

# 生慧汤对慢性睡眠剥夺小鼠学习记忆及海马 IL-6, TNF- $\alpha$ , COX-2 基因表达的影响

尹超, 游秋云, 张美娅, 丁莉\*  
(湖北中医药大学, 武汉 430065)

**[摘要]** **目的:**通过观察生慧汤对慢性睡眠剥夺小鼠学习记忆及海马白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6), 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ), 环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2) mRNA 表达的影响, 探索生慧汤改善学习记忆能力的可能机制。**方法:**将实验小鼠随机分为睡眠剥夺模型组, 正常组, 褪黑素组( $7.8 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), 生慧汤高、中、低剂量组( $54, 27, 13.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), 采用多平台水环境法建立小鼠慢性睡眠剥夺模型, 睡眠剥夺 28 d 并灌胃给药。采用 Morris 水迷宫检测各组小鼠学习记忆能力; 采用实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)法检测各组小鼠海马 IL-6, TNF- $\alpha$ , COX-2 mRNA 表达量。**结果:**Morris 水迷宫试验结果显示, 与正常组比较, 模型组找到平台消耗时间与游泳总路程明显延长( $P < 0.01$ ), 穿越平台次数与目标象限时间明显减少( $P < 0.01$ ), 第 1 次抵原平台时间明显增加( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 各给药组找到平台消耗时间与游泳总路程明显减少( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 穿越平台次数与目标象限时间明显增加( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 第 1 次抵原平台时间明显减少( $P < 0.05, P < 0.01$ )。Real-time PCR 检测结果显示, 与正常组比较, 模型组小鼠 IL-6, TNF- $\alpha$ , COX-2 mRNA 表达上调( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 各给药组 IL-6, TNF- $\alpha$ , COX-2 mRNA 表达下调( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 生慧汤低剂量组 TNF- $\alpha$ , COX-2 mRNA 表达无显著性差异。**结论:**生慧汤可能通过降低海马中 IL-6, TNF- $\alpha$ , COX-2 mRNA 的表达来改善小鼠学习记忆能力。

**[关键词]** 生慧汤; 睡眠剥夺; 水迷宫; 炎症因子

**[中图分类号]** R2-0; R22; R285.5; R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)01-0096-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20190126

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20181015.1719.004.html>

**[网络出版时间]** 2018-10-18 19:02

## Effect of Shenghuitang on Learning Memory, Levels of IL-6, TNF- $\alpha$ and COX-2 in Hippocampus of Chronic Sleep Deprivation Mice

YIN Chao, YOU Qiu-yun, ZHANG Mei-ya, DING Li\*  
(Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect of Shenghuitang on learning and memory and expressions of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in hippocampus of chronic sleep deprived mice, in order to explore the possible mechanism of Shenghuitang in improving learning and memory ability. **Method:** Mice were randomly divided into sleep deprivation group, blank group, melatonin group ( $7.8 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), high, middle and low-dose Shenghuitang groups ( $54, 27, 13.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ). The model of chronic sleep deprivation in mice was established using the "multi-platform water environment method". 28 d sleep deprivation and intragastric administration were provided. Morris water maze was used to detect the learning and memory ability of mice in each group. Real time-PCR was used to detect mRNA expressions of IL-6,

**[收稿日期]** 20180612(021)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81703972)

**[第一作者]** 尹超, 硕士, 从事中药新制剂、新剂型研究, E-mail: yinchao94@outlook.com

**[通信作者]** \* 丁莉, 博士, 讲师, 从事老年病防治及失眠药物研究, E-mail: 17767153@qq.com

TNF- $\alpha$  and COX-2 in the hippocampus of each group. **Result:** The results of Morris water maze test showed that compared with the blank group, the total time spent on finding the platform and the total swimming distance of the model group were significantly prolonged ( $P < 0.01$ ), while the number of crossing platforms and the target quadrant were significantly reduced ( $P < 0.01$ ). The time for the original platform was significantly increased ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, the total time spent on finding the platform and the total swimming distance decreased significantly in each drug-administered group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) reduced, whereas the number of times for crossing the platform and the target quadrant increased significantly ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The time for the first arrival of the original platform was significantly reduced ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The results of RT-PCR showed that mRNA expressions of IL-6, TNF- $\alpha$ , and COX-2 were increased in the model group compared with the blank group. Compared with the model group, mRNA expressions of IL-6, TNF- $\alpha$ , and COX-2 were decreased in the treated group. COX-2 mRNA expression was down-regulated. **Conclusion:** Shenghuitang may improve the learning and memory ability of mice by decreasing mRNA expressions of IL-6, TNF- $\alpha$  and COX-2 in hippocampus.

[Key words] Shenghuitang; sleep deprivation; water maze; inflammatory factors

睡眠是维持机体正常状态必不可少的生理活动,睡眠剥夺可引起人或动物的兴奋性下降,产生不良情绪,抵抗力下降,生理节律紊乱,长期的睡眠剥夺可使其学习记忆下降,精神失常甚至猝死<sup>[1]</sup>。褪黑素<sup>[2]</sup>、苯二氮卓类药物及针灸疗法<sup>[3]</sup>均用于临床治疗失眠,研究表明,褪黑素可增加脑内  $\gamma$ -氨基丁酸含量,激活 MT1 和 MT2 受体,调节睡眠-觉醒周期<sup>[4]</sup>,临床上广泛用于睡眠障碍,故本实验采用褪黑素为阳性药。

近年来有实验研究表明,生慧汤可改善昼夜节律紊乱与学习记忆障碍<sup>[5-7]</sup>。生慧汤出自清代名医陈士铎《辨证录·健忘门》,由熟地黄、石菖蒲、远志、山茱萸、柏子仁(去油)、酸枣仁、茯神、人参、白芥子组成,具有交通心肾、滋补肝肾、化痰开窍、调养心神功效,主治健忘与失眠<sup>[5]</sup>。本实验采用“多平台水环境法”建立小鼠慢性睡眠剥夺模型,采用 Morris 水迷宫实验检测各组小鼠学习记忆能力,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)法检测各组小鼠海马内白细胞介素-6(IL-6),肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),环氧化酶-2(COX-2) mRNA 表达,探讨生慧汤改善学习记忆障碍的作用及可能机制,为中医药预防及治疗失眠提供思路方法和理论依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级昆明种小鼠 60 只,雄性,体重 18 ~ 22 g,购于辽宁长生生物技术股份有限公司,合格证号 SCXK(辽)2015-0001。饲养在湖北中医药大学实验动物中心,饲养房间温度 23 ~ 26  $^{\circ}\text{C}$ ,湿度 45% ~ 55%,动物可自由摄食和饮水。本研究所有动物实验经湖北中医药大学伦理委员

会批准。

**1.2 药物与试剂** 生慧汤由熟地黄 30 g,山茱萸 12 g,远志 6 g,酸枣仁 15 g,柏子仁(去油)15 g,茯神 9 g,人参 9 g,石菖蒲 1.5 g,白芥子 6 g 组成,购于湖北中医药大学附属医院药房,药材均由湖北中医药大学游秋云教授鉴定均为正品,所有药材加 8 倍量水浸泡于圆底烧瓶 1 h 后,加热煮沸 1 h,滤取药液,药材加 5 倍量水继续煮沸 1 h,滤取药液,合并 2 次药液,浓缩制成相当于生药 2.7 g  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 浓度,置于 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱备用。褪黑素(汤臣倍健股份有限公司,批号 20180102D),逆转录试剂盒(宝生物工程有限公 司,批号 00422877),trizol(美国 Life Technology 公司,批号 15596026),SYBR Premix Ex Taq<sup>[TM]</sup>(大连 TaKaRa 公司,批号 AK8603)。 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin),IL-6,TNF- $\alpha$ ,COX-2 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

名称	序列	长度/bp
$\beta$ -actin	上游 5'-CATCCGTAAGACCTCTATGCCAAC-3'	171
	下游 5'-ATGGAGCCACCGATCCACA-3'	
IL-6	上游 5'-GTTGCCTCTTGGGACTGATG-3'	102
	下游 5'-TACTGGTCTGTGTGGGTGTT-3'	
TNF- $\alpha$	上游 5'-CCGATTGCCATTTATACACAG-3'	232
	下游 5'-TCACAGAGCAATGACTCCAAAG-3'	
COX-2	上游 5'-AGAGCAGAGAGATGAAATACC-3'	266
	下游 5'-AGGAGAACAGATGGGATTAC-3'	

**1.3 仪器** 自制睡眠剥夺箱,长 70 cm,宽 50 cm,高 30 cm,箱内放置 3 × 4 排列的连体小平台,高 6 cm,直径 5 cm,在箱中注水至距离小平台以下 2 cm。睡眠剥夺箱上方用中间凹陷铁丝网遮盖,凹陷处可放置食物及水,以便小鼠自由摄取。480 II 型 Real-time PCR 仪(美国 Roche 公司),DMS-2 型 Morris 水迷宫(中国医学科学院药物研究所),CFX96 型 PCR 扩增仪(联想生物技术有限公司),LDZX-50KBS 型立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械有限公司),KDC-2046 型低速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司),Make TGL-16G 型高速离心机(上海安亭科学仪器有限公司)。

## 2 方法

**2.1 动物分组** 将 60 只小鼠适应性喂养 7 d 后随机分为 6 组,每组 10 只,分别为模型组,正常组,褪黑素组( $7.8 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ),生慧汤高、中、低剂量组(54,27,13.5  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ),每日 9:00 灌胃 1 次,连续灌胃 28 d。以上所有剂量是根据人与动物体表面积折算的等效剂量(70 kg 与 20 g 小鼠等效剂量比值为 0.002 6)换算而来。

**2.2 模型建立及给药** 采用多平台水环境法建立小鼠模型<sup>[8-9]</sup>,用自制睡眠剥夺箱对除正常组以外的其他组进行睡眠剥夺,剥夺时间为每天 9:00 ~ 21:00,连续剥夺 28 d。小鼠灌胃给药,模型组灌胃生理盐水  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;正常组灌胃生理盐水  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;褪黑素组灌胃  $0.78 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;生慧汤高剂量组灌胃  $54 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,即上述配制好的溶液;生慧汤中剂量组灌胃  $27 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,即上述配制好的溶液稀释 1 倍;生慧汤低剂量组灌胃  $13.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,即上述配制好的溶液稀释 2 倍,每日灌胃 1 次,连续灌胃 28 d。

**2.3 Morris 水迷宫实验** 末次给药完后进行 Morris 水迷宫行为学检测,预先向水池中灌入温水,使水面高出平台 2 cm,水池分为 4 个象限,将小平台放入目标象限为第 3 象限的中间。训练时,将小鼠从第 1 象限中间点面向池壁放入水中,若小鼠未在设定的 90 s 内找到平台,则将其引导至平台并待 10 s。每天训练 1 次,训练 3 d,第 4 天为定位航行实验,如上述方法,记录小鼠找到平台消耗时间即上平台潜伏期和游泳总路程,此实验用于测量小鼠对水迷宫的学习记忆能力。第 5 天为空间探索试验,将平台撤出,将小鼠从第 1 象限中间点面向池壁放入水中,记录小鼠 90 s 内穿越平台次数、第 1 次抵平台时间

和目标象限时间,此实验用于测量小鼠的空间记忆能力。

**2.4 Real-time PCR 检测炎症因子含量** 行为学实验结束后,小鼠断头处死,于冰上迅速取出大脑,剥离海马,置于匀浆器中,加入 trizol 1 mL,充分研磨至无可见组织块, $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min 后取上清液,加入三氯甲烷  $380 \mu\text{L}$ ,充分混匀后静置 3 min,置于  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  下  $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,将上清液转移至新的离心管中,加入异丙醇  $550 \mu\text{L}$ ,颠倒混匀后于  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  放置 15 min, $4 \text{ }^\circ\text{C}$  下  $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,管底的白色沉淀即为 RNA,吸除液体,加入 75% 乙醇洗涤沉淀, $4 \text{ }^\circ\text{C}$  下  $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,将液体吸除干净,置于超净台上吹 3 min,加入无酶水  $15 \mu\text{L}$  溶解 RNA, $55 \text{ }^\circ\text{C}$  孵育 5 min,用逆转录试剂盒将总 mRNA 逆转录为 cDNA 后进行扩增,PCR 仪的反应条件为  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  30 s, $95 \text{ }^\circ\text{C}$  5 s, $60 \text{ }^\circ\text{C}$  30 s, $95 \text{ }^\circ\text{C}$  10 s,反应共进行 40 个循环,于  $65 \text{ }^\circ\text{C} \sim 95 \text{ }^\circ\text{C}$  绘制溶解曲线,采用  $\Delta C_t$  值及  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  进行数据分析。

**2.5 统计学处理** 实验数据均采用 SPSS 22.0 软件进行分析,结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,数据比较用 *t* 检验, $P < 0.05$  差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对睡眠剥夺模型小鼠定位航行实验的影响** 与正常组比较,模型组找到平台消耗时间与游泳总路程显著延长( $P < 0.01$ );与模型组比较,各给药组找到平台消耗时间与游泳总路程明显减少( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ )。见表 2。

表 2 生慧汤对睡眠剥夺模型小鼠定位航行实验的影响( $\bar{x} \pm s$ , $n = 10$ )

Table 2 Effect of Shenghuitang on navigation test of mice with sleep deprivation model( $\bar{x} \pm s$ , $n = 10$ )

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	找到平台消耗 时间/s	游泳总路程 /cm
正常	-	34.69 ± 22.79	365.98 ± 71.04
模型	-	65.11 ± 14.7 <sup>3)</sup>	886.41 ± 55.46 <sup>3)</sup>
褪黑素	$7.8 \times 10^{-4}$	38.82 ± 11.33 <sup>2)</sup>	441.58 ± 75.21 <sup>2)</sup>
生慧汤	54	40.89 ± 8.01 <sup>2)</sup>	657.19 ± 114.83 <sup>2)</sup>
	27	46.73 ± 8.15 <sup>2)</sup>	767.34 ± 92.13 <sup>2)</sup>
	13.5	50.98 ± 11.29 <sup>1)</sup>	802.2 ± 39.65 <sup>1)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ;与正常组比较<sup>3)</sup> $P < 0.01$ (表 3,4 同)。

**3.2 对睡眠剥夺模型小鼠空间探查实验的影响** 与正常组比较,模型组穿越平台次数与目标象限时

间显著减少 ( $P < 0.01$ ), 第 1 次抵原平台时间明显增加 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 各给药组穿越平台次数与目标象限时间明显增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 第 1 次抵原平台时间明显减少 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。见表 3。

表 3 生慧汤对睡眠剥夺模型小鼠空间探索试验的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effect of Shenghuitang on spatial exploration test in mice with sleep deprivation model ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	穿越平台次数 /次	目标象限时间 /s	第 1 次抵原 平台时间/s
正常	-	7.91 ± 0.94	35.1 ± 5.85	7.73 ± 2.54
模型	-	3.23 ± 0.87 <sup>3)</sup>	14.05 ± 4.17 <sup>3)</sup>	39.38 ± 6.97 <sup>3)</sup>
褪黑素	7.8 × 10 <sup>-4</sup>	6.00 ± 1.00 <sup>2)</sup>	30.94 ± 6.16 <sup>2)</sup>	19.66 ± 4.65 <sup>2)</sup>
生慧汤				
54		5.40 ± 0.92 <sup>2)</sup>	27.96 ± 6.48 <sup>2)</sup>	24.17 ± 5.34 <sup>2)</sup>
27		4.40 ± 0.8 <sup>2)</sup>	19.34 ± 3.58 <sup>1)</sup>	28.46 ± 3.57 <sup>2)</sup>
13.5		4.12 ± 0.70 <sup>1)</sup>	19.20 ± 2.97 <sup>1)</sup>	34.48 ± 4.65 <sup>1)</sup>

3.3 对睡眠剥夺模型小鼠 IL-6, TNF- $\alpha$ , COX-2 mRNA 表达的影响 与正常组比较, 模型组小鼠 IL-6, TNF- $\alpha$ , COX-2 mRNA 表达显著上调 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 各给药组 IL-6, TNF- $\alpha$ , COX-2 mRNA 表达明显下调 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 生慧汤低剂量组 TNF- $\alpha$ , COX-2 mRNA 表达无显著性差异。见表 4。

表 4 生慧汤对睡眠剥夺模型小鼠 IL-6, TNF- $\alpha$ , COX-2 mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 4 Effect of Shenghuitang on mRNA expression of IL-6, TNF- $\alpha$  and COX-2 in mice with sleep deprivation ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	IL-6	TNF- $\alpha$	COX-2
正常	-	0.21 ± 0.07	0.33 ± 0.07	0.29 ± 0.06
模型	-	1.00 <sup>3)</sup>	1.00 <sup>3)</sup>	1.00 <sup>3)</sup>
褪黑素	7.8 × 10 <sup>-4</sup>	0.29 ± 0.08 <sup>2)</sup>	0.41 ± 0.08 <sup>2)</sup>	0.65 ± 0.12 <sup>2)</sup>
生慧汤				
54		0.34 ± 0.09 <sup>2)</sup>	0.63 ± 0.07 <sup>2)</sup>	0.82 ± 0.07 <sup>2)</sup>
27		0.43 ± 0.11 <sup>2)</sup>	0.75 ± 0.12 <sup>2)</sup>	0.87 ± 0.09 <sup>1)</sup>
13.5		0.79 ± 0.14 <sup>2)</sup>	1.00 ± 0.11	0.99 ± 0.11

#### 4 讨论

良好的睡眠有助于学习记忆的巩固和长期记忆的形成<sup>[10]</sup>, 长时间的睡眠剥夺后脑中谷氨酸升高, 损害海马的连续性记忆<sup>[11]</sup>, 使脑中蛋白代谢平衡失调, 影响与记忆相关的传导通路<sup>[12]</sup>。睡眠剥夺是一种氧化应激模型<sup>[13]</sup>, 在氧化应激反应时机体会产生

炎症反应, 通过释放一些炎性因子来调节机体的生理活动, 睡眠剥夺时脑中的炎性因子含量有不同的改变。有些炎症因子直接参与了睡眠的调节作用, 经研究结果显示, 机体产生炎症因子的过程中伴随睡眠结构的改变<sup>[14]</sup>。当机体出现应激反应时, 巨噬细胞及单核细胞会分泌 IL-6 及 TNF- $\alpha$  来介导炎症因子或其他细胞因子<sup>[15]</sup>。COX 是炎症反应中的重要限速酶, COX-2 则是通过炎症信号、生长因子、缺氧等诱导的被认为是导致炎症反应加重的细胞因子<sup>[16-17]</sup>。

生慧汤是补肾安神益智法的代表方药, 已有研究证实生慧汤可通过降低脑中的乙酰胆碱酯酶和丙二醛含量来改善记忆获得障碍模型小鼠的学习记忆能力<sup>[6]</sup>。实验室前期研究结果表明, 生慧汤可改善 APP/PS1 小鼠的昼夜节律紊乱, 调节生物钟节律基因<sup>[5]</sup>。本实验采用慢性睡眠剥夺模型, 通过 Morris 水迷宫试验发现睡眠剥夺组的学习记忆能力明显下降, 而褪黑素组和生慧汤给药组的小鼠学习能力及空间记忆能力有所改善。Real-time PCR 检测结果显示, 慢性睡眠剥夺组小鼠海马中的 IL-6, TNF- $\alpha$ , COX-2 mRNA 表达较正常组升高, 褪黑素组和生慧汤给药组小鼠较慢性睡眠剥夺组降低, 说明生慧汤改善小鼠学习记忆能力有可能是通过降低海马中炎症因子 IL-6, TNF- $\alpha$ , COX-2 mRNA 表达来调节机体的, 但其究竟是直接调节还是通过某些因子来介导尚未明确, 需进一步研究探讨。

#### [参考文献]

- [1] 徐健, 颜崇淮, 沈晓明. 睡眠剥夺损害学习记忆能力的研究 [J]. 中华预防医学杂志, 2004, 38 (2): 134-137.
- [2] 赵忠新, 张红菊, 黄流清. 失眠的治疗药物及其使用方法研究进展 [J]. 中国新药与临床杂志, 2007, 26 (11): 851-856.
- [3] 陆瑾. 调和营卫法针刺治疗失眠症临床观察 [J]. 上海针灸杂志, 2008, 27 (2): 6-7.
- [4] 张如意, 王平, 张舜波, 等. 褪黑素治疗睡眠障碍的作用机制探讨 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36 (2): 308-310.
- [5] 丁莉, 游秋云, 王平. 生慧汤对 APP/PS1 双转基因痴呆小鼠自主活动昼夜节律的影响及对下丘脑生物钟基因的调节 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28 (2): 301-304.
- [6] 周敏, 白兰, 周丽娜, 等. 生慧汤对学习记忆障碍模型小鼠的影响 [J]. 中医药信息, 2009, 26 (6): 54-55.
- [7] 程玥, 陈淑娴, 张雪, 等. 生慧汤对糖尿病脑病模型大

- 鼠认知障碍及神经病理改变的影响[J]. 中成药, 2015, 37(12): 2579-2584.
- [ 8 ] 崔开宇, 王平, 游秋云. 益智仁挥发油对大鼠快动眼睡眠剥夺恢复后脑组织氨基酸类神经递质含量及其受体表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(4): 223-227.
- [ 9 ] 张舜波, 王平, 田代志, 等. 酸枣仁总皂苷对失眠老年大鼠脑氨基酸类神经递质及受体表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(4): 124-127.
- [10] 马哲, 王平, 游秋云. 睡眠及睡眠剥夺与学习记忆的相关性探讨[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(4): 995-997.
- [11] CHANG H M, LIAO W C, Sheu J N, et al. Sleep deprivation impairs  $Ca^{2+}$  expression in the hippocampus: ionic imaging analysis for cognitive deficiency with TOF-SIMS [ J ]. *Microsc Microanal*, 2012, 18(3): 425-435.
- [12] Graves L, Pack A, Abel T. Sleep and memory: a molecular perspective [ J ]. *Trends in Neurosciences*, 2001, 24(4): 237-243.
- [13] Everson C A, Laatsch C D, Hogg N. Antioxidant defense responses to sleep loss and sleep recovery [ J ]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005, 288(2): R374.
- [14] Baker F C, Shah S, Stewart D, et al. Interleukin 1beta enhances non-rapid eye movement sleep and increases c-Fos protein expression in the median preoptic nucleus of the hypothalamus [ J ]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005, 288(4): R998.
- [15] 尚琦松, 黄擘, 盛文辉, 等. 炎性因子 TNF- $\alpha$  及 IL-18 与椎间盘退变的相关性研究 [ J ]. *中国矫形外科杂志*, 2009, 17(5): 385-387.
- [16] WONG Y F, ZHOU H, WANG J R, et al. Anti-inflammatory and analgesic effects and molecular mechanisms of JCICM-6, a purified extract derived from an anti-arthritis Chinese herbal formula [ J ]. *Phytomedicine*, 2008, 15(6): 416-426.
- [17] 曲道炜, 朱辉, 杜斌, 等. 桂芍知母汤及加味对佐剂性关节炎大鼠炎性因子及 COX-2 信号通路表达的影响 [ J ]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(5): 1719-1722.

[责任编辑 周冰冰]