody S, Maximos B, et al. Zuranolone for the treatment of postpartum depression[J]. *The American Journal of Psychiatry*, 2023, 180(9): 668-675
- [3] Hoorelbeke K, Fried E I, Koster E H W. A comprehensive network analysis of biopsychosocial factors associated with postpartum depression[J]. *Journal of Affective Disorders*, 2025, 390: 119808.
- [4] Gavin N I, Gaynes B N, Lohr K N, et al. Perinatal depression: A systematic review of prevalence and incidence[J]. *Obstetrics and Gynecology*, 2005, 106(5 Pt 1): 1071-1083.
- [5] Gaynes B N, Gavin N, Meltzer-Brody S, et al. Perinatal depression: prevalence, screening accuracy, and screening outcomes[J]. *Evidence Report/Technology Assessment (Summary)*, 2005(119): 1-8.
- [6] O'hara M W, McCabe J E. Postpartum depression: current status and future directions[J]. *Annual Review of Clinical Psychology*, 2013, 9: 379-407.
- [7] Power J, Van I M, Lewis A J, et al. Maternal perinatal depression and child executive function: A systematic review and meta-analysis[J]. *Journal of Affective Disorders*, 2021, 291: 218-234.
- [8] Grote N K, Bridge J A, Gavin A R, et al. A meta-analysis of depression during pregnancy and the risk of preterm birth, low birth weight, and intrauterine growth restriction[J]. *Archives of General Psychiatry*, 2010, 67(10): 1012-1024.
- [9] Muzik M, Bocknek E L, Broderick A, et al. Mother-infant bonding impairment across the first 6 months postpartum: the primacy of psychopathology in women with childhood abuse and neglect histories[J]. *Archives of Women's Mental Health*, 2013, 16(1): 29-38.
- [10] Stein A, Pearson R M, Goodman S H, et al. Effects of perinatal mental disorders on the

- fetus and child [J]. *The Lancet*, 2014, 384 (9956): 1800-1819.
- [11] Arifunhera J, Mirunalini R. An update on the pharmacotherapy of postpartum depression [J]. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 2025, 168(3): 933-943.
- [12] Qiu W, Go K A, Wen Y H, et al. Maternal fluoxetine reduces hippocampal inflammation and neurogenesis in adult offspring with sex-specific effects of periadolescent oxytocin[J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2021, 97: 394-409.
- [13] Lu J, Li W, Gao T H, et al. The association study of chemical compositions and their pharmacological effects of *Cyperi Rhizoma* (Xiangfu), a potential traditional Chinese medicine for treating depression[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2022, 287: 114962.
- [14] Mohamed A I, Beseni B K, Msomi N Z, et al. The antioxidant and antidiabetic potentials of polyphenolic-rich extracts of *Cyperus rotundus* (Linn.)[J]. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2022, 40(22): 12075-12087.
- [15] Wang F, Zhang S, Zhang J, Yuan F. Systematic review of ethnomedicine, phytochemistry, and pharmacology of *Cyperi Rhizoma* [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13: 965902.
- [16] Xia B, Tong Y, Xia C, et al. α -cyperone confers antidepressant-like effects in mice via neuroplasticity enhancement by SIRT3/ROS mediated NLRP3 inflammasome deactivation [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 577062.
- [17] Azimi A, Ghaffari S M, Riazi G H, et al. α -Cyperone of *Cyperus rotundus* is an effective candidate for reduction of inflammation by destabilization of microtubule fibers in brain[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 194: 219-227.
- [18] Zhou B, Guo J C, Peng X X, et al. Gut microbiota, immune cells, and postpartum depression: A mediation Mendelian randomization study[J]. *Journal of Affective Disorders*, 2026, 392: 120153.
- [19] Wang L, Li H R, Zhao Y J, et al. Artemisinin alleviates chronic social defeat stress-induced depressive-like behavior by inhibiting neuroinflammation via the TLR4/MyD88/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway[J]. *Phytotherapy Research*, 2025, 39 (11): 5263-5281.
- [20] 国家药典委员会。中华人民共和国药典：2020 年版：一部[M]。北京：中国医药科技出版社，2020。
- [21] Galea L A M, Wide J K, Barr A M. Estradiol alleviates depressive-like symptoms in a

- novel animal model of post-partum depression[J]. Behavioural Brain Research, 2001, 122(1): 1-9.
- [22] Ye B L, Yuan Y W, Liu R, et al. Restoring Wnt signaling in a hormone-simulated postpartum depression model remediated imbalanced neurotransmission and depressive-like behaviors[J]. Molecular Medicine, 2023, 29 (1): 101.
- [23] Foster W B, Beach K F, Carson P F, et al. Estradiol withdrawal following a hormone simulated pregnancy induces deficits in affective behaviors and increases Δ FosB in D1 and D2 neurons in the nucleus accumbens core in mice[J]. Hormones and Behavior, 2023, 149: 105312.
- [24] Gencturk S, Unal G. Rodent tests of depression and anxiety: Construct validity and translational relevance[J]. Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience, 2024, 24 (2): 191-224.
- [25] Sahin Z. Assessment of commonly used tests in experimental depression studies according to behavioral patterns of rodents[J]. Medical Review, 2023, 3(6): 526-531.
- [26] Yao Y S, Lin D Y, Chen Y Z, et al. Fluoxetine alleviates postoperative cognitive dysfunction by attenuating TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway activation in aged mice[J]. Inflammation Research, 2023, 72(6): 1161-1173.
- [27] 许莉莉, 孙鹏, 刘倩. 香附挥发油对肝气郁证大鼠海马环磷腺苷效应元件结合蛋白 - 细胞外信号调节蛋白激酶 1/2 信号通路的影响[J]. 河北中医, 2025, 47(2): 264-267.
- [28] Li X J, Qiu W Q, Da X L, et al. A combination of depression and liver Qi stagnation and spleen deficiency syndrome using a rat model[J]. The Anatomical Record, 2020, 303(8): 2154-2167.
- [29] Slattery D A, Cryan J F. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents[J]. Nature Protocols, 2012, 7(6): 1009-1014.
- [30] Can A, Dao D T, Terrillion C E, et al. The tail suspension test[J]. Journal of Visualized Experiments, 2012, (59): e3769.
- [31] Pawluski J L, Lonstein J S, Fleming A S. The neurobiology of postpartum anxiety and depression[J]. Trends in Neurosciences, 2017, 40(2): 106-120.
- [32] Huang S, Zhang M Y, Luo X P, et al. The current status of primipara's childbirth

- experience and its correlation with their reproductive intention: A cross-sectional survey study[J]. BMC Pregnancy and Childbirth, 2024, 24(1): 630.
- [33] Oancea M, Strilciuc Ș, Borza D B, et al. Neurobiological and behavioral underpinnings of perinatal mood and anxiety disorders (PMADs): A selective narrative review[J]. Journal of Clinical Medicine, 2024, 13(7): 2088.
- [34] Wang J, Yun Q, Ma S F, et al. Inhibition of expression of glucocorticoids receptors may contribute to postpartum depression[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2020, 523(1): 159-164.
- [35] Cheng C Y, Chou Y H, Chang C H, Liou S R, et al. Trends of perinatal stress, anxiety, and depression and their prediction on postpartum depression[J]. IJERPH, 2021, 18(17): 1-12.
- [36] Zhu J L, Jin J, Tang J. Inflammatory pathophysiological mechanisms implicated in postpartum depression[J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 955672.
- [37] Lamers F, Milaneschi Y, De Jonge P, et al. Metabolic and inflammatory markers: associations with individual depressive symptoms[J]. Psychological Medicine, 2018, 48(7): 1102-1110.
- [38] Wang S, Zhao Y, Yang Z C, et al. 919 granules improve postpartum depression through the regulation of abnormal peripheral blood IL-1 β [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2024, 174: 116623.
- [39] Li J Y, Song L H, Lu L, et al. Effect of Shenqi Jieyu formula on inflammatory response pathway in hippocampus of postpartum depression rats[J]. Heliyon, 2024, 10(9): e29978.
- [40] Grossberg S. A neural model of intrinsic and extrinsic hippocampal Theta Rhythms: Anatomy, neurophysiology, and function[J]. Frontiers in Systems Neuroscience, 2021, 15: 665052.
- [41] Koelsch S, Jacobs A M, Menninghaus W, et al. The quartet theory of human emotions: An integrative and neurofunctional model[J]. Physics of Life Reviews, 2015, 13: 1-27.
- [42] Chen Q, Xu F, Wu H, et al. Inhibition of semaphorin 3A in hippocampus alleviates postpartum depression-like behaviors in mice[J]. Molecular Neurobiology, 2025, 62(6): 7723-7737.

- [43] Xu Q, Sun L H, Chen Q, et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to depression-like behaviors via hippocampal NLRP3-mediated neuroinflammation in a postpartum depression mouse model[J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2024, 119: 220-235.
- [44] Ren Z Y, Wang M L, Aldhabi M, et al. Low-dose S-ketamine exerts antidepressant-like effects via enhanced hippocampal synaptic plasticity in postpartum depression rats[J]. *Neurobiology of Stress*, 2022, 16: 100422.
- [45] Xu F, Wu H, Xie L H, et al. Epigallocatechin-3-gallate alleviates gestational stress-induced postpartum anxiety and depression-like behaviors in mice by downregulating semaphorin3A and promoting GSK3 β phosphorylation in the hippocampus[J]. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 2022, 15: 1109458.
- [46] Ge C J, Wang S L, Wu X Q, et al. Quercetin mitigates depression-like behavior via the suppression of neuroinflammation and oxidative damage in corticosterone-induced mice[J]. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2023, 132: 102313.
- [47] Cheng H Y, Hsieh M T, Tsai F S, et al. Neuroprotective effect of luteolin on amyloid beta protein (25-35)-induced toxicity in cultured rat cortical neurons[J]. *Phytotherapy Research*, 2010, 24(Suppl 1): S102-S108.
- [48] Li J G, Yao D, Zhang T S, et al. GABAB modulate NF- κ B/NLRP3 pathways in electroacupuncture prevention of depression in CUMS rats[J]. *Brain Research Bulletin*, 2024, 218: 111108.
- [49] Cao Y, Zhao K X, Zhao Y D, et al. Arbutin ameliorated depression by inhibiting neuroinflammation and modulating intestinal flora[J]. *Phytomedicine*, 2025, 145: 156944.
- [50] Zeng J S, Xie Z Q, Xie H X, et al. Reducing neuroinflammation through PKC γ /p38/NF- κ B signaling pathway: the mechanism of Danzhi Xiaoyaosan in improving post-stroke depression[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2025, 352: 120151.
- [51] Che L F, Xie J M, Xia C L, et al. Traditional Chinese medicine ameliorates depression via the gut-brain axis: A review focus on NLRP3/TLR4-mediated inflammatory pathways and gut microbiota modulation[J]. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 2026, 22: 579710.
- [52] Chen F, Chen Z Q, Zhong G L, et al. Nicorandil inhibits TLR4/MyD88/NF- κ B/NLRP3

- signaling pathway to reduce pyroptosis in rats with myocardial infarction[J]. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood), 2021, 246(17): 1938-1947.
- [53] Du Y Y, He B S, Wu B, et al. Suanzaoren decoction improves depressive-like behaviors by regulating the microbiota-gut-brain axis via inhibiting TLR4/NF κ B/NLRP3 inflammation signal pathway[J]. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2023, 134: 102349.
- [54] Shen Y Y, Liu F, Zhang M J. Therapeutic potential of plant-derived natural compounds in Alzheimer's disease: Targeting microglia-mediated neuroinflammation[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2024, 178: 117235.
- [55] Hu Y Y, Mao A H, Yu Z Y, et al. Anti-endotoxin and anti-inflammatory effects of Chinese herbal medicinal alkaloid ingredients in vivo[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2016, 99: 51-55.
- [56] Asgharpour M, Alirezaei A. Herbal antioxidants in dialysis patients: A review of potential mechanisms and medical implications[J]. *Renal Failure*, 2021, 43(1): 351-361.
- [57] Li Z B, Zheng Y, Liu K, et al. Lignans as multi-targeted natural products in neurodegenerative diseases and depression: Recent perspectives[J]. *Phytotherapy Research*, 2023, 37(12): 5599-5621.
- [58] Liu H, Zhang M-L, Yu M, et al. Antidepressant activity evaluation and GC-MS analysis of volatile oil from vinegar-made Cyperi rhizome[J]. *Drug Evaluation Research*, 2020, 43(3): 436-442.
- [59] Qiao N, Wang Q N, Tao Y, et al. α -Cyperone ameliorates depression in mammary gland hyperplasia and chronic unpredictable mild stress rat by regulating hormone, inflammation, and oxidative stress[J]. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 2023, 45(1): 73-82.
- [60] Rani K S, Sahoo A, Nayak S, et al. Unravelling the anti-inflammatory activity of *Cyperus rotundus* essential oil through gas chromatography-mass spectrometry analysis, network pharmacology, and molecular docking approaches[J]. *Plant Science Today*, 2025, 12(1): 1-13.