

·实验研究·

基于 NLRP3/IL-1 β 信号通路探讨柴苓汤
对睡眠剥夺大鼠睡眠结构与认知功能的影响罗 京¹, 栗梦凡², 张 兵¹, 林艾羽³, 陈 斌¹, 钟晓勇¹, 郑海燕¹, 蔡昭莲^{1*}

(1. 福建中医药大学附属人民医院, 福建 福州 350004;

2. 福建中医药大学中西医结合学院 中西医结合研究院, 福建 福州 350122;

3. 福建医科大学附属第一医院, 福建 福州 350005)

摘 要: 目的 探讨柴苓汤(CLT)通过NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)/白细胞介素IL-1 β 信号通路对睡眠剥夺(SD)大鼠睡眠结构与认知功能的影响。 方法 采用随机数字表法将30只SD大鼠分为空白(CON)组、模型(MOD)组、艾司唑仑(S.A)组、CLT低剂量(CLT-L)组、CLT中剂量(CLT-M)组和CLT高剂量(CLT-H)组,每组5只。采用改良多平台水环境法制备慢性SD模型,每日剥夺12 h,连续21 d。造模同时灌胃给药,灌胃体积均为10 mL/kg。其中S.A组给予艾司唑仑0.2 mg/kg,CLT-L组、CLT-M组和CLT-H组分别给予CLT 3.6、7.2、14.4 g/kg,CON组和MOD组给予等体积生理盐水,每日1次,连续21 d。采用SleepSign系统进行睡眠时相检测,评估睡眠结构;采用Morris水迷宫定位航行实验和空间探索实验,以及视频跟踪分析系统同步记录大鼠游泳轨迹进行认知功能;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测外周血清IL-1 β 和肿瘤坏死因子(TNF)- α 水平;采用Western blot检测海马组织中NLRP3、IL-1 β 和TNF- α 蛋白表达水平;采用透射电子显微镜观察海马区神经元结构变化。 结果 与CON组比较,MOD组非快速眼动(NREM)睡眠、快速眼动(REM)睡眠时间均显著减少($P<0.05$),觉醒总时长显著增加($P<0.05$),大鼠运动轨迹主要分布于水池边缘,呈边缘徘徊倾向,逃避潜伏期延长($P<0.05$),穿越平台次数减少($P<0.05$),血清IL-1 β 和TNF- α 水平以及海马组织中NLRP3、IL-1 β 和TNF- α 蛋白表达水平均显著上调($P<0.05$),透射电子显微镜显示,MOD组海马区神经元出现焦亡样改变。与MOD组比较,S.A组、CLT-M组和CLT-H组NREM、REM睡眠时间均增加($P<0.05$),觉醒总时长均减少($P<0.05$),穿越平台次数均增加($P<0.05$);S.A组和CLT各剂量组逃避潜伏期均缩短($P<0.05$),血清IL-1 β 和TNF- α 水平及海马组织中NLRP3、IL-1 β 和TNF- α 蛋白表达水平均下调($P<0.05$),大鼠运动轨迹均有不同程度改善,CLT-H组运动轨迹接近CON组;透射电子显微镜显示,S.A组及CLT各剂量组神经元损伤不同程度减轻,其中CLT-H组改善效果显著,细胞形态较为正常,核膜光滑,染色质分布均匀,线粒体空泡化明显减少,嵴结构部分恢复。 结论 CLT可改善SD大鼠的睡眠结构和认知功能,减轻神经元损伤,其机制可能与调节NLRP3炎症小体相关通路、减轻神经炎症反应有关。

关键词: 睡眠剥夺;柴苓汤;神经炎症;NLRP3炎症小体;认知功能

睡眠剥夺(sleep deprivation, SD)已成为影响公众健康的重要问题。流行病学研究显示,全球约27%的人群存在睡眠问题,而我国SD患病率亦呈逐年上升趋势^[1-2]。长期SD会造成日间功能损伤,表现为记忆力、注意力下降等,并可诱发代谢紊乱,增加心脑血管疾病发生风险^[3-4]。研究表明,SD可破坏大脑皮层和海马区等部位的免疫系统,增加大脑皮层和海马区等脑功能区域的炎症反应,造成神经微环境改变,进而促进阿尔茨海默病、认知功能障碍、记忆障碍和脑卒中等脑神经系统疾病的发生、发展;同时,炎症反应可进一步促进神经元损伤和凋亡,加重SD相关病理进程,二者形成恶性循

环^[5]。目前,常用的镇静催眠类化学药物,如苯二氮草受体激动剂,虽可在一定程度上改善睡眠,但依然存在毒副作用大、依赖性强、不能有效改善认知功能等问题^[6]。因此,临床仍需探索更为安全、有效的干预药物及治疗方案。

中医学认为,阴阳失交是SD核心病机,发病关键在于少阳枢机功能失常。柴苓汤(CLT)由小柴胡汤和五苓散合方而成,具有调和少阳枢机、通利三焦水湿之功。药理研究显示,CLT具有明显抗炎作用^[7];临床运用研究显示CLT可改善失眠患者睡眠质量^[8-10],但其干预SD的具体作用机制尚不明确。基于此,本研究采用改良多平台水环境法^[11]制备慢性SD大鼠模型,观察CLT对SD大鼠睡眠结构、认知功能、海马组织中NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)炎症小体、神经炎症相关蛋白表达及海马神经元超微结构的影响,探讨其改善SD的可能作用机制,以期CLT防治SD及其相关认知功能损害提供依据。

收稿日期:2026-04-13;接受日期:2026-06-04

基金项目:福建省科技创新联合资金项目(2025Y9568);福建省卫生联合资助项目(2023J01833);福建省卫生健康青年科研课题(2022QNA077);福建中医药大学附属人民医院基础提升专项(JCZX202425)

通信作者:蔡昭莲, E-mail: 38250198@qq.com

DOI: 10.13260/j.cnki.fjtc.2026.09002

1 实验材料

1.1 实验动物 SPF级8周龄健康雄性Sprague-Dawley大鼠30只,初始体质量200~220 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2022-0012。饲养于福建中医药大学SPF级实验动物中心,实验动物使用许可证号:SYXK(闽)2023-0004。饲养环境温度22~25℃,相对湿度50%~60%,12 h/12 h明暗交替,自由进食饮水。本实验经福建中医药大学动物伦理委员会批准(审批号:FJTCM IACUC 2023177)。

1.2 实验试剂 白细胞介素(IL)-1 β 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号:ER0001)、肿瘤坏死因子(TNF)- α ELISA试剂盒(批号:ER0007)均购自江苏酶免实业有限公司;NLRP3抗体(批号:#DF15549)、IL-1 β 抗体(批号:#AF5103)、TNF- α 抗体(批号:#AF7014)、 β -actin抗体(批号:#AF7018)均购自江苏亲科生物研究中心有限公司;ECL化学发光液(武汉亚科因生物技术有限公司,批号:BMU102);电子显微镜固定液(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号:G1015)。

1.3 实验药物与制备 CLT组成:柴胡15 g,黄芩6 g,党参15 g,法半夏15 g,甘草6 g,大枣6 g,生姜6 g,桂枝15 g,茯苓30 g,白术15 g,猪苓10 g,泽泻20 g。上述饮片由福建中医药大学附属人民医院提供。饮片加入8倍量水浸泡30 min,武火煮沸后文火煎煮30 min,滤出药液;药渣再加6倍量水,按上述方法复煎1次,合并2次煎液,浓缩至含生药浓度为1.44 g/mL的CLT浓缩液,4℃保存备用。艾司唑仑片(华中药业股份有限公司,生产批号:230313,规格:1 mg/片),以生理盐水配制成0.02 mg/mL混悬液备用。

1.4 实验仪器 睡眠剥夺装置(中国医学科学院药物研究所,型号:SBZ-2);SleepSign动物睡眠生物解析系统(日本橘生药品工业株式会社,型号:SleepSign ver.2.0);Morris水迷宫视频分析系统(成都泰盟软件有限公司,型号:MT-200);电泳仪(型号:Mini-PROTEAN Tetra System)、转膜仪(型号:Trans-Blot Turbo System)、凝胶成像系统(型号:ChemiDoc XRS+)均购自美国Bio-Rad公司;酶标仪(美国伯腾仪器有限公司,型号:SYNERGYH1);高速低温离心机(德国Eppendorf公司,型号:Eppendorf 5424 R);透射电子显微镜(日本日立先端科技股份有限公司,型号:Hitachi HT7800)。

2 实验方法

2.1 分组、造模与给药 30只Sprague-Dawley大鼠适应性饲养1周后,按随机数字表法分为6组,每组5只,分别为空白组(CON组)、模型组(MOD组)、艾司唑仑组(S.A组,0.2 mg/kg)、CLT低剂量组(CLT-

L组,3.6 g/kg)、CLT中剂量组(CLT-M组,7.2 g/kg)、CLT高剂量组(CLT-H组,14.4 g/kg)。除CON组外,其余各组参照改良多平台水环境法建立慢性SD模型^[11]。睡眠剥夺箱内均匀放置6个圆形平台,平台直径为6.5 cm,高8 cm,水面低于平台上表面约1 cm,水温维持在(22±2)℃,光照周期为12 h/12 h,光照时间为9:00—21:00。造模组每天9:00—21:00进行睡眠剥夺,其余时间回笼休息,连续21 d。CON组每日同期置于直径18 cm大平台上,不进行睡眠剥夺,其余条件与造模组相同。造模成功判定标准:与CON组比较,造模大鼠出现日间活动增加、夜间倦怠、昼夜节律紊乱、摄食量减少、体质量增长缓慢或下降等表现^[12-13]。

参照《医学实验动物学》中人与动物用药量换算公式^[14]确定CLT给药剂量。自造模第1天开始,各给药组每天灌胃给予相应药物1次,连续给药21 d,灌胃体积均为10 mL/kg。S.A组给予0.02 mg/mL艾司唑仑混悬液(0.2 mg/kg);CLT-L、CLT-M和CLT-H组分别给予浓度为0.36、0.72、1.44 g/mL的CLT浓缩液,相应给药剂量分别为3.6、7.2、14.4 g/kg;CON组和MOD组灌胃给予等体积(10 mL/kg)生理盐水。

2.2 取材 干预结束后第7天,腹腔注射1%戊巴比妥钠4 mL/kg麻醉。经腹主动脉采血,室温静置2 h,3 000 r/min离心15 min,分离血清,每个样本设置3个复孔分装后,-80℃保存,用于ELISA检测;采血后断头取脑,冰上快速分离双侧海马组织。每组随机选取3只大鼠,取单侧海马组织,切成约2 mm×2 mm×2 mm的组织块,置于2.5%戊二醛透射电子显微镜固定液中固定,用于透射电子显微镜观察;将上述3只大鼠电子显微镜取材后剩余的同侧及对侧海马组织,以及另外2只大鼠的全部海马组织,分别迅速置于液氮中低温保存,用于后续Western blot实验。用于Western blot检测的海马组织,加入RIPA裂解液匀浆提取总蛋白,采用BCA法测定蛋白浓度后,于-80℃分装保存备用。

2.3 观察指标

2.3.1 睡眠结构评估 干预第21天灌胃给药结束后,将大鼠置于透明记录笼中,参照文献^[15],于异氟烷麻醉下为大鼠埋植脑电图(EEG)和肌电图(EMG)电极。术后大鼠单笼饲养3 d(实验第22~24天),其间自由摄食、饮水,并同步进行Morris水迷宫训练。正式记录前,将大鼠置于透明记录笼中适应30 min,并连接记录导线及万向轮转轴系统,使其适应记录环境及连接线负荷。随后连续24 h记录自由活动状态下大鼠EEG和EMG信号。记录结束后,采用SleepSign动物睡眠分析软件,以“10 s”为分析单元,根据统一设定的判读标准自动判定觉醒

期、非快速眼动(NREM)睡眠期和快速眼动(REM)睡眠期,统计各组大鼠 24 h 内各睡眠时相的时间。

2.3.2 Morris 水迷宫实验评估认知功能 Morris 水迷宫实验自造模及给药结束后第 1 天(实验第 22 天)开始,连续进行 6 d(实验第 22~27 天),并与 EEG/EMG 睡眠记录同期开展。实验装置为直径 150 cm、高 60 cm 的圆形水池,水深 30 cm,水温维持在(25±2)℃,水池周围设置不同形状的视觉参照物。将水池等分为 4 个象限,目标平台置于第 1 象限,平台位于水面下 2 cm。实验过程中采用 Morris 水迷宫视频跟踪分析系统同步记录大鼠游泳轨迹。定位航行实验于第 1~5 天进行:每日将大鼠面向池壁从不同象限放入水中,记录其在 90 s 内找到平台并停留 3 s 以上所需时间,即逃避潜伏期;若大鼠在 90 s 内未找到平台,则引导其至平台并停留 15 s,逃避潜伏期记为 90 s。每只大鼠每天训练 4 次,取平均值,并以第 5 天 4 次训练的平均逃避潜伏期作为定位航行能力的统计指标。空间探索实验于第 6 天进行:撤除平台后,将大鼠从第 3 象限面向池壁放入水中,记录 90 s 内穿越原平台所在区域次数,即穿越平台次数。

2.3.3 血清炎症因子检测 取冻存血清样本,严格按 ELISA 试剂盒说明书进行操作,分别检测 IL-1β 和 TNF-α 水平。每个样本设置 3 个复孔,采用酶标仪于 450 nm 波长处测定各孔吸光度(A)值,取各复孔平均 A 值,根据标准曲线计算各炎症因子浓度。

2.3.4 Western blot 检测海马组织中 NLRP3、IL-1β 和 TNF-α 蛋白表达量 取上述分装保存的蛋白样品,恢复至室温后取等量 30 μg 蛋白样品,进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,经转膜、封闭后,分别加入 NLRP3(1:1 000)、IL-1β(1:1 000)、TNF-α(1:1 000)及 β-actin(1:5 000)一抗,4℃孵育过夜。洗膜后加入相应 HRP 标记二抗(1:5 000),室温孵育 1 h。再次洗膜后,采用 ECL 化学发光试剂显影,并用凝胶成像系统采集图像。采用 ImageJ 软件分析条带灰度值,以目的蛋白与内参 β-actin 灰度值比值表示相对表达量。

2.3.5 透射电子显微镜观察海马神经元超微结构 于立体解剖显微镜下切取海马 CA1 区组织约 2 mm×2 mm×2 mm 大小组织块,置于 2.5% 戊二醛电子显微镜固定液中,4℃固定过夜;随后用 0.1 mol/L PBS 洗涤 3 次,每次 15 min;在 4℃条件下用 1% 锇酸固定 2 h,再经梯度乙醇脱水、环氧树脂包埋,制备 70 nm 超薄切片,并经醋酸铀和柠檬酸铅双重染色。在透射电子显微镜下观察海马 CA1 区神经元超微结构变化。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 27.0 软件进行数据分析。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,符合正态分布且方差齐的数据,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较,方差齐采用 LSD-*t* 检验,方差不齐采用 Dunnett's T3 检验。*P*<0.05 为差异具有统计学意义。

3 结 果

3.1 6 组睡眠结构比较 见表 1。

表 1 6 组睡眠结构比较 ($\bar{x}\pm s$)				min
组别	<i>n</i>	NREM 睡眠	REM 睡眠	觉醒总时长
CON 组	5	677.86±8.58	149.81±5.31	612.34±4.90
MOD 组	5	582.00±12.78 ¹⁾	107.26±8.57 ¹⁾	750.75±7.02 ¹⁾
S.A 组	5	643.63±22.94 ¹⁾²⁾	123.99±5.93 ¹⁾²⁾	672.38±28.70 ¹⁾²⁾
CLT-L 组	5	593.07±7.47 ¹⁾	115.66±6.54 ¹⁾	731.28±9.30 ¹⁾
CLT-M 组	5	634.11±12.12 ¹⁾²⁾	126.00±6.04 ¹⁾²⁾	679.89±14.54 ¹⁾²⁾
CLT-H 组	5	675.73±10.37 ¹⁾²⁾	128.73±7.24 ¹⁾²⁾	635.55±10.62 ¹⁾²⁾

注:与 CON 组比较,1) *P*<0.05;与 MOD 组比较,2) *P*<0.05。

3.2 6 组认知功能比较 Morris 水迷宫运动轨迹显示,CON 组大鼠可较快定位至平台所在区域,运动轨迹相对集中;与 CON 组比较,MOD 组大鼠运动轨迹主要分布于水池边缘,呈边缘徘徊倾向;与 MOD 组比较,CLT 各剂量组及 S.A 组运动轨迹均有不同程度改善,其中 CLT-H 组运动轨迹接近 CON 组。见图 1。与 CON 组比较,MOD 组逃避潜伏期显著延长(*P*<0.05),穿越平台次数显著减少(*P*<0.05);与 MOD 组比较,CLT 各剂量组和 S.A 组逃避潜伏期均显著缩短(*P*<0.05),S.A 组、CLT-M 组和 CLT-H 组穿越平台次数均显著增加(*P*<0.05)。见图 2。

3.3 6 组血清 IL-1β 和 TNF-α 水平比较 见图 3。

3.4 6 组海马组织中 NLRP3、IL-1β 和 TNF-α 蛋白表达量比较 见图 4 和表 2。

3.5 6 组海马区神经元结构比较 CON 组海马神经元形态正常,细胞膜完整,核膜光滑,染色质分布均匀,线粒体结构清晰。MOD 组神经元出现典型细胞焦亡结构改变:细胞肿胀,核膜皱缩,染色质凝集边集,线粒体空泡化、嵴模糊或消失,部分细胞膜破裂。与 MOD 组比较,CLT 各剂量组和 S.A 组神经元损伤不同程度减轻,其中 CLT-H 组改善显著,细胞形态较为正常,核膜光滑,染色质分布均匀,线粒体空泡化明显减少,嵴结构部分恢复。见图 5。

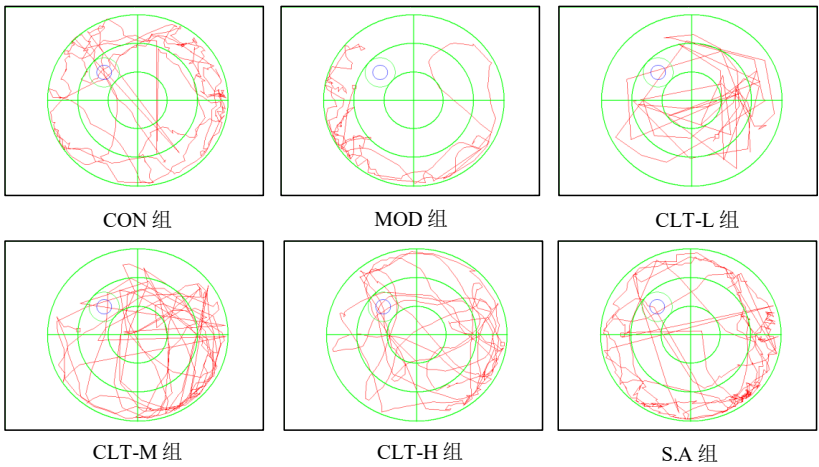
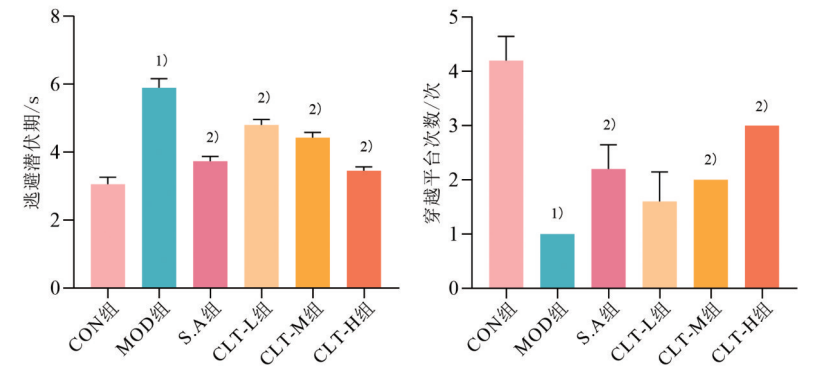
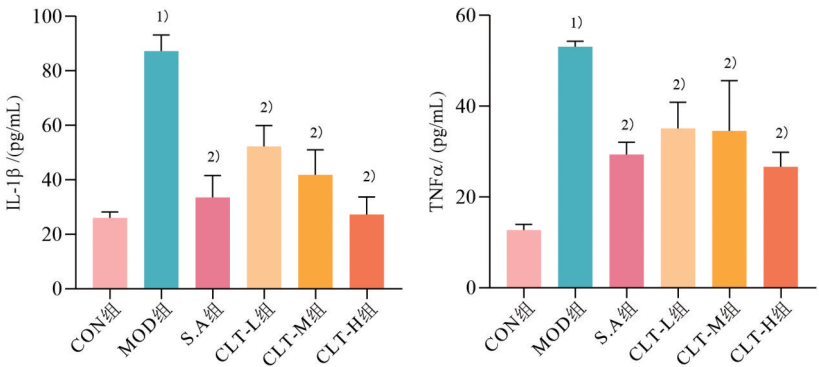


图 1 6 组 Morris 水迷宫实验运动轨迹图



注:与 CON 组比较,1) $P < 0.05$;与 MOD 组比较,2) $P < 0.05$ 。

图 2 6 组逃避潜伏期和穿越平台次数结果比较



注:与 CON 组比较,1) $P < 0.05$;与 MOD 组比较,2) $P < 0.05$ 。

图 3 6 组血清 IL-1 β 和 TNF- α 水平比较

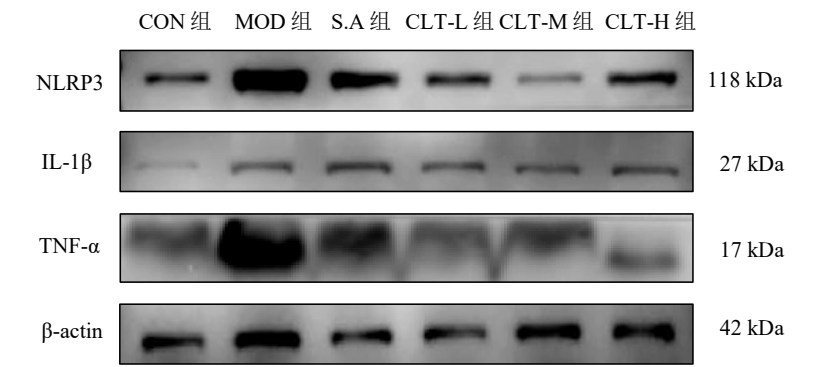
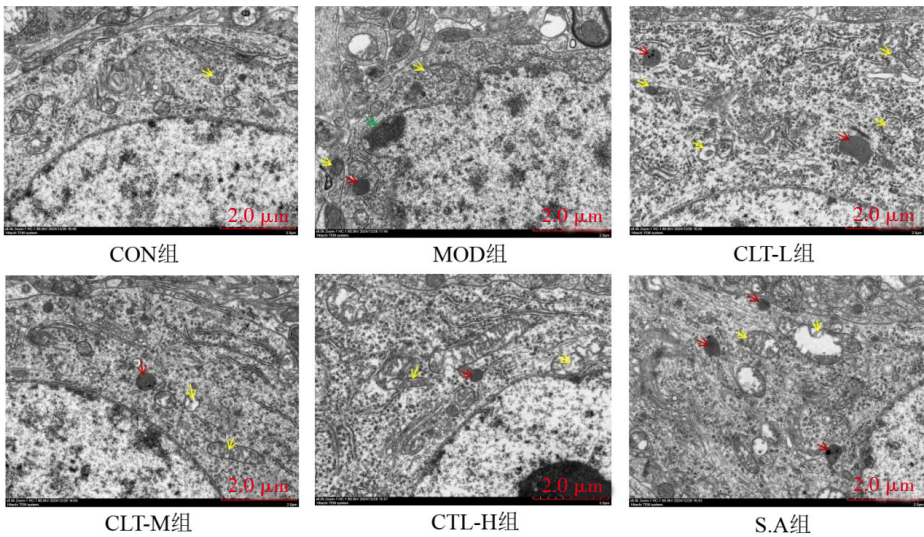


图 4 6 组海马组织中 NLRP3、IL-1 β 和 TNF- α 蛋白表达条带图

表 2 6组海马组织中 NLRP3、IL-1β 和 TNF-α 蛋白表达量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NLRP3/β-actin	IL-1β/β-actin	TNF-α/β-actin
CON 组	5	0.79±0.04	0.62±0.04	0.49±0.01
MOD 组	5	1.89±0.12 ¹⁾	1.46±0.13 ¹⁾	2.08±0.04 ¹⁾
S.A 组	5	1.36±0.08 ¹⁾²⁾	1.24±0.05 ²⁾	1.31±0.03 ¹⁾²⁾
CLT-L 组	5	1.07±0.12 ¹⁾²⁾	1.05±0.02 ¹⁾²⁾	1.09±0.04 ¹⁾²⁾
CLT-M 组	5	0.86±0.07 ²⁾	0.88±0.03 ¹⁾²⁾	0.90±0.03 ¹⁾²⁾
CLT-H 组	5	1.11±0.09 ¹⁾²⁾	1.06±0.08 ¹⁾²⁾	1.09±0.01 ¹⁾²⁾

注：与 CON 组比较,1) $P<0.05$;与 MOD 组比较,2) $P<0.05$ 。



注：黄色箭头为线粒体，红色箭头为凋亡小体，绿色箭头为固缩细胞核碎片。n=3。

图 5 6组海马区神经元电子显微镜图(×15 000)

4 讨 论

长期SD可激活中枢神经系统固有免疫,诱导脑内 NLRP3 炎症小体活化,促进 IL-1β、TNF-α 等炎症因子释放,引起神经炎症并损害睡眠结构和认知功能^[16-17]。本研究采用改良多平台水环境法制备慢性SD大鼠模型,从睡眠结构、认知功能、炎症因子表达、海马 NLRP3 炎症小体相关蛋白及海马 CA1 区神经元超微结构等方面评价 CLT 的干预作用。本研究结果显示,SD 可导致大鼠睡眠结构紊乱、空间学习记忆功能受损,并伴随血清 IL-1β 和 TNF-α 水平升高、海马组织 NLRP3、IL-1β 和 TNF-α 蛋白表达上调及海马神经元超微结构损伤;CLT 干预后上述异常均有不同程度改善,提示 CLT 可能通过调控 NLRP3 炎症小体相关通路减轻神经炎症反应,从而改善 SD 相关睡眠结构紊乱和认知功能障碍。

睡眠-觉醒周期的调控涉及下丘脑、脑干等多个核团的复杂神经网络。研究表明,IL-1β 和 TNF-α 可直接作用于睡眠调节回路,生理水平的 IL-1β 和 TNF-α 可促进 NREM 睡眠,而在慢性炎症状态下,炎症因子持续升高则可导致睡眠碎片化、REM 睡眠减少及睡眠结构紊乱^[18]。本研究结果显示,

SD 大鼠 NREM 和 REM 睡眠时间显著减少,觉醒总时长显著增加,同时伴有外周血清及海马组织 IL-1β 和 TNF-α 水平显著升高。CLT-M 组和 CLT-H 组干预后,上述炎症因子水平显著降低,睡眠时相分布亦明显改善,提示 CLT 改善睡眠结构的作用可能与抑制 NLRP3 炎症小体相关通路、减少下游炎症因子过度释放有关。此外,CLT-L 组各睡眠指标与 MOD 组比较差异无统计学意义,提示低剂量 CLT 对 SD 大鼠睡眠结构的改善作用有限,可能存在一定的剂量依赖性。本研究选择苯二氮草类镇静催眠药的代表药物艾司唑仑为阳性对照药。结果显示,S.A 组在改善 SD 大鼠 NREM 和 REM 睡眠时间、减少觉醒时间方面与 CLT-M、CLT-H 组效果相当,提示 CLT 中、高剂量对睡眠结构的改善作用接近艾司唑仑,也表明 CLT 对 SD 所致睡眠结构紊乱具有一定改善作用。

海马是学习记忆的关键脑区,对 SD 所致损伤较为敏感。本研究水迷宫实验结果显示,SD 大鼠逃避潜伏期显著延长,穿越平台次数显著减少,运动轨迹散乱,多分布于水池边缘,提示其空间学习记忆能力严重受损。与 MOD 组比较,CLT-M 和 CLT-H 组逃避潜伏期显著缩短,穿越平台次数增

加。其中,CLT-H组在改善认知功能方面效果更显著。ZHAO等^[19]研究显示,慢性SD可激活肠道和脑内NLRP3炎症小体,海马NLRP3下调可减轻神经炎症、突触功能障碍和认知损害。

NLRP3炎症小体是固有免疫应答和炎症反应的关键调控节点。当细胞受到SD相关氧化应激、线粒体损伤等刺激时,NLRP3炎症小体被激活,促进IL-1 β 和IL-18等炎症因子成熟和释放,进而加剧炎症反应^[20]。本研究结果显示,CLT各剂量组显著下调SD大鼠海马组织中NLRP3、IL-1 β 和TNF- α 蛋白表达,并降低外周血清IL-1 β 和TNF- α 水平。现代药理学研究证实,CLT方中多味药物具有抗炎和免疫调节作用,复方中的多种活性成分可协同作用于NLRP3炎症小体相关通路,从而发挥抗神经炎症效应。如柴胡皂苷A可通过靶向胆固醇25-羟化酶(CH25H)/25-羟基胆固醇(25-OHC)轴抑制巨噬细胞中NLRP3炎症小体的活化^[21];黄芩苷可通过抑制NLRP3炎症小体和Toll样受体4(TLR4)/核因子- κ B(NF- κ B)信号通路,减轻小胶质细胞介导的神经炎症反应^[22]。此外,本研究中CLT各剂量组在抑制海马NLRP3、IL-1 β 和TNF- α 蛋白表达方面均较MOD组显著降低,但组间差异无统计学意义,是否存在非单调的剂量-效应关系,尚需进一步设计多剂量梯度实验,并结合药效物质基础、血药浓度及相关信号通路进行系统验证。

细胞焦亡是NLRP3炎症小体激活后下游的关键效应事件。活化的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)不仅加工炎症因子,还切割消皮素D(GSDMD)产生具有成孔活性的消皮素D氨基端片段(GSDMD-N),后者在细胞膜上形成孔道,一方面为IL-1 β 和IL-18等炎症介质提供释放通道,另一方面导致细胞内外离子失衡,引起细胞肿胀、膜破裂和胞内内容物释放,最终引发焦亡性细胞死亡^[23]。其超微结构特征包括细胞肿胀、核膜皱缩、染色质凝集边集、线粒体空泡化及膜破裂^[24]。本研究透射电子显微镜观察显示,MOD组海马区神经元出现核膜皱缩、染色质边集、线粒体空泡化及膜破裂等焦亡样超微结构损伤,而CLT-H组神经元损伤显著减轻,细胞形态趋于正常。结合CLT对NLRP3的抑制作用,提示CLT可能通过调控NLRP3炎症小体相关通路,减轻SD诱导的海马神经元炎症损伤及焦亡样改变。这一结果与既往报道的中药复方通过抑制NLRP3通路改善睡眠障碍的研究相一致^[25]。但本研究尚未进一步检测Caspase-1、GSDMD-N和IL-18等细胞焦亡关键分子,后续仍需从细胞焦亡通路及CLT药效物质基础等方面进一步验证。

综上,CLT可有效改善SD大鼠睡眠结构紊乱

和认知功能障碍,可作为艾司唑仑的潜在替代或补充治疗选择,尤其适用于需要长期用药且伴有认知功能损害的SD患者,其作用机制可能与抑制NLRP3炎症小体相关通路、降低IL-1 β 和TNF- α 表达、减轻神经炎症反应及海马神经元焦亡样损伤有关。本研究为CLT治疗SD提供了实验依据,后续将进一步采用慢病毒转染过表达或干扰NLRP3表达的方法,以更明确地验证CLT作用的关键靶点。

参考文献

- [1] LIM D C, NAJAFI A, AFIFI L, et al. The need to promote sleep health in public health agendas across the globe [J]. *Lancet Public Health*, 2023, 8(10): e820-e826.
- [2] LIU X X, WANG Z, CHEN S J, et al. Sleep health in China: status, challenges, and promotion strategies [J]. *Lancet Public Heal*, 2025, 10(12): e1055-e1065.
- [3] ADENIJI K O, IGADO O O, OLOPADE F E, et al. Sleep deprivation and memory: a neurobiological perspective [J]. *IBRO Neurosci Rep*, 2026, 20: 170-180.
- [4] FLEMMING A. Sleep deprivation whips up cytokine storm [J]. *Nat Rev Immunol*, 2024, 24(1): 2.
- [5] 杨丹, 石岩, 王艺璇, 等. 睡眠剥夺引起机体损伤的分子机制及中药防治研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(21): 5707-5718.
- [6] 叶玉剑, 钟娜, 赵敏. 镇静催眠药物滥用及干预方式的研究进展[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2021, 41(1): 99-102.
- [7] 郭秀春, 李芳芳, 朱晓娣, 等. 柴苓汤的药理作用及临床应用研究进展[J]. *中成药*, 2015, 37(5): 1075-1079.
- [8] 刘建伟, 吴明阳, 张国海. 李发枝临床运用柴苓汤经验[J]. *上海中医药杂志*, 2022, 56(3): 33-35, 47.
- [9] 杨捷, 叶品良, 曾萍. 叶品良运用柴苓汤加减治疗失眠经验[J]. *湖南中医杂志*, 2017, 33(2): 29-30.
- [10] 郑海燕, 杨俊杰, 栗梦凡, 等. 柴苓汤加减联合右佐匹克隆片治疗肝郁脾虚型慢性失眠40例[J]. *福建中医药*, 2026, 57(4): 50-53.
- [11] 魏砚君, 卞宏生, 叶晓楠, 等. 睡眠剥夺动物模型及其在中医药改善睡眠研究中的应用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(10): 227-234.
- [12] 张敏, 黄俊山, 张一帆, 等. 归脾汤对慢性睡眠剥夺大鼠海马PP1/CREB信号通路的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(12): 7050-7054.
- [13] 曾雪爱, 周春权, 吴华嵩, 等. 松郁安神方通过cAMP/CREB信号通路改善失眠大鼠睡眠的研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2022, 33(10): 1322-1327.
- [14] 汤家铭, 陈民利. 医学实验动物学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 209-210.
- [15] 邱梅红, 岳小芳, 徐昕红, 等. 小鼠睡眠生物解析系统与应用[J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(1): 20-23.
- [16] LIU H Y, HUANG X, LI Y H, et al. TNF signaling pathway-mediated microglial activation in the PFC underlies acute paradoxical sleep deprivation-induced anxiety-like behaviors in mice [J]. *Brain Behav Immun*, 2022, 100: 254-266.
- [17] ISING C, VENEGAS C, ZHANG S S, et al. NLRP3 inflammasome activation drives tau pathology [J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 669-673.
- [18] ZIELINSKI M R, GERASHCHENKO D, KARPOVA S A, et al. The NLRP3 inflammasome modulates sleep and NREM sleep delta

- power induced by spontaneous wakefulness, sleep deprivation and lipopolysaccharide [J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 62: 137–150.
- [19] ZHAO N, CHEN Q G, CHEN X, et al. Intestinal dysbiosis mediates cognitive impairment via the intestine and brain NLRP3 inflammasome activation in chronic sleep deprivation [J]. *Brain Behav Immun*, 2023, 108: 98–117.
- [20] FAN K, YANG J J, GONG W Y, et al. NLRP3 inflammasome activation mediates sleep deprivation-induced pyroptosis in mice [J]. *PeerJ*, 2021, 9: e11609.
- [21] YANG X, YANG J N, WANG A H, et al. Saikosaponin A ameliorates ulcerative colitis by targeting the CH25H/25-OHC axis to inhibit NLRP3 inflammasome in macrophages [J]. *Phytomedicine*, 2025, 143: 156844.
- [22] JIN X, LIU M Y, ZHANG D F, et al. Baicalin mitigates cognitive impairment and protects neurons from microglia-mediated neuroinflammation via suppressing NLRP3 inflammasomes and TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25(5): 575–590.
- [23] SHI J J, GAO W Q, SHAO F. Pyroptosis: gasdermin-mediated programmed necrotic cell death [J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(4): 245–254.
- [24] 杜娟, 杨淇, 董森元, 等. 细胞焦亡在神经系统炎症性疾病发病中的作用机制研究进展 [J]. *感染、炎症、修复*, 2026, 27(1): 84–88.
- [25] 曾雪爱, 周春权, 郭昕子, 等. 松郁安神方通过海马 NLRP3 炎症小体通路改善慢性睡眠剥夺大鼠学习记忆能力的研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2023, 34(11): 1534–1540.

(上接第 3 页)

5 结 语

痰气从化有所依之处。肺之宣降、脾之运化、肝之疏泄、肾之气化以及心之主血脉藏神各不相同,故痰气停聚于五脏,其生成原因、交结方式与证候表现亦有差别。肺位以宣降失常、痰气壅滞为主,脾位以运化失健、痰湿困中为主,肝位以疏泄不利、痰随气结为主,肾位多见气化失司、痰饮留伏为主,心位则以心脉受阻或心神受蒙为要。此为病位之异,不能据此将五脏与寒热燥湿作固定配属。

从痰之所生、痰气所结与病变所及 3 个方面辨析病位,可较好地说明同一脏腑兼具数种作用以及数脏分别参与的病机。辨位之时,还当与病性、体质、气机及病势合参。本文所论旨在厘清痰气从化与五脏病位的基本关系,至于不同疾病各有何种病位特点,可在此基础上另行讨论。

参考文献

- [1] 林山, 梁文娜, 俞洁, 等. 痰证论治思维对慢病治疗的意义 [J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(11): 4987–4992.
- [2] 李灿东, 吴长汶, 杨小婷, 等. 痰证之辨 [J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(9): 3922–3924.
- [3] 李霄, 李霖, 金鑫瑶, 等. 痰证理论源流及演变略论 [J]. *中医杂志*, 2020, 61(15): 1303–1306.
- [4] 李书楠, 李灿东, 吴长汶. 李灿东教授“痰气从化”理论溯源与核心概念解析 [J]. *福建中医药*, 2026, 57(1): 1–3, 8.
- [5] 李书楠, 张傑屹, 吕忠宽, 等. “痰气从化”的时空演变规律及

其与传统“传变”理论的异同 [J]. *福建中医药*, 2026, 57(2): 1–3, 15.

- [6] 黄丽清, 甘迦林, 吕忠宽, 等. 基于体质分类的痰气从化演变研究 [J]. *福建中医药*, 2026, 57(6): 1–5.
- [7] 卓泽伟, 李书楠, 张傑屹, 等. 痰气从化进程中“痰”“虚”的兼杂特点 [J]. *福建中医药*, 2026, 57(4): 1–4.
- [8] 李书楠, 吴长汶, 吕忠宽, 等. “痰气从化”理论对传统病机学的继承与发展 [J]. *福建中医药*, 2026, 57(3): 11–14.
- [9] 黄帝内经素问 [M]. 田代华, 整理. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 45.
- [10] 余亚娜, 于建春, 刘存志, 等. 论三焦气化说 [J]. *中医杂志*, 2009, 50(5): 389–392.
- [11] 夏梦幻, 王庆其. 《黄帝内经》气化理论发微 [J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(10): 5774–5776.
- [12] 朱文锋, 张华敏. “证素”的基本特征 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2005, 11(1): 17–18.
- [13] 朱燕波, 严辉, 李彦妮, 等. 中医体质四个基本原理的实证研究概述 [J]. *中医杂志*, 2018, 59(17): 1446–1449.
- [14] 朱丹溪. 丹溪心法 [M]. 王英, 竹剑平, 江凌圳, 整理. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 79.
- [15] 沈金鳌. 杂病源流犀烛 [M]. 田思胜, 整理. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 494.
- [16] 李中梓. 医宗必读 [M]. 郭霞珍, 袁卫玲, 王志飞, 等, 整理. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 101.
- [17] 张介宾. 景岳全书 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2023: 167–169.
- [18] 贺娟. 《黄帝内经》基于经络系统的疾病传变模式及其临床实践价值 [J]. *中医杂志*, 2025, 66(16): 1635–1639, 1655.