

安寐丹下调 EphA4/EphrinA3 信号通路蛋白表达改善老年睡眠剥夺模型认知功能的机制

王子傲^{1,2}, 王力春^{1,2}, 王平^{2,3}, 谢光璟^{2,3*}

(1. 湖北中医药大学基础医学院, 武汉 430065;

2. 湖北中医药大学老年脑健康中医药防护技术与新产品研发教育部工程研究中心, 武汉 430065;

3. 湖北时珍实验室, 武汉 430065)

【摘要】目的:探讨安寐丹(AMD)是否通过抑制促红细胞生成素产生肝细胞受体 A4(EphA4)/Eph 受体反应蛋白 A3(EphrinA3)信号通路及其下游 Ras 同源家族成员 A(RhoA)/Rho 相关卷曲螺旋形成蛋白激酶(ROCK)信号,改善老年睡眠剥夺模型小鼠的认知功能与昼夜节律紊乱,并分析其多靶点调节作用特点。**方法:**采用改良多平台水环境法建立老年 C57 小鼠睡眠剥夺模型,将小鼠随机分为空白组、模型组、钩藤碱(Rhy)拮抗剂组、拮抗剂加安寐丹组。安寐丹给药剂量为 26.26 g·kg⁻¹·d⁻¹, Rhy 为 50 mg·kg⁻¹·d⁻¹,通过旷场实验评估自主活动活跃度,监测昼夜节律活动,苏木素-伊红(HE)与尼氏(Nissl)染色观察海马组织 CA1/CA3 区神经元形态,采用蛋白免疫印迹法(Western blot)、免疫荧光检测 EphA4、EphrinA3、线粒体神经元核抗原(NEUN)、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)、磷酸化(p)-EphA4、RhoA、Rho 相关卷曲螺旋形成蛋白激酶 1(ROCK1)、Rho 相关卷曲螺旋形成蛋白激酶 2(ROCK2)、脑源性神经营养因子(BDNF)、突触素(SYN)、突触后密度蛋白 95(PSD95)、生长相关蛋白 43(GAP43)等蛋白表达,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测 EphA4、EphrinA3 mRNA 表达。**结果:**与空白组比较,模型组小鼠自主活动能力显著下降($P<0.01$),昼夜节律紊乱($P<0.01$),海马神经元排列紊乱、Nissl 体减少, EphA4、EphrinA3、p-EphA4、RhoA、ROCK1、ROCK2、GFAP 表达显著升高($P<0.01$), NEUN、BDNF、SYN、PSD95、GAP43 表达显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,拮抗剂组与拮抗剂加安寐丹组上述指标均有显著改善($P<0.01$),其中联合用药组在改善行为学、病理学及分子表达方面明显优于单纯拮抗剂组($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论:**安寐丹可通过抑制 EphA4/EphrinA3 信号通路及其下游 RhoA/ROCK 信号通路、上调 BDNF 等突触相关蛋白表达,改善睡眠剥夺引起的认知与节律障碍,与 EphA4 拮抗剂联用具有协同增效作用,提示其具有多环节协同干预的机制特点。

【关键词】 安寐丹; 睡眠剥夺; 促红细胞生成素产生肝细胞受体 A4/Eph 受体反应蛋白 A3(EphA4/EphrinA3)信号通路; 认知功能; 突触

〔中图分类号〕 R289;R259;R285 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2026)17-0087-10

〔doi〕 10.13422/j.cnki.syfjx.20260309

〔网络出版地址〕 <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260319.1008.001>

〔网络出版日期〕 2026-03-19 10:32:50



Anmei Dan Improves Cognitive Function in Aged Sleep Deprivation Model by Downregulating Expression of Proteins in EphA4/EphrinA3 Signaling Pathway

WANG Zi'ao^{1,2}, WANG Lichun^{1,2}, WANG Ping^{2,3}, XIE Guangjing^{2,3*}

(1. School of Basic Medical Sciences, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China;

2. Engineering Research Center of Traditional Chinese Medicine Prevention and Protection Technology and

New Product R&D for Geriatric Brain Health, Ministry of Education, Hubei University of

Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 3. Hubei Shizhen Laboratory, Wuhan 430065, China)

〔收稿日期〕 2025-12-17

〔基金项目〕 国家自然科学基金项目(82305354)

〔第一作者〕 王子傲,在读硕士,从事中医延缓衰老理论及应用研究,E-mail:13483036810@163.com

〔通信作者〕 * 谢光璟,博士,副教授,硕士生导师,从事中医药防治老年病研究,E-mail:397525306@qq.com

[Abstract] **Objective:** To investigate whether Anmei Dan (AMD) improves cognitive function and alleviates circadian rhythm disorders in an aged mouse model of sleep deprivation by inhibiting the erythropoietin-producing hepatocellular receptor A4 (EphA4)/Eph receptor-interacting protein A3 (EphrinA3) signaling pathway and its downstream Ras homolog family member A (RhoA)/Rho-associated coiled-coil containing protein kinase (ROCK) signaling, and to analyze its multi-target regulatory characteristics. **Methods:** An aged C57 mouse model of sleep deprivation was established by the modified multiple platform water environment method. The mice were randomized into blank, model, rhynchophylline (Rhy, antagonist, 50 mg·kg⁻¹·d⁻¹), and antagonist plus AMD (26.26 g·kg⁻¹·d⁻¹) groups. Spontaneous activity was assessed by the open field test, and circadian rhythm activity was monitored. Hematoxylin-eosin (HE) staining and Nissl staining were conducted to observe neuronal morphology in the hippocampal CA1/CA3 regions. Western blot and immunofluorescence assay were employed to determine the protein levels of EphA4, EphrinA3, Neuronal Nuclei Antigen (NEUN), glial fibrillary acidic protein (GFAP), phosphorylated (p)-EphA4, RhoA, Rho-associated coiled-coil containing protein kinase 1 (ROCK1), Rho-associated coiled-coil containing protein kinase 2 (ROCK2), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), synaptophysin (SYN), postsynaptic density protein 95 (PSD95), and growth-associated protein 43 (GAP43). The mRNA levels of EphA4 and EphrinA3 were determined by real-time PCR. **Results:** Compared with the blank group, the model group showed decreased spontaneous activity ($P<0.01$), circadian rhythm disruption ($P<0.01$), hippocampal neuron disarrangement and reduced Nissl bodies, upregulated protein levels of EphA4, EphrinA3, NEUN, p-EphA4, RhoA, ROCK1, ROCK2, and GFAP ($P<0.01$), and downregulated protein levels of NEUN, BDNF, SYN, PSD95, and GAP43 ($P<0.01$). Compared with the model group, both the antagonist group and the antagonist plus AMD group showed recovery in the above indicators ($P<0.05$, $P<0.01$), with the combination group outperforming the antagonist group in behavioral, pathological, and molecular expression aspects ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion:** AMD can alleviate cognitive and rhythm disorders caused by sleep deprivation by inhibiting the EphA4/EphrinA3 signaling pathway and its downstream RhoA/ROCK signaling, and upregulating the expression of synapse-related proteins such as BDNF. Its combination with an EphA4 antagonist exhibits a synergistic effect, which suggests that the mechanism involves multi-link synergistic intervention.

[Keywords] Anmei Dan (AMD); sleep deprivation; erythropoietin-producing hepatocellular receptor A4 (EphA4)/Eph receptor-interacting protein A3 (EphrinA3) signaling pathway; cognitive function; synapse

最新研究数据表明,全球范围内约33%的人口曾经遭受过失眠症的困扰,而10%到15%的个体患有慢性失眠^[1]。美国国立卫生研究院(NIH)也将睡眠不足界定为一个更广泛的概念,涵盖睡眠时间不足(即睡眠剥夺)等多种情况^[2],在老年群体中,睡眠障碍尤为常见,其中又以慢性睡眠剥夺为主要表现形式^[3]。老年人群中睡眠障碍的患病率高达30%~40%,与此同时,我国老年人口的比例呈现高水平,平均比例高达46.4%^[4]。故系统性开展老年睡眠相关研究,探究其作用机制,已成为该领域至关重要且亟待深入的研究方向。

中医药在改善睡眠、认知方面具有特色与优势,此次研究我们选择的安寐丹是团队前期经过临床与基础研究验证,对于改善成人睡眠及认知水平具有较好疗效^[5-7]。该方出自清代典籍《石室秘录》,是治疗失眠的代表方剂之一,能补元气、安神志,由生酸枣仁、熟酸枣仁、人参、麦冬、五味子、丹参、当归、茯神、石菖蒲、甘草组成。本团队在前期研究中已经证实,该方可通过调控EphA4/EphrinA3信号通路改善老年睡眠剥夺模型小鼠脑功能损伤^[8]。为了进一步阐明安寐丹调控促红细胞生成素产生肝细胞受体A4/Eph受体反应蛋白A3(EphA4/EphrinA3)信号通路的具体机制,并探明其下游关键效应,本研究在前期证实该方可下调该信号通路蛋白表达

的基础上,采用EphA4拮抗剂(钩藤碱)进行协同干预,旨在明确安寐丹是否通过抑制EphA4/EphrinA3信号轴,进而调控其下游Ras同源家族成员A(RhoA)/Rho相关卷曲螺旋形成蛋白激酶(ROCK)信号通路,从而改善突触可塑性、缓解认知损伤。本研究以期从多靶点、多通路层面,为中医药复方干预提供新的实验依据。

1 材料

1.1 动物 40只SPF级雄性C57小鼠(18月龄),体质量35~40 g,购于江苏华创信诺医药科技有限公司,合格证号SCXK(苏)2020-0009。根据《实验动物管理条例》进行集中饲养。保持实验动物房温度23~25℃,相对湿度50%~60%、所有实验动物均颗粒饲料、纯水饲养。适应性喂养1周后,采取数字表法进行随机分组。

1.2 伦理 本实验获得湖北中医药大学实验动物伦理委员会批准(HUCMS33540852)。

1.3 药物 参考课题组前期研究确定安寐丹药物组成及剂量^[5-8]:生酸枣仁(19 g,重庆医药集团杭州医药有限公司,批号240201),熟酸枣仁(19 g,河北康美制药股份有限公司,批号230501),人参11 g、麦冬11 g、茯神11 g、丹参7 g、石菖蒲4 g、甘草4 g(江阴天江药业有限公司,批号分别为231001、B23071401-01、B23120601-01、B23062502-01、

B23041801-01、B23010201-01),当归(11 g,亳州广源堂中药饮片有限公司,批号B23050801-01),五味子(4 g,安徽毫泰中药科技有限公司,批号23102603),均购于湖北中医药大学黄家湖校医院,经湖北中医药大学药学院游秋云教授鉴定符合药用标准。所有药物采用标准化煎煮工艺:将药材装入煎药机,武火煮沸后调至文火保持微沸煎煮30 min,滤取药液;药渣再加适量水煎煮1次,煎煮时间同上。合并两次滤液,浓缩至终质量浓度为含生药26.26 g·mL⁻¹的药液,置于4℃冰箱保存备用。该制备方法为本课题组前期建立的标准化流程,旨在保证药液质量的一致性、操作的规范性。

1.4 试剂 钩藤碱(Rhyncholphylline,上海源叶生物科技有限公司,批号B20453-20mg,纯度≥98%);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒、尼氏(Nissl)染色液(武汉普赛因斯生物科技有限公司,货号分别为G1005、G1036);实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)试剂盒(湖南艾科瑞生物工程有限公司,货号AG11701);兔源抗体EphA4、鼠源抗体甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、兔源抗体山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)-辣根过氧化物酶(HRP)、兔源抗体生长相关蛋白43(GAP43)、兔源抗体突触后密度蛋白95(PSD95)、兔源抗体突触素抗体(SYN)、兔源抗体脑源性神经营养因子(BDNF)(武汉爱博泰克生物科技有限公司,货号分别为A8346、A19056、A19055、AS014、A0131、A19122、A1307);兔源抗体EphrinA3、兔源抗体磷酸化(p)-EphA4、兔源抗体RhoA、兔源抗体Rho相关卷曲螺旋形成蛋白激酶1(ROCK1)、兔源抗体Rho相关卷曲螺旋形成蛋白激酶2(ROCK2)、兔源抗体线粒体神经元核抗原(NEUN)、兔源抗体胶质纤维酸性蛋白(GFAP)[亲和(武汉)生命科技有限责任公司,货号分别为DF3207、AF4375、AF6352、AF7016、DF7466、DF6145、DF6040]。

1.5 仪器 Ethovision XT16.0型自制水平平台睡眠剥夺箱/旷场(荷兰Noldus公司);EthoVision XT动物运动轨迹跟踪系统(诺达思信息技术公司);IX71型荧光倒置显微镜(日本Olympus公司),AVANTI J-15R型冷冻离心机(美国Beckman Coulter公司);043BR50095型电泳仪、SYSTEM Gel Doc XR⁺型凝胶成像分析系统(美国Bio-Rad公司);FastPreP-24型研磨仪(美国MP Bio公司);EVA 3100型超微量核酸蛋白检测仪、Q225型Real-time PCR仪(莫纳生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 模型制备 选择国际通用的改良多平台水环境法制备睡眠剥夺模型^[9]。自制睡眠剥夺箱内部设圆台直径3 cm,高5 cm。实验中箱内注水并低于平台,小鼠可在不同平台活动,当小鼠进入睡眠阶段因肌张力下降触碰水面造成睡眠剥夺。空白组其余设置同实验组,在圆台上放置铁丝网保证其正常睡眠。剥夺时间为首日12:00至次日8:00,其余时间放回饲养笼休息,实验持续4周^[10]。在整个实验过程中,未观察到小鼠出现体质量急剧下降、毛发凌乱、攻击行为或严重活动抑制等过度应激表现,表明该模型在维持基本生理状态的同时,能够较好地模拟长期睡眠剥夺所致的认知与神经功能变化。

2.2 分组及给药 小鼠随机分为空白组,模型组,Rhy拮抗剂组,Rhy拮抗剂加安寐丹组,每组10只。基于团队前期研究确定最优剂量,安寐丹给药量为26.26 g·kg⁻¹·d⁻¹,Rhy拮抗剂给药量为50 mg·kg⁻¹·d⁻¹^[11],模型组、空白组分别给予等容生理盐水,自动物开始造模后同步给药,连续给药28 d。

2.3 指标检测

2.3.1 旷场实验 使用50 cm×50 cm尺寸的黑色旷场测试箱,顶部配备摄像头记录动物行为。实验前,小鼠被置于箱内适应30 min以减少环境应激。每次测试后,使用75%乙醇消毒并擦拭测试区域。测试期间,小鼠自由活动持续5 min,记录运动总距离、平均速度、进入中央区次数和中央区停留时间。

2.3.2 昼夜节律实验 将小鼠置于检测箱,设置为光/暗节律12 h/12 h(8:00至20:00为光照,20:00至次日8:00为黑暗),保证自由摄食进水。安静环境中,自动监测小鼠24 h自发活动行为,统计小鼠光照活动、黑暗活动的总时间和总路程,分析小鼠黑暗与光照活动时间和路程差异。

2.3.3 样本采集 小鼠在取材前1 d禁食不禁水,每组随机选取3只小鼠,断头取脑,冰盘上剥离全脑,4%的多聚甲醛溶液固定荧光标本,其余小鼠取出脑组织,分离海马、皮质等组织,将样本分装于冰箱-80℃保存备用。

2.3.4 HE染色观察小鼠海马体组织 将海马体组织固定24 h,不同浓度乙醇脱水,石蜡包埋、冠状切片;切片放入苏木素碱性溶液中浸染后分化,脱水,伊红酸性染色液染色;脱水,滴入中性树胶,盖上盖玻片固封,光学显微镜下观察海马体组织细胞病理学改变。

2.3.5 Nissl染色检测神经元功能 全脑组织经多聚甲醛溶液固定,冲洗,石蜡包埋切片,二甲苯和乙醇脱蜡处理,Nissl染色液染色15 min,洗片,二甲苯透明,中性树胶封片后光学显微镜下进行观察。

2.3.6 Real-time PCR检测小鼠海马体 EphA4/EphrinA3 信号通路 mRNA 表达 以从转录水平验证该信号通路在睡眠剥夺模型中的变化及药物的干预效应。分离各组小鼠海马体组织,加入 TRIzol 试剂进行裂解后,添加三氯甲烷并 10 000×g,4℃条件下离心 10 min 处理。收集上层水相 RNA,依次加入异丙醇、乙醇混匀,经离心弃去上清液后,干燥 RNA 沉淀并溶于焦碳酸二乙酯(DEPC)水。对提取的 RNA 进行逆转录反应,以β-肌动蛋白(β-actin)作为内参基因,设置 PCR 仪反应条件:95℃预变性 10 min,随后进行 40 个循环(95℃变性 15 s、60℃退火延伸 60 s)。采用 2^{-ΔΔC_t}法计算目的基因的相对表达量,所用引物由武汉四维加生物科技有限公司合成,具体序列详见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
β-actin	上游 CCTCACTGTCCACCTTCC	120
	下游 GGGTGTAACGCAGCTC	
EphA4	上游 CTGTTCAGGGAGAGCTTGGG	158
	下游 GGTGATCCAGTCAGTTCGCA	
EphrinA3	上游 GGCATGCGGTATACTGGAAC	114
	下游 CTGAGCTGTTGTAGTGC GGA	

2.3.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 EphA4、EphrinA3、GFAP、NEUN、p-EphA4、RhoA、ROCK1、ROCK2 蛋白表达 将海马组织从-80℃取出后,依次进行称质量记录,加入组织裂解液研磨提蛋白,

聚氰基丙烯酸正丁酯(BCA)蛋白浓度测定配平后,放入 100℃水浴锅加热变性 10 min,根据目标蛋白分子量选取相应浓度十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶,制备上层胶和下层胶,接着上样,电泳,切胶,转膜,封闭,含吐温 20 的 Tris 缓冲盐溶液(TBST)清洗,孵育一抗工作液(稀释倍数 1:1 000),过夜,孵二抗工作液(稀释比 1:10 000),TBST 清洗,最后加入显影工作液,显影观察分析目标条带。

2.3.8 免疫荧光(IF)染色检测小鼠海马体 GAP43、BDNF、PSD95、SYN 蛋白表达,免疫荧光双标检测 EphA4 与 EphrinA3 共染表达 取脑组织固定后石蜡包埋,切片,脱蜡,洗涤通透,漂洗。加入 10% 血清室温下封闭 30 min,加相应指标蛋白的特异性一抗,4℃放置过夜,加荧光标记的二抗,避光室温孵育 60 min,孵育一抗(稀释倍数 1:1 000)、二抗(稀释倍数 1:10 000),滴加 DAPI 复染细胞核,倒掉工作液,TBST 缓冲液洗涤 3 次(5 min/次);最后荧光显微镜下观察拍照。

2.3.9 统计学方法 采用 SPSS 26.0 与 Image J 1.8.0 软件对数据进行处理与分析,旷场实验、昼夜节律实验数据采用重复测量方差分析,其余数据运用单因素方差分析组间比较,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠旷场实验的影响 与空白组比较,模型组小鼠总运动距离显著缩短,平均速度显著下降($P<0.01$),进入中央区次数及中央区停留时间显著减少($P<0.01$)。与模型组比较,拮抗剂组、拮抗剂加安寐丹组的总运动距离与平均速度均显著增加,进入中央区的次数及停留时间显著提升($P<0.01$)。见表 2、图 1。

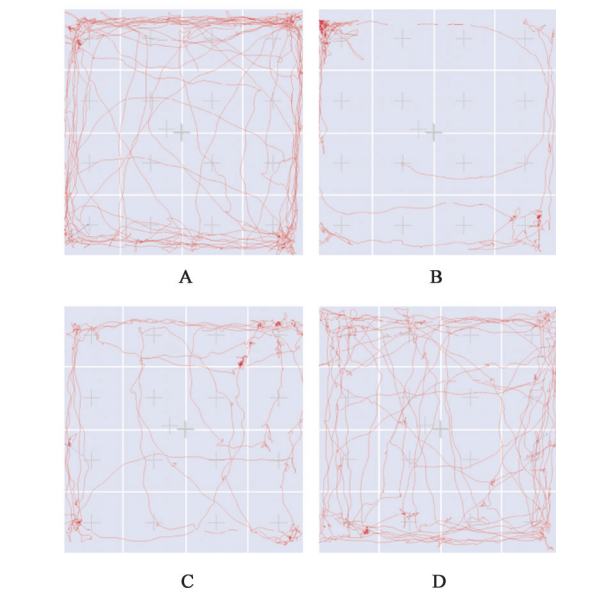
表 2 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠旷场实验的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 2 Effect of Anmei Dan(AMD) on open field test in aged sleep deprivation model mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	运动总距离/cm	平均速度/cm·s ⁻¹	进入中央区次数/次	中央区停留时间/s
空白组		2 344.44±181.74	7.81±0.61	21.25±1.37	42.53±4.25
模型组		575.74±178.99 ¹⁾	1.92±0.60 ¹⁾	5.17±0.62 ¹⁾	10.12±1.50 ¹⁾
拮抗剂组	0.05	1 053.08±36.45 ²⁾	3.51±0.12 ²⁾	10.60±1.19 ²⁾	20.87±2.88 ²⁾
拮抗剂+安寐丹组	0.05+26.26	1 761.96±98.52 ^{2,4)}	5.87±0.33 ^{2,4)}	17.43±1.51 ^{2,4)}	36.34±5.14 ^{2,4)}

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.01$;与拮抗剂组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表 3-表 8 同)

3.2 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠昼夜节律的影响 与空白组比较,模型组小鼠在黑暗环境和光照环境中的活动路程显著增加,活动时间也显著增加

($P<0.01$);与模型组比较,拮抗剂组、拮抗剂+安寐丹组小鼠在黑暗环境和光照环境中的活动路程较模型组均有所缩短,总活动时间显著减少($P<0.01$)。见表 3。



注：A. 空白组；B. 模型组；C. 拮抗剂组；D. 拮抗剂+安寐丹组
(图2-图7同)

图1 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠旷场轨迹的影响
Fig. 1 Effect of AMD on open field track plots in aged sleep deprivation model mice

表3 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠24 h光照、黑暗活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of AMD on 24-hour light and dark activity in aged sleep deprivation model mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	光照活动总时间/s	黑暗活动总时间/s	光照活动总路程/cm	黑暗活动总路程/cm	光照活动总时间/黑暗活动总时间
空白组		942.18±150.73	1 752.89±302.46	11 695.07±2 229.30	13 810.69±2 398.46	0.54
模型组		2 077.28±249.77 ¹⁾	2 578.48±279.56 ¹⁾	23 618.76±3 059.84 ¹⁾	26 570.25±3 262.59 ¹⁾	0.81
拮抗剂组	0.05	1 510.23±395.18 ²⁾	2 210.37±202.65 ²⁾	18 372.00±2 864.27 ²⁾	20 700.13±2 445.29 ²⁾	0.68
拮抗剂+安寐丹组	0.05+26.26	1 151.98±286.14 ^{2,3)}	1 954.13±295.14 ^{2,3)}	13 230.08±2 394.31 ^{2,4)}	16 726.10±2 348.28 ^{2,4)}	0.59

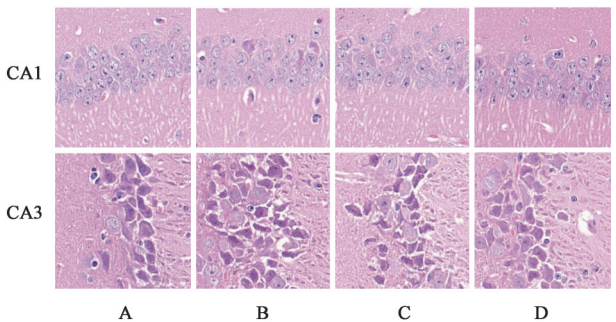


图2 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠海马CA1、CA3区神经元形态的影响(HE,×400)
Fig. 2 Effect of AMD on neuronal morphology in hippocampal CA1 and CA3 regions of aged sleep deprivation model mice (HE,×400)

3.5 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠海马体 EphA4、EphrinA3 mRNA 表达的影响 与空白组小鼠比较,模型组小鼠 EphA4、EphrinA3 mRNA 相对表达水平显著增加($P<0.01$);与模型组比较,拮抗剂组、

3.3 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠海马 CA1、CA3 区神经元形态结构的影响 海马 CA1、CA3 区 HE 染色结果表明,空白组小鼠海马组织多见神经细胞结构正常且排列清晰;而模型组神经细胞伴随显著异常损伤,具体表现为细胞核固缩、饱满度不佳、排列疏散不集中,且正常形态神经元数量明显减少。相较于模型组,拮抗剂组、拮抗剂+安寐丹组小鼠海马组织病理逐渐恢复趋之正常,神经细胞不仅形态圆润、排列更加整齐,且数量也明显增加。上述结果充分说明抑制 EphA4 蛋白表达可改善睡眠剥夺小鼠海马组织 CA1、CA3 区异常病理变化结果,而安寐丹与拮抗剂联用效果更明显。见图2。

3.4 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠海马 CA1、CA3 区 Nissl 体的影响 Nissl 染色结果显示,模型组小鼠海马 CA1、CA3 区域 Nissl 染色阳性神经元数目较正常组显著降低,提示睡眠剥夺小鼠海马组织神经细胞伴有严重变性和丢失。在拮抗剂、安寐丹干预后,上述现象均明显改善,说明抑制 EphA4 蛋白表达对睡眠剥夺小鼠神经元变性具有保护作用。见图3。

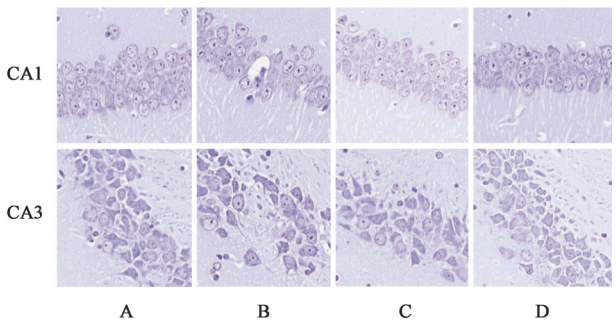


图3 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠海马CA1、CA3区Nissl体的影响(尼氏,×400)
Fig. 3 Effect of AMD on Nissl bodies in hippocampal CA1 and CA3 region of aged sleep deprivation model mice(Nissl,×400)

拮抗剂+安寐丹组的 EphA4、EphrinA3 mRNA 相对表达水平显著降低($P<0.01$)。见表4。

3.6 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠海马 EphA4/EphrinA3 信号通路蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组海马组织 NEUN 蛋白表达水平显著下降

表 4 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠海马 EphA4、EphrinA3 mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4 Effect of AMD on EphA4 and EphrinA3 mRNA expression in hippocampus of aged sleep deprivation model mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	EphA4	EphrinA3
空白组		1.00±0.01	1.00±0.01
模型组		3.10±0.02 ¹⁾	3.11±0.03 ¹⁾
拮抗剂组	0.05	1.91±0.01 ²⁾	1.94±0.01 ²⁾
拮抗剂+安寐丹组	0.05+26.26	1.51±0.01 ^{2,4)}	1.48±0.02 ^{2,4)}

($P<0.01$); EphA4、EphrinA3、GFAP 蛋白表达水平显著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,拮抗剂、拮抗剂+安寐丹组显著升高 NEUN 蛋白

表 5 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠 EphA4、EphrinA3、NEUN 和 GFAP 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 5 Effect of AMD on protein expression of EphA4, EphrinA3, NEUN, and GFAP in aged sleep deprivation model mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	EphA4/GAPDH	EphrinA3/GAPDH	NEUN/GAPDH	GFAP/GAPDH
空白组		0.46±0.02	0.49±0.02	0.99±0.03	0.54±0.03
模型组		1.03±0.05 ¹⁾	0.95±0.03 ¹⁾	0.50±0.02 ¹⁾	0.96±0.04 ¹⁾
拮抗剂组	0.05	0.68±0.03 ²⁾	0.82±0.02 ²⁾	0.75±0.02 ²⁾	0.80±0.03
拮抗剂+安寐丹组	0.05+26.26	0.51±0.04 ^{2,4)}	0.65±0.02 ^{2,3)}	0.94±0.03 ^{2,4)}	0.62±0.05 ^{2,4)}

3.7 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠海马 RhoA/ROCK 信号通路蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组海马组织 p-EphA4、ROCK1、ROCK2、RhoA

的表达水平,并明显降低 EphA4、EphrinA3 蛋白表达,差异具有统计学意义($P<0.05, P<0.01$);见图 4、表 5。

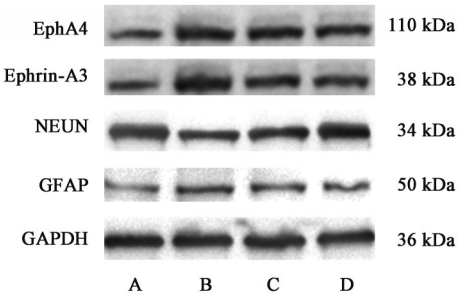


图 4 各组小鼠 EphA4、EphrinA3、NEUN 和 GFAP 蛋白表达电泳
Fig. 4 Electrophoresis of EphA4, EphrinA3, NEUN and GFAP protein expression in each group of mice

表 6 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠 p-EphA4、RhoA、ROCK1 和 ROCK2 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 6 Effect of AMD on protein expression of p-EphA4, RhoA, ROCK1, and ROCK2 in aged sleep deprivation model mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	p-EphA4/GAPHD	RhoA/GAPHD	ROCK1/GAPHD	ROCK2/GAPHD
空白组		0.35±0.04	0.26±0.02	0.26±0.02	0.31±0.05
模型组		0.93±0.05 ¹⁾	0.96±0.03 ¹⁾	0.92±0.02 ¹⁾	0.91±0.04 ¹⁾
拮抗剂组	0.05	0.71±0.04 ²⁾	0.69±0.06 ²⁾	0.86±0.01 ²⁾	0.76±0.03
拮抗剂+安寐丹组	0.05+26.26	0.55±0.02 ^{2,4)}	0.43±0.02 ^{2,4)}	0.63±0.08 ^{2,4)}	0.46±0.07 ^{2,4)}

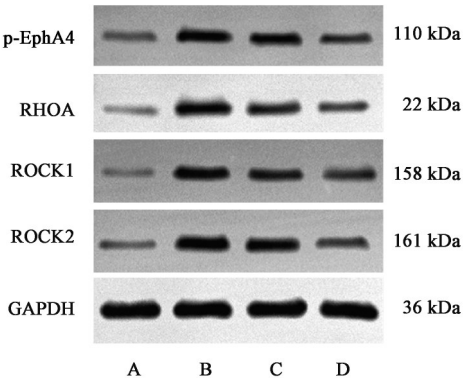


图 5 各组小鼠 p-EphAR、RhoA、ROCK1 和 ROCK2 蛋白表达电泳
Fig. 5 Electrophoresis of p-EphAR、RhoA、ROCK1 and ROCK2 protein expression in each group of mice

3.8 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠 IF 结果的影响 与空白组比较,模型组小鼠海马体 BDNF、GAP43、PSD95、SYN 荧光信号显著减弱($P<0.01$);与模型组比较,拮抗剂组与拮抗剂+安寐丹组 BDNF、GAP43、PSD95、SYN 荧光强度显著增强($P<0.01$)。见表 7 和图 6。

3.9 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠 EphA4 和 EphrinA3 蛋白的影响 采用免疫荧光双标分别将 EphA4 蛋白与 EphrinA3 蛋白,EphA4 蛋白用红色标记,EphrinA3 蛋白用绿色标记,并用 DAPI 标记细胞核。与空白组比较,模型组小鼠海马体 EphA4、EphrinA3 荧光信号显著增强($P<0.01$);与模型组比

表 7 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠 BDNF、GAP43、PSD95 和 SYN 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	BDNF	GAP43	PSD95	SYN
空白组		97.03±10.67	93.47±13.25	101.79±8.03	91.28±12.94
模型组		23.75±5.32 ¹⁾	22.62±4.91 ¹⁾	21.31±6.18 ¹⁾	22.18±3.13 ¹⁾
拮抗剂组	0.05	48.28±6.77 ²⁾	44.19±6.02 ²⁾	52.84±10.09 ²⁾	56.35±11.63 ²⁾
拮抗剂+安寐丹组	0.05+26.26	77.67±8.97 ^{2,4)}	81.95±6.13 ^{2,4)}	75.02±6.59 ^{2,4)}	82.51±7.01 ^{2,4)}

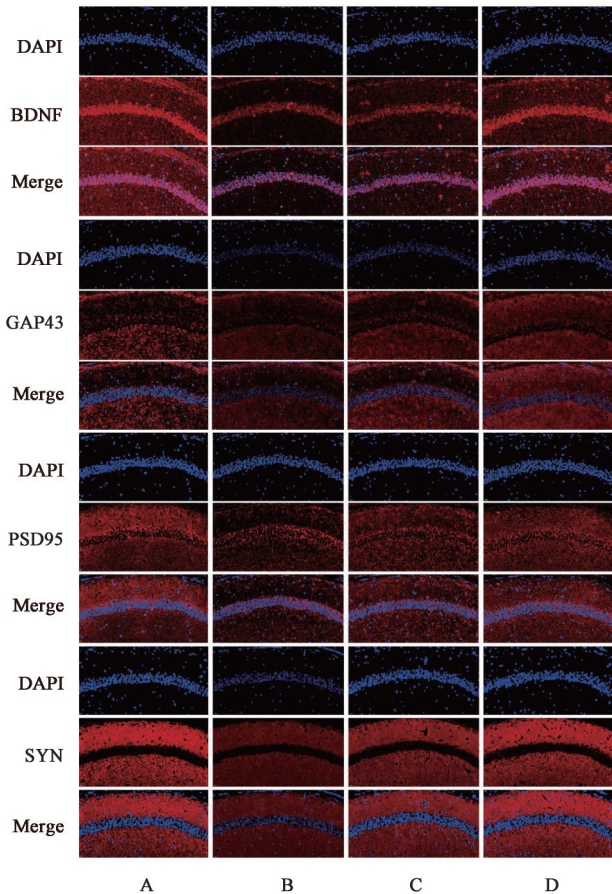


图 6 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠 BDNF、GAP43、PSD95 和 SYN 蛋白表达的影响 (免疫荧光, ×400)

Fig. 6 Effect of AMD on protein expression of BDNF, GAP43, PSD95, and SYN in aged sleep deprivation model mice (IF, ×400)

较,拮抗剂组与拮抗剂加安寐丹组 EphA4、EphrinA3 荧光强度显著降低($P<0.01$)。见图 7 和表 8。

4 讨论

安寐丹系清代医家陈士铎所著《石室秘录》中培元安神之代表方剂,全方以人参大补元气为君,生、熟酸枣仁共用以养血宁心为臣,佐麦冬、五味子益气养阴,茯神以增安神之效,当归、丹参调和气 血,石菖蒲醒脑益智,甘草和中调药。诸药合用,共奏培元固本、养心安神之功,契合老年失眠元气亏 虚、心神失养之核心病机。本研究在前期团队研究 基础上,进一步验证了安寐丹可能通过下调 EphA4/

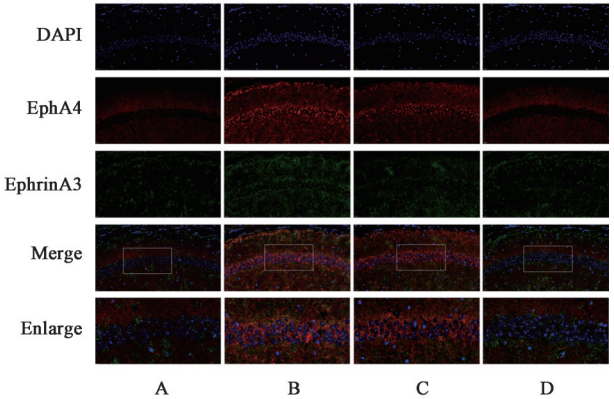


图 7 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠 EphA4、EphrinA3 蛋白表达的影响 (免疫荧光, ×400)

Fig. 7 Effect of AMD on protein expression of EphA4 and EphrinA3 in aged sleep deprivation model mice (IF, ×400)

表 8 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠 EphA4、EphrinA3 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	EphA4	EphrinA3
空白组		38.54±5.62	28.51±3.86
模型组		94.14±5.65 ¹⁾	82.95±7.55 ¹⁾
拮抗剂组	0.05	75.67±4.95 ²⁾	59.53±3.52 ²⁾
拮抗剂+安寐丹组	0.05+26.26	42.51±6.25 ^{2,4)}	32.05±4.73 ^{2,4)}

EphrinA3 信号通路,进而抑制其下游 RhoA/ROCK 信号通路,从多层面改善老年睡眠剥夺模型小鼠的突触可塑性与认知功能。

海马体是与学习和记忆密切相关的关键大脑区域^[12-13],长期的慢性睡眠剥夺会抑制海马体细胞的增殖,降低神经元存活率,导致认知和记忆等神经行为受损和退化^[14-15]。本研究证实,长期睡眠剥夺可导致老年小鼠昼夜节律混乱,海马神经元排列紊乱、Nissl 体数量减少,突触超微结构受损,提示模型小鼠出现了显著的认知功能障碍与突触结构损伤。本研究进一步通过 Real-time PCR 检测发现,模型组海马 EphA4 和 EphrinA3 的 mRNA 表达显著升高,而安寐丹及其与拮抗剂联用可有效下调其 mRNA 水平,与蛋白表达结果一致,提示安寐丹可

能在转录水平抑制该通路的激活,从而改善突触可塑性及认知功能。在分子层面,模型组海马组织中 EphA4/EphrinA3 信号通路被异常激活,表现为 EphA4 与 EphrinA3 的蛋白及 mRNA 表达水平均显著上调。该结果与团队前期研究及文献报道相符^[8],进一步印证了 EphA4/EphrinA3 信号通路在睡眠剥夺致突触可塑性损害中的关键作用。值得注意的是,模型组海马组织中 EphA4/EphrinA3 信号通路被异常激活,其下游的 RhoA/ROCK 信号通路关键蛋白表达也显著升高。RhoA/ROCK 信号通路是调控细胞骨架动力学、影响神经元形态与突触可塑性的关键下游效应器^[16-17]。RhoA/ROCK 信号通路的激活可导致胞骨架重排并抑制神经突生长^[18]。本研究在老年睡眠剥夺模型中同时观测到该通路上游(EphA4/EphrinA3)与下游(RhoA/ROCK)的协同激活,为睡眠剥夺损害突触结构的机制提供了更为完整的信号传导视角。

在神经系统中,突触是信息传递的关键结构,其可塑性是学习与记忆的细胞基础^[19-20]。BDNF 是关键的神经营养因子,在神经元存活、分化和突触可塑性中起着重要作用^[21-22];SYN 是一种广泛分布于神经末梢的突触前膜蛋白,参与突触结构和功能变化,与 BDNF 在突触重塑中密切相关^[23-24];PSD95 在增强突触可塑性方面发挥着关键作用,对突触形成和稳定至关重要^[25-26];GAP43 是一种参与轴突生长锥动力学的重要蛋白质,在轴突再生中起着关键作用^[27-28]。此外,GFAP 是星形胶质细胞的一种特异中间丝蛋白,其表达水平的增加通常表明星形胶质细胞的形态和功能变化^[29],星形胶质细胞在脑损伤时被转化为反应性表型,其特征是细胞体肥大和 GFAP 的表达增加^[30];NEUN 是一种神经元特异性核蛋白,作为识别大脑不同区域成熟神经元的可靠标志^[31-32]。尤为重要的是,这些突触蛋白的表达恢复,与 EphA4/EphrinA3-RhoA/ROCK 信号轴的抑制相伴随,提示安寐丹可能通过解除该轴对细胞骨架和突触组装的不利抑制,从而创造有利于突触修复与重塑的细胞内环境。

Rhy 是一种植物来源的吡咯生物碱,在保护中枢神经系统和心血管系统方面都非常有效^[33]。其是从中药钩藤(*Uncaria rhynchophylla*)中提取的一种小分子生物碱,已被证实可以有效阻断 EphA4/EphrinA3 信号通路^[34],所以选择 Rhy 作为本研究的拮抗剂。本研究的关键发现在于,通过联合使用 EphA4/EphrinA3 信号通路拮抗剂,揭示了安寐丹多途径作用的特点。结果显示,尽管拮抗剂本身可通

过阻断 EphA4/EphrinA3 信号通路部分改善认知损伤,但安寐丹与拮抗剂联合应用呈现出更优的改善趋势,一方面,安寐丹可协同拮抗剂加强对 EphA4/EphrinA3 信号通路的抑制;另一方面,其还通过独立调控该网络下游的 BDNF 等神经营养信号,并正向调节 SYN、PSD95、GAP43 等一系列构成突触结构与功能核心的蛋白表达,从而在多层面上巩固和拓展了针对突触可塑性的保护作用。笔者对下游关键蛋白的检测发现,安寐丹在联合用药情境下,能显著提升脑源性神经营养因子 BDNF 及突触前膜蛋白 SYN、突触后密度蛋白 PSD95、神经元生长发育相关蛋白 GAP43 的表达水平。免疫荧光结果进一步在细胞形态学层面验证了这些关键蛋白的表达变化。结合 Western blot 结果中 NEUN 表达的上调与 GFAP 表达的下降,可知安寐丹在改善神经元功能的同时,亦能调节星形胶质细胞的异常活化状态。

睡眠剥夺通过激活 EphA4/EphrinA3 信号通路,启动下游 RhoA/ROCK 信号级联,导致突触可塑性受损,表现 SYN、PSD95 等突触相关蛋白表达下调;星形胶质细胞活化,GFAP 表达升高;神经元损伤,NEUN 表达下降及 Nissl 体减少。这些分子和细胞层面的改变最终导致小鼠自主活动下降、昼夜节律紊乱及认知功能障碍。安寐丹通过多靶点干预发挥改善作用,实验结果显示,联合用药组在多项指标上显著优于单纯拮抗剂组,表明安寐丹与钩藤碱具有明确的协同增效作用。在通路核心分子层面,联合用药组对 EphA4、EphrinA3 及其下游 p-EphA4、RhoA、ROCK1/2 的抑制作用均强于拮抗剂组,提示安寐丹可协同增强对 EphA4/EphrinA3-RhoA/ROCK 信号通路的抑制。在突触可塑性方面,联合用药组 BDNF、SYN、PSD95、GAP43 表达显著高于拮抗剂组,表明安寐丹在通路抑制之外,还能直接上调神经营养及突触结构蛋白。此外,联合用药组 GFAP 表达降低、NEUN 表达升高,神经炎症减轻、神经元保护更优。行为学上,联合用药组自主活动、探索行为及昼夜节律恢复亦更明显。上述结果提示,安寐丹的作用机制包括两方面:与拮抗剂协同抑制 EphA4/EphrinA3 信号通路激活;独立调控突触可塑性相关蛋白表达,发挥多靶点协同干预优势。

综上所述,本研究证实 EphA4/EphrinA3 信号通路及其下游的 RhoA/ROCK 信号通路共同参与老年睡眠剥夺所致的认知损害,其机制涉及突触可塑性

破坏、神经炎症及潜在的异常突触修剪。安寐丹不仅能抑制该通路的过度激活,还能广泛上调多种突触功能蛋白,其多靶点协同作用的特点在与特异性拮抗剂联用时得到充分体现。本研究为阐明安寐丹的作用机制提供了新的实验证据与更广阔的视角,下一步研究将通过正反验证方法(如增加EphA4激动剂)、细胞实验、多组学实验(如转录组学、蛋白质组学)等技术,进一步在细胞与分子层面全面阐明安寐丹改善睡眠剥夺致老年认知障碍的作用机制与物质基础。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

【参考文献】

- [1] FANG J, WANG Z, YU J, et al. Modified life's essential 8 mediate the correlation between dietary index for gut microbiota and sleep disorders [J]. *Front Nutr*, 2025, 12: 1611714.
- [2] LANGSTENGEL J, YAGGI H K. Sleep deficiency and opioid use disorder: Trajectory, mechanisms, and interventions [J]. *Clin Chest Med*, 2022, 43(2): e1-e14.
- [3] HUANG H, ZHUANG Z, WAN Y, et al. Knowledge structure and emerging trends of mild cognitive impairment with dyssomnias in recent 20 years: A bibliometric analysis via citespace and VOSviewer [J]. *Behav Neurol*, 2024, doi: 10.1155/2024/6622212.
- [4] YANG Y L, SU H, LU H, et al. The effect of locomotive syndrome on the trajectory of sleep disturbance in geriatric oncology inpatients [J]. *Front Oncol*, 2025, 15: 1440747.
- [5] 郭蕴源,邵玉萍,曾秋婵,等. 基于BDNF/TrkB/CREB信号通路探讨有氧运动联合安寐丹对睡眠剥夺大鼠学习记忆及突触可塑性的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20250618.
- GUO Y Y, SHAO Y P, ZENG Q C, et al. Exploring effects of aerobic exercise combined with anmeidan on learning memory and synaptic plasticity in sleep-deprived rats based on BDNF/TrkB/CREB signaling pathway [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2025, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20250618.
- [6] 谢光璟,徐子绚,张军路,等. 基于海马神经炎症探讨安寐丹对睡眠剥夺大鼠模型神经元损伤的保护作用及机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(10): 65-71.
- XIE G J, XU Z X, ZHANG J L, et al. Protective effect and mechanism of anmeidan against neuronal damage in rat model of sleep deprivation based on hippocampal neuroinflammation [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2025, 31(10): 65-71.
- [7] 纪可,王平,谭云霞,等. 安寐丹治疗成人慢性失眠的多中心随机对照临床试验[J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(12): 6890-6893.
- JI K, WANG P, TAN Y X, et al. Anmeidan in treating chronic insomnia in adults: A multicenter randomized controlled clinical trial [J]. *Chin J Trad Chin Med Pharm*, 2024, 39(12): 6890-6893.
- [8] 张军路,谢光璟,王平. 基于EphA4/ephrinA3信号通路探讨安寐丹改善老年睡眠剥夺模型神经元突触结构功能损伤的作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2026, 32(6): 36-45.
- ZHANG J L, XIE G J, WANG P. Effect of anmeidan in ameliorating neuronal synaptic structural and functional impairment in aged sleep deprivation model via EphA4/ephrinA3 signaling pathway [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2026, 32(6): 36-45.
- [9] 文纯. 生慧汤改善睡眠剥夺模型小鼠学习记忆的物质基础和P2X7R/p38MAPK炎症机制研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2023.
- WEN C. Study on the material basis and inflammatory mechanism of P2X7R/p38MAPK of Shenghui decoction improves the learning and memory in sleep deprivation model mice [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2023.
- [10] 尹超,游秋云,张美娅,等. 生慧汤对慢性睡眠剥夺小鼠学习记忆及海马IL-6, TNF- α , COX-2基因表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(1): 96-100.
- YIN C, YOU Q Y, ZHANG M Y, et al. Effect of Shenghuitang on learning memory, levels of IL-6, TNF- α and COX-2 in hippocampus of chronic sleep deprivation mice [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2019, 25(1): 96-100.
- [11] FU W Y, HUNG K W, LAU S F, et al. Rhynchophylline administration ameliorates Amyloid- β pathology and inflammation in an Alzheimer's disease transgenic mouse model [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2021, 12(22): 4249-4256.
- [12] GUAN S, XIN Y, REN K, et al. Mechanism of microwave radiation-induced learning and memory impairment based on hippocampal metabolomics [J]. *Brain Sci*, 2024, 14(5): 441.
- [13] YUAN Q, GONG H, DU M, et al. Milk fat globule membrane supplementation to obese rats during pregnancy and lactation promotes neurodevelopment in offspring via modulating gut microbiota [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 945052.
- [14] YIN C, ZHANG M, CHENG L, et al. Melatonin modulates TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway to ameliorate cognitive impairment in sleep-deprived rats [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1430599.
- [15] LI Z H, CHENG L, WEN C, et al. Activation of CNR1/PI3K/AKT pathway by tanshinone II_A protects hippocampal neurons and ameliorates sleep deprivation-induced cognitive dysfunction in rats [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 823732.
- [16] MEDD M M, YON J E, DONG H. RhoA/ROCK/GSK3 β signaling: A keystone in understanding Alzheimer's disease [J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2025, 47(2): 124.
- [17] THOMAS R A, GIBON J, CHEN C X Q, et al. The Nogo receptor ligand LGII regulates synapse number and synaptic activity in hippocampal and cortical neurons [J]. *eNeuro*, 2018, 5(4): eneuro.0185-18. 2018.
- [18] ISAKSEN T J, FUJITA Y, YAMASHITA T. Repulsive

- guidance molecule a suppresses adult neurogenesis[J]. Stem Cell Rep, 2020, 14(4): 677-691.
- [19] QIAN Q, LUO W L. A network pharmacology method explores the molecular mechanism of *Coptis chinensis* for the treatment of Alzheimer's disease[J]. Medicine (Baltimore), 2024, 103(5): e37103.
- [20] YU C J, WANG M, LI R Y, et al. TREM2 and microglia contribute to the synaptic plasticity: From physiology to pathology[J]. Mol Neurobiol, 2023, 60(2): 512-523.
- [21] WANG Q, GENG Y, LI X, et al. The progress of cognitive dysfunction impairment caused by temporal lobe epilepsy[J]. J Mol Neurosci, 2025, 75(3): 81.
- [22] 陈挺, 李帅印, 杨万林, 等. 当归防治阿尔茨海默病的作用机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, doi: 10. 13422/j. cnki. syfjx. 20252244.
- CHEN T, LI S Y, YANG W L, et al. Research progress on mechanism of *Angelica sinensis* in prevention and treatment of Alzheimer's disease [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, doi: 10. 13422/j. cnki. syfjx. 20252244.
- [23] SUN Y, LI X, DONG Y, et al. Effect of visual stimulation on epilepsy susceptibility in neonatal hypoglycemic brain injury rats during development [J]. Front Neurol, 2025, 16: 1587200.
- [24] HUANG J, SHEN C, YE R, et al. The effect of early maternal separation combined with adolescent chronic unpredictable mild stress on behavior and synaptic plasticity in adult female rats[J]. Front Psychiatry, 2021, 12: 539299.
- [25] LIM Y J, SEO M S, PARK W T, et al. Extracellular vesicle-derived MicroRNAs as potential therapies for spinal cord and peripheral nerve injuries[J]. RNA Biol, 2025, 22(1): 1-9.
- [26] WANG S, YU X, CHENG L, et al. Dexmedetomidine improves the circulatory dysfunction of the glymphatic system induced by sevoflurane through the PI3K/AKT/ Δ FosB/AQP4 pathway in young mice[J]. Cell Death Dis, 2024, 15(6): 448.
- [27] YANG G, GUAN C, LIU M, et al. Electroacupuncture for the treatment of ischemic stroke: A preclinical meta-analysis and systematic review[J]. Neural Regen Res, 2026, 21(3): 1191-1210.
- [28] ZHU S, CHEN M, DENG L, et al. The repair and autophagy mechanisms of hypoxia-regulated bFGF-modified primary embryonic neural stem cells in spinal cord injury [J]. Stem Cells Transl Med, 2020, 9(5): 603-619.
- [29] QI M M, PENG H Y, ZHANG T G, et al. NaHS modulates astrocytic EAAT2 expression to impact SNI-induced neuropathic pain and depressive-like behaviors[J]. Sci Rep, 2025, 15(1): 2874.
- [30] KOYAMA Y. Functional alterations of astrocytes in mental disorders: Pharmacological significance as a drug target[J]. Front Cell Neurosci, 2015, 9: 261.
- [31] MULAUDZI P E, ABRAHAMSE H, CROUS A. Impact of photobiomodulation on neural embryoid body formation from immortalized adipose-derived stem cells [J]. Stem Cell Res Ther, 2024, 15(1): 489.
- [32] RAMESH M, BALACHANDRA C, KUMAR A, et al. Combating multiple aetiologies of Alzheimer's disease to rescue behavioural deficits [J]. Chem Sci, 2025, 16(27): 12476-12492.
- [33] GEETHA R G, RAMACHANDRAN S. Recent advances in the anti-inflammatory activity of plant-derived alkaloid rhynchophylline in neurological and cardiovascular diseases [J]. Pharmaceutics, 2021, 13(8): 1170.
- [34] JAROSZ-GRIFFITHS H H, NOBLE E, RUSHWORTH J V, et al. Amyloid- β receptors: The good, the bad, and the prion protein[J]. J Biol Chem, 2016, 291(7): 3174-3183.

[责任编辑 周冰冰]