

安寐丹调控 CX3CL1/CX3CR1 信号通路介导海马炎症改善老年睡眠剥夺小鼠学习记忆的作用机制

王力春^{1,2}, 王子傲^{1,2}, 马金旭¹, 蔡玉峰^{2,3}, 刘汇真^{2,3}, 王平^{2,4}, 谢光璟^{2,4*}

(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. 湖北中医药大学中医学院, 武汉 430061; 4. 湖北时珍实验室, 武汉 430065)

[摘要] 目的:探讨安寐丹(AMD)对老年睡眠剥夺模型 C-X3-C 基序趋化因子配体 1(CX3CL1)/C-X3-C 趋化因子受体 1(CX3CR1)信号通路蛋白表达、海马炎症及学习记忆的影响。方法:60 只老年 C57 小鼠随机分为空白组、模型组、褪黑素组($1.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),安寐丹高、中、低剂量组($26.26, 13.13, 6.565 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),每组 10 只。通过自制睡眠剥夺箱进行连续性睡眠剥夺 4 周。Y 迷宫检测小鼠的认知功能水平;苏木素-伊红(HE)染色和尼氏染色观察海马 CA1 区和 DG 区的锥体细胞形态学改变;高尔基染色观察海马突触形态结构;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测海马组织炎症因子白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、前额皮质 IL-10 水平;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测 M1 型[分化簇 86(CD86)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)]和 M2 型[甘露糖受体(CD206)、精氨酸酶 1(Arg1)]巨噬细胞标志物;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测海马中 CX3CL1、CX3CR1、磷酸化核转录因子- κ B p65 亚基(p-NF- κ B p65)、磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p-p38 MAPK)的蛋白表达水平;免疫荧光双标分别将 CX3CR1 与离子钙接头蛋白 1(Iba-1)进行共染,观察目标蛋白与小胶质细胞的共定位情况。结果:与空白组比较,模型组小鼠昼夜活动紊乱,自发交替反应率显著降低($P < 0.01$);海马神经元形态、排列松散紊乱,胞内尼氏体和树突棘数量减少($P < 0.01$);IL-6、IL-10、IL-1 β 、TNF- α 和 CX3CL1、CX3CR1、p-NF- κ B p65、p-p38 MAPK、Iba-1 蛋白和 CD86、iNOS mRNA 相对表达量显著上调($P < 0.01$),CD206、Arg1 mRNA 表达明显减少($P < 0.05, P < 0.01$)。与模型组比较,褪黑素组和安寐丹中、高剂量组小鼠自发交替率显著提高($P < 0.01$);海马 CA1 区和 DG 区神经元形态、数量及棘密度相对改善($P < 0.01$);IL-6、IL-10、IL-1 β 、TNF- α 含量明显降低($P < 0.05, P < 0.01$);CX3CL1、CX3CR1、p-NF- κ B p65、p-p38 MAPK、Iba-1 蛋白和 CD86、iNOS mRNA 表达降低,CD206、Arg1 mRNA 表达升高($P < 0.01$)。结论:安寐丹可能通过 CX3CL1/CX3CR1 信号通路介导神经炎症,改善老年睡眠剥夺模型小鼠学习记忆能力。

[关键词] 安寐丹;老年睡眠剥夺;神经炎症;学习记忆;C-X3-C 基序趋化因子配体 1(CX3CL1)/C-X3-C 趋化因子受体 1(CX3CR1)信号通路

[中图分类号] R289;R259;R285 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2026)17-0097-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20260303

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20260312.1357.004>

[网络出版日期] 2026-03-13 09:59:51



Anmei Dan Regulates Hippocampal Inflammation via CX3CL1/CX3CR1 Signaling Pathway to Improve Learning and Memory in Aged Sleep-deprived Mice

WANG Lichun^{1,2}, WANG Zi'ao^{1,2}, MA Jinxu¹, CAI Yufeng^{2,3}, LIU Huizhen^{2,3},

WANG Ping^{2,4}, XIE Guangjing^{2,4*}

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

2. Engineering Research Center of Chinese Medicine Protection Technology and New Product Development for Elderly Brain Health of Ministry of Education, Hubei University of Chinese Medicine,

[收稿日期] 2025-11-25

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82305354)

[第一作者] 王力春,在读硕士,从事中医延缓衰老理论及应用研究,E-mail:1121953171@qq.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

Wuhan 430065, China; 3. College of Traditional Chinese Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, China; 4. Hubei Shizhen Laboratory, Wuhan 430065, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Anmei Dan (AMD) on the expression of proteins in the C-X3-C motif chemokine ligand 1 (CX3CL1)/C-X3-C chemokine receptor 1 (CX3CR1) signaling pathway, hippocampal inflammation, and learning and memory in an aged sleep-deprived model. **Methods:** Sixty aged C57 mice were randomly assigned into a control group, a model group, a melatonin group ($1.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), and high-, medium-, and low-dose AMD groups (26.26 , 13.13 , $6.565 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, respectively), with 10 mice per group. Continuous sleep deprivation was administered for 4 weeks through a custom-built sleep deprivation chamber. The cognitive function of mice was assessed via the Y-maze test. Histomorphological alterations in pyramidal cells of the hippocampal CA1 and DG regions were examined by hematoxylin-eosin (HE) and Nissl staining. Synaptic morphology in the hippocampus was visualized with Golgi staining. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was employed to measure the levels of inflammatory cytokines interleukin- 1β (IL- 1β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the hippocampal tissue as well as the level of interleukin-10 (IL-10) in the prefrontal cortex. Real-time PCR was performed to detect markers of M1-type [cluster of differentiation (CD) 86 and inducible nitric oxide synthase (iNOS)] and M2-type [CD206 and arginase 1 (Arg1)] macrophages. Western blot was employed to quantify the protein levels of CX3CL1, CX3CR1, phosphorylated nuclear factor κB p65 subunit (p-NF- κB p65), and phosphorylated p38 mitogen-activated protein kinase (p-p38 MAPK) in the hippocampus. Immunofluorescence double staining was performed to co-label CX3CR1 with ionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba-1) for observation of the co-localization of target proteins with microglia. **Results:** Compared with the control group, the model group exhibited disrupted daily activity patterns with reduced spontaneous alternation rates ($P < 0.01$), disorganized morphology and arrangement of hippocampal neurons, accompanied by reduced numbers of Nissl bodies and dendritic spines ($P < 0.01$), upregulated protein levels of IL-6, IL-10, IL- 1β , TNF- α , CX3CL1, CX3CR1, p-NF- κB p65, p-p38 MAPK, and Iba-1 and mRNA levels of CD86 and iNOS ($P < 0.01$), and downregulated mRNA levels of CD206 and Arg1 ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, the melatonin group and medium- and high-dose AMD groups showed increased spontaneous alternation rates ($P < 0.01$), improved neuronal morphology, number, and spine density in the hippocampal CA1 and DG regions ($P < 0.01$), declined levels of IL-6, IL-10, IL- 1β , and TNF- α ($P < 0.05$, $P < 0.01$), downregulated protein levels of CX3CL1, CX3CR1, p-NF- κB p65, p-p38 MAPK, and Iba-1 and mRNA levels of CD86 and iNOS, and upregulated mRNA levels of CD206 and Arg1 ($P < 0.01$). **Conclusion:** AMD may improve the learning and memory in aged sleep-deprived mice by mediating neuroinflammation through the CX3CL1/CX3CR1 signaling pathway.

[Keywords] Anmei Dan; aged sleep deprivation; neuroinflammation; learning and memory; C-X3-C motif chemokine ligand 1 (CX3CL1)/C-X3-C motif chemokine receptor 1 (CX3CR1) signaling pathway

健康的睡眠对心理健康、认知功能、免疫功能等方面均具有关键的调节作用,尤其在记忆形成过程中具有重要影响^[1-2]。随着我国人口老龄化不断加剧,老年人群罹患睡眠障碍和阿尔茨海默病概率逐年攀升^[3-4],其中睡眠剥夺是老年睡眠障碍的主要表现形式之一。研究显示,睡眠剥夺不仅会导致生活质量下降,还会增加阿尔茨海默病、抑郁症、帕金森等疾病的风险^[5-6],已经成为我国老年人群致死致残的主要诱因之一^[7-8]。故开展老年人群睡眠与认知研究对于提升老年人生活质量,延缓脑衰老具有重要的现实意义。

长期睡眠剥夺会触发促炎细胞因子释放、突触可塑性受损等,进而导致神经元损伤^[9-10]。研究表明,减轻神经炎症已经成为治疗认知障碍的重要靶点,其中 C-X3-C 基序趋化因子配体 1 (CX3CL1)/C-X3-C 趋化因子受体 1 (CX3CR1) 信号通路是神经炎症关键信号通路,并控制免疫过程^[11-12]。中医将睡眠剥夺归属为“不寐”范畴,病机为“阴阳失交,心

神不宁”。中医药诊治不寐历史悠久,如清代医家陈士铎所创方剂安寐丹是其代表方之一,具有培元固本、安神益智的功效。团队前期研究发现该方改善睡眠剥夺模型动物的昼夜节律紊乱和学习记忆能力,并且可以增加神经营养因子水平等发挥保护神经作用^[13],但该过程是否涉及降低全身慢性炎症并修复神经元以增强记忆能力尚不清楚。为此,本实验拟围绕 CX3CL1/CX3CR1 信号通路调控神经炎症水平展开研究,探讨安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠学习记忆及海马突触可塑性的作用机制,为老年睡眠剥夺及所致认知损伤的防治提供理论依据和实验支持。

1 材料

1.1 动物 60 只 SPF 级雄性 C57 小鼠 (18 月龄), 体重 $35 \sim 40 \text{ g}$, 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 $23 \sim 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 $50\% \sim 60\%$ 、所有实验动物均为

颗粒饲料、纯水饲养。适应性喂养1周后,采取随机数字表法进行分组。

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 药物及试剂 参考课题组前期研究确定安寐丹药物组成及剂量^[14]: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),当归11 g(亳州广源堂中药饮片有限公司,批号231001),五味子4 g(安徽亳泰中药科技有限公司,批号23102603),人参11 g、麦冬11 g、茯神11 g、丹参7 g、甘草4 g、石菖蒲4 g(江阴天江药业有限公司,批号分别为B23071401-01、B23120601-01、B23050801-01、B23062502-01、B23010201-01、B23041801-01),所有药材经湖北中医药大学药学院游秋云教授鉴定符合药用标准。所有药物装入煎药机,武火煎开调至文火煎煮30 min后过滤。煎煮2次,合并2次药液最终浓缩成含生药26.26 g·mL⁻¹的药液,4℃分装保存备用;褪黑素(上海麦克林生化科技股份有限公司,批号C14896562);小鼠白细胞介素(IL)-6、IL-10、IL-1β、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(武汉普赛因斯生物科技有限公司,批号分别为BP02534、BP03406、BP03389、BP02126);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒、尼氏染色液(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号分别为G1005、G1036);兔源单克隆抗体CX3CR1、兔源单克隆抗体CX3CL1、核转录因子-κB p65亚基(NF-κB p65)、磷酸化(p)-NF-κB p65、p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)、p-p38 MAPK、重组辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗兔二抗、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、离子钙接头蛋白-1(Iba-1)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号分别为66915-1-Ig、60339-1-Ig、80979-1-RR、82335-1-RR、14064-1-AP、28796-1-AP、80762-1-RR、60004-1-Ig、10904-1-AP);TRIzol(北京索莱宝科技有限公司,货号R1100);Evo M-MLV反转录预混型试剂盒Ver.2、SYBR® Green Pro Taq HS预混型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)试剂盒(英国Agbio公司,货号AG11728、AG11701)。

1.4 仪器 自制水平平台睡眠剥夺箱;Spectra Max M5型多功能酶标仪(美国Molecular Devices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);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 采用改良的多平台水环境睡眠剥夺进行造模^[15]。在睡眠剥夺箱中放入用于睡眠剥夺的小圆台(直径3 cm,高度5 cm),小圆台之间间距为3 cm,箱内注入水并低于平台1 cm,动物可以在圆台之间跳跃活动,当小鼠进入睡眠阶段时因肌张力下降触碰水面而保持清醒。空白组制造同样水环境但增加圆台直径保证动物能够正常睡眠而不掉入水中,剥夺时间为每日12:00至次日的8:00,造模持续4周。除造模时间外,其余时间小鼠正常喂养。

2.2 分组及给药 小鼠随机分为空白组,模型组,褪黑素组,安寐丹低、中、高剂量组,每组10只。依据中药药理研究方法学(第2版)小鼠与人药物剂量折算,安寐丹高、中、低剂量组给药量分别为26.26、13.13、6.565 g·kg⁻¹·d⁻¹,褪黑素组给药剂量为1.3 mg·kg⁻¹·d⁻¹,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 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,用于后续切片的制作。其余小鼠取出脑组织,分离海马和皮质等组织,将样本分装于-80℃冰箱保存备用。

2.4 指标检测

2.4.1 自发活动昼夜节律检测 检测时将各组小鼠从睡眠剥夺箱中移入自发活动检测箱中进行实时监测。实验检测保持周围环境安静密闭,防止外界干扰。各组小鼠在自主活动箱中自由活动,分别在0:00、6:00、12:00、18:00共4个时间点记录1次,累计计算小鼠的活动路程及活动时间^[16]。实验期间小鼠可自由活动、摄食。

2.4.2 Y迷宫检测 Y迷宫^[17]实验由3个不透明的塑料臂组成,每2个臂之间夹角为120°,实验开始时,将小鼠轻轻地放入迷宫中间相同的位置,允许小鼠自由探索8 min,然后记录小鼠在5 min内进臂的总次数,小鼠依次进入3个不同的臂记为成功交替,并计算小鼠的交替率[交替率=成功交替次数/(总进臂次数-2)×100%]。

2.4.3 HE染色观察小鼠海马病理学变化 脑组织在4%多聚甲醛中固定24 h,经乙醇脱水,组织经包埋切片(4 μm),二甲苯(10 min/次×2次)脱蜡,按照HE试剂盒说明书依次进行染色操作,最后在光学

显微镜下拍照观察。

2.4.4 尼氏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,尼氏染色液染色 15 min,洗片,二甲苯透明,中性树胶封片后在光学显微镜下进行观察。

2.4.5 高尔基染色观察海马突触的变化 取出固定的全脑样本,蒸馏水、80%冰醋酸、30%蔗糖溶液处理样本。组织切片,避光过夜,依次使用浓氨水、蒸馏水、酸性坚膜定影液处理,甘油明胶封片,观察并统计海马突触的变化。

2.4.6 ELISA 检测小鼠海马炎症因子 IL-6、IL-10、IL-1 β 、TNF- α 含量 从-80℃冰箱中取出小鼠海马组织,每个样本称取 50 mg,分别按 1:9 的比例加入 0.9% 氯化钠溶液匀浆,4℃离心(12 000 r $\cdot$ min⁻¹, 20 min,离心半径 13.5 cm),取上清液进行蛋白测定。参照试剂盒说明书操作步骤,依次稀释、加样、孵育、洗涤、加酶标检测抗体,加入 TMB 底物溶液,避光孵育 15 min 后显色,最后中止反应,使用酶标仪(450 nm 波长)测定吸光度 *A*,根据标准曲线计算小鼠海马区 IL-6、IL-10、IL-1 β 、TNF- α 含量。

2.4.7 Real-time PCR 检测小鼠海马小胶质细胞分化簇 86(CD86)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、甘露糖受体(CD206)、精氨酸酶 1(Arg1) mRNA 表达水平 取海马组织约 20 mg,加入 RNA 提取液 1 mL 后充分均匀搅拌,离心以沉淀细胞碎片。将 RNA 溶解液约 15 μ L 加入沉淀物中,提取总 RNA。测定 RNA 含量和浓度后,进行逆转录生成 cDNA。在 cDNA 中加入上、下游引物进行定量 PCR,以 GAPDH 为内参,以 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算相对表达量。反应条件:设置 PCR 仪为 95℃预变性 5 min,1 个循环,95℃变性 10 s,60℃退火 30 s,40 个循环。引物设计由四维加生物科技有限公司代合成,引物序列见表 1。

2.4.8 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测小鼠海马 CX3CL1、CX3CR1、p-NF- κ B p65、p-p38 MAPK 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,BCA 蛋白浓度测定配平后,放入 100℃水浴加热变性 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,随后蛋白上样均为 5 μ L,电泳,切胶,转膜,封闭, TBST 清洗,孵育一抗 CX3CL1、CX3CR1、p-NF- κ B p65、p-p38 MAPK(稀释倍数依次为 1:2 000、1:10 000、1:2 000、1:2 000),4℃孵育过夜,加入二抗 4℃孵育 2 h(稀

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
GAPDH	上游 AGGTCGGTGTGAACGGATTTG	123
	下游 TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA	
iNOS	上游 GTGACGGCAAACATGACTT	124
	下游 TCGATGCACAACCTGGGT	
Arg1	上游 GGTGGTTTAAAGATGGCGGC	80
	下游 CTTACGGAAGCACCCACGAT	
CD86	上游 CGGCAGATATGCAGTCCCAT	135
	下游 GTGGGGACCTGGCAAGTATC	
CD206	上游 CACTGGGGTTCCATCACTCC	146
	下游 CTTACGGAAGCACCCACGAT	

释比 1:10 000),TBST 清洗,最后加入显影液,显影观察分析目标条带。通过 Image J 软件分析各泳道条带灰度值,以 GAPDH 为参照,检测目的蛋白的相对表达量。

2.4.9 免疫荧光双标检测小鼠海马组织 CX3CR1/Iba-1 共染表达 取小鼠海马组织石蜡切片,脱蜡、水合,将切片置于 3% 柠檬酸修复液中,进行高压修复。修复完成后,用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗切片,随后滴加 3% H_2O_2 ,在室温下孵育 20 min。再次用 PBS 冲洗切片,接着滴加牛血清白蛋白封闭液,并在室温下孵育 20 min;封闭后,分别加入 CX3CR1(1:100)与 Iba-1(1:100)一抗混合液,4℃孵育过夜,PBS 冲洗;切片滴加荧光二抗(1:150),37℃避光 20 min,PBS 冲洗;使用 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染色液在室温且避光的条件下孵育 20 min;充分水洗后滴加水溶性封片剂封片,采用荧光显微镜观察并采集图像。DAPI 染色的细胞核在紫外激发下为蓝光,CX3CR1 阳性表达为相应荧光素标记的红光,Iba-1 阳性表达为相应荧光素标记的绿光。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件处理数据,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,Image J 1.8.0 软件处理图像数据,Y 迷宫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, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠自主活动的影响 空白组黑暗活动总路程和时间显著高于光照活动时间,符合典型的昼伏夜出习性^[18],与空白组比较,模型组在黑暗环境和光照环境中的活动路程显著增加($P < 0.01$),活动时间也显著增加($P < 0.01$),说明小鼠日间休息夜间活动的昼夜节律发生

紊乱,造模成功;与模型组比较,褪黑素组和安寐丹中、高剂量组活动总路程、时间均明显缩短($P<0.05$, $P<0.01$),尤以褪黑素组和安寐丹高剂量组治疗效果最佳,提示药物治疗可恢复昼夜节律。在黑暗环境和光照环境中,安寐丹低剂量组的总活动路程和总活动时间差异无统计学意义。见表 2、表 3。

表 2 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠黑暗/光照环境下自主活动路程的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 2 Effect of Anmei Dan (AMD) on spontaneous activity distance in aged sleep-deprived mice under dark/light conditions ($\bar{x}\pm s, n=10$)

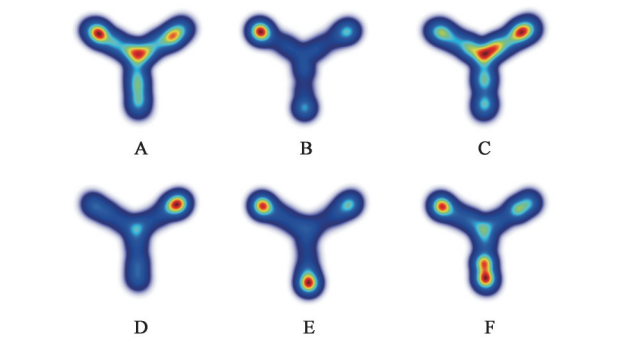
组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	黑暗环境总活动路程		光照环境总活动路程	
		0:00	6:00	12:00	18:00
空白组		935.89 $\pm$ 27.52	665.80 $\pm$ 51.97	550.21 $\pm$ 30.58	624.62 $\pm$ 23.12
模型组		1 416.95 $\pm$ 70.30 ²⁾	955.57 $\pm$ 18.79 ²⁾	850.64 $\pm$ 41.22 ²⁾	939.01 $\pm$ 27.68 ²⁾
褪黑素组	0.001 3	940.82 $\pm$ 40.98 ⁴⁾	734.78 $\pm$ 31.28 ⁴⁾	651.13 $\pm$ 41.11 ⁴⁾	746.13 $\pm$ 28.81 ⁴⁾
安寐丹低剂量组	6.565	1 283.04 $\pm$ 35.74 ⁴⁾	924.50 $\pm$ 44.65	812.16 $\pm$ 69.89	827.46 $\pm$ 23.65 ⁴⁾
安寐丹中剂量组	13.13	1 162.54 $\pm$ 26.19 ⁴⁾	885.74 $\pm$ 35.03 ³⁾	725.99 $\pm$ 33.75 ⁴⁾	752.62 $\pm$ 38.74 ⁴⁾
安寐丹高剂量组	26.26	1 062.12 $\pm$ 27.04 ⁴⁾	745.11 $\pm$ 31.66 ⁴⁾	635.83 $\pm$ 24.50 ⁴⁾	644.98 $\pm$ 30.29 ⁴⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与模型组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表 3-表 11 同)

表 3 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠黑暗/光照环境下自主活动时间的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 3 Effect of AMD on spontaneous activity time in aged sleep-deprived mice under dark/light conditions ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	黑暗环境路总活动时间		光照环境总活动时间	
		0:00	6:00	12:00	18:00
空白组		211.31 $\pm$ 9.83	189.05 $\pm$ 3.40	166.07 $\pm$ 4.82	104.29 $\pm$ 4.19
模型组		270.11 $\pm$ 7.70 ²⁾	231.91 $\pm$ 11.47 ²⁾	196.20 $\pm$ 1.86 ²⁾	130.05 $\pm$ 7.56 ²⁾
褪黑素组	0.001 3	207.17 $\pm$ 6.24 ⁴⁾	193.64 $\pm$ 4.03 ⁴⁾	177.02 $\pm$ 3.15 ⁴⁾	108.23 $\pm$ 0.67 ⁴⁾
安寐丹低剂量组	6.565	231.43 $\pm$ 10.7 ⁴⁾	186.79 $\pm$ 4.37 ⁴⁾	187.92 $\pm$ 9.12	122.88 $\pm$ 2.81 ³⁾
安寐丹中剂量组	13.13	192.19 $\pm$ 4.80 ⁴⁾	214.33 $\pm$ 11.65 ⁴⁾	184.85 $\pm$ 1.73 ⁴⁾	106.53 $\pm$ 2.32 ⁴⁾
安寐丹高剂量组	26.26	185.03 $\pm$ 3.13 ⁴⁾	207.67 $\pm$ 4.48 ⁴⁾	180.06 $\pm$ 6.47 ⁴⁾	114.42 $\pm$ 1.89 ⁴⁾

3.2 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠 Y 迷宫行为学的影响 与空白组比较,模型组小鼠自发交替率显著降低($P<0.01$);与模型组比较,褪黑素组和安寐丹低、中、高剂量组小鼠自发交替率均明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),其中褪黑素组和安寐丹高剂量组明显优于模型组,安寐丹高剂量组效果更明显。见图 1、表 4。



注:A.空白组;B.模型组;C.褪黑素组;D.安寐丹低剂量组;E.安寐丹中剂量组;F.安寐丹高剂量组(图 2-图 7 同)

图 1 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠 Y 迷宫活动情况的影响
Fig. 1 Effect of AMD in aged sleep-deprived mice: Event status of Y-maze, total arm entries, and alternation rate

表 4 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠 Y 迷宫自发交替率的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 4 Effect of AMD on spontaneous alternation rate in aged sleep-deprived mice in Y-maze ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	自发交替率/%
空白组		53.02 $\pm$ 2.12
模型组		40.58 $\pm$ 1.78 ²⁾
褪黑素组	0.001 3	47.54 $\pm$ 1.94 ⁴⁾
安寐丹低剂量组	6.565	43.29 $\pm$ 1.63 ³⁾
安寐丹中剂量组	13.13	45.70 $\pm$ 1.95 ⁴⁾
安寐丹高剂量组	26.26	50.54 $\pm$ 2.46 ⁴⁾

3.3 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠海马病理组织形态学变化的影响 HE 染色结果显示,空白组 CA1 区和 DG 区海马神经元排列紧密、有序,染色均匀,细胞轮廓及胞核清晰完整,无明显炎症浸润和细胞水肿。与空白组比较,模型组 CA1 区和 DG 区海马神经元间隙增加,数量减少,细胞形态、排列紊乱,细胞核色较深;与模型组比较,各给药组神经元相对密集,间隙减小,排列稍齐,细胞损伤得到改

善, 炎性浸润细胞得到不同程度缓解, 尤褪黑素组 和安寐丹高剂量组效果最佳。见图2。

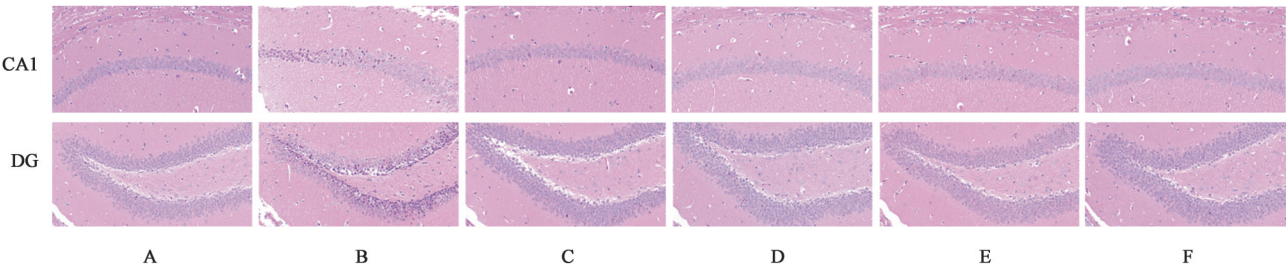


图2 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠海马病理的影响 (HE, ×400)
Fig. 2 Effect of AMD on hippocampal region in aged sleep-deprived mice (HE, ×400)

3.4 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠海马尼氏体的影响 空白组海马尼氏体排列紧密, 细胞形态完整, 胞核结构清晰, 胞浆内尼氏体丰富。与空白组比较, 模型组海马CA1区和DG区锥体细胞数量显著减少, 差异具有统计学意义($P<0.01$); 模型组比较, 安寐丹低剂量组海马CA1区与DG区尼氏小体数量差异无统计学意义, 安寐丹中、高剂量组及褪黑素组海马组织CA1区和DG区神经元细胞数量显著增多, 差异具有统计学意义($P<0.01$), 其中安寐丹高剂量组CA1、DG区神经元数量高于褪黑素组。与空白组比较, 模型组尼氏体排列松散紊乱, 细胞间隙增加, 数量明显减少; 与模型组比较, 各给药组海马尼氏体排列稍紧密整齐, 细胞间隙缩小, 数量增多。见图3、表5。

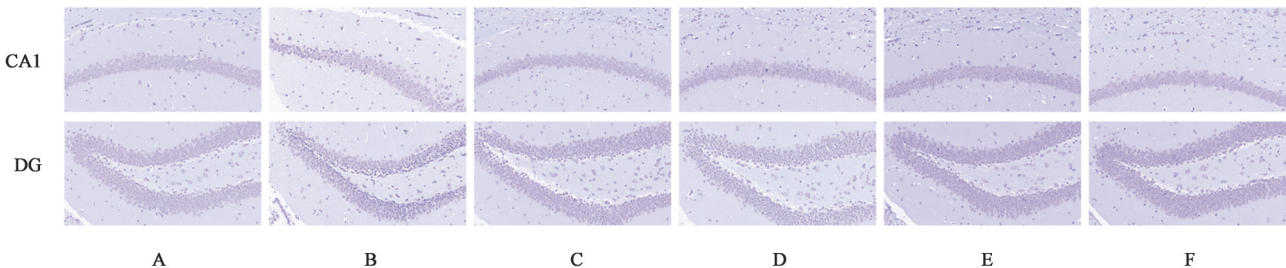


图3 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠海马尼氏染色的影响 (尼氏, ×400)
Fig. 3 Effect of AMD on Nissl staining in hippocampal region of mice in elderly sleep-deprived (Nissl, ×400)

表5 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠海马神经元细胞数目的影响
($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 5 Effect of AMD on number of neurons in hippocampus in aged sleep-deprived mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)				↑
组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	CA1区神经元 细胞数	DG区神经元 细胞数	
空白组		289.00±17.35	702.00±54.84	
模型组		164.67±12.58 ²⁾	349.67±41.00 ²⁾	
褪黑素组	0.001 3	232.00±18.25 ⁴⁾	569.00±25.36 ⁴⁾	
安寐丹低剂量组	6.565	189.33±9.07	447.33±39.31	
安寐丹中剂量组	13.13	248.00±36.37 ⁴⁾	491.67±34.70 ⁴⁾	
安寐丹高剂量组	26.26	243.33±4.73 ⁴⁾	652.00±19.97 ⁴⁾	

3.5 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠海马树突棘密度的影响 高尔基染色观察发现, 与空白组比较, 模型组海马CA1区神经元树突分支及树突棘密度显著下降($P<0.01$); 与模型组比较, 褪黑素组和安寐丹中、高剂量组海马CA1区神经元树突分支及树

突棘密度显著上升($P<0.01$), 其中安寐丹中、高剂量组树突棘密度高于褪黑素组, 安寐丹低剂量组海马CA1区神经元树突分支及树突棘密度差异无统计学意义。见表6、图4。

表6 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠海马树突棘密度的影响
($\bar{x}\pm s, n=3$)
Table 6 Effect of AMD on hippocampal dendritic spine density in aged sleep-deprived mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	树突棘密度/个/ $10\ \mu\text{m}$
空白组		0.78±0.11
模型组		0.18±0.14 ²⁾
褪黑素组	0.001 3	0.64±0.17 ⁴⁾
安寐丹低剂量组	6.565	0.45±0.07
安寐丹中剂量组	13.13	0.69±0.07 ⁴⁾
安寐丹高剂量组	26.26	0.77±0.13 ⁴⁾

3.6 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠海马IL-6、IL-10、IL-1 β 、TNF- α 含量的影响 与空白组比较, 模型组海马区中含IL-6、IL-10、IL-1 β 、TNF- α 量显著升

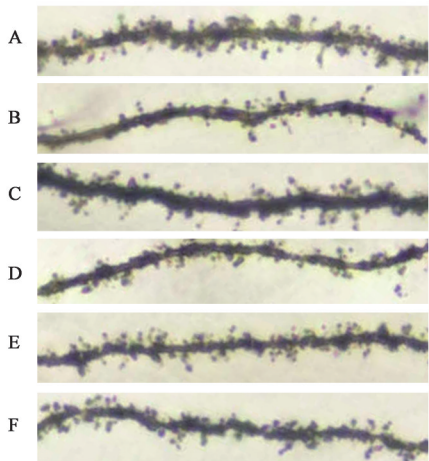


图 4 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠海马神经元细胞树突棘密度的影响 (高尔基染色, $\times 1\,000$)

Fig. 4 Effect of AMD on hippocampal dendritic spines density of neuronal cells in aged sleep-deprived mice (Golgi staining, $\times 1\,000$)

表 7 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠海马区 IL-6、IL-10、IL-1 β 、TNF- α 含量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 7 Effect of AMD on levels of IL-6, IL-10, IL-1 β , and TNF- α in hippocampus of aged sleep-deprived mice ($\bar{x}\pm s, n=6$)					ng $\cdot$ L $^{-1}$
组别	剂量/g $\cdot$ kg $^{-1}$	IL-6	IL-10	IL-1 β	TNF- α
空白组		621.20 $\pm$ 36.10	131.22 $\pm$ 28.74	107.30 $\pm$ 5.84	233.58 $\pm$ 18.51
模型组		3 331.64 $\pm$ 54.01 ²⁾	923.58 $\pm$ 19.81 ²⁾	544.96 $\pm$ 36.02 ²⁾	944.00 $\pm$ 28.16 ²⁾
褪黑素组	0.001 3	2 091.38 $\pm$ 68.87 ⁴⁾	253.41 $\pm$ 19.72 ⁴⁾	243.34 $\pm$ 3.90 ⁴⁾	553.56 $\pm$ 28.95 ⁴⁾
安寐丹低剂量组	6.565	3 309.31 $\pm$ 44.86	562.79 $\pm$ 34.51 ⁴⁾	442.50 $\pm$ 7.98 ⁴⁾	950.75 $\pm$ 41.03
安寐丹中剂量组	13.13	2 865.32 $\pm$ 22.89 ⁴⁾	427.88 $\pm$ 39.12 ⁴⁾	355.88 $\pm$ 42.88 ⁴⁾	888.05 $\pm$ 20.36 ³⁾
安寐丹高剂量组	26.26	2 137.91 $\pm$ 63.04 ⁴⁾	442.26 $\pm$ 26.60 ⁴⁾	155.40 $\pm$ 7.58 ⁴⁾	661.51 $\pm$ 30.09 ⁴⁾

表 8 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠海马 CD86、iNOS、CD206、Arg1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 8 Effect of AMD on mRNA expression of CD86, iNOS, CD206, and Arg1 in hippocampus of aged sleep-deprived mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)					
组别	剂量/g $\cdot$ kg $^{-1}$	CD86	iNOS	CD206	Arg1
空白组		1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
模型组		4.75 $\pm$ 0.25 ²⁾	5.08 $\pm$ 0.76 ²⁾	0.53 $\pm$ 0.04 ¹⁾	0.52 $\pm$ 0.11 ²⁾
褪黑素组	0.001 3	3.03 $\pm$ 0.34 ⁴⁾	2.90 $\pm$ 0.29 ⁴⁾	2.01 $\pm$ 0.21 ⁴⁾	2.05 $\pm$ 0.06 ⁴⁾
安寐丹低剂量组	6.565	4.06 $\pm$ 0.09 ³⁾	3.78 $\pm$ 0.25 ³⁾	1.39 $\pm$ 0.16 ⁴⁾	1.60 $\pm$ 0.14 ⁴⁾
安寐丹中剂量组	13.13	3.68 $\pm$ 0.16 ⁴⁾	3.57 $\pm$ 0.55 ⁴⁾	1.73 $\pm$ 0.23 ⁴⁾	1.79 $\pm$ 0.19 ⁴⁾
安寐丹高剂量组	26.26	3.05 $\pm$ 0.36 ⁴⁾	2.95 $\pm$ 0.45 ⁴⁾	1.95 $\pm$ 0.17 ⁴⁾	2.08 $\pm$ 0.06 ⁴⁾

3.8 安寐丹对老年睡眠剥夺模型小鼠海马 CX3CL1、CX3CR1、p-NF- κ B p65、p-p38 MAPK 通路蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组海马 CX3CL1、CX3CR1 蛋白相对表达量均显著上调($P<0.01$);与模型组比较,褪黑素组和安寐丹中、高剂量组海马 CX3CL1、CX3CR1 蛋白表达明显降低($P<0.05, P<0.01$),其中褪黑素组 CX3CL1、CX3CR1 蛋白表达均高于安寐丹中、高剂量组,安寐丹低剂量组 CX3CL1/CX3CR1 蛋白表达水平没有明显变化,差异无统计学意义。见表 9、图 5。与空白组比较,模型

组海马 p-NF- κ B p65、p-p38 MAPK 蛋白表达水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,褪黑素组和安寐丹低、中、高剂量组 p-NF- κ B p65、p-p38 MAPK 蛋白表达水平明显下降($P<0.05, P<0.01$)。见表 9、图 6。

3.7 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠海马 CD86、iNOS、CD206、Arg1 mRNA 表达的影响 与空白组比较,模型组小鼠海马中 CD86、iNOS mRNA 表达水平显著升高($P<0.01$),而 CD206 和 Arg1 表达水平明显下降($P<0.05, P<0.01$);与模型组比较,褪黑素组及安寐丹低、中、高剂量组小鼠海马 CD86 和 iNOS mRNA 表达明显下降($P<0.05, P<0.01$),同时 CD206 与 Arg1 mRNA 水平显著上升($P<0.01$)。见表 8。

3.9 安寐丹对睡眠剥夺小鼠海马 CX3CR1、Iba-1 蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组小鼠海马中 CX3CR1、Iba-1 的荧光信号显著增强($P<0.01$);与模型组比较,给予褪黑素组和安寐丹干预的小鼠,其海马组织中 CX3CR1、Iba-1 荧光信号明显减弱($P<0.05, P<0.01$)。见表 10、图 7。

表 9 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠海马 CX3CL1、CX3CR1、p-NF-κB p65 和 p-p38 MAPK 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	CX3CR1/GAPDH	CX3CL1/GAPDH	p-NF-κB p65/NF-κB p65	p-p38 MAPK/p38 MAPK
空白组		0.51±0.17	0.49±0.09	0.49±0.04	0.24±0.03
模型组		1.37±0.08 ²⁾	1.43±0.27 ²⁾	1.06±0.03 ²⁾	1.01±0.08 ²⁾
褪黑素组	0.001 3	0.93±0.05 ³⁾	1.00±0.08 ³⁾	0.67±0.05 ⁴⁾	0.56±0.06 ⁴⁾
安寐丹低剂量组	6.565	1.22±0.27	1.50±0.04	0.89±0.04 ³⁾	0.74±0.04 ⁴⁾
安寐丹中剂量组	13.13	0.83±0.10 ⁴⁾	0.80±0.15 ⁴⁾	0.76±0.11 ⁴⁾	0.63±0.06 ⁴⁾
安寐丹高剂量组	26.26	0.66±0.07 ⁴⁾	0.63±0.11 ⁴⁾	0.62±0.05 ⁴⁾	0.45±0.09 ⁴⁾

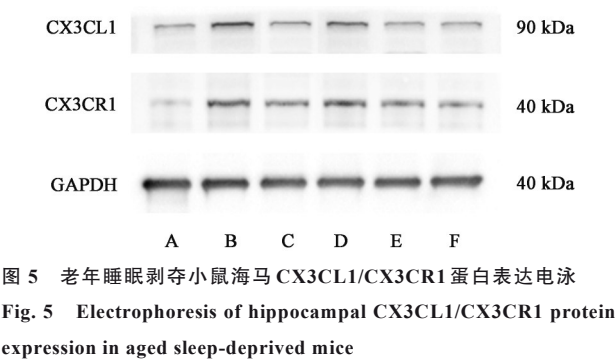


图 5 老年睡眠剥夺小鼠海马 CX3CL1/CX3CR1 蛋白表达电泳
Fig. 5 Electrophoresis of hippocampal CX3CL1/CX3CR1 protein expression in aged sleep-deprived mice

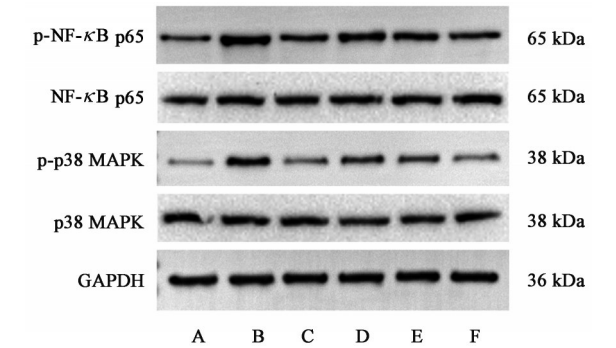


图 6 老年睡眠剥夺小鼠海马 p-NF-κB p65、p-p38 MAPK 蛋白表达电泳
Fig. 6 Electrophoresis of p-NF-κB p65 and p-p38 MAPK protein expression in hippocampus of aged sleep-deprived mice

表 10 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠海马 CX3CR1、Iba-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

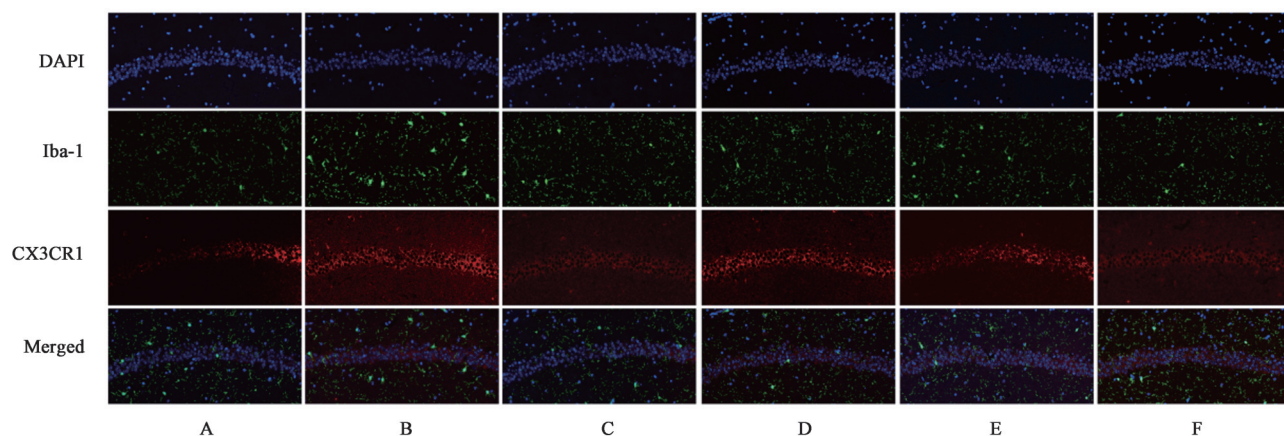
组别	剂量/g·kg ⁻¹	CX3CR1	Iba-1
空白组		31.29±1.37	55.25±2.96
模型组		43.37±1.71 ²⁾	119.26±9.55 ²⁾
褪黑素组	0.001 3	34.89±1.43 ⁴⁾	66.62±4.49 ⁴⁾
安寐丹低剂量组	6.565	37.57±0.65 ⁴⁾	104.96±2.94 ³⁾
安寐丹中剂量组	13.13	34.80±0.19 ⁴⁾	87.74±3.56 ⁴⁾
安寐丹高剂量组	26.26	34.15±0.71 ⁴⁾	65.37±2.35 ⁴⁾

4 讨论

中医学认为“不寐”的主要病位归于心,《黄帝内经·素问·灵兰秘典论》说:“心者,君主之官也,神

明出焉”。心具有主宰五脏六腑、生命活动和思维意识等精神活动的功能。心神若不能内守,五脏功能随之紊乱,神不守舍,其外在表现之一即认知能力的下降。安寐丹作为治疗元气亏虚,心血失养所致不寐的经典方剂^[19],方中人参为君,生熟酸枣仁为臣,以增强培元固本、养心安神功效;配合麦冬、五味子益气养阴;佐以茯神宁心安神,当归、丹参养血活血,石菖蒲豁痰开窍;甘草为使,调和诸药。全方补泻兼施,标本共治,具有培元固本、养心益智安神的功效。本次实验通过检测小鼠的自发交替率和昼夜节律活动评价其特征性变化,发现老年睡眠剥夺导致小鼠自发交替率下降,昼夜活动节律紊乱,活动路程增加,活动时间延长;而安寐丹干预后自发交替率和昼夜活动得以改善,活动总路程、时间均有下降表现。为了进一步明确其内在的机制,对炎症因子和相关蛋白进行了检测。

睡眠与免疫系统存在双向关联,长期睡眠障碍可导致慢性全身性低度炎症,使炎症因子 IL-6、IL-10、IL-1β、TNF-α 等升高,导致神经元损伤,影响认知能力^[20-22]。实验采用 ELISA 检测海马炎症因子的表达,结果显示老年睡眠剥夺模型小鼠海马炎症因子均升高,安寐丹中、高剂量组干预的小鼠海马炎症因子均有效降低,此外,高尔基染色显示海马 CA1 区锥体细胞病理改变也得到改善,这说明安寐丹可以改善老年睡眠剥夺小鼠的神经炎症和海马突触的损伤。小胶质细胞在神经炎症过程中发挥关键作用,其 M1 表型驱动神经炎症, M2 表型则促进修复,二者可相互转化,共同调控神经系统的免疫平衡^[22-23]。由神经元产生的 CX3CL1 是一种独特的趋化因子, CX3CR1 是 CX3CL1 唯一受体具有发挥信号的作用,定位于中枢神经系统内的小胶质细胞表面^[24-26]。研究表明,通过抑制 CX3CL1-CX3CR1 轴的激活可改善小胶质细胞激活及炎症因子释放^[27-28]。为明确具体分子信号通路机制,故本实验使用 Western blot 检测海马 CX3CL1/CX3CR1



注:红色荧光标记CX3CR1蛋白;绿色荧光标记Iba-1蛋白;蓝色荧光代表细胞核

图7 安寐丹对老年睡眠剥夺小鼠海马CX3CR1、Iba-1蛋白表达的影响(免疫荧光,×200)

Fig. 7 Effect of AMD on CX3CR1 and Iba-1 protein expression in hippocampus of aged sleep-deprived mice (IF, ×200)

及下游关键蛋白p-NF- κ B p65及p-p38 MAPK;Real-time PCR检测小胶质细胞M1(CD86、iNOS)和M2(CD206、Arg1)mRNA表达,结果显示模型组海马CX3CL1、CX3CR1、p-NF- κ B p65、p-p38 MAPK蛋白表达量均显著上调;安寐丹可抑制CX3CL1-CX3CR1轴的激活,进而抑制CD86、iNOS表达,促进CD206、Arg1表达,并可调控下游关键蛋白p-NF- κ B p65、p-p38 MAPK并降低小胶质细胞的活化,减少向M1型转化,促进M1型向M2型转化。为进一步验证Western blot和Real-time PCR的结果,采用免疫荧光双标分别将CX3CR1蛋白与Iba-1蛋白进行共染,发现安寐丹能够下调老年睡眠剥夺小鼠CX3CR1、Iba-1的表达,提示安寐丹可以抑制CX3CL1/CX3CR1信号通路。

褪黑素是目前临床常用改善睡眠节律的代表性药物,具有良好的安全性,且最新研究发现其还可以发挥减轻细胞炎症水平的作用^[29-31],并有效调节失眠引起的学习记忆下降及突触可塑性^[32-33],故本实验采用褪黑素作为阳性药组,探究安寐丹改善老年睡眠剥夺模型小鼠神经炎症及突触可塑性的作用机制。

综上所述,本研究表明安寐丹能够改善因睡眠剥夺导致的老年小鼠学习记忆障碍,并改善海马神经元损伤。其作用机制可能与抑制CX3CL1/CX3CR1信号通路,促进小胶质细胞向M2型转化,改善脑内神经炎症,达到增强学习记忆能力的效果。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] RASCH B, BORN J. About sleep's role in memory[J]. *Physiol Rev*, 2013, 93(2): 681-766.
- [2] BARANWAL N, YU P K, SIEGEL N S. Sleep physiology,

pathophysiology, and sleep hygiene[J]. *Prog Cardiovasc Dis*, 2023, 77: 59-69.

- [3] MENG X, SU J, LI H, et al. Effectiveness of caregiver non-pharmacological interventions for behavioural and psychological symptoms of dementia: An updated Meta-analysis[J]. *Ageing Res Rev*, 2021, 71: 101448.
- [4] 陈劫明, 张浩, 毛振兴. 我国中老年人慢性病共病模式变化趋势[J]. *郑州大学学报: 医学版*, 2025, 60(4): 545-548.
- [5] CHEN J M, ZHANG H, MAO Z X. Prevalence trends of chronic disease comorbidities among middle-aged and elderly people in China[J]. *J Zhengzhou Univ: Med Sci*, 2025, 60(4): 545-548.
- [6] NIU L, ZHANG F, XU X, et al. Chronic sleep deprivation altered the expression of circadian clock genes and aggravated Alzheimer's disease neuropathology[J]. *Brain Pathol*, 2022, 32(3): e13028.
- [7] DEMET E M, CHICZ-DEMET A, FALLON J H, et al. Sleep deprivation therapy in depressive illness and Parkinson's disease[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 1999, 23(5): 753-784.
- [8] 2023 Alzheimer's disease facts and figures[J]. *Alzheimers Dement*, 2023, 19(4): 1598-1695.
- [9] DE LA ROSA T, SCORZA F A. Parkinson's disease inpatient mortality: Attention to sudden death[J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2024, 79: 100366.
- [10] WANG C, GAO W R, YIN J, et al. Chronic sleep deprivation exacerbates cognitive and synaptic plasticity impairments in APP/PS1 transgenic mice[J]. *Behav Brain Res*, 2021, 412: 113400.
- [11] YUAN X L, WANG C Y. Sleep deprivation-induced cognitive impairment: Unraveling the role of neuroinflammation[J]. *Exp Neurol*, 2025, 394: 115419.
- [12] HUANG S Y, YANG Z J, CHENG J, et al. Choline alleviates cognitive impairment in sleep-deprived young mice via reducing neuroinflammation and altering phospholipidomic profile[J]. *Redox Biol*, 2025, 81: 103578.
- [13] YIN Y Y, LI Y F. Role of chemokines in depression: Highlights on CX3CL1/CX3CR1 signaling[J]. *J Psychopharmacol*, 2025, 39(12): 1351-1364.

- [13] 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.
- [14] 张军路,孙康,吴艺璇,等. 基于Cyt C调节细胞凋亡途径探讨安寐丹改善老年睡眠剥夺模型致认知损伤的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(19): 1-9.
ZHANG J L, SUN K, WU Y X, et al. Mechanism of Anmeidan in ameliorating cognitive impairment in geriatric sleep deprivation model based on Cyt C signaling pathway on apoptosis [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2024, 30(19): 1-9.
- [15] 刁华琼,张婧,王敏,等. 改良的多平台水环境法在睡眠剥夺动物模型中的应用与评价[J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(1): 120-128.
DIAO H Q, ZHANG J, WANG M, et al. Application and evaluation of the modified multi-platform method in animal model of sleep deprivation [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(1): 120-128.
- [16] 纪可,刘玲,刘福贵,等. 基于星形胶质细胞调控作用探讨安寐丹对睡眠剥夺大鼠脑内神经递质的影响[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2024, 26(7): 1786-1792.
JI K, LIU L, LIU F G, et al. To investigate the effect of Anmeidan on neurotransmitters in sleep deprived rats based on the regulation of astrocytes [J]. World Sci Techno Mod Tradit Chin Med, 2024, 26(7): 1786-1792.
- [17] CLEAL M, FONTANA B D, RANSON D C, et al. The Free-movement pattern Y-maze: A cross-species measure of working memory and executive function [J]. Behav Res Methods, 2021, 53(2): 536-557.
- [18] 谢光璟,徐波,黄攀攀,等. 安寐丹对睡眠剥夺大鼠自发活动昼夜节律的调节及对生物钟蛋白的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(7): 33-39.
XIE G J, XU B, HUANG P P, et al. Anmeidan modulates circadian rhythm of spontaneous activity and influences clock proteins in sleep-deprived rats [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2022, 28(7): 33-39.
- [19] 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, 2026, doi: 10. 13422/j. cnki. syfjx. 20250618.
GUO Y Y, SHAO Y P, SHAN Q C, et al. Exploring effect 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, 2026, doi: 10. 13422/j. cnki. syfjx. 20250618.
- [20] THOMPSON K I, CHAU M, LORENZETTI M S, et al. Acute sleep deprivation disrupts emotion, cognition, inflammation, and cortisol in young healthy adults [J]. Front Behav Neurosci, 2022, 16: 945661.
- [21] ZHANG M, CHEN H, ZHANG W, et al. Biomimetic remodeling of microglial riboflavin metabolism ameliorates cognitive impairment by modulating neuroinflammation [J]. Adv Sci (Weinh), 2023, 10(12): e2300180.
- [22] LIU H, YANG C, WANG X, et al. Propofol improves sleep deprivation-induced sleep structural and cognitive deficits via upregulating the BMAL1 expression and suppressing microglial M1 polarization [J]. CNS Neurosci Ther, 2024, 30(7): e14798.
- [23] DEL ÁGUILA Á, ZHANG R, YU X, et al. Microglial heterogeneity in the ischemic stroke mouse brain of both sexes [J]. Genome Med, 2024, 16(1): 95.
- [24] GUTIÉRREZ I L, MARTÍN-HERNÁNDEZ D, MACDOWELL K S, et al. CX3CL1 regulation of gliosis in neuroinflammatory and neuroprotective processes [J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(3): 959.
- [25] SUBBARAYAN M S, JOLY-AMADO A, BICKFORD P C, et al. CX3CL1/CX3CR1 signaling targets for the treatment of neurodegenerative diseases [J]. Pharmacol Ther, 2022, 231: 107989.
- [26] LIU P P, LIU X H, REN M J, et al. Neuronal cathepsin S increases neuroinflammation and causes cognitive decline via CX3CL1-CX3CR1 axis and JAK2-STAT3 pathway in aging and Alzheimer's disease [J]. Aging Cell, 2025, 24(2): e14393.
- [27] MAO M, XU Y, ZHANG X Y, et al. MicroRNA-195 prevents hippocampal microglial/macrophage polarization towards the M1 phenotype induced by chronic brain hypoperfusion through regulating CX3CL1/CX3CR1 signaling [J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1): 244.
- [28] KANG Y, LIU J, WANG Y, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation induces cognitive recovery in Alzheimer's disease via GABAergic neuron activation of the Cx3cl1-Cx3cr1 axis [J]. Cell Prolif, 2025, 58(12): e70061.
- [29] WON E, NA K S, KIM Y K. Associations between melatonin, neuroinflammation, and brain alterations in depression [J]. Int J Mol Sci, 2021, 23(1): 305.
- [30] CHEN L, WANG X, LIU C, et al. Melatonin ameliorates atherosclerosis by suppressing S100a9-mediated vascular inflammation [J]. Eur J Pharmacol, 2023, 957: 175965.
- [31] ASEMI R, OMIDI NAJAFABADI E, MAHMOUDIAN Z, et al. Melatonin as a treatment for atherosclerosis: Focus on programmed cell death, inflammation and oxidative stress [J]. J Cardiothorac Surg, 2025, 20(1): 194.
- [32] LEUNG L Y, TAM H L, ASIAMA N, et al. Effect of melatonin on cognitive function in adults with cognitive impairment: A multi-dimensional Meta-analysis of randomized trials [J]. Alzheimers Res Ther, 2025, 17(1): 238.
- [33] MENCZEL SCHRIRE Z, PHILLIPS C L, CHAPMAN J L, et al. Safety of higher doses of melatonin in adults: A systematic review and Meta-analysis [J]. J Pineal Res, 2022, 72(2): e12782.

[责任编辑 周冰冰]