

· 论 著 · DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2026. 17. 015

远志-茯苓药对治疗肾不藏志型不寐大鼠的血浆代谢组学研究^{*}

左广珂¹, 张星平^{1,2△}, 李振辉¹, 李海明¹, 朱海龙¹, 王 苗¹, 陈 旭²

1. 新疆医科大学第四临床医学院, 新疆乌鲁木齐 830099; 2. 新疆医科大学附属中医医院
全国名老中医药专家张星平传承工作室, 新疆乌鲁木齐 830099

摘要:目的 利用血浆代谢组学方法探讨远志-茯苓药对治疗肾不藏志型不寐大鼠的作用机制。
方法 选取 24 只 SPF 级雄性 SD 大鼠作为研究对象, 采用随机数字表法将大鼠分为正常组、模型组、右佐匹克隆组与远志-茯苓药对组, 每组 6 只。模型组进行肾不藏志型不寐模型制备: D-半乳糖(D-gal)联合氯苯丙氨酸制作不寐大鼠模型; 右佐匹克隆片组以 0. 27 mg/(kg · d) 右佐匹克隆片灌胃; 远志-茯苓药对组以 5. 4 g/(kg · d) 远志-茯苓药对灌胃。每组均连续给药 14 d。采用戊巴比妥钠翻正实验、旷场实验及苏木精-伊红染色, 观察大鼠睡眠行为学及海马病理变化, 每组随机选取 3 只, 进行血浆代谢组学差异分析。**结果** 与模型组相比, 右佐匹克隆组及远志-茯苓药对组大鼠的入睡潜伏期均显著缩短, 睡眠时间均显著延长($P < 0. 05$); 旷场实验中, 与模型组相比, 右佐匹克隆组及远志-茯苓药对组大鼠站立次数、中央持续时间、中央活动路程、总活动时间及总活动路程均显著增加, 排便次数显著减少($P < 0. 05$)。同时, 右佐匹克隆组及远志-茯苓药对组大鼠海马神经元排列均趋于规整, 形态均有所改善, 细胞核结构基本正常。与右佐匹克隆组相比, 远志-茯苓药对组大鼠的入睡潜伏期更短、睡眠时间更长, 旷场实验各项活动指标更优, 排便次数更少($P < 0. 001$), 海马神经元排列及形态更接近正常组, 细胞核结构更为完整。血浆代谢组学结果显示, 正常组、模型组和右佐匹克隆组的共同差异代谢物包括氧化型谷胱甘肽、还原型谷胱甘肽、皮质醇等, 与炎症相关代谢、氧化应激相关代谢、及 HPA 轴相关激素代谢等多个代谢过程密切相关。**结论** 远志-茯苓药对可以通过减轻氧化应激、调节炎症反应及 HPA 轴等途径改善肾不藏志型不寐。

关键词: 肾不藏志型不寐; 远志-茯苓药对; 血浆代谢组学; 差异代谢物; 氧化应激

中图法分类号: R285; R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2026)17-2395-08

Metabonomics study of Polygala and Poria cocos in the treatment of insomnia of kidney failure type in rats^{*}

Zuo Guangke¹, Zhang Xingping^{1,2△}, Li Zhenhui¹, Li Haiming¹, Zhu Hailong¹, Wang Miao¹, Chen Xu²

1. The Fourth Clinical Medical College of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830099, China; 2. Zhang Xingping Inheritance Studio, Chinese Medicine Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830099, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of Polygala and Poria cocos in the treatment of insomnia in rats with kidney failure. **Methods** Twenty-four specific pathogen-free male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into normal group, model group, Dexzopicron group and Polygala-Pachymia medicine group, with 6 rats in each group. The insomnia model of the model group was established by D-galactose (D-gal) combined with chlorphenylalanine. The rats in Dexzopicron group were treated with Dexzopiclone tablets at a dose of 0. 27 mg/(kg · d) by gavage. The rats in the Polygala-Pachymia medicine group were gavaged with 5. 4 g/(kg · d) of Polygala and Poria cocos. The rats in each group were treated for 14 d. Sodium pentobarbital correction test, open field test and hematoxylin-eosin staining were used to observe the sleep behavior and pathological changes of hippocampus. Three rats were randomly selected from each group for analysis of plasma metabonomics. **Results** Compared with the model group, the sleep latency of the rats in the Dexzopicron

^{*} **基金项目:** 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目(国中医药人教函[2023]85 号); 国家自然科学基金项目(82160873、81960837、81560762、81260526); 新疆自然科学基金重点项目(2022D01D48); 新疆自然科学基金面上项目(2025D01C65); 全国名老中医药专家传承工作室(国中医药人教函[2022]75 号); 新疆神经系统疾病研究重点实验室开放课题(XJDX1711-2423); 新疆维吾尔自治区研究生创新项目(XJ2026G161)。

作者简介: 左广珂, 女, 在读硕士研究生, 主要从事中医不寐方向的研究。 [△] **通信作者,** E-mail: xjzyzxp@163. com。

中文引用格式: 左广珂, 张星平, 李振辉, 等. 远志-茯苓药对治疗肾不藏志型不寐大鼠的血浆代谢组学研究[J]. 检验医学与临床, 2026, 23(17): 2395-2402.

英文引用格式: Zuo G K, Zhang X P, Li Z H, et al. . Metabonomics study of Polygala and Poria cocos in the treatment of insomnia of kidney failure type in rats[J]. Lab Med Clin, 2026, 23(17): 2395-2402.

group and the Polygala-Pachymia medicine group was significantly shortened, and the sleep time was significantly prolonged ($P < 0.05$). In the open field test, compared with the model group, the times of standing, central duration, central activity distance, total activity time and total activity distance of the rats in the Dexzopicron group and the Polygala-Pachymia medicine group were significantly increased, and The Times of defecation were significantly decreased ($P < 0.05$). At the same time, the arrangement of hippocampal neurons tended to be regular, the morphology was improved, and the nuclear structure was basically normal in the dexzopicron group and the Polygala-Pachymia medicine group. Compared with the rats in the Dexzopicron group, the rats in the Polygala-Pachymia medicine group had shorter sleep latency, longer sleep duration, better open field test activity indexes, fewer defecation times ($P < 0.001$), closer arrangement and morphology of hippocampal neurons and more complete nuclear structure. The results of plasma metabolomics showed that the common differential metabolites in the normal group, the model group and the Dexzopicron group included oxidized glutathione, reduced glutathione, cortisol, etc., which were closely related to inflammation related metabolism, oxidative stress related metabolism, and HPA axis-related hormone metabolism. **Conclusion** The Polygala and Poria cocos can improve insomnia of kidney failure by reducing oxidative stress, regulating inflammatory response and HPA axis.

Key words: insomnia; polygala and poria cocos; plasma metabolomics; differential metabolites; oxidative stress

不寐是一种常见疾病,主要表现为睡眠时间不足和睡眠深度减弱。轻度患者主要表现为入睡困难、睡眠浅表且易醒,或醒后难以再次入睡;重度患者则可能出现彻夜难眠的症状,属于现代医学“失眠症”的范畴^[1]。根据世界卫生组织公布的调查数据表明,世界范围内约有 27.0% 的人口患有不同程度的睡眠障碍^[2]。我国成年人失眠的发生率达 38.2%^[3]。失眠的常见诱因与危险因素较为复杂,涉及作息行为、心理情绪、内分泌状态、生活嗜好、基础疾病及药物影响等多个方面,主要包括卧床时间过长、负性心理因素、围绝经期综合征、夜间进食、吸烟、饮酒、饮用咖啡与浓茶、各类躯体及精神疾病,以及镇静催眠药物或其他影响睡眠的药物等^[4]。长期失眠不仅会显著降低患者的生活质量,还可能对认知功能、情绪状态及躯体健康造成多纬度的损害^[5]。当客观睡眠时间缩短时,可显著增加高血压、2 型糖尿病、心力衰竭、脑卒中、认知障碍、阿尔兹海默病及全因死亡的发生风险^[6]。失眠对个体工作、学习及身心健康的严重危害,凸显了深入研究不寐发病机制与干预方法,对维护公众身心健康、提升生活质量的重要现实意义。

目前,西医治疗失眠主要依赖苯二氮卓类与非苯二氮卓类镇静催眠药物,但长期使用易产生药物依赖,且常伴随次日头晕、记忆力减退、嗜睡及日间困倦等明显不良反应,临床应用存在一定局限^[7-8]。中药治疗失眠更注重整体调节与辨证施治,可通过多靶点、多途径起效,在改善睡眠质量、缓解伴随症状及提高长期安全性方面具有独特优势,且出现的不良反应少、依从性更佳^[9]。相关研究表明,合理配伍的中药组合疗效确切、安全性较高^[10]。然而,由于中医师在辨证论治过程中存在思维差异,导致治疗标准难以统一,有效治疗方法难以广泛推广^[11]。因此,建立一种有效、标准化且被广泛认可的失眠中医证型分型体系显得尤为重要。

基于《黄帝内经》五神藏理论,本研究提出了“中

医不寐五神分型诊断法”^[12],将不寐划分为心不藏神、肝不藏魂、脾不藏意、肺不藏魄、肾不藏志 5 种基本证型,为中医辨证治疗不寐提供了更为系统、规范的思路。肾不藏志型不寐作为其中一种常见证型,主要多见于中老年人,临床表现以夜寐早寤为主,其病机为肾脏虚损,导致肾志不安于舍而致不寐^[13]。远志-茯苓药对是补肾安志法治肾不藏志型不寐方剂中的配伍药对,二者配伍稳定且应用频率高,远志温肾强志,安神定志;茯苓健脾宁心,益智安神,二者药性互补,远志温补偏燥,茯苓性平甘淡,可缓其燥性,此配伍契合经典用药逻辑,共调心肾,且能规避补肾药滋腻碍胃之弊^[14]。目前关于远志-茯苓药对治疗肾不藏志型不寐的研究较少见,基于此,本研究结合了血浆代谢组学技术,探究远志-茯苓药对治疗肾不藏志型不寐的潜在机制,以期为远志-茯苓药的实验研究提供理论基础与科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 24 只 SPF 级雄性 SD 大鼠作为研究对象,8 周龄,体质量(200 ± 20)g,均购自新疆医科大学实验动物中心,动物合格证号:SYXK(新)2018-0003。采用随机数字表法将大鼠分为正常组、模型组、右佐匹克隆组与远志-茯苓药对组,每组 6 只。大鼠分笼饲养于新疆医科大鲤鱼山校区动物实验中心,饲养环境温度 $22 \sim 25^{\circ}\text{C}$,相对湿度 45%~55%,12 h 光照/12 h 黑暗交替,自由饮食饮水。本实验经新疆医科大学实验动物伦理委员会审批(IACUC-JT-20250527-07)。

1.2 药物、试剂与仪器 远志-茯苓药对由新疆维吾尔自治区中医医院提供,药物组成:制远志 15 g、茯苓 15 g(广东一方制药有限公司,批号:AB571783、AB4B0473)、右佐匹克隆片(规格:1 mg * 36 片,迪沙药业集团有限公司,批号:H20213830)、DL-4-氯苯丙氨酸(PCPA,上海源叶生物科技有限公司,批号:JS254515),戊巴比妥钠(美国 Sigma 公司,批号:

57330)。通用型组织固定液(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号:GP2501303),乙腈(Millipore,货号:1.00030.4008)、甲酸(Millipore,货号:111670)、甲醇(Millipore,货号:1.06007.4008)、氨水(Merck,货号:105426)、苏木精-伊红(HE)染色液(北京兰杰柯科技有限公司,货号:BL700B)。Q Exactive Plus 质谱仪(美国 Thermo Scientific 公司);Nexera X2 LC-30AD 超高压液相色谱仪(日本 Shimadzu 岛津公司);ACQUITY UPLC® HSS T3(2.1×100 mm,1.8 μm)色谱柱(美国 Waters 公司);Bioruptor 超声波系统(比利时 Diagenode 公司);Concentrator plus 真空离心浓缩仪(德国 Eppendorf 公司);Centrifuge 5424R 离心机(德国 Eppendorf 公司)。

1.3 分组与模型制备 模型组进行肾不藏志型不寐模型制备:D-半乳糖(D-gal)联合氯苯丙氨酸(PCPA)制作不寐大鼠模型^[13],大鼠予 D-gal 120 mg/(kg·d)在颈背部皮下注射连续 42 d;第 43 天起,腹腔注射 PCPA 300 mg/(kg·d)连续 3 d。造模结束后予以正常组和模型组 0.9%生理盐水灌胃处理;右佐匹克隆片组以 0.27 mg/(kg·d)右佐匹克隆片灌胃;远志-茯苓药对组以 5.4 g/(kg·d)远志-茯苓药对灌胃(为临床等效剂量的 2 倍)。每组均连续给药 14 d。戊巴比妥钠翻正实验中出现睡眠潜伏期延长、睡眠持续时间缩短的表现,则表明肾不藏志型不寐模型制备成功^[15]。

1.4 样本采集 样本采集确认造模成功后,经腹主动脉采血,抗凝采血管经 1 500 g 离心 10 min 后,吸取上层血浆,分装冻存管并于-80℃保存备用;于冰台上剥离海马,固定于 4%多聚甲醛溶液中备用。

1.5 检测指标与方法

1.5.1 一般状态观察 系统记录 4 组大鼠的精神状态、粪便特征及毛发和耳廓的色泽情况。

1.5.2 海马组织 HE 染色 对海马组织标本进行脱水处理及包埋,随后制备切片,并采用 HE 染色观察其病理形态学特征。

1.5.3 戊巴比妥钠翻正实验 各组大鼠腹腔注射戊巴比妥钠 50 mg/kg(0.1 mL/kg)。记录自注射完毕至大鼠翻正反应消失时间(入睡潜伏期)及翻正反应消失至觉醒时间(睡眠时间)。

1.5.4 旷场实验 干预结束后第 2 天每组大鼠进行旷场实验,每只观察 300 s,统计大鼠站立次数、运动距离、静止时间。

1.5.5 血浆代谢组学检测 血浆样品于 4℃解冻,涡旋混匀,每例样品取 100 μL,加入 300 μL 预冷的纯甲醇,于-20℃中静置 1 h,16 000 g 4℃离心 20 min,取上清以备质谱进样分析。(1)色谱条件:采用 SHIMADZU-LC30 超高效液相色谱系统(UHPLC),色谱柱为 ACQUITY UPLC® HSS T3(2.1×100 mm,1.8 μm,Waters,Milford,MA,USA);样品置于 4℃自动进样器中,进样量 16 μL,柱温 40℃,流速 0.3 mL/min。流动相 A 为 0.1%甲酸水溶液,流动相 B 为 0.1%甲酸乙腈溶液。(2)质谱条件:样品分别采

用电喷雾电离(ESI)进行正离子(+)和负离子(-)模式检测。样品经 UPLC 分离后用 QE Plus 质谱仪进行质谱分析。一级质谱扫描分辨率为 70 000 dpi,AGC 目标 3e6,最大离子注入时间 100 ms。二级质谱扫描分辨率为 17 500 dpi,AGC 目标 1e5,最大离子注入时间 50 ms,NCE 模式下的碰撞能量分别为 10、20、40 eV,隔离窗口 2 m/z。代谢组学原始数据采用 MSDIAL 软件进行峰对齐、保留时间校正和提取峰面积,代谢物结构鉴定通过精确质量数匹配(质量偏差 tolerance < 20 ppm,tolerance <0.01 Da)的方式,检索相关数据库实现;对提取得到的数据,删除组内缺失值>50%的离子峰后,采用 Python 软件进行模式识别与分级处理,通过主成分分析(PCA)、偏最小二乘判别分析(PLS-DA)及正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)区分各组间代谢物差异,组间差异显著性验证采用 Student's t-test;以 OPLS-DA 模型的变量重要性投影值(VIP)及 t-test 的假定值(P)为筛选条件获取差异代谢物。

1.6 统计学处理 采用 SPSS27.0 及 GrphPad Prism 10 for macOS 软件进行数据处理与统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。不符合方差齐性检验时使用 Dunnett's *t*3 进行组间两两比较。采用 Pearson 相关分析差异代谢物相关性分析。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组戊巴比妥钠翻正实验结果比较 与正常组相比,模型组、右佐匹克隆组及远志-茯苓药对组的入睡潜伏期均显著延长(*P*<0.05),睡眠时间均显著缩短(*P*<0.05)。与模型组相比,右佐匹克隆组及远志-茯苓药对组入睡潜伏期均显著缩短(*P*<0.05),睡眠时间均显著延长(*P*<0.05)。与远志-茯苓药对组相比,右佐匹克隆组入睡潜伏期显著延长(*P*<0.05),睡眠时间显著缩短(*P*<0.05)。见表 1。

表 1 4 组戊巴比妥钠翻正实验结果比较($\bar{x} \pm s, s$)			
组别	<i>n</i>	入睡潜伏期	睡眠时间
正常组	6	236.28±8.33	3 605.55±91.70
模型组	6	401.32±9.40 ^a	2 577.23±22.14 ^a
右佐匹克隆组	6	310.05±1.81 ^{ab}	2 788.10±81.08 ^{ab}
远志-茯苓药对组	6	249.75±5.05 ^{abc}	3 495.93±18.55 ^{abc}
<i>F</i>		727.15	395.38
<i>P</i>		<0.001	<0.001

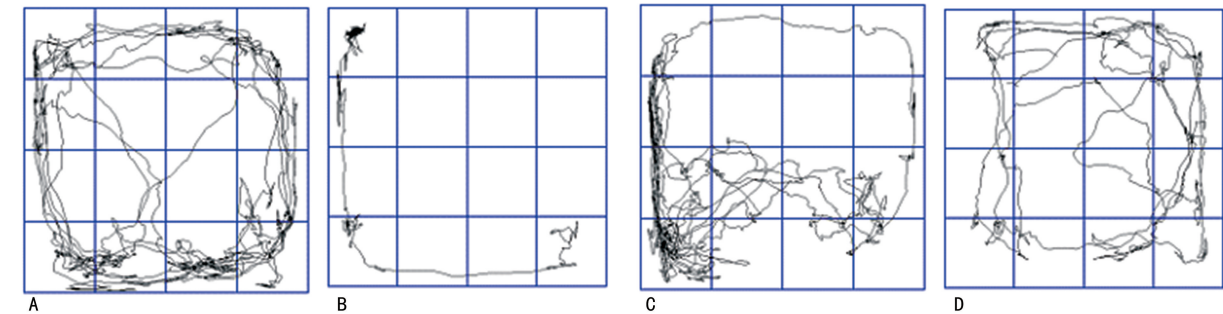
注:与正常组比较,^a*P*<0.05;与模型组比较,^b*P*<0.05;与右佐匹克隆组比较,^c*P*<0.05。

2.2 4 组旷场实验结果比较 与正常组相比,模型组、右佐匹克隆组及远志-茯苓药对组大鼠的站立次数、中央持续时间、中央活动路程、活动总时间和活动总路程均显著减少(*P*<0.05),排便次数均显著增加(*P*<0.05)。与模型组相比,右佐匹克隆组及远志-茯苓药对组大鼠的站立次数、中央持续时间、中央活动

路程、活动总时间和活动总路程均显著增加($P < 0.05$),排便次数均显著减少($P < 0.05$)。与右佐匹克隆组相比,远志-茯苓药对组大鼠的站立次数、中央持续时间、中央活动路程、活动总时间和活动总路程均显著增加($P < 0.05$),排便次数均显著减少($P < 0.05$)。见图 1、表 2。

2.3 4 组 HE 染色结果比较 HE 染色结果显示,正常组大鼠脑组织目标区域结构完整,神经元排列紧密、层次分明,细胞形态规则,胞核清晰,未见明显病

理改变;模型组大鼠该区域组织结构显著紊乱,神经元排列层次消失、分布松散,细胞形态异常,部分细胞出现固缩深染,提示存在显著病理损伤;右佐匹克隆组大鼠组织病理损伤较模型组明显改善,神经元排列趋于规整,细胞形态及间质状态均有所恢复,组织结构更接近正常组,证实其可有效缓解模型诱导的脑组织损伤;远志-茯苓药对组大鼠改善效果更为显著,神经元排列规整度及细胞形态与正常组高度相似,间质水肿基本消退。见图 2。



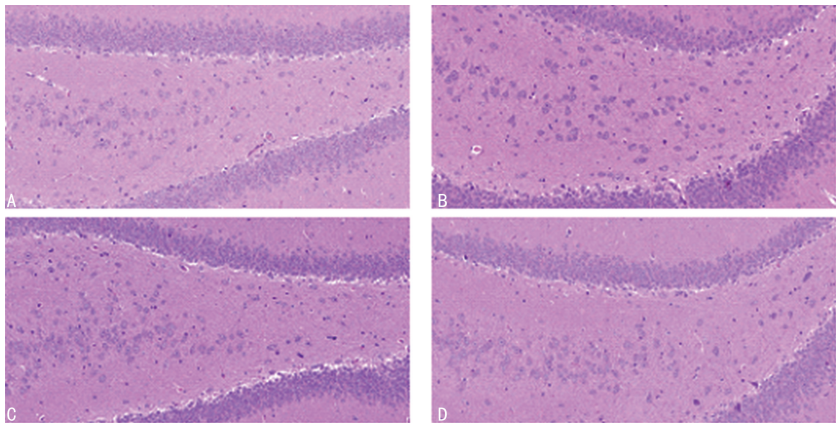
注:A 表示正常组;B 表示模型组;C 表示右佐匹克隆组;D 表示远志-茯苓药对组。

图 1 4 组旷场实验结果比较

表 2 4 组旷场实验结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	中央活动路程(m)	活动总时间(s)	活动总路程(m)	站立次数(次)	排便次数(次)	中央持续时间(s)
正常组	6	3.57±0.21	269.67±5.24	26.45±0.73	25.33±1.51	1.50±0.55	37.67±3.45
模型组	6	0.85±0.19 ^a	98.33±6.65 ^a	10.60±0.76 ^a	7.50±1.87 ^a	6.50±1.05 ^a	4.50±1.871 ^a
右佐匹克隆组	6	1.75±0.14 ^{ab}	151.67±5.79 ^{ab}	14.22±0.40 ^{ab}	15.50±1.52 ^{ab}	5.50±0.55 ^{ab}	21.67±1.03 ^{ab}
远志-茯苓药对组	6	3.00±0.14 ^{abc}	250.00±6.01 ^{abc}	23.33±1.01 ^{abc}	21.83±1.47 ^{abc}	3.00±0.89 ^{abc}	32.50±1.88 ^{abc}
<i>F</i>		308.51	1 133.43	583.87	143.95	50.20	258.74
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与正常组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与右佐匹克隆组比较,^c $P < 0.05$ 。



注:A 表示正常组;B 表示模型组;C 表示右佐匹克隆组;D 表示远志-茯苓药对组。

图 2 4 组 HE 染色结果比较($\times 200$)

2.4 血浆代谢组学

2.4.1 多元统计分析 对检测到的代谢物开展 PCA、OPLS-DA 分析以剔除随机误差和组内误差。结果显示,各组大鼠血浆代谢物在组内聚集效应与组间分离趋势均较为明显,可作为血浆中的差异代谢物筛选的有效依据。见图 3~6。

2.4.2 差异代谢物筛选结果 以 OPLS-DA 模型中的变量重要性投影值(VIP) >1.0 、差异倍数(FC) >2

或 FC <0.5 , $P < 0.05$ 作为差异代谢物筛选差异代谢物的阈值。与模型组相比,正常组显著上调的代谢物有 22 种,显著下调的代谢物有 41 种;与中药组相比,模型组显著上调的代谢物有 18 种,显著下调的代谢物有 28 种。火山图可视化分析结果显示,每个散点代表一种代谢物,其中红色散点表示显著上调的代谢物,蓝色散点表示显著下调的代谢物,灰色散点则表示无显著差异的代谢物。见图 7、8。

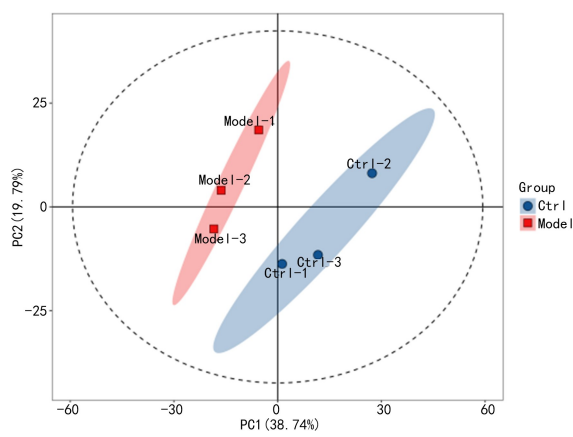


图 3 正常组 VS 模型组大鼠血浆代谢物 PCA 图

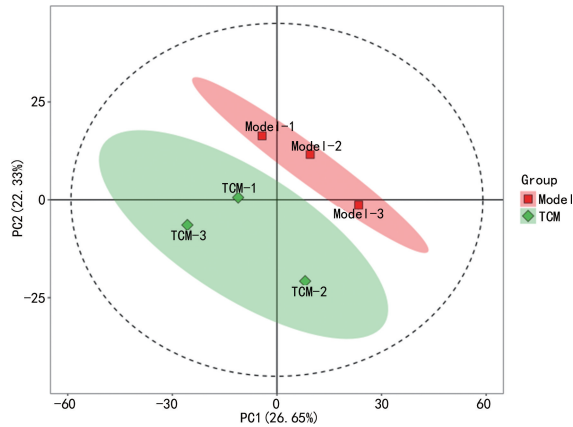


图 4 模型组 VS 远志-茯苓药对组大鼠血浆代谢物 PCA 图

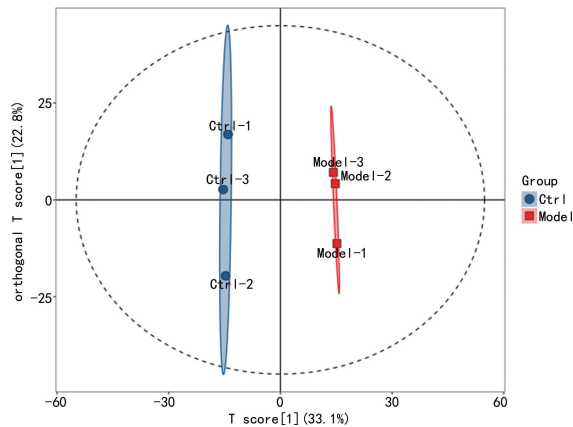


图 5 正常组 VS 模型组大鼠血浆代谢物 OPLS-DA 图

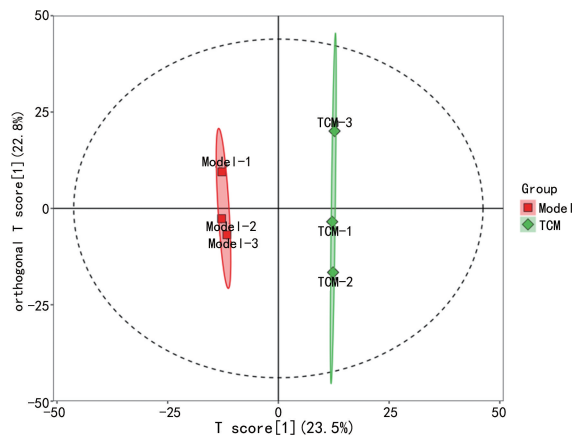


图 6 模型组 VS 远志-茯苓药对组大鼠血浆代谢物 OPLS-DA 图

2.4.3 差异代谢物重要性分析 本研究将 FC 的对数转换值设定为横坐标,差异代谢物重要性分析,代谢物名称设定为纵坐标,以分布于坐标轴两侧的蓝色差异代谢物重要性分析本研究以 FC 对数转换值作为横坐标,代谢物名称作为纵坐标,构建差异代谢物重要性分析图。图中,位于坐标轴两侧的蓝色散点代表下调的差异代谢物,红色散点代表上调的差异代谢物。针对排名前 30 的关键差异代谢物进行了可视化分析。结果显示,与模型组比较,正常组筛选出的核心差异代谢物中,上调的主要包括白三烯 B₄、前列腺素 E₂、氧化型谷胱甘肽(GSSG)及组胺等;下调的则包括磷脂酰胆碱[PC(36 : 4)]、磷脂酰胆碱[PC(38 : 6)]、 α -酮戊二酸及还原型谷胱甘肽(GSH)等。模型组与远志-茯苓药对组的差异分析结果表明,上调代谢物涉及磷脂酰胆碱[PC(36 : 4)]、磷脂酰胆碱[PC(38 : 6)]、 α -酮戊二酸及 GSH 等;下调代谢物则包括白三烯 B₄、前列腺素 E₂、GSSG 及组胺等。值得注意的是,三组样本共有的差异代谢物包括 GSSG、GSH、磷脂酰胆碱[PC(36 : 4)]、柠檬酸、白三烯 B₄ 及皮质醇。见图 9、10。

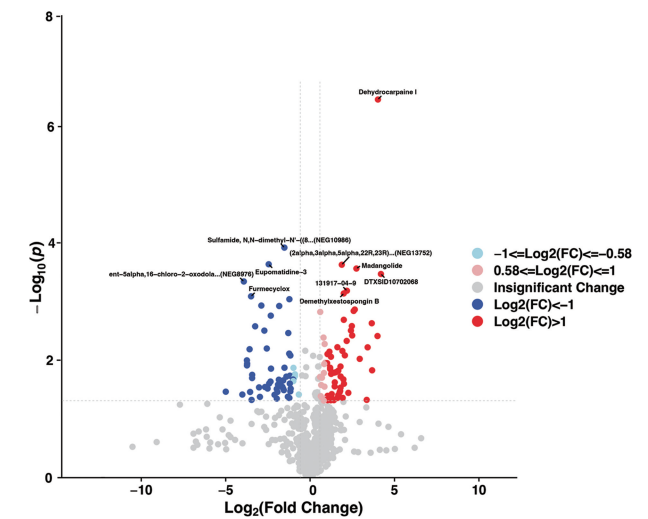


图 7 正常组 VS 模型组大鼠血浆代谢物 volcano 图

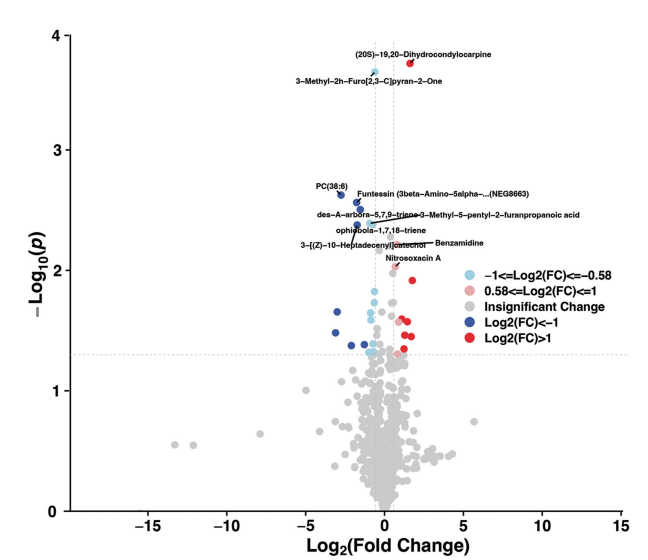


图 8 模型组 VS 远志-茯苓药对组大鼠血浆代谢物 volcano 图

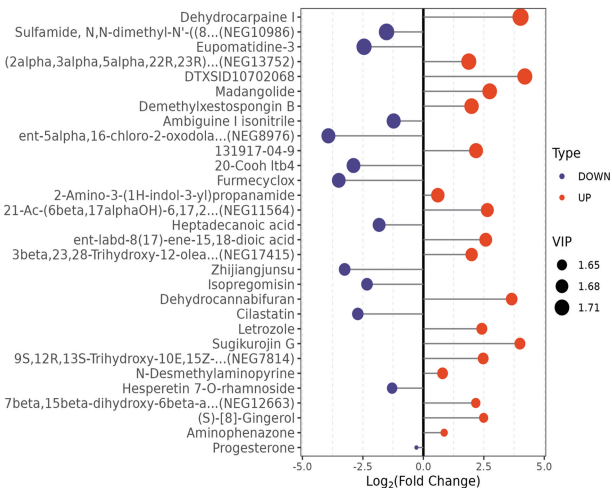


图 9 正常组 VS 模型组大鼠血浆代谢物 FC-VIP 图

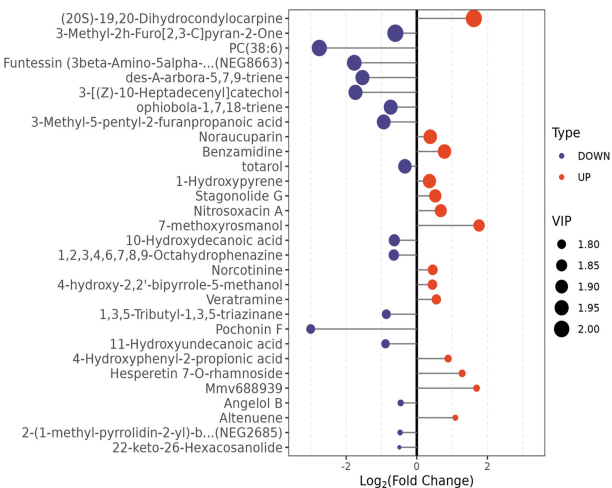


图 10 模型组 VS 远志-茯苓药对组大鼠血浆代谢物 FC-VIP 图

2.4.4 差异代谢物相关性分析 Pearson 相关分析结果显示,色块颜色的深浅与相关性的强弱呈正相关,即颜色越深,表明代谢物间的正相关或负相关程度越显著。见图 11、12。

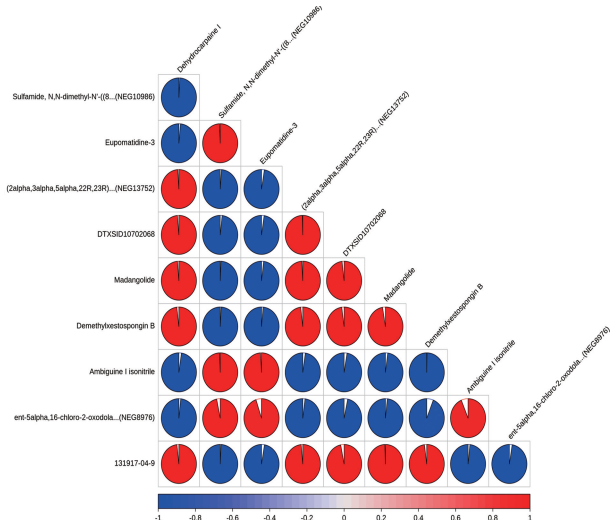
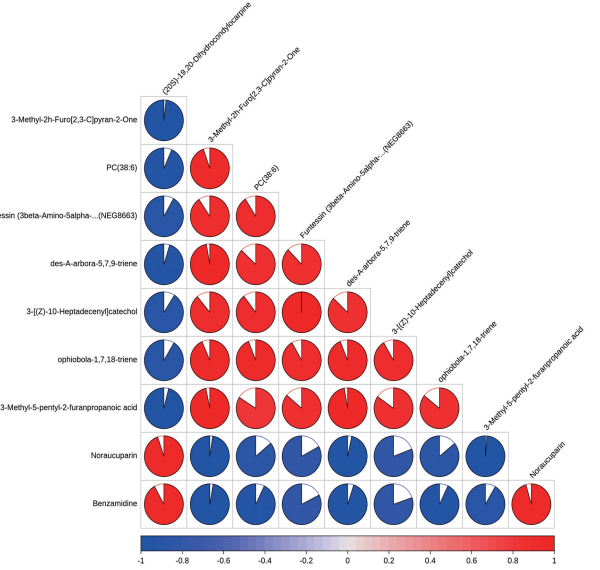


图 11 正常组与模型组大鼠血浆代谢物相关性热图



注:红色色块表示呈正相关,蓝色色块表示呈负相关。
图 12 模型组与远志-茯苓药对组大鼠血浆代谢物相关性热图

3 讨论

本研究基于《黄帝内经》及中医神志理论,立足于“五脏藏五神”学说与藏象理论,以“魂魄飞扬使人卧不得安而喜梦”为线索,发现不寐患者的主要症状可分为五类:出入寐唯艰类、梦扰纷纭类、思虑纷纭类、轻浅易寤类、夜寐早寤类,或上述五类症状的不同排列组合。且这五类直接症状分别对应五神(神、魂、意、魄、志)在五脏(心、肝、脾、肺、肾)中不安所致的中医不寐机制相关,分别为心不藏神、肝不藏魂、脾不藏意、肺不藏魄及肾不藏志型 5 种不寐类型。基于此,有研究提出了“中医不寐五神分型诊断法”^[12]。其中,肾不藏志型不寐为临床常见证型,主要见于中老年人^[16],其临床表现以夜寐早醒为主。其病机核心为肾脏虚损,致使肾志不安于舍,进而引发不寐症状。

肾不藏志型不寐的核心病机为“肾失封藏,致志不安于舍”。因此,治疗需补肾安志,志安于舍则寐可安。《神农本草经》载有:“远志,味苦,温……益智慧,耳目聪明,不忘,强志倍力。”又载:“茯苓,味甘,平……久服安魂养神,不饥延年。”远志入肾、心经,能补肾益精,交通心肾,助肾水上济以制心火;茯苓入心、脾经,可宁心安神,健脾渗湿,使心火下降以温肾水。二者配伍,正是通过恢复“心肾相交”的状态,实现“肾藏志、心安神”,从而治疗肾不藏志型不寐。

本研究结果表明,模型组大鼠表现出入睡潜伏期显著延长、睡眠时间明显缩短的睡眠障碍($P<0.01$);在旷场实验中,站立次数、中央持续时间、中央活动路程、活动总时间及活动总路程均显著降低,排便次数显著增加($P<0.001$);海马区 HE 染色结果显示组织结构紊乱,神经元排列松散且形态异常,部分细胞出现固缩深染,存在明显的病理损伤。经远志-茯苓药对干预后,模型大鼠的入睡潜伏期显著缩短,睡眠时间显著延长($P<0.001$);旷场实验中各项活动指标

显改善,排便次数显著减少($P < 0.001$)。同时,海马区组织结构趋于完整,神经元排列规整,形态接近正常,病理损伤明显缓解。与右佐匹克隆组相比,远志-茯苓药对组在改善睡眠、调节旷场行为及修复海马神经元损伤方面效果更优($P < 0.001$)。上述结果表明,远志-茯苓药对可有效改善肾不藏志型不寐大鼠的睡眠障碍与行为学异常,并对海马神经元具有显著的保护作用。

血浆代谢组学研究结果表明,与正常组相比,模型组中白三烯 B₄、前列腺素 E₂、GSSG 及组胺等代谢物显著上调。上述代谢物通过激活中枢炎症反应、抑制助眠神经递质释放^[17-18]、诱导氧化应激损伤及增强中枢觉醒信号^[18-19],加重了睡眠紊乱的程度。相反,模型组中磷脂酰胆碱、 α -酮戊二酸及 GSH 等代谢物显著下调,其减少分别导致神经细胞膜结构受损、神经元能量供应不足及抗氧化系统失衡^[20-21],进一步加剧了入睡困难和睡眠碎片化现象。远志-茯苓药对组相较于模型组,显著上调了磷脂酰胆碱、 α -酮戊二酸及 GSH 等代谢物,可能通过修复神经细胞膜的稳定性、恢复脑能量代谢及纠正氧化应激失衡^[20-21],从而改善睡眠调节中枢功能。同时,该组显著下调了白三烯 B₄、前列腺素 E₂、GSSG 及组胺等代谢物,抑制中枢炎症反应^[17-18]、降低氧化应激水平及减弱促觉醒信号^[19-20],有效逆转了模型组的睡眠紊乱状态。正常组、模型组、远志-茯苓药对组的共同差异代谢物包括 GSSG、GSH、磷脂酰胆碱[PC(36:4)]、柠檬酸、白三烯 B₄ 及皮质醇。这些代谢物的变化进一步证实了远志-茯苓药对通过调控炎症反应、氧化应激、能量代谢及激素平衡等多条通路,发挥改善失眠症状的作用^[22-23]。

皮质醇作为下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴的核心调节激素,其昼夜节律的稳态与睡眠-觉醒周期密切相关^[24]。HPA 轴的过度激活会导致皮质醇分泌异常,进而通过糖皮质激素受体(GR)作用于中枢神经系统,特别是下丘脑中的促醒神经元(如 Orexin-A 系统),增强觉醒信号的传递^[25]。同时,皮质醇升高会抑制 γ -氨基丁酸(GABA)能神经元的活性,进而削弱其抑制性调节功能^[26]。这种神经内分泌失衡伴随着促炎细胞因子的释放,导致神经炎症环境的形成。相关研究表明,皮质醇升高与中枢炎症标志物呈正相关^[27-28],可能对海马功能造成损伤。夜间皮质醇异常升高通过增强中枢神经系统的唤醒水平,干扰正常睡眠。本研究代谢组学结果显示,失眠模型组动物的皮质醇水平显著高于正常组,反映出模型动物存在 HPA 轴过度激活的病理特征。经中药干预后,模型动物的皮质醇水平显著下降。该代谢层面的变化提示该中药可能通过靶向调控皮质醇稳态,从而改善失眠相关的中枢高唤醒状态。本研究为揭示该中药干预失眠的分子机制提供了实验依据。

GSH 与 GSSG 作为大脑中枢神经系统中关键的氧化还原平衡调节分子,其比值的变化能够直接反映

中枢神经系统的氧化应激水平^[29]。GSH/GSSG 比值的动态变化与不寐的发生发展及中药干预效果密切相关。模型组中,GSH 水平显著降低,而 GSSG 水平显著升高,表明睡眠调节核心脑区存在过度的氧化应激激活,导致活性氧(ROS)大量积累。已有研究表明,中脑睡眠相关神经元内过氧化氢(ROS 关键类型)积累是睡眠压力的重要分子标志,其浓度失衡直接干扰睡眠稳态,诱发睡眠紊乱^[30]。模型组中 GSH 的缺乏与 GSSG 的堆积引发的 ROS 清除障碍,不仅损伤视交叉上核的生物钟神经元及海马区突触结构,破坏睡眠-觉醒周期的调控与信号传导,还通过干扰 GABA 与促觉醒神经递质的平衡,进一步破坏睡眠稳态,最终加剧不寐表现^[31-32]。远志-茯苓药对组通过上调 GSH 水平、下调 GSSG 水平,实现了氧化还原平衡的逆向调控。一方面,该调控有效清除中枢过量的 ROS,保护睡眠调节中枢神经元的结构与功能完整性;另一方面,恢复神经递质的平衡,增强中枢抑制效应,同时抑制 HPA 轴的过度激活,打破“氧化应激-皮质醇升高”的病理恶性循环,最终改善睡眠质量^[30]。该过程的发生机制:在不寐状态下,GSH/GSSG 比值失衡,进而引发中枢氧化应激反应,导致睡眠节律紊乱;而中药能够靶向调节 GSH/GSSG 比值,纠正异常的氧化应激状态,最终帮助机体恢复睡眠稳态。此研究既验证了 ROS 信号在睡眠调控中的关键作用,也阐明了远志-茯苓药对通过调节中枢氧化还原平衡,从而发挥安神益智作用的机制。

综上所述,肾不藏志型不寐发病机制涉及炎症相关代谢、氧化应激相关代谢及 HPA 轴相关激素代谢等多个代谢过程相关,白三烯 B₄、前列腺素 E₂、GSSG、组胺、皮质醇、磷脂酰胆碱、 α -酮戊二酸、GSH 及柠檬酸等代谢产物的变化与肾不藏志型不寐的病理过程密切相关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献 左广珂:实验设计,数据收集与分析,论文初稿撰写;张星平:研究思路指导,项目统筹,论文审核与修改;李振辉:实验技术支持,样本收集;李海明:数据分析与图表制作;朱海龙:实验操作与数据整理;王苗:文献调研与论文校对;陈旭:经费管理与资源协调。

参考文献

- [1] 曾艺卿,叶志英.基于“脑-心-肾三才失衡”运用靳三针治疗围绝经期失眠经验[J].基层中医药,2026,5(2):43-48.
- [2] Xu Y A, Li X, Man D R, et al. iTRAQ-based proteomics analysis on insomnia rats treated with mongolian medical warm acupuncture [J]. Biosci Rep, 2020, 40 (5): BSR20191517.
- [3] 赵运浩,罗娴.不寐的流行病学及发病机制研究进展[J].中国临床医生杂志,2023,51(12):1397-1401.
- [4] 张伯礼,吴勉华.中医内科学[M].4版.北京:中国中医药出版社,2017:107-116.
- [5] Zaheed A B, Chervin R D, Spira A P, et al. Mental and

- physical health pathways linking insomnia symptoms to cognitive performance 14 years later[J]. *Sleep*, 2023, 46(3):zsac262.
- [6] Fernandez M J. Insomnia phenotypes, cardiovascular risk and their link to brain health[J]. *Circ Res*, 2025, 137(5): 727-745.
- [7] Cardona-Acosta A M, Meisser N, Vardeleon N I, et al. Mother's little helper turned a foe: Alprazolam use, misuse, and abuse[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2025, 136:111137.
- [8] Mattos M K, Chang A, Pitcher K, et al. A review of insomnia treatments for patients with mild cognitive impairment[J]. *Aging Dis*, 2021, 12(4):1036-1042.
- [9] 熊乃鑫,袁可望,徐佳玲,等. 失眠从中医药论治研究进展[J]. *江西中医药*, 2023, 54(12):72-75.
- [10] Li N, Xue W, Wang C P, et al. The double face of licorice-kansui herb pair: cure or curse, depending on the combining ratio and mediated by hydrogen sulfide[J]. *Phyto-medicine*, 2025, 136:155692.
- [11] 张星平,梁政亨. 中医不寐五神分型诊断法的研究进展[C]//中国睡眠研究会第十五届全国学术年会, 2023: 589.
- [12] 张星平,邓宁,陈俊逾,等. 中医不寐五神分型诊断法对中医神志理论研究的价值[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(9):3831-3833.
- [13] 任小娟. 肾不藏志型不寐的理论及实验研究[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学, 2020.
- [14] 李振辉,张星平,陈旭,等. 基于数据挖掘的张星平治疗肾不藏志型不寐的用药规律研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2026, 35(5):677-682.
- [15] 任小娟,王晶,陈小兵,等. 远志对肾不藏志不寐大鼠睡眠影响的实验研究[J]. *新疆医科大学学报*, 2022, 45(7): 770-775.
- [16] 陈旭,张星平,侯文,等. 24690 例不寐病患者临床症状表现特征分布的多中心横断面研究[J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(5):2377-2381.
- [17] Lin W T, Yu L Y, Xu H, et al. Neuroinflammation-informed neuroimaging-transcriptomic signatures explaining acupuncture's therapeutic effects in chronic insomnia[J]. *Chin Med*, 2025, 20(1):207.
- [18] Liu L, Wang L, Wang Y, et al. Akkermansia muciniphila alleviates cognitive impairment and neuroinflammation induced by blunt chest trauma[J]. *Front Immunol*, 2025, 16:1657524.
- [19] Panda S P, Sinha S, Kesharwani A, et al. Role of OX/OXR cascade in insomnia and sleep deprivation link Alzheimer's disease and Parkinson's disease: therapeutic avenue of Dual OXR Antagonist (DORA) [J]. *Biochem Pharmacol*, 2025, 233:116794.
- [20] Wang Z K, Li D T, Chen M, et al. A comprehensive study on the regulation of compound Zaoren granules on cAMP/CREB signaling pathway and metabolic disorder in CUMS-PCPA induced insomnia rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 332:118401.
- [21] Feng W Y, Yang Z H, Liu Y X, et al. Gut microbiota: a new target of traditional Chinese medicine for insomnia [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 160:114344.
- [22] Wang Q H, Chen B, Shen D S, et al. Multiomics analysis reveals aberrant metabolism and immunity linked gut microbiota with insomnia [J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10(5):0099822.
- [23] Zhou J, WU X L, Li Z L, et al. Alterations in gut microbiota are correlated with serum metabolites in patients with insomnia disorder[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12:722622.
- [24] Dressle R J, Feige B, Spiegelhalder K, et al. HPA axis activity in patients with chronic insomnia: a systematic review and Meta-analysis of case-control studies[J]. *Sleep Med Rev*, 2022, 62:101588.
- [25] Dong Y J, Jiang N H, Zhan L H, et al. Soporific effect of modified Suanzaoren decoction on mice models of insomnia by regulating Orexin-A and HPA axis homeostasis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 143:112141.
- [26] Zhang B, Wang Q, Zhang Y, et al. Treatment of insomnia with traditional Chinese medicine presents a promising prospect[J]. *Phytother Res*, 2025, 39(6):2724-2756.
- [27] Piber D, Cho J H, Lee O, et al. Sleep disturbance and activation of cellular and transcriptional mechanisms of inflammation in older adults[J]. *Brain Behav Immun*, 2022, 106:67-75.
- [28] Knezevic E, Nenic K, Milanovic V, et al. The role of cortisol in chronic stress, neurodegenerative diseases, and psychological disorders[J]. *Cells*, 2023, 12(23):2726.
- [29] Semenova N V, Madaeva I M, Brichagina A S, et al. Glutathione component of antioxidant status in menopausal women with insomnia[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2022, 173(6):775-778.
- [30] Tian Y, Kang L, Ha N, et al. Hydrogen peroxide in mid-brain sleep neurons regulates sleep homeostasis[J]. *Cell Metab*, 2025, 37(6):1442-1452.
- [31] Zhang L, Guo H L, Zhang H Q, et al. Melatonin prevents sleep deprivation-associated anxiety-like behavior in rats: role of oxidative stress and balance between GABAergic and glutamatergic transmission [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(5):2231-2242.
- [32] Li S, Li Y H, Xue C X, et al. Progress in research on the mechanism of GABA in improving sleep[J]. *Chin J Integr Med*, 2025, 14(22):3856.

(收稿日期:2025-12-02 修回日期:2026-04-28)
(编辑:陈晶 伍晓敏)