

基于血清代谢组学和生物网络分析研究 CD-1 退役种鼠攻击行为的生物学机制

胡婷 王琦 赵云昊 李凯文 王育静 秦雪梅 田俊生*

山西大学中医药现代研究中心, 山西大学地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室 太原 030006

摘要: 本文旨在研究 CD-1 退役种鼠攻击行为发生过程中涉及到的代谢途径及相关基因, 阐明其攻击行为发生的生物学机制, 为慢性社交挫败应激抑郁模型的科学研究和规范操作提供依据。在慢性社交挫败应激抑郁模型攻击小鼠筛选阶段, 首先将 CD-1 退役种鼠单笼饲养一周, 培养其领地意识, 然后通过驻地入侵实验分别筛选出对入侵者具有攻击性 (攻击组) 以及不具有攻击性 (非攻击组) 的小鼠。采用超高效液相色谱-串联质谱代谢组学技术寻找攻击组小鼠和非攻击组小鼠之间的差异代谢物和代谢途径; 并整合生物网络分析挖掘小鼠攻击行为发生的关键代谢途径及关键基因。结果显示, 攻击组小鼠和非攻击组小鼠血清中共有 12 种差异代谢物, 包括胆碱、1-酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、甘油磷酸乙醇胺、油酸酰胺、反式-棕榈油酸、DL-谷氨酸、亚油酰胺、硬脂酸、N-乙酰-L-亮氨酸、肉毒碱、胆酸和脱氢抗坏血酸。同时, 综合生物网络分析结果, 发现甘油磷脂代谢可能是攻击行为发生的关键通路, *Pld1*、*Pld2*、*Pla2g5*、*Pla2g3*、*Pla2g10*、*Lypla1*、*Lcat*、*Chka* 和 *Chat* 这 9 个基因可能是攻击行为与差异代谢物交集基因中的关键基因。因此, 推测 CD-1 退役种鼠攻击行为的发生主要由甘油磷脂代谢途径中关键基因的变化引起。

关键词: 攻击行为; 血清代谢组学; 生物网络分析; 甘油磷脂代谢; CD-1 退役种鼠

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2025) 05-702-18

Serum Metabolomics and Bio-Network Analysis Reveal the Biological Mechanism of Aggressive Behavior in CD-1 Retired Breeder Mice

HU Ting WANG Qi ZHAO Yun-Hao LI Kai-Wen WANG Yu-Jing
QIN Xue-Mei TIAN Jun-Sheng*

Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi Key Laboratory of Active Constituents Research and Utilization of TCM,
Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: [Objectives] Aggressive behavior represents a prevalent manifestation of mental disorders, with severe violence posing detrimental consequences for the society. During the screening of CD-1 retired breeder

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 82374153);

* 通讯作者, E-mail: jstian@sxu.edu.cn;

第一作者简介 胡婷, 女, 硕士研究生; 研究方向: 中药药理作用机制; E-mail: ht19990529@126.com。

收稿日期: 2024-11-22, 修回日期: 2025-03-08 DOI: 10.13859/j.cjz.202524266 CSTR: 32109.14.cjz.24266

mice, we found significant differences in aggression among individuals, and selecting those with higher aggression is crucial for successfully establishing the model of depression induced by chronic social defeat stress (CSDS). Therefore, this study investigates the metabolic pathways and related genes in CD-1 retired breeder mice during aggressive behavior, aiming to reveal the mechanisms of aggressive behavior. **[Methods]** During the screening phase of aggressive mice of the CSDS-induced depression model, CD-1 retired breeder mice were housed in individual cages for a week to establish territorial awareness, and then attack and non-attack mice were screened out through the resident-intruder test. Compound Discoverer 3.0 was used for serum metabolomics based on ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry to identify differential metabolites and metabolic pathways between the attack group and the non-attack group of mice. Meanwhile, biological network analysis based on Cytoscape 3.9.1 software was performed to identify key metabolic pathways and genes involved in the occurrence of aggressive behavior. Independent samples *t*-test was performed to compare the aggressive behavior between the two groups. **[Results]** The serum metabolomics (Appendix 1) screened out 12 differential metabolites between the attack group and non-attack group of CD-1 retired breeder mice. Among them, DL-glutamic acid, N-acetyl-L-leucine, dehydroascorbic acid, oleamide, *trans*-palmitoleate, choline, and linoleamide were significantly increased, while tetradecanoylcarnitine, cholic acid, 1-acyl-sn-glycero-3-phosphocholine, sn-glycero-3-phosphoethanolamine, and octadecanoic acid were significantly decreased ($P < 0.05$). The results above, combined with those of biological network analysis (Figs. 5, 6 and Table 3), show that glycerophospholipid metabolism is a key pathway for aggressive behavior and *Pld1*, *Pld2*, *Pla2g5*, *Pla2g3*, *Pla2g10*, *Lypla1*, *Lcat*, *Chka*, and *Chat* in the metabolic pathway may be key genes shared by aggressive behavior and differential metabolites (Table 4). **[Conclusion]** The occurrence of aggressive behavior may be closely related to glycerophospholipid metabolism, which is not only significant for elucidating the metabolome of aggressive behavior in CD-1 retired breeder mice but also of great value for the scientific research and standardization of the model of CSDS-induced depression.

Key words: Aggressive behavior; Serum metabolomics; Biological network analysis; Glycerophospholipid metabolism; CD-1 retired breeder mice

攻击行为是一种自然界普遍存在的、高度保守的固有行为，它是基因、神经环路以及脑区等对外界环境做出的综合反应（Tordjman 2022）。在动物界，攻击行为涉及社交结构、繁殖策略以及适应性演化等多个方面。在人类社会中无法控制的异常攻击行为常常与社会暴力犯罪密切相关。其中，多种精神类疾病，如抑郁症、精神分裂症、自闭症等均与攻击行为的发生密切相关（李莎等 2024）。

慢性社交挫败应激抑郁（chronic social defeat stress depression, CSDS）模型是一种典型的驻地入侵实验动物模型，在模型复制过程

中，CD-1 退役种鼠常被用作模型中的攻击者，也称为驻地小鼠。由于驻地小鼠经过一周的单笼饲养，领地意识增强，在感知外界入侵小鼠后可能会对其输出攻击行为。然而，在前期筛选阶段，我们发现 CD-1 退役种鼠的攻击行为存在个体差异，在首次攻击潜伏期和 3 min 内攻击次数等攻击性检测指标方面均表现出显著不同。因此，基于慢性社交挫败应激抑郁（CSDS）模型探讨 CD-1 退役种鼠攻击行为的生物学机制对于提高慢性社交挫败应激抑郁（CSDS）模型复制的成功率具有重要意义和价值。

近年来, 由于暴力及攻击行为动物模型相对缺乏、攻击行为临床表型评估多具异质性等原因, 导致攻击行为研究进展相对缓慢。目前, 关于攻击行为的研究多集中于神经元功能障碍方面。Flanigan 等 (2020) 发现, 食欲素通过激活小鼠抑制性外侧缰核 GAD2 神经元, 在调节攻击行为方面发挥重要作用; Zhu 等 (2021) 发现, 后无名质神经元编码不同强度的威胁刺激, 调控小鼠的不同攻击行为。但是, 基于内源性代谢网络调控探究攻击行为的生物学机制研究相对较少。

因此, 本研究在慢性社交挫败应激抑郁 (CSDS) 模型攻击小鼠筛选基础上, 通过血清代谢组学和生物网络分析初步探究 CD-1 退役种鼠攻击行为发生的生物学机制, 寻找关键代谢途径及关键基因, 为慢性社交挫败应激抑郁 (CSDS) 模型的科学研究和规范操作提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

8 ~ 10 月龄 SPF 级雄性 CD-1 退役种鼠 (Han et al. 2022), 体重为 35 ~ 45 g, 由北京维通利华有限公司提供, 生产许可证号 SCXK (京) 2021-0006。经山西大学科学研究伦理审查委员会批准 (批准文号 SXULL2021065), 将小鼠饲养于具备良好自然节律和光照条件的环境中, 温度 (25 ± 2) °C, 相对湿度 50% ± 10%, 自由饮食、饮水, 单笼饲养 7 d 后开始筛选实验。

1.2 实验方法

1.2.1 CD-1 退役种鼠的筛选与样本采集 参考相关文献 (Koolhaas et al. 2013, Golden et al. 2016) 并结合课题组前期工作基础 (王琦等 2022), 将攻击行为定义为 CD-1 退役种鼠对入侵小鼠发动的撕咬、身体攻击、追逐等对抗行为。实验开始前, 将 CD-1 退役种鼠单笼饲养 7 d 培养领地意识, 然后将入侵小鼠放置于 CD-1

退役种鼠所处的实验笼内 3 min, 以攻击次数超过 5 次且首次攻击潜伏期低于 60 s 作为攻击行为的评价指标 (Wang et al. 2023)。此外, 只有在 3 d 内至少表现出 2 次对入侵小鼠有攻击性的 CD-1 退役种鼠才可判定为攻击组小鼠, 其余则为非攻击组小鼠, 筛选出上述两组小鼠各 15 只。筛选结束后, 收集攻击组和非攻击组小鼠血清样本 - 80 °C 保存, 采样前小鼠均禁食 12 h, 不禁水。

1.2.2 血清样本预处理 攻击组和非攻击组小鼠各取 6 个血清样本, 4 °C 下解冻后取 100 μl 于 2 ml EP 管中, 加入 200 μl 0.1% 甲酸乙腈 (体积比为 1 : 1 000), 涡旋 2 min 后在 4 °C 13 000 r/min 下离心 15 min, 取上清液进行超高效液相色谱-串联质谱检测分析。同时, 从 12 个血清样本中各取 10 μl 混合制成 6 个质量控制 (quality control, QC) 样本并同步进行检测分析。

1.2.3 血清样本超高效液相色谱-串联质谱代谢组学检测与数据采集 液相条件: 选用 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 × 100 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 柱温为 40 °C, 进样量为 5 μl, 流速为 0.2 ml/min, 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A) 和 0.1% 甲酸乙腈 (B)。其中, 具体流动相梯度为: 0 ~ 2 min, 2% B; 2 ~ 3 min, 2% ~ 35% B; 3 ~ 13 min, 35% ~ 68% B; 13 ~ 17 min, 68% ~ 70% B; 17 ~ 22 min, 70% ~ 98% B; 22 ~ 25 min, 98% B; 25 ~ 25.5 min, 98% ~ 2% B; 25.5 ~ 28 min, 2% B。

质谱条件: UHPLC-Q Exactive Orbitrap-MS 质谱仪, 电喷雾电离法全扫描, 正负离子同时采集模式, 采集范围为 100 ~ 1 500 u。喷射电压正负级分别为 3.5 和 2.5 kV, 毛细管温度 320 °C, 加热器温度 300 °C, 鞘气流速 35 ARB, 辅助气流速 10 ARB。

1.2.4 超高效液相色谱-串联质谱数据处理 为获得匹配和对齐的峰值数据, 将获得的超高效液相色谱-串联质谱原始数据导入 Compound

Discoverer 3.0 软件进行分析。设置参数如下: 质量范围 (mass range) 为 100 ~ 1 500 u; 质量偏差 (mass deviation) 为 5 ppm; 保留时间偏差 (retention time deviation) 为 0.05 min; 信噪比 (signal to noise ratio, SNR) 阈值 (threshold) 为 1.5。将 Compound Discoverer 3.0 软件导出的数据经归一化处理后导入 SIMICA 14.1 软件进行两种多元统计分析: 主成分分析 (principal components analysis, PCA) 和正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)。最后, 结合 S-plot 图中投影寻踪变量重要性 (variable importance in the projection, VIP) 大于 1 且 $P < 0.05$ 筛选出攻击组和非攻击组小鼠血清之间的差异代谢物。

基于在线数据库 HMDB (<https://hmdb.ca/>) 和 Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 并根据二级碎片离子对筛选出的差异代谢物进行指认鉴定。使用 MetaboAnalyst 6.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/>) 进行代谢通路富集分析, 使用 KEGG (<https://www.kegg.jp/kegg/pathway.html>) 及搜索相关文献对差异代谢物所涉及的代谢通路进行分析。

1.2.5 生物网络构建与分析 在 Cytoscape 3.9.1 软件 Metscape 插件中选择 “Pathway based” 模式, 设置好 Organism (Mouse)、Network (Type Compound-Gene) 相关参数, 构建 “差异代谢物-基因” 网络。在 Genecards

数据库 (<https://www.genecards.org/>) 输入关键词 “Aggressive behavior” 和 “Violent attacks” 检索攻击行为相关基因, 进而寻找差异代谢物和攻击行为之间的交集基因。利用 Cluego 和 CluePedia 插件对得到的交集基因进行 KEGG 通路富集分析 ($P < 0.05$)。在 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>) 中输入交集基因进行蛋白质-蛋白质相互作用网络分析, 预测交集基因编码的蛋白质之间的相互作用。将得到的 TSV 文件重新导入 Cytoscape 3.9.1 软件并利用 Centiscape 2.2 插件计算节点之间的度中心性 (degree)、接近中心性 (closeness) 和中介中心性 (betweenness), 选取各种算法中排名前 11 的基因, 之后取这些基因的交集, 共得到 9 个关键基因。

1.2.6 统计分析 采用 GraphPad Prism 8 软件进行数据整合与作图, 采用 SPSS 16.0 统计软件进行独立样本 t 检验分析。各组实验数据均以平均值 \pm 标准差表示, $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 攻击组和非攻击组小鼠攻击行为学指标

比较攻击组与非攻击组小鼠行为学指标, 攻击组小鼠在 3 min 内的攻击次数显著增加 ($P < 0.01$), 且首次攻击潜伏期显著减少 ($P < 0.01$) (表 1)。结果表明, 攻击组 CD-1 退役种鼠表现出明显的攻击行为。

表 1 攻击组和非攻击组小鼠攻击行为学指标的描述性统计值和 t 检验分析结果

Table 1 Descriptive statistics and t -test results for behavioral indicators between the attack group and non-attack group of mice

行为学指标 Behavioral indicator	非攻击组小鼠 Non-attack group ($n = 6$)	攻击组小鼠 Attack group ($n = 6$)	结果 Result
3 min 攻击次数 Number of attacks within 3 min	2.00 \pm 1.00	63.00 \pm 1.00	$t = -98.703, df = 10, P < 0.01$
首次攻击潜伏期 Latency of the first attack (s)	82.50 \pm 3.83	4.33 \pm 1.37	$t = 47.041, df = 10, P < 0.01$

数据以平均值 \pm 标准差表示。 t 和 df 分别表示 t 值及自由度。

Data are expressed as mean \pm SD. t and df indicate t value and degree of freedom of t test.

2.2 小鼠血清代谢组学分析仪器稳定性评价

采用电喷雾电离法正负离子同时采集模式获得小鼠血清样本总离子流图 (图 1)。在批量进样时备好质量控制样本, 检查仪器的稳定性和性能。其中, 性能指标主要包括质量精度、质量范围以及扫描速度。采用无监督的主成分

分析 (PCA) 方法对质量控制样本进行聚类分析, 所有质量控制样本较为密集地聚集在一起 (图 2a)。同时, 从 6 个质量控制样本中提取了 10 个离子计算相对峰面积的相对标准偏差值 (relative standard deviation, RSD) 为 3.62% ~ 15.95% (表 2)。表明所建立的分析方法稳定

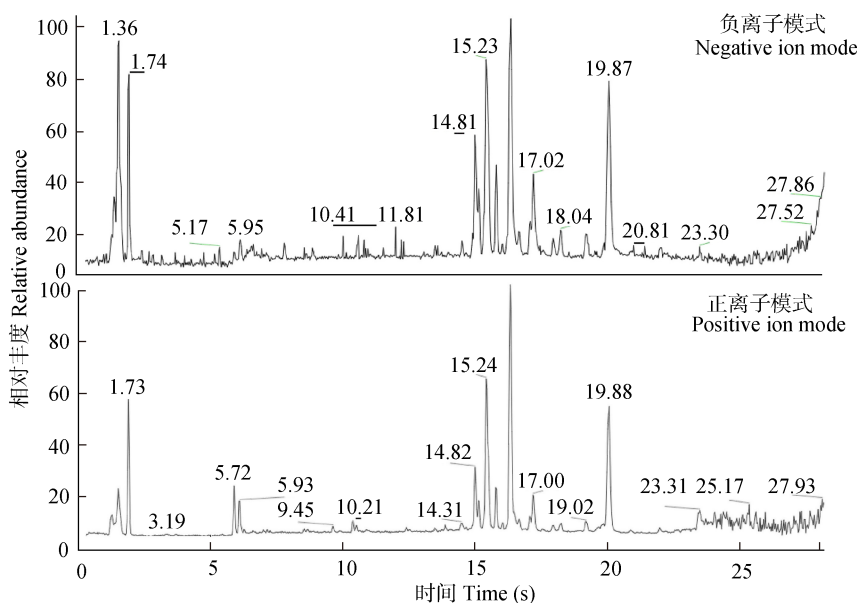


图 1 血清样本超高效液相色谱-串联质谱的负离子和正离子总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatograms of serum samples detected by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry in positive and negative modes

表 2 使用质量控制样本的超高效液相色谱-串联质谱方法的稳定性评价

Table 2 Stability of ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the quality control sample

离子编号 Ion number	保留时间 Retention time (min)	质荷比 Mass-to-charge ratio	相对峰面积平均值 Average relative peak area	相对峰面积标准差 Relative peak area standard deviation	相对标准偏差值 Relative standard deviation (%)
1	23.799	282.279 02	7.423×10^{-3}	8.213×10^{-4}	11.06
2	9.403	238.141 32	4.313×10^{-3}	2.932×10^{-4}	6.80
3	10.191	282.279 08	2.359×10^{-2}	3.648×10^{-3}	5.47
4	10.723	250.177 72	5.366×10^{-3}	3.662×10^{-4}	6.82
5	6.780	194.115 23	2.229×10^{-3}	8.068×10^{-5}	3.62
6	5.484	139.050 27	1.338×10^{-3}	1.137×10^{-4}	8.50
7	9.660	299.110 06	1.104×10^{-3}	1.215×10^{-4}	11.00
8	5.595	132.102 02	8.872×10^{-4}	1.232×10^{-4}	13.89
9	15.012	111.020 47	3.955×10^{-4}	6.308×10^{-5}	15.95
10	12.185	302.305 42	8.950×10^{-4}	1.241×10^{-3}	13.87

可靠，能满足批量样本的分析要求。

2.3 多元统计分析及差异代谢物筛选

基于正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA)，攻击组和非攻击组小鼠之间可以明显分开 (图 2b)，表明攻击组与非攻击组小鼠之间内源性代谢物轮廓存在显著差异。设定检验次数为 200，构建正交偏最小二乘法判别分析模型验证图 (图 2c)，左侧所有 Q^2 值低于右侧原始点，或 Q^2 的回归线与纵轴相交数值小于零，证明正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA) 模型稳健良好，不存在过拟合现象。结合正交偏最小二乘法判别分析

(OPLS-DA) 模型 S-plot 图中投影寻踪变量重要性 (VIP) 大于 1 且 $P < 0.05$ 筛选出攻击组和非攻击组小鼠之间显著改变的差异变量 (图 2d)。

结合在线数据库并进一步根据质荷比、保留时间、分子式和二级碎片离子对两组间的差异变量进行鉴定，共鉴定出 12 种差异代谢物 (附录 1)。攻击组与非攻击组小鼠在血清代谢物轮廓上存在显著差异，DL-谷氨酸 (DL-glutamic acid) 等 7 种差异代谢物水平显著上升，肉毒碱 (tetradecanoylcarnitine) 等 5 种代谢物水平显著下降 (图 3，附录 1)。

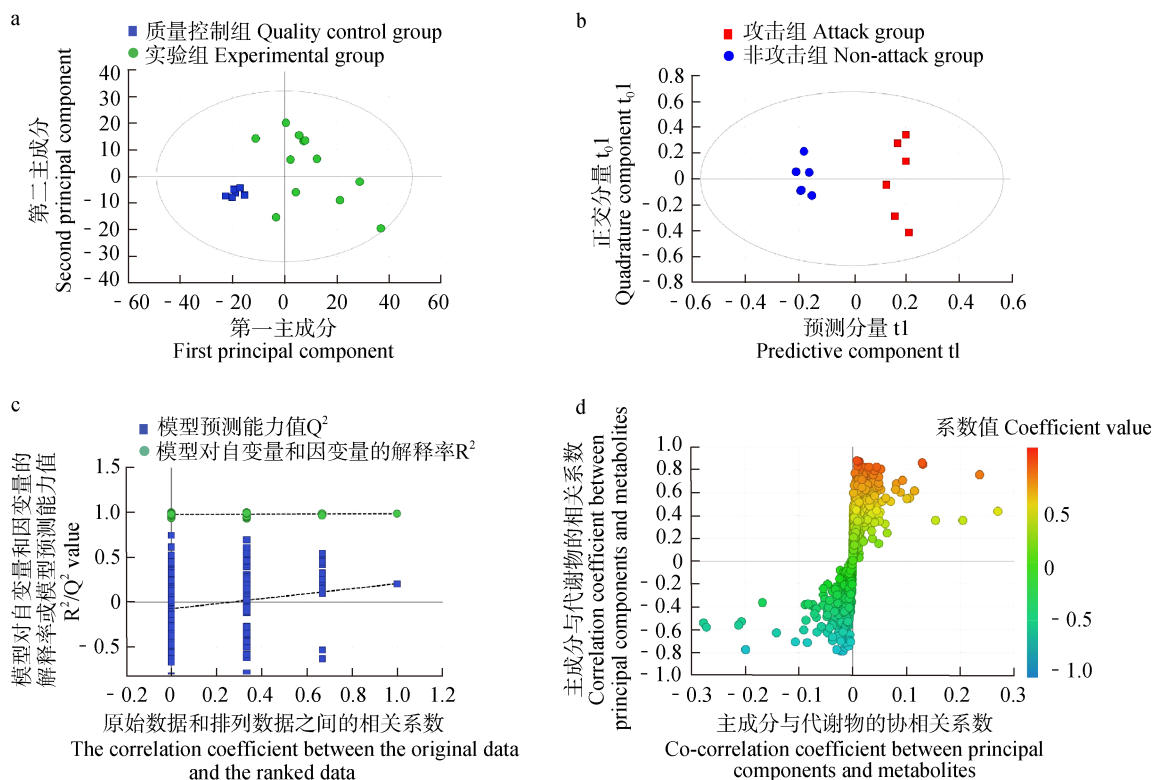


图 2 血清样本超高效液相色谱-串联质谱数据的多元统计分析 ($n = 6$)

Fig. 2 Statistical analysis of data from ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry of serum samples ($n = 6$)

a. 实验组和质量控制组的主成分分析得分图；b. 攻击组和非攻击组正交偏最小二乘法判别分析散点图；c. 正交偏最小二乘法判别分析模型验证图；d. 正交偏最小二乘法判别分析相对应的 S-plot 图。

a. Score plot of principal components analysis of experimental group and quality control group; b. Score plot of orthogonal partial least squares discriminant analysis between attack group and non-attack group; c. Diagram of orthogonal partial least squares discriminant analysis model validation; d. S-plot of orthogonal partial least squares discriminant analysis.

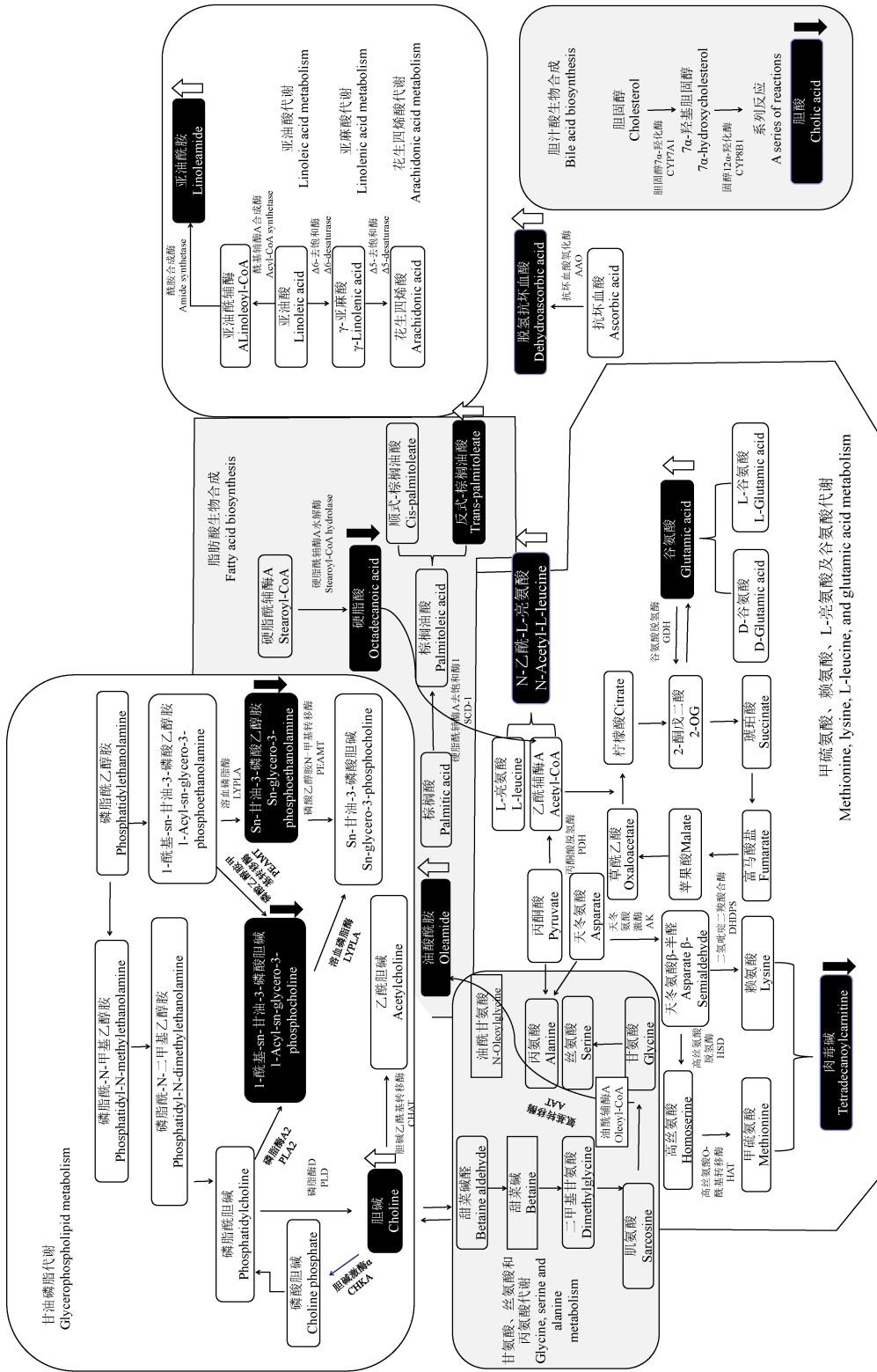


图3 攻击组与非攻击组小鼠差异代谢物及主要代谢通路示意图
Fig. 3 Differential metabolites between attack and non-attack groups and mapping of major metabolic pathways

与非攻击组相比,上调的差异代谢物以白色箭头代表,下调的差异代谢物以黑色箭头代表。
The up-regulated differential metabolites are represented by white, and the down-regulated differential metabolites are represented by black in the attack group compared with the non-attack group.

2.4 攻击组与非攻击组小鼠血清差异代谢物通路富集分析

将胆碱、1-酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、甘油磷酸乙醇胺以及油酸酰胺等 12 种差异代谢物导入 MetaboAnalyst 6.0 数据库进行代谢通路富集分析，以影响值 (impact) 超过 0.01 为筛选条件，得到甘油磷脂代谢 (glycerophospholipid metabolism)、醚脂代谢 (ether lipid metabolism)、甘氨酸和丝氨酸及苏氨酸代谢 (glycine, serine and threonine metabolism) 和初级胆汁酸生物合成 (primary bile acid biosynthesis) 4 条与攻击行为相关的代谢通路 (图 4)。其中，甘油磷脂代谢可能是最为关键的代谢通路。

2.5 小鼠攻击行为差异代谢物相关基因的筛选

采用 Cytoscape 3.9.1 软件 Metscape 插件构建“差异代谢物-基因”网络，共得到相关基因 42 个 (图 5)。通过 GeneCards 数据库输入关键词“Aggressive behavior”“Violent attacks”检索攻击行为相关基因，共得到 11 061 个基因。其中，差异代谢物相关基因和攻击行

为相关基因的交集共 20 个。

2.6 小鼠攻击行为差异代谢物相关基因的 KEGG 富集分析

在 Cytoscape 3.9.1 软件 Cluego 和 CluePedia 插件中，将 *Pla2g10*、*Pla2g6*、*Pld1* 和 *Pld2* 等 20 个交集基因进行 KEGG 通路富集分析 ($P < 0.05$)。两组小鼠攻击行为发生涉及到的主要通路包括甘油磷脂代谢 (glycerophospholipid metabolism)、醚脂代谢 (ether lipid metabolism)、亚麻酸代谢 (linolenic acid metabolism)、亚油酸代谢 (linoleic acid metabolism)、花生四烯酸代谢 (arachidonic acid metabolism)、血管平滑肌收缩 (vascular smooth muscle contraction)、胆碱代谢 (choline metabolism)、脂肪消化和吸收 (fat digestion and absorption) 和 Fc gamma R 介导的吞噬作用 (fc gamma r-mediated phagocytosis) (图 6)。其中，甘油磷脂代谢在所有通路中富集的交集基因数最多，为 15 个 (表 3)。因此，推测甘油磷脂代谢可能是攻击组和非攻击组小鼠不同行为表现的关键代谢途径。

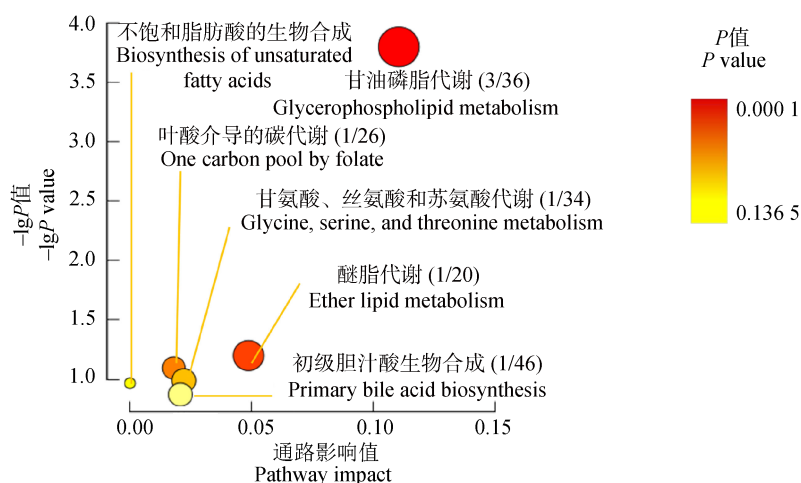


图 4 差异代谢物通路分析

Fig. 4 Differential metabolite pathway analysis

图中的每一个圆圈代表一个代谢通路，圆圈的大小表示每个代谢通路中富集的代谢物数量/该通路所有代谢物数量，圆圈越大表示该通路富集的代谢物比例越大。颜色表示显著性，圆圈颜色越红代表该通路的显著性越强，否则反之。

Each circle in the figure represents a metabolic pathway. The size of the circle indicates the number of enriched metabolites in each metabolic pathway/the total number of metabolites in that pathway. Larger size of the circle indicates greater proportion of metabolites enriched in the pathway. The color indicates the level of significance, a redder circle represents stronger significance of the pathway and vice versa.

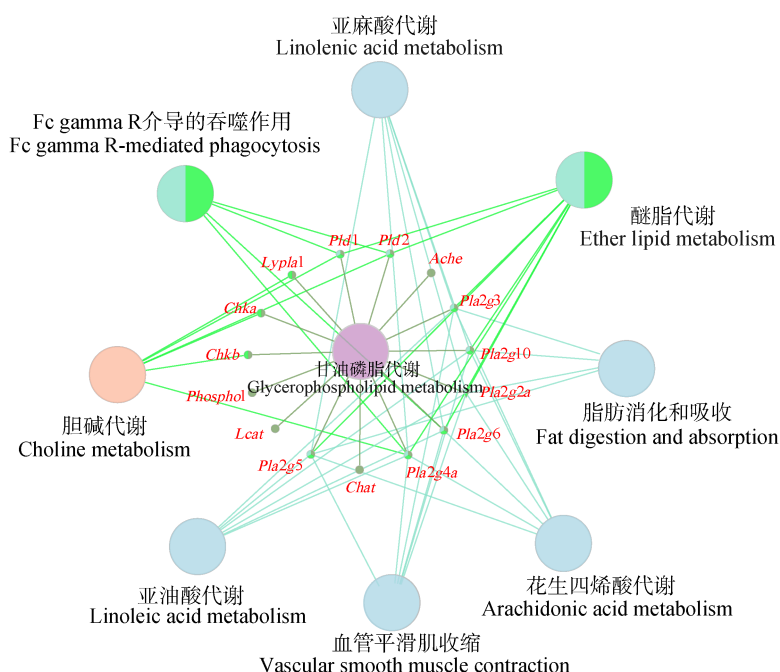


图 6 血清差异代谢物与攻击行为交集基因的 KEGG 富集分析

Fig. 6 KEGG enrichment analysis of the genes shared by serum differential metabolites and aggressive behavior

大圆圈代表通路，小圆圈代表基因。不同的颜色代表相关通路之间富集到的基因功能不同，以中线分隔的代表这些通路涉及到两类功能不同的基因。根据基因功能将以上基因分为四类：第一类包括 *Pld1* 和 *Pld2*，第二类包括 *Pla2g10*、*Pla2g2a*、*Pla2g3*、*Pla2g4a*、*Pla2g5* 和 *Pla2g6*，第三类包括 *Chka* 和 *Chkb*。其中，富集到图中全部基因的通路被标记为紫色，富集到图中至少三类基因的通路被标记为橙色，富集到图中第二类基因的通路被标记为蓝色，同时富集到至少两类的通路被标记为带有分隔线的绿色。

Large circles indicate pathways, and small circles indicate genes. Different colors represent different functions of enriched genes in the related pathways, and the ones divided by a vertical line represent that these pathways involve two types of genes with different functions. The above genes are classified into four categories according to their functions: the first category includes *Pld1* and *Pld2*, the second category includes *Pla2g10*, *Pla2g2a*, *Pla2g3*, *Pla2g4a*, *Pla2g5*, and *Pla2g6*, the third category includes *Chka* and *Chkb*. Among them, the pathways enriched with all the genes in the figure are marked as purple; the pathways enriched with at least three categories of genes in the figure are marked as orange; the pathways enriched with the second category of genes in the figure are marked as blue; and the pathways enriched with at least two categories of genes are marked as green with a dividing line.

表 3 KEGG 富集通路及相关基因

Table 3 KEGG enriched pathways and related genes

通路 Pathway	数目 Number	基因 Gene
甘油磷脂代谢 Glycerophospholipid metabolism	15	<i>Ache</i> , <i>Chat</i> , <i>Chka</i> , <i>Chkb</i> , <i>Lcat</i> , <i>Lypla1</i> , <i>Phosphol1</i> , <i>Pla2g10</i> , <i>Pla2g2a</i> , <i>Pla2g3</i> , <i>Pla2g4a</i> , <i>Pla2g5</i> , <i>Pla2g6</i> , <i>Pld1</i> , <i>Pld2</i>
醚脂代谢 Ether lipid metabolism	8	<i>Pla2g10</i> , <i>Pla2g2a</i> , <i>Pla2g3</i> , <i>Pla2g4a</i> , <i>Pla2g5</i> , <i>Pla2g6</i> , <i>Pld1</i> , <i>Pld2</i>
亚麻酸、亚油酸和花生四烯酸代谢 Linolenic acid, linoleic acid, and arachidonic acid metabolism	6	<i>Pla2g10</i> , <i>Pla2g2a</i> , <i>Pla2g3</i> , <i>Pla2g4a</i> , <i>Pla2g5</i> , <i>Pla2g6</i>
血管平滑肌收缩 Vascular smooth muscle contraction	6	<i>Pla2g10</i> , <i>Pla2g2a</i> , <i>Pla2g3</i> , <i>Pla2g4a</i> , <i>Pla2g5</i> , <i>Pla2g6</i>
胆碱代谢 Choline metabolism	6	<i>Pld1</i> , <i>Pld2</i> , <i>Pla2g4a</i> , <i>Chka</i> , <i>Chkb</i> , <i>Lypla1</i>
脂肪消化和吸收 Fat digestion and absorption	4	<i>Pla2g10</i> , <i>Pla2g2a</i> , <i>Pla2g3</i> , <i>Pla2g5</i>
Fc gamma R 介导的吞噬作用 Fc gamma R-mediated phagocytosis	4	<i>Pla2g4a</i> , <i>Pla2g6</i> , <i>Pld1</i> , <i>Pld2</i>

2.7 蛋白质-蛋白质相互作用网络 (protein-protein interaction network, PPI) 构建及关键基因筛选

将 20 个交集基因输入 STRING 数据库进行蛋白质-蛋白质相互作用网络分析, 预测交集基因编码的蛋白质之间的相互作用。通过 Cytoscape 3.0.9 创建了一个共有 18 个节点、46 条相互作用线的蛋白质-蛋白质相互作用网络图 (图 7)。

将 STRING 数据库导出的 TSV 格式文件输入 Cytoscape 3.9.1 软件并利用 Centiscape 2.2 插件计算节点之间的度中心性、接近中心性和中介中心性, 分别筛选出评分最高的关键基因。

将上述这 3 种算法中的关键基因取交集, 得到共有的 9 个关键基因 (表 4), 分别为磷脂酶 D1 (phospholipase D1, *Pld1*)、磷脂酶 D2 (phospholipase D2, *Pld2*)、V 型磷脂酶 A2 (phospholipase A2 group V, *Pla2g5*)、III 型磷脂酶 A2 (phospholipase A2 group III, *Pla2g3*)、X 型磷脂酶 A2 (phospholipase A2 group X, *Pla2g10*)、胆碱激酶 α (choline kinase alpha, *Chka*)、胆碱 O-乙酰转移酶 (choline O-acetyltransferase, *Chat*)、溶血磷脂酶 1 (lysophospholipase 1, *Lypla1*) 和卵磷脂-胆固醇酰基转移酶 (lecithin-cholesterol acyltransferase, *Lcat*) 基因, 主要集中分布于甘油磷脂代谢。

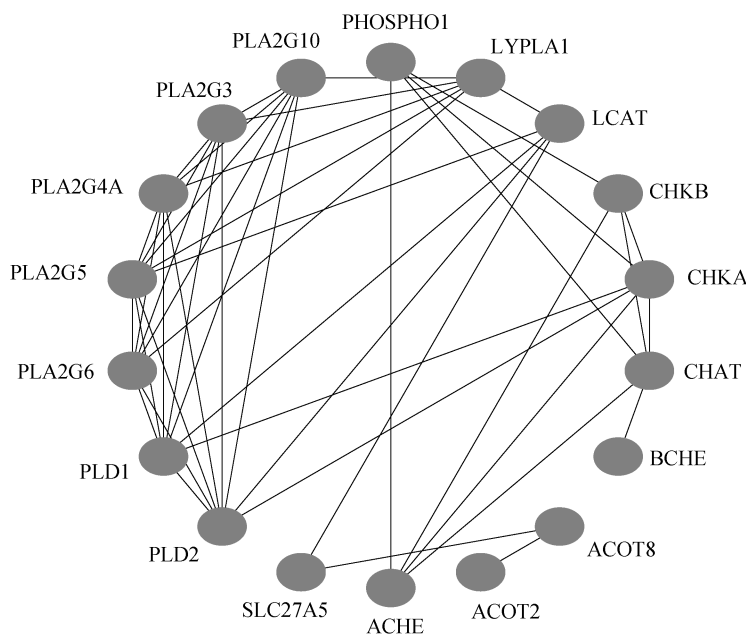


图 7 交集基因的蛋白质-蛋白质相互作用网络分析

Fig. 7 Protein-protein interaction network of overlapping genes

ACHE. 乙酰胆碱酯酶; ACOT2. 酰基辅酶 A 硫酯酶 2; ACOT8. 酰基辅酶 A 硫酯酶 8; BCHE. 丁酰胆碱酯酶; CHAT. 胆碱 O-乙酰转移酶; CHKA. 胆碱激酶 α ; CHKB. 胆碱激酶 β ; LCAT. 卵磷脂-胆固醇酰基转移酶; LYPLA1. 溶血磷脂酶 1; PHOSPHO1. 磷酸胆碱磷酸酶 1; PLA2G3. III 型磷脂酶 A2; PLA2G4A. IVA 型磷脂酶 A2; PLA2G5. V 型磷脂酶 A2; PLA2G6. VI 型磷脂酶 A2; PLA2G10. X 型磷脂酶 A2; PLD1. 磷脂酶 D1; PLD2. 磷脂酶 D2; SLC27A5. 溶质载体家族 27 成员 5

ACHE. Acetylcholinesterase; ACOT2. Acyl-CoA thioesterase 2; ACOT8. Acyl-CoA thioesterase 8; BCHE. Butyrylcholinesterase; CHAT. Choline O-acetyltransferase; CHKA. Choline kinase alpha; CHKB. Choline kinase beta; LCAT. Lecithin-cholesterol acyltransferase; LYPLA1. Lysophospholipase 1; PHOSPHO1. Phosphocholine phosphatase 1; PLA2G3. Phospholipase A2 group III; PLA2G4A. Phospholipase A2 group IVA; PLA2G5. Phospholipase A2 group V; PLA2G6. Phospholipase A2 group VI; PLA2G10. Phospholipase A2 group X; PLD1. Phospholipase D1; PLD2. Phospholipase D2; SLC27A5. Solute carrier family 27 member 5

表 4 攻击行为中差异代谢物相关关键基因

Table 4 Key genes related to differential metabolites in aggressive behavior

度中心性 Degree	基因 Gene	中介中心性 Betweenness	基因 Gene	接近中心性 Closeness	基因 Gene
8	Pld1	120.000	Chka	0.033	Pld1
8	Pld2	86.667	Lcat	0.033	Pld2
8	Pla2g5	68.000	Pld1	0.029	Chka
7	Pla2g10	68.000	Pld2	0.029	Pla2g5
7	Pla2g3	60.000	<i>Slc27a5</i>	0.028	Lcat
7	<i>Pla2g6</i>	32.000	Chat	0.026	Pla2g10
7	<i>Pla2g4a</i>	32.000	<i>Aco18</i>	0.026	Pla2g3
6	Chka	10.667	Pla2g5	0.026	<i>Pla2g6</i>
6	Lypla1	8.000	Lypla1	0.026	<i>Pla2g4a</i>
5	Chat	2.667	Pla2g10	0.023	Lypla1
5	Lcat	2.667	Pla2g3	0.022	Chat

加粗表示筛选得到的关键基因。The bolded genes are the selected key genes.

2.8 攻击行为学指标与差异代谢物的斯皮尔曼相关性分析

通过计算斯皮尔曼 (Spearman) 相关性系数, 研究攻击行为学指标与差异代谢物之间的潜在相关性 ($|r| > 0.6$)。结果表明, 亚油酰胺、胆碱、N-乙酰-L-亮氨酸和反式-棕榈油酸与 3 min 内攻击次数呈显著正相关, 肉毒碱与 3 min 内攻击次数呈显著负相关; 脱氢抗坏血酸、反式-棕榈油酸、亚油酰胺、DL-谷氨酸、胆碱和 N-乙酰-L-亮氨酸与首次攻击潜伏期呈显著负相关, 硬脂酸与首次攻击潜伏期呈显著正相关 (图 8)。即与 3 min 攻击次数呈显著正相关且与首次攻击潜伏期呈显著负相关的差异代谢物有亚油酰胺、胆碱、N-乙酰-L-亮氨酸和反式-棕榈油酸。

3 讨论

攻击行为是精神类疾病中最常见的行为表现之一, 严重的暴力攻击行为会对社会造成恶劣影响。尽管攻击行为的发生原因复杂且形式多样, 但个体攻击行为仍是其中主要的表现形式。在 CD-1 退役种鼠筛选阶段, 我们发现攻击性在不同个体之间存在差异, 选择具有较强攻击性的退役种鼠对慢性社交挫败应激抑郁 (CSDS) 模型的成功复制具有重要的作用。

甘油磷脂代谢途径上的代谢产物包括胆碱、1-酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱和甘油磷酰乙醇胺。从合成前体来看, 胆碱与 1-酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱均源于磷脂酰胆碱; 从代谢酶来看, 1-酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱与甘油磷酰乙醇胺均受溶血磷脂酶表达水平的影响。

磷脂酶 D (phospholipase D, PLD) 是一种关键的脂质信号分子, 主要负责甘油磷脂中磷酸取代基酯键的水解 (Ke et al. 2024); 胆碱乙酰基转移酶 (cholineacetyltransferase, CHAT) 与乙酰胆碱的合成密切相关, 乙酰胆碱在细胞信号传递中的作用可能间接影响甘油磷脂代谢 (Wikteliu et al. 2021); 胆碱激酶 α (choline kinase alpha, CHKA) 是磷脂酰胆碱合成的第一步, 可以将胆碱磷酸化为磷酸胆碱用于细胞膜的形成 (Liu et al. 2021)。因此, 攻击组小鼠血清中胆碱水平升高, 一方面可能是由于磷脂酶 D1 (phospholipase D1, PLD1) 和磷脂酶 D2 (phospholipase D2, PLD2) 表达增加, 促进磷脂酰胆碱的水解 (Onono et al. 2020)。另一方面可能是由于胆碱乙酰基转移酶 (CHAT) 和胆碱激酶 α (CHKA) 表达减少, 使乙酰胆碱和磷酸胆碱合成受阻, 导致其合成底物胆碱积累 (Klöckner et al. 2022, Lin et al. 2024a)。

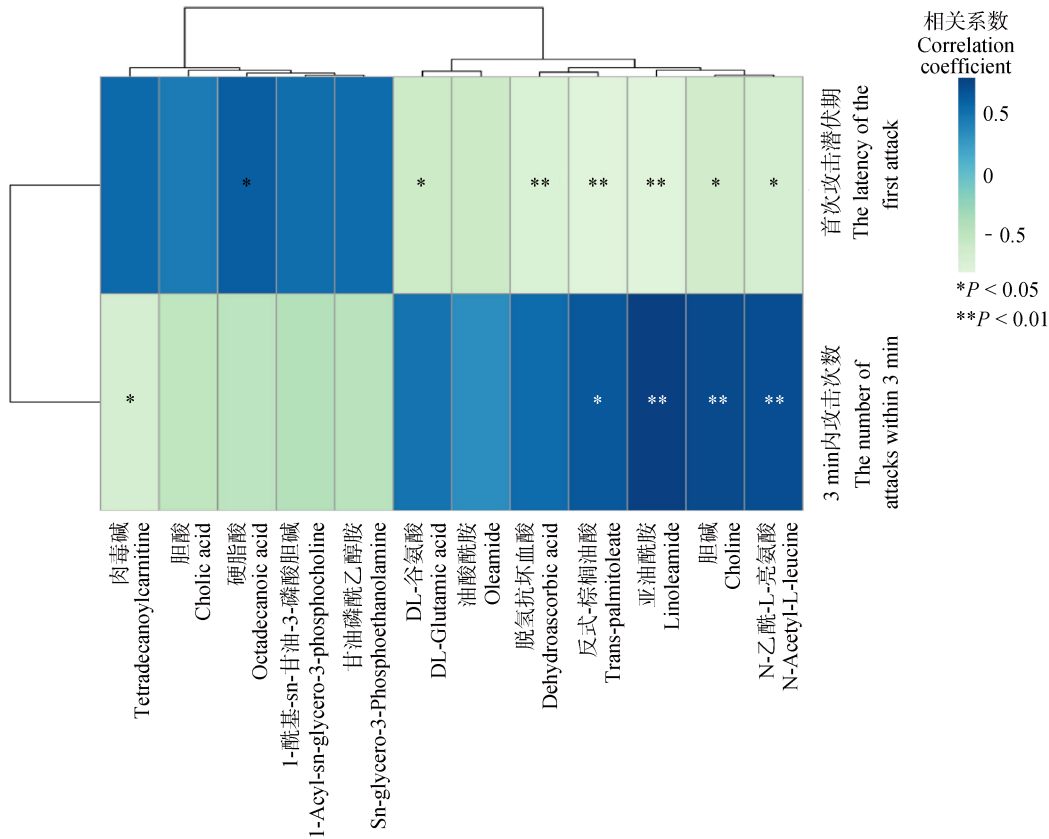


图 8 攻击行为学指标与差异代谢物相关性热图

Fig. 8 Heatmap of the correlations between aggression behavioral indicators and differential metabolites

颜色强度表示攻击行为学指标与差异代谢物之间的关联程度，蓝色表示正相关，绿色表示负相关。

The color intensity represents the degree of association between the aggressive behavioral indicators and differential metabolites. Blue indicates a positive correlation, and green indicates a negative correlation.

甘油磷酸乙醇胺属于一种甘油酯，可与多种不同长度和饱和度的脂肪酸结合 (Morel et al. 2021)。研究表明，溶血磷脂酶 (lysophospholipase, LYPLA) 与溶血磷脂酯乙醇胺和溶血磷脂酯胆碱水平有关 (Zhang et al. 2017)。因此，攻击组小鼠血清中甘油磷酸乙醇胺水平降低，可能是由于甘油磷脂代谢途径中的溶血磷脂酶 (LYPLA) 表达减少，导致 1-酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺分解代谢受阻。

1-酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱是一种磷脂，为细胞膜的主要成分之一 (Alberghina et al. 1995)。磷脂酶 A2 (phospholipase A2, PLA2) 在多种细胞反应中发挥着至关重要的作用，包

括磷脂代谢、宿主防御和信号转导等过程 (Murakami et al. 2017)。因此，攻击组小鼠血清中 1-酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱浓度降低，可能是由于磷脂酶 A2 (PLA2) 表达减少使磷脂酯胆碱水解受阻。

脂肪酸生物合成中的代谢产物包括油酸酰胺、反式-棕榈油酸和硬脂酸。从代谢途径来看，油酸酰胺和硬脂酸均与蛋氨酸、赖氨酸、L-亮氨酸和谷氨酸代谢相关。

油酸酰胺是一种内源性脂肪酰胺，其合成和分解可能涉及氨基酸代谢相关酶和途径，能与多种神经递质相互作用，具有镇静和催眠作用 (Mueller et al. 2009)。氨基酸 N-酰基转移

酶 (aminoacyltransferase, AAT) 参与脂肪酸的代谢调节, 对维持机体脂质平衡和能量代谢至关重要 (Collins et al. 2023, Liao et al. 2024)。因此, 攻击组小鼠血清中油酸酰胺水平升高, 可能是由于氨基酸 N-酰基转移酶 (AAT) 表达增加, 促使甘氨酸经过一系列反应转化为油酸酰胺。

硬脂酸是一种广泛分布的长链饱和脂肪酸 (Grundy 1994)。有研究表明, 饮食中的长链脂肪酸影响大脑功能并与行为有关, 含有硬脂酸的饮食可以增加小鼠享乐行为并影响脑边缘多巴胺系统信号 (Li et al. 2020a)。本实验中, 攻击组小鼠血清中硬脂酸水平降低, 可能是由于硬脂酰辅酶 A 水解酶 (stearoyl-CoA hydrolase) 表达减少, 使硬脂酰辅酶 A 合成硬脂酸途径受阻。因此, 推测攻击组小鼠血清中硬脂酸含量降低可能会使大脑中多巴胺的合成减少, 诱导小鼠产生愤怒情绪, 进而出现攻击行为。

反式-棕榈油酸是体内的第一脂肪酸, 部分由反式-棕榈酸通过内源性的氧化反应合成, 能够调节不同的代谢过程 (Jaudszus et al. 2014)。此外, 研究发现脑衍生神经营养因子水平与细胞内棕榈油酸的含量相关, 表明棕榈油酸可以调节脑部神经影响细胞脂质代谢 (Suzuki et al. 2012)。硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1 (stearoyl-CoA desaturase 1, SCD-1) 是脂肪酸代谢中的关键酶, 主要功能是将饱和脂肪酸转化为单不饱和脂肪酸, 对脂肪酸代谢具有重要影响 (Lam et al. 2022, Sen et al. 2023)。因此, 攻击组小鼠血清中反式-棕榈油酸水平显著高于非攻击组小鼠, 可能是由于硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1 (SCD-1) 表达增加, 使棕榈酸大量合成反式-棕榈油酸。

亚油酰胺是亚油酸代谢、亚麻酸代谢和花生四烯酸代谢途径中的一个重要代谢物。作为一种内源性脂肪酸酰胺, 其在体内合成主要涉及到亚油酸与氨或氨基酸的反应 (Huang et al. 2001)。亚油酸在细胞内经酰基辅酶 A 合成酶

(acyl-CoA synthetase) 的催化作用首先被活化为亚油酰辅酶 A (linoleoyl-CoA), 接着在特定酰胺合成酶 (amide synthetase) 的作用下与相应底物生成亚油酰胺 (Yamamoto et al. 2017)。同时, 亚油酸也可以通过去饱和酶 ($\Delta 6$ -desaturase 和 $\Delta 5$ -desaturase) 的作用下转化为花生四烯酸 (王辉敏等 2023)。因此, 攻击组小鼠血清中亚油酰胺水平升高, 一方面可能是由于亚油酸代谢途径中酰基辅酶 A 合成酶 (acyl-CoA synthetase) 和特定酰胺合成酶 (amide synthetase) 表达增加使亚油酰胺水平上升; 另一方面可能是由于亚麻酸代谢和花生四烯酸代谢途径中相关去饱和酶表达减少, 花生四烯酸合成减少, 促使亚油酸大量合成亚油酰胺。

蛋氨酸、赖氨酸、L-亮氨酸和谷氨酸代谢中的代谢产物包括肉毒碱、N-乙酰-L-亮氨酸和 DL-谷氨酸。

肉毒碱又称维生素 BT, 在人体中主要通过赖氨酸和甲硫氨酸的代谢过程生成, 是一种由肝和肾合成的营养物质, 在长链脂肪酸 β -氧化和能量产生过程中发挥重要作用 (Guarnieri 2015, 邱阳 2016)。二氢吡啶二羧酸合酶 (dihydrodipicolinate synthase, DHDPS) 是赖氨酸生物合成途径的关键酶 (Soares et al. 2016)。高丝氨酸 O-酰基转移酶 (homoserine O-acyltransferase, HAT) 在蛋氨酸合成途径中通过催化底物高丝氨酸发生酰基化, 从而激活甲硫氨酸特异性合成途径 (刘诗梦等 2019)。因此, 攻击组小鼠血清中肉毒碱浓度较低, 可能是由于二氢吡啶二羧酸合酶 (DHDPS) 和高丝氨酸 O-酰基转移酶 (HAT) 表达减少使合成前体赖氨酸和甲硫氨酸水平降低所致。

N-乙酰-L-亮氨酸是生物体内的一种重要的氨基酸衍生物, 是由 L-亮氨酸作为前体物质通过一系列酶促反应合成的。研究表明, N-乙酰-L-亮氨酸可以改善创伤性脑损伤小鼠的运动和认知结果, 有助于改善损伤后的神经功能 (Tiff 2024)。丙酮酸脱氢酶 (pyruvate

dehydrogenase, PDH) 在氨基酸代谢中扮演重要角色, 能够催化丙酮酸转化为乙酰辅酶 A, 从而将 TCA 循环与糖酵解以及脂肪和氨基酸代谢联系起来 (Zhang et al. 2022)。因此, 攻击组小鼠血清中 N-乙酰-L-亮氨酸水平较高可能是由于 PDH 表达增加, 使其前体物质乙酰辅酶 A 含量上升。

5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) (Saxbe et al. 2018)、去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE) (陶卓滢等 2021)、谷氨酸 (glutamic acid, Glu) (Hafeman et al. 2020) 以及 γ -氨基丁酸 (gamma-aminobutyric acid, GABA) (Li et al. 2020b) 等多种神经递质与暴力及攻击行为密切相关。其中, 谷氨酸是中枢神经系统主要的兴奋性神经递质。有研究显示, 敲除 GluA3-AMPA 受体会使攻击行为明显增加, 而将 GluA3 重新表达至内侧前额叶皮层 (medial prefrontal cortex, mPFC) 中则可减轻基因敲除小鼠的攻击行为 (Peng et al. 2022)。谷氨酸脱氢酶 (glutamate dehydrogenase, GDH) 催化 2-酮戊二酸和谷氨酸之间的可逆转化, 在氮和碳代谢的连接中起着重要作用 (Ge et al. 2022)。因此, 攻击组小鼠血清中 DL-谷氨酸较高, 可能是由于 2-酮戊二酸在谷氨酸脱氢酶 (glutamate dehydrogenase, GDH) 的催化作用下, 大量合成 DL-谷氨酸且其利用率低, 导致过量的 DL-谷氨酸能结合多个突触后受体, 激发神经元活动。

抗坏血酸和脱氢抗坏血酸是维生素 C 的两种活性形式, 它们在人体内具有重要的生理作用和相互转化的特性。其中, 脱氢抗坏血酸是一种可以透过血脑屏障的抗坏血酸氧化型 (Deutsch 2000)。抗坏血酸氧化酶 (ascorbate oxidase, AAO) 是一种多铜氧化酶, 在有氧条件下将抗坏血酸氧化为脱氢抗坏血酸 (Lin et al. 2024b)。因此, 攻击组小鼠血清中脱氢抗坏血酸水平较高可能是由于抗坏血酸氧化酶 (AAO) 表达增加所致。

胆汁酸最初是由肝细胞中的胆固醇通过两

条不同的代谢途径合成的, 且多种酶参与其中。胆酸作为消化液的组成部分之一, 属于初级胆汁酸, 以固醇为原料直接合成, 能促进对脂类物质的消化和吸收 (Bhattacharya et al. 2023)。在生理条件下, 大部分初级胆汁酸是由胆固醇 7 α -羟化酶 (cholesterol 7 α -hydroxylase, CYP7A1) 启动的经典途径产生的。其中, 甾醇 12 α -羟化酶 (sterol 12 α -hydroxylase, CYP8B1) 决定胆酸和鹅去氧胆酸的丰度 (Perino et al. 2022)。因此, 攻击组小鼠血清胆酸浓度降低, 可能是由于甾醇 12 α -羟化酶 (CYP8B1) 表达减少导致胆固醇合成胆酸途径受阻。

综上, 内源性代谢物在体内发挥的功能远远超出生化反应中的单纯底物和产物, 它们之间的相互作用调控着各种生理过程。为探究 CD-1 退役种鼠不同行为表型背后的生物学机制, 本研究基于血清代谢组学和生物网络分析整合策略发现甘油磷脂代谢可能是攻击行为发生的关键通路, *Pld1*、*Pld2*、*Pla2g5*、*Pla2g3*、*Pla2g10*、*Lypla1*、*Lcat*、*Chka* 和 *Chat* 这 9 个基因可能是攻击行为与差异代谢物交集基因中的关键基因。因此, 在后续研究过程中, 我们将会对筛选出的关键通路及关键基因进行实验验证, 以期更深入地对 CD-1 退役种鼠攻击行为生物学机制进行剖析。

参 考 文 献

- Alberghina M, Lupo G, Anfuso C D, et al. 1995. Lipid peroxidation inhibits acyl-CoA: - 1-acyl-sn-glycero-3-phosphocholine O-acyltransferase but not CTP: phosphocholine cytidyltransferase activity in rat brain membranes. *Neurochemistry International*, 26(5): 477-487.
- Bhattacharya A, Taylor R E, Guo G L. 2023. *In vivo* mouse models to study bile acid synthesis and signaling. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*, 22(5): 466-473.
- Collins S L, Stine J G, Bisanz J E, et al. 2023. Bile acids and the gut microbiota: metabolic interactions and impacts on disease. *Nature Reviews Microbiology*, 21(4): 236-247.
- Deutsch J C. 2000. Dehydroascorbic acid. *Journal of Chromatography A*, 881(1/2): 299-307.
- Flanigan M E, Aleyasin H, Li L, et al. 2020. Orexin signaling in

- GABAergic lateral habenula neurons modulates aggressive behavior in male mice. *Nature Neuroscience*, 23(5): 638–650.
- Ge F L, Sun J K, Ren Y, et al. 2022. Transcriptomic and enzymatic analysis reveals the roles of glutamate dehydrogenase in *Corynebacterium glutamicum*. *AMB Express*, 12(1): 161.
- Golden S A, Heshmati M, Flanigan M, et al. 2016. Basal forebrain projections to the lateral habenula modulate aggression reward. *Nature*, 534(7609): 688–692.
- Grundy S. 1994. Influence of stearic acid on cholesterol metabolism relative to other long-chain fatty acids. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 60(6): 986S–990S.
- Guarnieri G. 2015. Carnitine in maintenance hemodialysis patients. *Journal of Renal Nutrition*, 25(2): 169–175.
- Hafeman D M, Rooks B, Merranko J, et al. 2020. Lithium versus other mood-stabilizing medications in a longitudinal study of youth diagnosed with bipolar disorder. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 59(10): 1146–1155.
- Han Q Q, Shen S Y, Chen X R, et al. 2022. Minocycline alleviates abnormal microglial phagocytosis of synapses in a mouse model of depression. *Neuropharmacology*, 220: 109249.
- Huang J K, Jan C R. 2001. Linoleamide, a brain lipid that induces sleep, increases cytosolic Ca²⁺ levels in MDCK renal tubular cells. *Life Sciences*, 68(9): 997–1004.
- Jaudszus A, Kramer R, Pfeuffer M, et al. 2014. Trans Palmitoleic acid arises endogenously from dietary vaccenic acid. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 99(3): 431–435.
- Ke H, Bai F, Li Z H, et al. 2024. Inhibition of phospholipase D promotes neurological function recovery and reduces neuroinflammation after spinal cord injury in mice. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 18: 1352630.
- Klößner C, Fernández-Murray J P, Tavasoli M, et al. 2022. Bi-allelic variants in CHKA cause a neurodevelopmental disorder with epilepsy and microcephaly. *Brain*, 145(6): 1916–1923.
- Koolhaas J M, Coppens C M, de Boer S F, et al. 2013. The resident-intruder paradigm: a standardized test for aggression, violence and social stress. *Journal of Visualized Experiments*, (77): e4367.
- Lam S M, Li J, Sun H, et al. 2022. Quantitative lipidomics and spatial MS-imaging uncovered neurological and systemic lipid metabolic pathways underlying troglomorphic adaptations in cave-dwelling fish. *Molecular Biology and Evolution*, 39(4): msac050.
- Li S M, Zhang G F, Yang J J. 2020b. Role of NMDA receptor-mediated abnormalities of GABAergic interneurons in psychiatric disorders. *Journal of Central South University Medical Sciences*, 45(2): 176–180.
- Li Y X, Wu H Y, Zhang R X, et al. 2020a. Diet containing stearic acid increases food reward-related behaviors in mice compared with oleic acid. *Brain Research Bulletin*, 164: 45–54.
- Liao Y L, Chen Q S, Liu L, et al. 2024. Amino acid is a major carbon source for hepatic lipogenesis. *Cell Metabolism*, 36(11): 2437–2448.e8.
- Lin C V, Thomas C A D, Huynh T L, et al. 2024a. Adeno-associated virus type 9-mediated gene therapy of choline acetyltransferase-deficient mice. *Human Gene Therapy*, 35(3–4): 123–131.
- Lin Z, Zeng Q, Yao W S, et al. 2024b. A fluorescence “turn-on” sensor for ascorbic acid in fruit juice and beverage based on ascorbate oxidase-like activity of citric acid-derived carbon dots. *Food Chemistry*, 437: 137928.
- Liu R, Lee J H, Li J Y, et al. 2021. Choline kinase alpha 2 acts as a protein kinase to promote lipolysis of lipid droplets. *Molecular Cell*, 81(13): 2722–2735.e9.
- Morel Y, Hegdekar N, Sarkar C, et al. 2021. Structure-specific, accurate quantitation of plasmalogen glycerophosphoethanolamine. *Analytica Chimica Acta*, 1186: 339088.
- Mueller G P, Driscoll W J. 2009. Biosynthesis of oleamide. *Vitamins & Hormones*. 81: 55–78.
- Murakami M, Nakatani Y, Atsumi G I, et al. 2017. Regulatory functions of phospholipase A2. *Critical Reviews in Immunology*, 37(2/6): 127–195.
- Onono F O, Morris A J. 2020. Phospholipase D and choline metabolism // Gomez-Cambronero J, Forhman M. *Handbook of Experimental Pharmacology*. Cham: Springer, 259: 205–218.
- Peng S X, Pei J W, Rinaldi B, et al. 2022. Dysfunction of AMPA receptor GluA3 is associated with aggressive behavior in human. *Molecular Psychiatry*, 27(10): 4092–4102.
- Perino A, Schoonjans K. 2022. Metabolic messengers: bile acids. *Nature Metabolism*, 4(4): 416–423.
- Saxbe D, Lyden H, Gimbel S I, et al. 2018. Longitudinal associations between family aggression, externalizing behavior, and the structure and function of the amygdala. *Journal of Research on Adolescence*, 28(1): 134–149.
- Sen U, Coleman C, Sen T. 2023. Stearoyl coenzyme A desaturase-1: multitasker in cancer, metabolism, and ferroptosis. *Trends in Cancer*, 9(6): 480–489.
- Soares da Costa T P, Desbois S, Dogovski C, et al. 2016. Structural determinants defining the allosteric inhibition of an essential antibiotic target. *Structure*, 24(8): 1282–1291.
- Suzuki S, Qiu H L, Okada A, et al. 2012. BDNF-dependent

- accumulation of palmitoleic acid in CNS neurons. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 32(8): 1367–1373.
- Tift C J. 2024. *N*-acetyl-l-leucine and neurodegenerative disease. *The New England Journal of Medicine*, 390(5): 467–470.
- Tordjman S. 2022. Aggressive behavior: a language to be understood. *L'Encéphale*, 48(Suppl 1): S4–S13.
- Wang Q, Wu Z N, Xiang H, et al. 2023. Revealing the role of leucine in improving the social avoidance behavior of depression through a combination of untargeted and targeted metabolomics. *Food & Function*, 14(14): 6397–6409.
- Wiktelius D, Allgardsson A, Bergström T, et al. 2021. *In situ* assembly of choline acetyltransferase ligands by a hydrothiolation reaction reveals key determinants for inhibitor design. *Angewandte Chemie: International ed*, 60(2): 813–819.
- Yamamoto S, Takehara M, Ushimaru M. 2017. Inhibitory action of linoleamide and oleamide toward sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase. *Biochimica et Biophysica Acta: BBA - General Subjects*, 1861(1): 3399–3405.
- Zhang Y J, Zhao M, Gao H, et al. 2022. MAPK signalling-induced phosphorylation and subcellular translocation of PDHE1 α promotes tumour immune evasion. *Nature Metabolism*, 4(3): 374–388.
- Zhang Y, Baycin-Hizal D, Kumar A, et al. 2017. High-throughput lipidomic and transcriptomic analysis to compare SP2/0, CHO, and HEK-293 mammalian cell lines. *Analytical Chemistry*, 89(3): 1477–1485.
- Zhu Z G, Ma Q Q, Miao L, et al. 2021. A substantia innominata-midbrain circuit controls a general aggressive response. *Neuron*, 109(9): 1540–1553.e9.
- 李莎, 陶卫群, 黄婵, 等. 2024. ADORA2A 基因多态性与精神分裂症患者攻击行为的相关性. *检验医学*, 39(6): 548–556.
- 刘诗梦, 韩彩静, 高云娜, 等. 2019. 蛋氨酸特异性合成途径关键酶——高丝氨酸 O-酰基转移酶的研究进展. *食品科学*, 40(11): 261–267.
- 邱阳. 2016. 抗疲劳功能食品的研究分析. *食品安全导刊*, (24): 76.
- 陶卓滢, 韩佩佩, 王丽岩, 等. 2021. 针灸疗法在神经系统疾病治疗中的抗细胞凋亡作用. *上海医药*, 42(1): 44–49.
- 王辉敏, 李冠文, 杨金梅, 等. 2023. 多不饱和脂肪酸降脂作用机制的研究进展. *中国油脂*, 48(5): 73–77, 84.
- 王琦, 赵慧亮, 杨晨, 等. 2022. 慢性社交挫败应激抑郁模型建立与评价及其在中药抗抑郁研究中的应用. *中草药*, 53(1): 288–294.

附录 1 差异代谢物及其变化趋势

Appendix 1 Differential metabolites and their changing trend

代谢物 Metabolite	保留时间 Retention time	质荷比 Mass-to-charge ratio	分子式 Formula	投影寻踪变量重要性 Variable importance in the projection	人类代谢数据库代号 Human metabolome database identifier	攻击组相对非攻击组 变化趋势 The trend of change in the attack group relative to the non-attack group	扫描模式 Ion mode
胆碱 Choline	19.860	103.100 02	$C_5H_{13}NO$	1.03	0000097	↑*	[M+H] ⁺
甘油磷酸乙醇胺 Sn-glycerol-3-phosphoethanolamine	17.081	216.149 30	$C_5H_{14}NO_6P$	1.50	0059660	↓*	[M+H] ⁺
油酸酰胺 Oleamide	24.092	282.279 01	$C_{18}H_{35}NO$	2.96	0002117	↑**	[M+NH4] ⁺
反式-棕榈油酸 Trans-palmitoleate	16.600	296.258 34	$C_{16}H_{30}O_2$	1.51	0012328	↑*	[M+ACN+H] ⁺
DL-谷氨酸 DL-Glutamic acid	1.700	128.035 28	$C_5H_9NO_4$	1.16	0060475	↑*	[M-H-H2O] ⁻
亚油酰胺 Linoleamide	15.421	280.263 40	$C_{18}H_{33}NO$	1.21	0062656	↑**	[M+H] ⁺
1-酰基-sn-甘油-3-磷酸 胆碱 1-Acyl-sn-glycerol-3-phosphocholine	18.894	580.362 03	$C_{26}H_{52}NO_7P$	2.27	0002815	↓*	[M-H+HAc] ⁻
硬脂酸 Octadecanoic acid	15.541	540.330 86	$C_{23}H_{46}NO_7P$	2.66	0000827	↓*	[M-H+HAc] ⁻
N-乙酰-L-亮氨酸 N-Acetyl-L-leucine	6.9550	172.097 97	$C_8H_{15}NO_3$	1.21	0011756	↑*	[M-H] ⁻
肉毒碱 Tetradecanoylcarnitine	13.267	372.310 62	$C_{21}H_{41}NO_4$	1.12	0005066	↓*	[M+H] ⁺
胆酸 Cholic acid	10.247	453.285 84	$C_{24}H_{40}O_5$	1.16	0000619	↓*	[M+FA-H] ⁻
脱氢抗坏血酸 Dehydroascorbic acid	1.569	173.009 16	$C_6H_6O_6$	1.29	0001264	↑**	[M-H] ⁻

与非攻击组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; ↓, 下调, ↑, 上调

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. non-attack group; ↓, Down-regulated, ↑, Up-regulated