

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2024.15.006  
文章编号: 1005-8982 (2024) 15-0031-10

实验研究·论著

## 基于Ror $\alpha$ /Bmal1信号轴探讨半夏秫米汤 对慢性失眠大鼠睡眠稳态的影响\*

张艳, 王书君, 尚春光, 张喆, 刘西建

(山东中医药大学中医学院, 山东 济南 250355)

**摘要:** **目的** 探讨“引阳入阴”代表性方剂半夏秫米汤对慢性失眠(CI)大鼠生物钟基因Ror $\alpha$ /Bmal1信号轴的影响。**方法** SPF级大鼠36只,随机分为空白组、模型组、半夏秫米汤低剂量组(BXSM-L组)、半夏秫米汤中剂量组(BXSM-M组)、半夏秫米汤高剂量组(BXSM-H组)、地西洋组(DZ组),每组6只。除空白组外,其余各组均采用小平台水环境法复制CI模型大鼠。BXSM-L组、BXSM-M组、BXSM-H组大鼠分别灌胃4.69、9.38、18.75 g/kg半夏秫米汤水煎剂,DZ组大鼠灌胃0.52 mg/kg地西洋水溶液,空白组和模型组大鼠均给予等体积生理盐水灌胃,连续14 d。给药结束后,用16道生理记录仪监测脑电波,实时荧光定量聚合酶链反应、Western blotting、免疫组织化学法分别检测视交叉上核(SCN)、大脑皮层(CC)的Ror $\alpha$ 和Bmal1基因及蛋白表达,酶联免疫吸附试验检测脑干与血清中 $\gamma$ 氨基丁酸(GABA)、谷氨酸(Glu)、多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NE)含量。**结果** 模型复制成功后的大鼠皮毛暗淡无光泽,精神萎靡,易激惹,对周围声、光刺激敏感,昼夜节律消失。空白组 $\alpha$ 波、 $\beta$ 波频率均低于造模组(除空白组外其余各组统称为造模组)、 $\delta$ 波频率高于造模组( $P < 0.05$ )。空白组 $\beta$ 波波幅低于造模组, $\delta$ 波波幅高于造模组( $P < 0.05$ )。模型组的 $\alpha$ 波、 $\delta$ 波频率较空白组均下降( $P < 0.05$ ), $\beta$ 波频率较空白组上升( $P < 0.05$ ),半夏秫米汤不同剂量组及DZ组 $\alpha$ 波频率较模型组均上升( $P < 0.05$ ), $\beta$ 波频率较模型组均下降( $P < 0.05$ ),BXSM-M组、BXSM-H组及DZ组 $\delta$ 波频率较模型组均上升( $P < 0.05$ )。模型组的 $\beta$ 波波幅较空白组上升( $P < 0.05$ ), $\delta$ 波波幅较空白组下降( $P < 0.05$ ),半夏秫米汤不同剂量组及DZ组 $\beta$ 波波幅较模型组均下降( $P < 0.05$ ), $\delta$ 波波幅较模型组均上升( $P < 0.05$ ),BXSM-L组 $\alpha$ 波波幅较模型组上升( $P < 0.05$ )。模型组血清、脑干Glu、GABA含量较空白组均升高( $P < 0.05$ ),半夏秫米汤不同剂量组及DZ组血清Glu含量较模型组均降低( $P < 0.05$ ),BXSM-M组、BXSM-H组及DZ组脑干Glu含量较模型组均降低( $P < 0.05$ ),半夏秫米汤不同剂量组及DZ组血清GABA较模型组均降低( $P < 0.05$ ),BXSM-L组、BXSM-H组及DZ组脑干GABA含量较模型组均降低( $P < 0.05$ )。模型组血清、脑干NE、DA含量较空白组均升高( $P < 0.05$ ),半夏秫米汤不同剂量组及DZ组血清、脑干NE含量较模型组均降低( $P < 0.05$ ),BXSM-M组、BXSM-H组及DZ组血清DA含量较模型组均降低( $P < 0.05$ ),BXSM-H组和DZ组脑干DA较模型组降低( $P < 0.05$ )。模型组SCN、CC的Ror $\alpha$ 与Bmal1基因和蛋白相对表达量较空白组下降( $P < 0.05$ ),BXSM-M组、BXSM-H组及DZ组SCN、CC的Ror $\alpha$ 与Bmal1基因和蛋白相对表达量较模型组均上升( $P < 0.05$ )。**结论** 首次从生物钟基因角度揭示了半夏秫米汤“引阳入阴”改善CI的机制,可能是通过上调Ror $\alpha$ /Bmal1信号轴调控睡眠稳态。

**关键词:** 慢性失眠;半夏秫米汤;生物钟基因;睡眠稳态;脑电波

**中图分类号:** R740

**文献标识码:** A

## Investigation of the effect of Banxia Shumi decoction on sleep homeostasis in rats with chronic insomnia based on the Ror $\alpha$ /Bmal1 signaling axis\*

收稿日期: 2023-11-13

\* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 82174117, 82374330); 山东省自然科学基金重大基础项目(No: ZR2019ZD23); 山东省中医药科技发展规划项目(No: 2019-0034)

[通信作者] 刘西建, E-mail: liuxijian@sdutcm.edu.cn; Tel: 0531-89628527

Zhang Yan, Wang Shu-jun, Shang Chun-guang, Zhang Zhe, Liu Xi-jian  
(College of Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine,  
Jinan, Shandong 250355, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of Banxia Shumi decoction, a representative formula for "guiding Yang into Yin," on the Ror $\alpha$ /Bmal1 signaling axis in rats with chronic insomnia (CI). **Methods** Thirty-six SPF-grade rats were randomly divided into six groups: blank, model, low-dose Banxia Shumi decoction (BXSM-L), medium-dose Banxia Shumi decoction (BXSM-M), high-dose Banxia Shumi decoction (BXSM-H), and diazepam (DZ) groups, with six rats in each group. Except for the blank group, CI models were established using the small platform water environment method. The BXSM-L, BXSM-M, and BXSM-H groups received Banxia Shumi decoction at doses of 4.69, 9.38 and 18.75 g/kg, respectively. The DZ group was administered diazepam solution at 0.52 mg/kg, while the blank and model groups received the same volume of normal saline for 14 days. After treatment, electroencephalogram (EEG) was monitored using a 16-channel physiological recorder. The expression of Ror $\alpha$  and Bmal1 genes and proteins in the suprachiasmatic nucleus (SCN) and cerebral cortex (CC) was assessed using real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, Western blotting, and immunohistochemistry. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to measure levels of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA), glutamate (Glu), dopamine (DA), and norepinephrine (NE) in the brainstem and serum. **Results** Rats in the model group exhibited dull, lackluster fur, lethargy, irritability, sensitivity to environmental stimuli (such as sound and light), and loss of circadian rhythm. The blank group had lower  $\alpha$  and  $\beta$  wave frequencies and higher  $\delta$  wave frequency than the model group ( $P < 0.05$ ). The model group had decreased  $\alpha$  and  $\delta$  wave frequencies and increased  $\beta$  wave frequency compared to the blank group ( $P < 0.05$ ). The BXSM-L, BXSM-M, BXSM-H, and DZ groups showed increased  $\alpha$  wave frequencies and decreased  $\beta$  wave frequencies compared to the model group ( $P < 0.05$ ). The BXSM-M, BXSM-H, and DZ groups had increased  $\delta$  wave frequencies compared to the model group ( $P < 0.05$ ). The model group had higher  $\beta$  wave amplitude and lower  $\delta$  wave amplitude compared to the blank group ( $P < 0.05$ ). The BXSM-L, BXSM-M, BXSM-H, and DZ groups had lower  $\beta$  wave amplitudes and higher  $\delta$  wave amplitudes compared to the model group ( $P < 0.05$ ). The model group showed elevated levels of serum and brainstem Glu, GABA, NE, and DA compared to the blank group ( $P < 0.05$ ). The BXSM-L, BXSM-M, BXSM-H, and DZ groups had lower serum Glu levels compared to the model group ( $P < 0.05$ ). The BXSM-M, BXSM-H, and DZ groups had lower brainstem Glu levels compared to the model group ( $P < 0.05$ ). The BXSM-L, BXSM-M, BXSM-H, and DZ groups had lower serum GABA levels compared to the model group ( $P < 0.05$ ). The BXSM-L and BXSM-H groups had lower brainstem GABA levels compared to the model group ( $P < 0.05$ ). The model group had elevated levels of NE and DA in serum and brainstem compared to the blank group ( $P < 0.05$ ). The BXSM-L, BXSM-M, BXSM-H, and DZ groups had lower serum NE levels compared to the model group ( $P < 0.05$ ). The BXSM-M, BXSM-H, and DZ groups had lower serum DA levels compared to the model group ( $P < 0.05$ ). The BXSM-H and DZ groups had lower brainstem DA levels compared to the model group ( $P < 0.05$ ). The model group had decreased relative expression of Ror $\alpha$  and Bmal1 genes and proteins in SCN and CC compared to the blank group ( $P < 0.05$ ). The BXSM-M, BXSM-H, and DZ groups had increased relative expression of Ror $\alpha$  and Bmal1 genes and proteins in SCN and CC compared to the model group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** This study reveals, for the first time, that Banxia Shumi decoction may ameliorate CI by upregulating the Ror $\alpha$ /Bmal1 signaling axis, thereby improving sleep homeostasis.

**Keywords:** chronic insomnia; Banxia Shumi decoction; biological clock genes; sleep homeostasis; electroencephalogram

慢性失眠(chronic insomnia, CI)是最常见的睡眠-觉醒紊乱,以患者长期对睡眠数量或质量不满意为特征<sup>[1]</sup>,在中国发病率约为 15%<sup>[2]</sup>,是重要的脑病,与认知功能、心理健康及生活质量关系密切<sup>[3]</sup>。

睡眠稳态是指睡眠剥夺后出现的睡眠时间更长、睡眠程度更深、 $\delta$ 振荡(0.5 ~ 4.0 Hz)功率增加的

现象<sup>[4]</sup>,被认为是慢性失眠的机制之一<sup>[5]</sup>。而时钟基因能调节睡眠稳态<sup>[6]</sup>,如生物钟基因 Per2 可以影响睡眠稳态,Per2 变异型的携带者慢波睡眠时间比非携带者短 22% 或少 20 min<sup>[7]</sup>。睡眠相位延迟障碍患者出现的晚睡和/或碎片睡眠与生物钟基因 Cry1 编码变异有关<sup>[8]</sup>。生物钟基因 Cry1 和 Cry2 双重敲除的

小鼠出现更多非快速眼动睡眠和更高的睡眠巩固<sup>[9]</sup>。核心生物钟基因 Bmal1 敲除后的小鼠总睡眠时间延长,睡眠破碎和脑电图(Electroencephalogram, EEG)的 $\delta$ 功率增加,对急性睡眠剥夺的补偿反应减弱<sup>[10]</sup>。时钟控制基因 Ror $\alpha$  能调节睡眠持续时间<sup>[11-12]</sup>。因此,通过干预生物钟基因调节睡眠稳态是本研究的重点。

中医药治疗失眠历史悠久,疗效显著且安全性高,其通过调节生物钟基因<sup>[13-16]</sup>表达而改善失眠。最早记载于《黄帝内经》的半夏秫米汤,由半夏和秫米二药组成,是“引阳入阴”安神,治疗失眠的先河之方。本团队前期研究表明,该方能够减少小鼠自主活动,缩短睡眠潜伏期,延长睡眠时间<sup>[17]</sup>,并抑制下丘脑-垂体-肾上腺轴,调节炎症因子、 $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric, GABA)、多巴胺(Dopamine, DA)、去甲肾上腺素(Norepinephrine, NE),改善失眠<sup>[18]</sup>。但截至目前,尚未见基于生物钟基因调控睡眠稳态探讨半夏秫米汤改善 CI 的报道。本研究首次基于 Ror $\alpha$ /Bmal1 信号轴探讨半夏秫米汤对 CI 大鼠睡眠稳态的影响,以期揭示其作用机制,为中医药防治失眠提供新的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF 级 Wistar 大鼠,体重(200 $\pm$ 20 g),6 周龄,雌雄各半,购自北京维通利华实验动物繁育有限公司[合格证号:110011201110886725;实验动物生产许可证号:SCXK(京)2016-0006;实验动物使用许可证号:SYXK(鲁)20170022],于山东中医药大学 SPF 级动物房饲养。本实验经山东中医药大学伦理委员会批准(No:SDUTCM20201216001)。

### 1.2 主要药物、试剂及仪器

**1.2.1 主要药物** 半夏秫米汤由生半夏、秫米组成。生半夏购自安徽精诚本草中药饮片有限公司,秫米购自亳州市亿弘堂有限公司。称取生半夏 60 g、秫米 120 g,4 剂,共 720 g,分批浸泡于 10 倍体积的冷水中,加热煮沸 1 h,过滤冷却后,在低温、低压下浓缩成 2 g/mL 液体,在 4 $^{\circ}$ C 的冰箱中保存备用。戊巴比妥钠(20190816,北京市普博斯生物科技有限公司);地西洋片(H37023039,山东省信宜制药有限公司)。

**1.2.2 主要试剂** 大鼠 GABA、Glu、NE、DA 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(江苏省晶美生物科技有限公司,190708KE11、190708KE17、190708KE14、190708KE15),RIPA 快速裂解液(Solarbio 科技有限公司,R0020),总 RNA 提取试剂(TRIzol 法)(康为世纪科技有限公司,CW0580),总蛋白定量试剂盒(BCA 法)(碧云天生物技术有限公司,P0012),逆转录试剂盒(奕杉生物科技有限公司,RT001),PBS 缓冲溶液(即用型干粉, biosharp, BL502B),重组 Anti-RORA 抗体(EPR23719-18)(英国 Abcam 公司,ab256799),重组 Anti-Bmal1 抗体(EPR23696-22)(英国 Abcam 公司,ab230822),GAPDH Polyclonal Antibody(武汉三鹰生物技术有限公司,10494-1-AP),DAB 显色试剂盒(山东思科捷生物技术有限公司,EE0017)。

**1.2.3 主要仪器** 睡眠剥夺箱(自制),16 道生理记录仪(美国 Copyright 公司,MP160),脑立体定位仪(瑞沃德生命科技,68026),台式冷冻离心机(Eppendorf 中国有限公司,5424R),全波长酶标仪(美国伯腾仪器有限公司,BioTek Cytation 5),实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)仪(德国罗氏诊断有限公司,Roche Light Cycler 480 II),电泳仪(Bio-Rad 有限公司,PowerPac HC),多色荧光成像系统(思拓凡生物科技有限公司,Amersham Ima),石蜡包埋机(湖北孝感亚光医用电子技术有限公司,YB-6LF),全自动脱水机(湖北孝感亚光医用电子技术有限公司,ZT-12M),包埋冷冻台(常州派斯杰医疗设备有限公司,BM450),石蜡切片机(德国,LeicaRM2255),正置荧光显微镜(德国 Carl Zeiss AG, Axio Examiner.A1)。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 动物分组及 CI 模型复制** 按照随机数字表法将 36 只大鼠分为空白组、模型组、半夏秫米汤低剂量组(BXSM-L 组)、半夏秫米汤中剂量组(BXSM-M 组)、半夏秫米汤高剂量组(BXSM-H 组)和地西洋组(DZ 组)。除空白组大鼠外,其余各组(以下统称为造模组)均采用小平台水环境法<sup>[13-14]</sup>,每日 12:00~次日 8:00 剥夺睡眠,连续 21 d,复制 CI 大鼠模型。

**1.3.2 治疗方法** 模型复制成功后,BXSM-L 组、BXSM-M 组、BXSM-H 组大鼠分别灌胃 4.69、9.38、

18.75 g/kg 半夏秫米汤水煎剂, DZ 组大鼠灌胃 0.52 mg/kg 地西洋水溶液, 空白组、模型组大鼠均给予等体积生理盐水灌胃, 1 次/d, 连续 14 d。

### 1.3.3 脑电极、肌电极安装及脑电、肌电采集与分析

参考文献[19]安装脑电极。采用 50 mg/kg 戊巴比妥钠腹腔注射将大鼠麻醉后, 固定于脑立体定位仪中, 脱去头部毛后消毒, 剪去皮肤, 充分暴露颅骨, 剥膜后, 使用不锈钢螺丝钉(直径 2 mm)作为皮层电极分别置入左侧枕叶(AP-4.80, ML-3.0)、右侧枕叶(AP-4.80, ML+3.0)、额骨正中(ML-0.0, AP+5)。额骨正中为接地电极, 牙科水泥固定微型插座。之后每天腹腔注射青霉素 4 万单位, 1 次/d, 连续 3 d, 然后恢复 7 d, 行脑电描记。用长度约 10 cm 的漆包线做肌电极, 两端去掉 1 cm 绝缘层, 采用 50 mg/kg 戊巴比妥钠麻醉大鼠后, 将肌电极置入大鼠颈后双侧深部肌肉内即完成安装。在正式描记前, 适应性训练 1.5 h。分别于模型复制成功后、给药后第 14 天上午 9:00 ~ 12:00, 在电磁屏蔽室内, 用 16 道生理记录仪描记脑电 3 h, 再采用 Acqknowledge 软件分析。

**1.3.4 标本采集** 末次给药后, 各组大鼠禁食、禁水 24 h, 异氟烷麻醉, 于腹主动脉取血, 室温静置 30 min, 4 000 r/min 离心 10 min, 获取上清液。取血后迅速断头取脑, 冰上分离视交叉上核(suprachiasmatic nucleus, SCN)、大脑皮层(cerebral cortex, CC)、脑干后, 置入-80 °C 冰箱冷冻保存备用。

**1.3.5 ELISA 检测大鼠脑干、血清中 GABA、Glu、NE、DA 含量** 取脑干、血清, 采用 ELISA 检测 GABA、Glu、NE、DA 含量, 实验步骤严格按照试剂盒说明书进行操作。

**1.3.6 qRT-PCR 检测大鼠 SCN、CC 的 Ror $\alpha$  和 Bmal1 基因相对表达量** 每组取 3 只大鼠适量 SCN、CC, TRIzol 法提取总 RNA, 之后逆转录, 行 qRT-PCR (SYBR Green 法)。反应条件: 95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 5 s; 50 °C 退火 30 s; 60 °C 延伸 30 s; 共 45 个循环。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算目的基因 SCN、CC 和内参基因 GAPDH 的相对表达量。引物序列见表 1。

**1.3.7 Western blotting 检测大鼠 SCN、CC 的 Ror $\alpha$  和 Bmal1 蛋白相对表达量** 每组取 3 只大鼠适量 SCN、CC, 分别加入裂解液并匀浆, 4 °C、14 000 r/min 离心 15 min, 测定总蛋白的浓度, 调整各组样品总蛋白浓度一致, 高温变性后, 电泳, 转膜, 封闭, 加一抗, GAPDH 按 1:20 000 稀释, Ror $\alpha$ 、Bmal1 按 1:1 500

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列	长度/bp
Ror $\alpha$	正向: 5'-ATAGGACCAGCAGAAACCGC-3'	212
	反向: 5'-GATGTTGTAGGTGGGCGTCA-3'	
Bmal1	正向: 5'-CCACAGCAGGCTACTTGA-3'	160
	反向: 5'-CACCCGTATTTCCCGTTCA-3'	
GAPDH	正向: 5'-TCTCTGCTCCTCCCTGTTCT-3'	95
	反向: 5'-ATCCGTTACACCCGACCTTC-3'	

稀释, 加二抗按 1:20 000 稀释, 孵育, ECL 显色, 用 Image J 软件分析各组大鼠 SCN、CC 的 Ror $\alpha$  和 Bmal1 蛋白相对表达量。

**1.3.8 免疫组织化学检测大鼠 SCN 的 Ror $\alpha$  和 Bmal1 蛋白表达** 将大鼠 SCN 从 4% 多聚甲醛中取出后, 用石蜡包埋并制成切片, 依次脱蜡水化、抗原修复, 室温下封闭 10 min, 加入一抗(Ror $\alpha$  1:800, Bmal1 1:1 000)4 °C 孵育过夜, PBS 冲洗 3 次, 加入二抗, 37 °C 孵育 20 min, PBS 冲洗 3 次, 依次 DAB 显色、苏木精复染、脱水、透明、封片。显微镜下, 在每张切片中随机取 5 个高倍( $\times 400$ )视野进行拍照, AD 值(AD=IOD/面积)采用 Image J 软件分析。

## 1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 26.0 统计软件。计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 比较用  $t$  检验或方差分析, 组间进一步两两比较用 LSD- $t$  检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 模型复制成功后大鼠的状态

模型复制成功后的大鼠皮毛暗淡无光泽, 精神萎靡, 易激惹, 对周围声、光刺激敏感, 昼夜节律消失。

### 2.2 空白组与造模组大鼠睡眠潜伏期、睡眠持续时间比较

空白组与造模组睡眠潜伏期和睡眠持续时间比较, 经  $t$  检验, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); 空白组睡眠潜伏期短于造模组, 睡眠持续时间长于造模组。见表 2。

### 2.3 空白组与造模组大鼠脑电波频率、波幅的比较

空白组与造模组脑电波频率( $\alpha$  波、 $\beta$  波、 $\delta$  波)比较, 经  $t$  检验, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); 空白组  $\alpha$  波、 $\beta$  波频率低于造模组、 $\delta$  波频率高于造模

**表 2 空白组与造模组大鼠睡眠潜伏期、睡眠持续时间比较**  
(min,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	睡眠潜伏期	睡眠持续时间
空白组	6	19.25 ± 1.71	70.00 ± 3.16
造模组	30	32.20 ± 1.77 <sup>†</sup>	54.15 ± 2.46 <sup>†</sup>
t 值		16.441	13.764
P 值		0.000	0.000

注: †与空白组比较,  $P < 0.05$ 。

组。空白组与造模组脑  $\theta$  波比较, 经  $t$  检验, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。空白组与造模组脑电波 ( $\beta$  波、 $\delta$  波) 波幅比较, 经  $t$  检验, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 空白组  $\beta$  波波幅低于造模组,  $\delta$  波波幅高于造模组。空白组与造模组脑电波 ( $\alpha$  波、 $\theta$  波) 波幅比较, 经  $t$  检验, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 3、4。

#### 2.4 半夏秫米汤对大鼠脑电波频率的影响

给药 14 d 后, 各组大鼠  $\alpha$  波、 $\beta$  波、 $\theta$  波、 $\delta$  波频率比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。进一步两两比较, 模型组的  $\alpha$  波频率、 $\delta$  波

**表 3 模型复制后大鼠脑电波频率的比较** (Hz,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	$\alpha$ 波	$\beta$ 波	$\theta$ 波	$\delta$ 波
空白组	6	10.25 ± 0.27	20.09 ± 0.29	6.68 ± 0.39	3.57 ± 0.36
造模组	30	11.63 ± 0.57 <sup>†</sup>	27.05 ± 0.75 <sup>†</sup>	6.68 ± 0.24	1.75 ± 0.15 <sup>†</sup>
t 值		5.752	22.184	0.000	20.809
P 值		0.000	0.000	1.000	0.000

注: †与空白组比较,  $P < 0.05$ 。

**表 4 模型复制后大鼠脑电波波幅的比较** ( $\mu V$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	$\alpha$ 波	$\beta$ 波	$\theta$ 波	$\delta$ 波
空白组	6	14.84 ± 0.46	20.47 ± 0.66	20.56 ± 0.56	40.08 ± 0.86
造模组	30	15.07 ± 0.85	25.63 ± 0.49 <sup>†</sup>	20.73 ± 0.41	34.43 ± 0.50 <sup>†</sup>
t 值		0.639	22.253	0.873	22.264
P 值		0.527	0.000	0.389	0.000

注: †与空白组比较,  $P < 0.05$ 。

频率较空白组均下降 ( $P < 0.05$ ),  $\beta$  波频率较空白组上升 ( $P < 0.05$ ), 半夏秫米汤不同剂量组及 DZ 组  $\alpha$  波频率较模型组均上升 ( $P < 0.05$ ),  $\beta$  波频率均下降 ( $P < 0.05$ ), BXSM-M 组、BXSM-H 组及 DZ 组  $\delta$  波频率较模型组均上升 ( $P < 0.05$ )。见表 5。

**表 5 给药 14 d 后各组大鼠脑电波频率的比较** ( $n=6$ , Hz,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	$\alpha$ 波	$\beta$ 波	$\theta$ 波	$\delta$ 波
空白组	13.64 ± 1.30	21.74 ± 0.47	6.59 ± 0.37	3.84 ± 0.25
模型组	11.83 ± 0.90 <sup>①</sup>	27.20 ± 0.62 <sup>①</sup>	6.75 ± 0.33	2.06 ± 0.38 <sup>①</sup>
BXSM-L 组	14.36 ± 0.51 <sup>②</sup>	23.51 ± 0.47 <sup>②</sup>	7.07 ± 0.31	2.54 ± 0.37
BXSM-M 组	15.77 ± 0.10 <sup>②</sup>	22.61 ± 0.47 <sup>②</sup>	7.43 ± 0.93	3.52 ± 0.31 <sup>②</sup>
BXSM-H 组	16.49 ± 0.27 <sup>②</sup>	20.46 ± 1.10 <sup>②</sup>	7.54 ± 0.32	4.07 ± 0.85 <sup>②</sup>
DZ 组	15.80 ± 0.08 <sup>②</sup>	22.47 ± 0.40 <sup>②</sup>	7.03 ± 0.67	3.53 ± 0.30 <sup>②</sup>
F 值	37.951	78.557	2.805	17.772
P 值	0.000	0.000	0.034	0.000

注: ①与空白组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ 。

#### 2.5 半夏秫米汤对大鼠脑电波波幅的影响

给药 14 d 后, 各组大鼠  $\alpha$  波、 $\beta$  波、 $\theta$  波、 $\delta$  波波幅比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。进一步两两比较, 模型组的  $\beta$  波波幅较空白组上升 ( $P < 0.05$ ),  $\delta$  波波幅较空白组下降 ( $P < 0.05$ ), 模型组的  $\alpha$ 、 $\theta$  波波幅与空白组比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 半夏秫米汤不同剂量组及 DZ 组  $\beta$  波波幅较模型组均下降 ( $P < 0.05$ ),  $\delta$  波幅较模型组均上升 ( $P < 0.05$ ), BXSM-L 组  $\alpha$  波波幅较模型组上升 ( $P < 0.05$ ), BXSM-M 组、BXSM-H 组及 DZ 组  $\alpha$  波波幅与模

型组比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 半夏秫米汤不同剂量组及 DZ 组  $\theta$  波波幅与模型组比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 6。

#### 2.6 各组大鼠血清、脑干 Glu、GABA 含量的比较

各组大鼠血清、脑干 Glu、GABA 含量比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。进一步两两比较, 模型组血清、脑干 Glu、GABA 含量较空白组均升高 ( $P < 0.05$ ), 半夏秫米汤不同剂量组及 DZ 组血清 Glu 含量较模型组均降低 ( $P < 0.05$ ), BXSM-M 组、BXSM-H 组及 DZ 组脑干 Glu

表 6 给药 14 d 后各组大鼠脑电波波幅的比较 ( $n=6, \mu V, \bar{x} \pm s$ )

组别	$\alpha$ 波	$\beta$ 波	$\theta$ 波	$\delta$ 波
空白组	15.03 $\pm$ 0.25	21.42 $\pm$ 0.42	20.12 $\pm$ 1.09	40.42 $\pm$ 0.14
模型组	14.83 $\pm$ 0.35	27.82 $\pm$ 0.67 <sup>①</sup>	20.43 $\pm$ 0.24	33.61 $\pm$ 4.48 <sup>①</sup>
BXSM-L组	19.08 $\pm$ 0.36 <sup>②</sup>	22.99 $\pm$ 0.28 <sup>②</sup>	19.30 $\pm$ 0.26	36.47 $\pm$ 0.46 <sup>②</sup>
BXSM-M组	20.84 $\pm$ 0.63	22.76 $\pm$ 0.32 <sup>②</sup>	19.52 $\pm$ 0.94	38.38 $\pm$ 0.19 <sup>②</sup>
BXSM-H组	23.78 $\pm$ 0.44	20.68 $\pm$ 0.30 <sup>②</sup>	20.49 $\pm$ 0.27	40.64 $\pm$ 0.41 <sup>②</sup>
DZ组	20.15 $\pm$ 0.15	22.13 $\pm$ 1.08 <sup>②</sup>	21.10 $\pm$ 0.65	38.97 $\pm$ 0.25 <sup>②</sup>
F值	471.141	113.128	5.927	12.386
P值	0.000	0.000	0.001	0.000

注：①与空白组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ 。

含量较模型组均降低 ( $P < 0.05$ ), BXSM-L 组脑干 Glu 含量与模型组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。半夏秫米汤不同剂量组及 DZ 组血清 GABA 较模型组均降低 ( $P < 0.05$ ), BXSM-L 组、

BXSM-H 组及 DZ 组脑干 GABA 含量较模型组均降低 ( $P < 0.05$ ), BXSM-M 组脑干 GABA 含量与模型组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 7。

表 7 各组大鼠血清、脑干 Glu、GABA 含量的比较 ( $n=6, \mu\text{mol/L}, \bar{x} \pm s$ )

组别	血清 Glu	脑干 Glu	血清 GABA	脑干 GABA
空白组	10.23 $\pm$ 0.22	10.98 $\pm$ 1.31	25.55 $\pm$ 1.33	26.86 $\pm$ 4.55
模型组	13.50 $\pm$ 0.87 <sup>①</sup>	13.28 $\pm$ 0.53 <sup>①</sup>	33.49 $\pm$ 2.13 <sup>①</sup>	34.35 $\pm$ 1.57 <sup>①</sup>
BXSM-L组	11.20 $\pm$ 0.74 <sup>②</sup>	12.36 $\pm$ 0.76	28.66 $\pm$ 1.53 <sup>②</sup>	29.57 $\pm$ 1.57 <sup>②</sup>
BXSM-M组	11.55 $\pm$ 0.66 <sup>②</sup>	11.53 $\pm$ 0.62 <sup>②</sup>	28.01 $\pm$ 1.34 <sup>②</sup>	30.58 $\pm$ 0.51
BXSM-H组	12.21 $\pm$ 1.01 <sup>②</sup>	11.35 $\pm$ 0.59 <sup>②</sup>	29.98 $\pm$ 1.43 <sup>②</sup>	27.05 $\pm$ 1.11 <sup>②</sup>
DZ组	12.02 $\pm$ 0.59 <sup>②</sup>	11.21 $\pm$ 1.32 <sup>②</sup>	28.68 $\pm$ 1.82 <sup>②</sup>	28.14 $\pm$ 2.18 <sup>②</sup>
F值	13.668	5.416	15.584	8.918
P值	0.000	0.001	0.000	0.000

注：①与空白组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ 。

## 2.7 各组大鼠血清、脑干 NE、DA 含量的比较

各组大鼠血清、脑干 NE、DA 含量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。进一步两两比较, 模型组血清、脑干 NE、DA 含量较空白组均升高 ( $P < 0.05$ ), 半夏秫米汤不同剂量组及 DZ 组血清 NE 含量较模型组均降低 ( $P < 0.05$ ), 半夏秫米汤不同剂量组及 DZ 组脑干 NE 含量较模型组均降低 ( $P < 0.05$ ), BXSM-M 组、BXSM-H 组及 DZ 组血清 DA 含量较模型组均降低 ( $P < 0.05$ ), BXSM-L 组血清 DA 含量与模型组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), BXSM-H 组及 DZ 组脑干 DA 较模型组降低 ( $P < 0.05$ ), BXSM-L 组、BXSM-M 组脑干 DA 与模型组比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 8。

## 2.8 各组大鼠 SCN、CC 的 Ror $\alpha$ 、Bmal1 基因相对表达量的比较

各组大鼠 SCN、CC 的 Ror $\alpha$  和 Bmal1 mRNA 相对表达量比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。进一步两两比较, 模型组 SCN、CC 的 Ror $\alpha$  和 Bmal1 mRNA 相对表达量较空白组下降 ( $P < 0.05$ ); BXSM-M 组、BXSM-H 组及 DZ 组 SCN、CC 的 Ror $\alpha$  和 Bmal1 mRNA 相对表达量较模型组均上升 ( $P < 0.05$ ), BXSM-L 组与模型组比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 9。

## 2.9 各组大鼠 SCN 和 CC 的 Ror $\alpha$ 和 Bmal1 蛋白相对表达量的比较

空白组、模型组、BXSM-L 组、BXSM-M 组、BXSM-H 组及 DZ 组 SCN 与 CC 的 Ror $\alpha$  和 Bmal1 蛋白

表 8 各组大鼠血清、脑干 NE、DA 含量的比较 ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	血清 NE	脑干 NE	血清 DA	脑干 DA
空白组	192.64 ± 11.15	193.86 ± 26.70	71.37 ± 6.43	74.19 ± 11.00
模型组	276.40 ± 11.21 <sup>①</sup>	247.81 ± 15.78 <sup>①</sup>	88.37 ± 4.92 <sup>①</sup>	95.76 ± 4.21 <sup>①</sup>
BXSM-L 组	223.43 ± 11.49 <sup>②</sup>	220.50 ± 12.25 <sup>②</sup>	81.42 ± 3.85	87.52 ± 1.41
BXSM-M 组	225.17 ± 14.23 <sup>②</sup>	208.66 ± 12.23 <sup>②</sup>	78.81 ± 5.81 <sup>②</sup>	84.71 ± 5.00
BXSM-H 组	238.12 ± 12.59 <sup>②</sup>	209.17 ± 6.68 <sup>②</sup>	79.35 ± 4.91 <sup>②</sup>	78.88 ± 5.31 <sup>②</sup>
DZ 组	220.87 ± 9.05 <sup>②</sup>	210.68 ± 19.41 <sup>②</sup>	68.64 ± 10.51 <sup>②</sup>	77.81 ± 7.31 <sup>②</sup>
F 值	32.841	7.044	7.328	8.953
P 值	0.000	0.002	0.000	0.000

注: ①与空白组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ 。

表 9 各组大鼠 SCN、CC 的 Ror $\alpha$  和 Bmal1 基因相对表达量比较 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

组别	SCN		CC	
	Ror $\alpha$ mRNA	Bmal1 mRNA	Ror $\alpha$ mRNA	Bmal1 mRNA
空白组	1.09 ± 0.12	1.14 ± 0.31	1.56 ± 0.05	1.51 ± 0.11
模型组	0.39 ± 0.09 <sup>①</sup>	0.37 ± 0.01 <sup>①</sup>	1.00 ± 0.14 <sup>①</sup>	1.04 ± 0.21 <sup>①</sup>
BXSM-L 组	0.75 ± 0.16	0.86 ± 0.42	1.33 ± 0.08	1.25 ± 0.18
BXSM-M 组	1.10 ± 0.38 <sup>②</sup>	0.98 ± 0.28 <sup>②</sup>	1.61 ± 0.11 <sup>②</sup>	1.54 ± 0.15 <sup>②</sup>
BXSM-H 组	1.27 ± 0.50 <sup>②</sup>	1.12 ± 0.34 <sup>②</sup>	1.57 ± 0.10 <sup>②</sup>	1.54 ± 0.10 <sup>②</sup>
DZ 组	1.24 ± 0.39 <sup>②</sup>	1.18 ± 0.22 <sup>②</sup>	1.69 ± 0.10 <sup>②</sup>	1.60 ± 0.20 <sup>②</sup>
F 值	3.448	3.245	22.293	5.415
P 值	0.037	0.044	0.000	0.008

注: ①与空白组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ 。

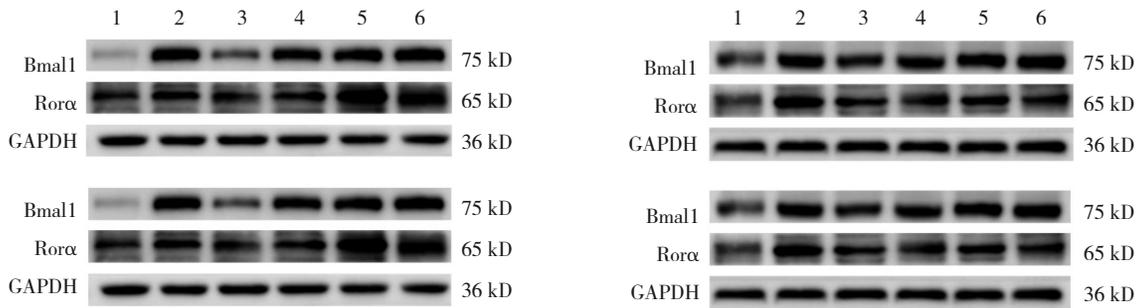
相对表达量比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。进一步两两比较, 模型组 SCN 与 CC 的 Ror $\alpha$  和 Bmal1 蛋白相对表达量较空白组均降低 ( $P < 0.05$ ); BXSM-M 组、BXSM-H 组及 DZ 组 SCN 中 Ror $\alpha$  和 Bmal1 蛋白相对表达量较模型组均上升

( $P < 0.05$ ), BXSM-L 组与模型组比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 半夏秫米汤不同剂量组及 DZ 组 CC 的 Ror $\alpha$  和 Bmal1 蛋白相对表达量较模型组均上升 ( $P < 0.05$ )。见表 10 和图 1。

表 10 各组大鼠 SCN、CC 的 Ror $\alpha$  和 Bmal1 蛋白相对表达量比较 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

组别	SCN		CC	
	Ror $\alpha$ 蛋白	Bmal1 蛋白	Ror $\alpha$ 蛋白	Bmal1 蛋白
空白组	1.05 ± 0.08	1.20 ± 0.11	1.22 ± 0.10	1.27 ± 0.02
模型组	0.35 ± 0.12 <sup>①</sup>	0.66 ± 0.13 <sup>①</sup>	0.95 ± 0.04 <sup>①</sup>	0.75 ± 0.05 <sup>①</sup>
BXSM-L 组	0.78 ± 0.04	0.96 ± 0.21	1.13 ± 0.09 <sup>②</sup>	1.05 ± 0.02 <sup>②</sup>
BXSM-M 组	0.99 ± 0.12 <sup>②</sup>	1.31 ± 0.22 <sup>②</sup>	1.30 ± 0.06 <sup>②</sup>	1.23 ± 0.04 <sup>②</sup>
BXSM-H 组	1.21 ± 0.04 <sup>②</sup>	1.46 ± 0.35 <sup>②</sup>	1.22 ± 0.04 <sup>②</sup>	1.27 ± 0.01 <sup>②</sup>
DZ 组	1.02 ± 0.15 <sup>②</sup>	1.35 ± 0.14 <sup>②</sup>	1.11 ± 0.11 <sup>②</sup>	1.18 ± 0.12 <sup>②</sup>
F 值	27.074	6.270	6.980	63.345
P 值	0.000	0.004	0.003	0.000

注: ①与空白组比较,  $P < 0.05$ ; ②与模型组比较,  $P < 0.05$ 。



1:模型组; 2:空白组; 3:BXSM-L组; 4:BXSM-M组; 5:BXSM-H组; 6:DZ组。

图1 各组大鼠SCN、CC的Rorα和Bmal1的蛋白表达

免疫组织化学结果见图2。检测大鼠SCN中Rorα和Bmal1的AOD值并进行比较,经方差分析,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。进一步两两比较,模型组SCN与CC的Rorα和Bmal1蛋白表达较空白组减少( $P < 0.05$ );BXSM-M组、BXSM-H组及

DZ组Rorα蛋白表达较模型组增加( $P < 0.05$ );BXSM-L组Rorα蛋白表达与模型组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );半夏秫米汤不同剂量组及DZ组Bmal1蛋白表达较模型组均增加( $P < 0.05$ )。见表11。

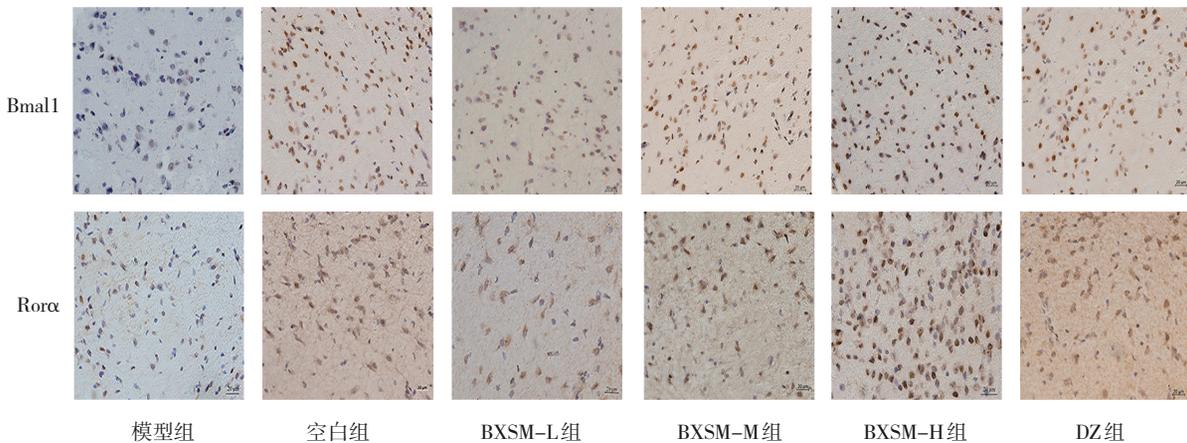


图2 各组大鼠SCN的Rorα和Bmal1的蛋白表达 (免疫组织化学×400)

表 11 各组大鼠SCN的Rorα和Bmal1的AOD值比较

( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

组别	Rorα	Bmal1
空白组	0.39 ± 0.01	0.40 ± 0.02
模型组	0.19 ± 0.01 <sup>①</sup>	0.19 ± 0.01 <sup>①</sup>
BXSM-L组	0.26 ± 0.01	0.27 ± 0.03 <sup>②</sup>
BXSM-M组	0.38 ± 0.02 <sup>②</sup>	0.37 ± 0.01 <sup>②</sup>
BXSM-H组	0.41 ± 0.03 <sup>②</sup>	0.39 ± 0.01 <sup>②</sup>
DZ组	0.40 ± 0.01 <sup>②</sup>	0.36 ± 0.01 <sup>②</sup>
F值	87.847	52.070
P值	0.000	0.000

注: ①与空白组比较, $P < 0.05$ ; ②与模型组比较, $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

半夏秫米汤为“引阳入阴”的代表性方剂,被称为“失眠第一方”。《灵枢·邪客》谓:“补其不足,泻其有余,调其虚实,以通其道而去其邪……,饮以半夏汤一剂,阴阳已通,其卧立至。”方中半夏生当夏半,正值阴阳交换之时,故能引阳入阴而安神,原方剂量为1合,折合现代剂量约60g。秫米,多数医家认为是高粱<sup>[20]</sup>,如近代名医张锡纯曾指出“秫米即芦稷之米”。高粱能通阴补虚而安神<sup>[21]</sup>,原方用量为1L,折合成现代剂量约120g。二药合用,引阳入阴安神,张景岳曰此方“治久病不寐者神效。”但其作用机制仍不十分明确,本文从生物钟基因Rorα/Bmal1信号轴探讨了该方对慢性失眠大鼠睡眠稳态的影响。

睡眠稳态被认为是控制睡眠质量和睡眠持续时间的主要机制,也是慢性失眠的病理机制之一<sup>[5]</sup>。睡眠稳态的调节是由睡眠压力或清醒时间驱动的,而睡眠压力会随着清醒时间的增加而增加。虽然睡眠压力难以量化,但脑电图特征已被验证为睡眠稳态增加的可靠标志物<sup>[9]</sup>。而脑电图主要包括 $\alpha$ 波、 $\beta$ 波、 $\theta$ 波、 $\delta$ 波,其中 $\alpha$ 波常于机体安静、觉醒、放松的状态下出现; $\beta$ 波常于忧虑、紧张或狂躁时出现,代表着大脑皮层兴奋性的提高。而高幅度的慢波 $\delta$ 波或 $\theta$ 波则于人体困倦时出现,是大脑处于抑制状态时电活动的主要表现。而且 $\theta$ 波和 $\alpha$ 波功率也随觉醒时间的延长而增加<sup>[9]</sup>。睡眠稳态则一般将 $\delta$ 波和 $\beta$ 波作为标志物<sup>[22]</sup>, $\delta$ 功率视作睡眠压力的衡量指标,反映睡眠深度<sup>[23]</sup>。本实验采用小平台水环境法连续 21 d 复制 CI 大鼠模型,结果显示模型复制后大鼠动物行为学变化符合失眠特点,与空白组相比,复制后的大鼠睡眠潜伏期显著延长,睡眠持续时间显著缩短, $\beta$ 波频率、波幅增加, $\delta$ 波频率、波幅减少; $\alpha$ 波频率在模型初期升高,可能与觉醒状态增加有关,给药后减少,则可能是与安静的放松状态减少有关,而给予半夏秫米汤后,不同的剂量能够降低 $\beta$ 波频率、波幅,升高 $\delta$ 波频率、波幅,升高 $\alpha$ 波频率、波幅,提示半夏秫米汤能一定程度改善慢性失眠大鼠的睡眠稳态,提高睡眠深度,改善忧虑、紧张状态,并尤以原方剂量较佳。

生物钟基因包括核心生物钟基因(Bmal1、Clock、Cry1、Cry2、Cry3、Per1、Per2 和 Per3)和时钟控制基因(Nr1d1、Nr1d2、Rora、Rorb 和 Rorg),Cry 和 Per 蛋白复合物抑制 Clock-Bmal1 活性,从而抑制其自身的转录。Cry 和 Per 蛋白被降解,从而恢复 Bmal1 时钟活性。Clock/Bmal1 激活转录因子 REV-Erb $\alpha/\beta$  和 Rora/ $\beta/\gamma$  蛋白。而 Rora 蛋白则是 Bmal1 转录的激活剂。研究表明,生物钟基因除了控制昼夜节律,还能调节睡眠稳态,包括睡眠长度和睡眠深度<sup>[6]</sup>。时钟控制基因 Rora 调节睡眠潜伏期及持续时间<sup>[11-12]</sup>。核心生物钟基因 Bmal1 调节睡眠时间,敲除后总睡眠时间延长,睡眠破碎和 $\delta$ 功率增加<sup>[10]</sup>。昼夜节律起搏器-SCN 通过投射神经元调节睡眠-觉醒系统。下丘脑结节核中的组胺能神经元、中缝正中核的多巴胺能神经元,以及蓝斑核的去甲肾上腺素能神经元均是觉醒系统组成部分<sup>[24]</sup>,前额叶皮质通

过与纹状体、下丘脑形成环路共同调节睡眠-觉醒状态。该系统的中枢神经递质 DA 和 NE 促进觉醒<sup>[25-26]</sup>,与焦虑、抑郁有关<sup>[27-28]</sup>。有证据表明,NE 在调节觉醒状态和脑电图 $\delta$ 功率中起关键作用<sup>[29]</sup>,DA 对睡眠稳态有一定作用<sup>[30]</sup>。GABA 作为主要的抑制性神经递质,诱导、维持睡眠<sup>[31-32]</sup>,抗焦虑、抗抑郁,同时能调节睡眠稳态,如 GABA(A)激动剂可增加大鼠非快速眼动睡眠时间、慢波睡眠时间和脑电 $\delta$ 波<sup>[33]</sup>。Glu 是主要的兴奋性神经递质,能促进觉醒,中枢神经系统中的 Glu 可以由脑组织通过血脑屏障进入血液循环,因此,血液循环系统中的 Glu 主要来源于脑组织中的 Glu,由此可以认为血液 Glu 浓度一定程度上能够反映中枢神经系统细胞外 Glu 水平。Glu 也具有调节睡眠稳态作用,研究报道 mGlu2/3 受体激活剂能降低海马 $\theta$ 振荡的频率,增加 $\delta$ 波功率,降低 $\beta$ 波功率<sup>[34]</sup>。本研究中模型大鼠视交叉上核、大脑皮层 Rora、Bmal1 mRNA 与蛋白表达下调,血清、脑干 NE、DA、Glu、GABA 升高,而半夏秫米汤不同剂量能不同程度地逆转上述现象,与酸枣仁汤<sup>[13,35]</sup>研究结果相似,但本研究首次对视交叉上核、大脑皮层的 Rora/Bmal1 影响进行了研究。提示半夏秫米汤可能通过上调 Rora/Bmal1 信号轴,进而调节 NE、DA、Glu、GABA 水平达到降低 $\beta$ 波频率、波幅,增加 $\alpha$ 、 $\delta$ 波频率、波幅从而增加睡眠深度,改善睡眠稳态。而 GABA 在模型复制后升高,可能与睡眠剥夺后引起的反馈性调节有关,其具体的机制仍需进一步研究探讨。

综上所述,本研究认为半夏秫米汤“引阳入阴”安神改善睡眠稳态,可能是通过上调生物钟基因 Rora/Bmal1 信号轴从而调控睡眠-觉醒系统中中枢神经递质达到的。

#### 参 考 文 献 :

- [1] LEVENSON J C, KAY D B, BUYSSSE D J. The pathophysiology of insomnia[J]. Chest, 2015, 147(4): 1179-1192.
- [2] CAO X L, WANG S B, ZHONG B L, et al. The prevalence of insomnia in the general population in China: a meta-analysis[J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0170772.
- [3] HASSINGER A B, BLETNISKY N, DUDEKULA R, et al. Selecting a pharmacotherapy regimen for patients with chronic insomnia[J]. Expert Opin Pharmacother, 2020, 21(9): 1035-1043.
- [4] MA Y, MIRACCA G, YU X, et al. Galanin neurons unite sleep homeostasis and  $\alpha$ 2-adrenergic sedation[J]. Curr Biol, 2019,

- 29(19): 3315-3322.e3.
- [5] PIGEON W R, PERLIS M L. Sleep homeostasis in primary insomnia[J]. *Sleep Med Rev*, 2006, 10(4): 247-254.
- [6] PANDI-PERUMAL S R, CARDINALI D P, ZAKI N F W, et al. Timing is everything: circadian rhythms and their role in the control of sleep[J]. *Front Neuroendocrinol*, 2022, 66: 100978.
- [7] ASHBROOK L H, KRYSTAL A D, FU Y H, et al. Genetics of the human circadian clock and sleep homeostat[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2020, 45(1): 45-54.
- [8] PATKE A, MURPHY P J, ONAT O E, et al. Mutation of the human circadian clock gene *CRY1* in familial delayed sleep phase disorder[J]. *Cell*, 2017, 169(2): 203-215.e13.
- [9] SANCHEZ R E A, KALUME F, de la IGLESIA H O. Sleep timing and the circadian clock in mammals: Past, present and the road ahead[J]. *Sleep Medicine Reviews*, 2012, 16(2): 187-197.
- [10] LAPOSKY A, EASTON A, DUGOVIC C, et al. Deletion of the mammalian circadian clock gene *BMAL1/Mop3* alters baseline sleep architecture and the response to sleep deprivation[J]. *Sleep*, 2005, 28(4): 395-409.
- [11] SHAO Y, DAI X J, WANG J, et al. Association between sleep duration and Parkinson's disease varied across related orphan receptor a rs2028122 genotypes[J]. *Front Neurosci*, 2022, 16: 902895.
- [12] HOU S J, TSAI S J, KUO P H, et al. An association study in the Taiwan biobank reveals *RORA* as a novel locus for sleep duration in the Taiwan residents population[J]. *Sleep Med*, 2020, 73: 70-75.
- [13] 张付民, 冉仁国, 赵贵宾. 酸枣仁汤对慢性睡眠剥夺大鼠视交叉上核生物钟基因 *Clock* 和 *Bmal1* 表达的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2019, 39(1): 19-22.
- [14] 徐波, 夏婧, 蔡铭, 等. 安寐丹对不同周期睡眠剥夺模型大鼠昼夜节律、学习记忆及食欲素的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(3): 1677-1682.
- [15] 赵魁, 徐喆, 夏雪萍, 等. 酸枣仁汤通过调控昼夜节律治疗失眠的现代研究进展[J]. *天津中医药*, 2022, 39(11): 1483-1489.
- [16] 徐波, 谢光璟, 夏婧, 等. 安寐丹调控 OXA/CREB/PER1 信号通路改善 SD 模型大鼠昼夜节律紊乱[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2022, 24(1): 298-308.
- [17] 杨曼, 刘西建, 张艳. 半夏秫米汤镇静催眠作用的实验研究[J]. *山东中医杂志*, 2019, 38(10): 974-977.
- [18] 张艳, 杨曼, 刘西建, 等. 痰湿内阻慢性失眠大鼠模型建立及半夏秫米汤基于 HPA 轴、炎症因子的治疗机制[J]. *山东医药*, 2022, 62(10): 44-47.
- [19] 许光辉, 李延利, 郭冷秋, 等. 红景天苷对失眠大鼠睡眠周期的影响[J]. *医学研究生学报*, 2008(10): 1036-1039.
- [20] 张艳, 刘西建. 疗失眠第一方半夏秫米汤探析[J]. *山东中医杂志*, 2017, 36(11): 935-937.
- [21] 俞沛文, 吴山永, 储水鑫. 储水鑫运用引阳入阴理论辨治不寐经验介绍[J]. *新中医*, 2022, 54(22): 188-192.
- [22] SCHWARTZ W J, KLERMAN E B. Circadian neurobiology and the physiologic regulation of sleep and wakefulness[J]. *Neurol Clin*, 2019, 37(3): 475-486.
- [23] GOLDSCHMIED J R, KUNA S T, MAISLIN G, et al. The sleep homeostatic response to sleep deprivation in humans is heritable[J]. *Sleep*, 2023, 46(3): zsac314.
- [24] SILVER R, KRIEGSFELD L J. Circadian rhythms have broad implications for understanding brain and behavior[J]. *Eur J Neurosci*, 2014, 39(11): 1866-1880.
- [25] PIMENTEL D, DONLEA J M, TALBOT C B, et al. Operation of a homeostatic sleep switch[J]. *Nature*, 2016, 536(7616): 333-337.
- [26] BERRIDGE C W, SCHMEICHEL B E, ESPAÑA R A. Noradrenergic modulation of wakefulness/arousal[J]. *Sleep Med Rev*, 2012, 16(2): 187-197.
- [27] 杜莉, 宋孝军, 李仲文, 等. 神门、三阴交穴位配伍改善失眠症患者焦虑、抑郁状态:随机对照研究[J]. *中国针灸*, 2022, 42(1): 13-17.
- [28] 刘文华, 张星平, 王冠英, 等. 失眠症中医不寐五神分型心不藏神型与肝不藏魂型血清多巴胺含量特征研究[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(4): 1551-1553.
- [29] KIM Y, CHEN L C, MCCARLEY R W, et al. Sleep allostasis in chronic sleep restriction: the role of the norepinephrine system[J]. *Brain Res*, 2013, 1531: 9-16.
- [30] HOLST S C, BERSAGLIERE A, BACHMANN V, et al. Dopaminergic role in regulating neurophysiological markers of sleep homeostasis in humans[J]. *J Neurosci*, 2014, 34(2): 566-573.
- [31] LUPPI P H, PEYRON C, FORT P. Not a single but multiple populations of GABAergic neurons control sleep[J]. *Sleep Med Rev*, 2017, 32: 85-94.
- [32] HEPSOMALI P, GROEGER J A, NISHIHIRA J, et al. Effects of oral gamma-aminobutyric acid (GABA) administration on stress and sleep in humans: a systematic review[J]. *Front Neurosci*, 2020, 14: 923.
- [33] MATHIAS S, STEIGER A, LANCEL M. The GABA(A) agonist gaboxadol improves the quality of post-nap sleep[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2001, 157(3): 299-304.
- [34] SIOK C J, COGAN S M, SHIFFLETT L B, et al. Comparative analysis of the neurophysiological profile of group II metabotropic glutamate receptor activators and diazepam: effects on hippocampal and cortical EEG patterns in rats[J]. *Neuropharmacology*, 2012, 62(1): 226-236.
- [35] 刘鑫, 王平, 丁莉, 等. 酸枣仁汤对老年慢性睡眠剥夺大鼠节律基因与钟控基因表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(4): 1890-1894.

(张西倩 编辑)

**本文引用格式:** 张艳, 王书君, 尚春光, 等. 基于 *Rora/Bmal1* 信号轴探讨半夏秫米汤对慢性失眠大鼠睡眠稳态的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2024, 34(15): 31-40.

**Cite this article as:** ZHANG Y, WANG S J, SHANG C G, et al. Investigation of the effect of Banxia Shumi decoction on sleep homeostasis in rats with chronic insomnia based on the *Rora/Bmal1* signaling axis[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2024, 34(15): 31-40.