

【专论】

睡眠剥夺与肠道菌群紊乱的关系及改善睡眠药物研发的探讨

任晓宇, 李廷利*

黑龙江中医药大学 药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: 肠道菌群作为人体内一个复杂的微生态系统, 在维持宿主生理功能上起非常重要的作用, 也与许多代谢性疾病、免疫性疾病有着密切的关系。分析睡眠剥夺与肠道菌群紊乱相关性研究的提出和再提出, 综合分析肠道菌群紊乱与睡眠障碍的关系, 为以肠道菌群为靶点的改善睡眠药物开发及防治方法与思路提供参考。

关键词: 睡眠剥夺; 肠道菌群紊乱; 微生物-脑-肠轴; 改善睡眠

中图分类号: R915 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2019) 07-1257-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.07.001

Discussion on correlation between sleep deprivation and gut microbiota disorder, research and development of drugs for sleep improvement

REN Xiaoyu, LI Tingli

School of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: As a complex microecosystem, gut microbiota plays an important role in maintaining the host physiological function and is also closely related to many metabolic diseases and immune diseases. In this review, we comprehensively analyze the relationship between gut microbiota disorder and sleep disturbances, based on the two times emerging researches of the correlation between sleep deprivation and gut microbiota disorder over the past few decades. The analysis may provide indication for drug development and prevention approaches targeting gut microbiota to improve sleep.

Key words: sleep deprivation; gut microbiota disorders; microbiota-brain-gut axis; sleep improvement

肠道菌群对人类健康有重要的影响,也成为近年来研究的热点。在机体发育生长过程中,肠道菌群有重要作用;肠道菌群紊乱与多种疾病的发生密切相关,如消化系统疾病、内分泌系统疾病、精神系统疾病、自身免疫性疾病以及一些感染性疾病^[1]。影响肠道菌群紊乱的因素有多种,而睡眠剥夺是其中的1种。良好的睡眠能消除疲劳、恢复体力、保护大脑、稳定情绪、增强免疫力、促进生长发育,但是近年来现代生活方式的改变以及其他因素导致13%~33%的成年人有入睡困难或睡眠障碍^[2]。有调查显示老年人、儿童、学龄前儿童以及青少年出现睡眠障碍的比例分别为25%、25%~50%和40%^[3-7],而且有上升的趋势。

还有研究表明睡眠不足会大大增加患代谢综合征、心血管疾病以及代谢异常等疾病的风险;慢性睡眠紊乱证实与癌症、抑郁、精神分裂、自闭症以及阿尔兹海默症息息相关^[8-10]。失眠可以使患高血压的风险增加2倍,如果睡眠时间进一步缩短,风险增加5倍^[11-12]。本文以睡眠剥夺和肠道菌群紊乱相关性问题的提出和再提出及相关建议为主线,综合分析肠道菌群紊乱与睡眠障碍的关系,以期以肠道菌群为切入点的失眠相关疾病预防及治疗和药物研发提供新思路。

1 睡眠剥夺和肠道菌群紊乱的相关性问题

睡眠剥夺是指个体睡眠时间未能满足机体为了保持清醒和警觉所需的睡眠时间,睡眠剥夺是睡

收稿日期: 2019-03-05

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81274114)

第一作者: 任晓宇,在读博士,研究方向为中药药理学。Tel: 18817939697 E-mail: renxiaoyu8346@163.com

*通信作者: 李廷利,博士,教授,研究方向为中药药理学。Tel: 13804527211 E-mail: 13804527211@126.com

眠实验中一项重要的技术手段。长期睡眠剥夺往往会造成精神或生理机能的改变,严重的可导致死亡。诸多实验表明死亡之前,肠道菌群可能出现了不同程度的紊乱,确定了睡眠剥夺与肠道菌群紊乱的相关性,暗示了其中的因果关系。

1.1 睡眠剥夺和肠道菌群紊乱相关性问题的提出

20世纪80年代,为了探索睡眠的功能,学者们开展了一系列的睡眠剥夺实验进行验证。1983年Science杂志发表的1篇文章显示,大鼠全睡眠剥夺后,出现了摄食增加、体质量减轻、皮肤损坏和脚掌肿胀等多种病理表现以及死亡^[13]。为了进一步探究睡眠剥夺导致大鼠死亡的原因,美国芝加哥大学的Everson等^[14]重复了上述实验,得到相同的结果,但是该实验对受试动物进行解剖后并没有找到动物死亡的原因。该实验同样出现了受试动物脚掌肿胀现象,显然尾巴和爪子的病变是由完全睡眠剥夺或睡眠限制引起的,但实验证明压力、睡眠剥夺仪旋转、水浸、感染、坏死性脉管炎、酪氨酸血症、蛋白质缺乏或有丝分裂率降低并不能解释大鼠尾巴和爪子的病变原因,引起病变的机制并未解释清楚^[15]。随着实验的进一步开展,Everson等^[16]确定大鼠的死亡原因是由败血症引起的全身感染,这种全身感染是在免疫抑制状态下发生的,这篇文章首次将睡眠和细菌建立了联系。

但是,细菌是偶然、瞬时进入血液的,还是因为宿主防御系统出现了严重的损害而引起的,仍然需要研究。Bergmann等^[17]实验结果表明全睡眠剥夺早期大鼠各器官和组织(肾、肝和肠系膜淋巴结)无明显的需氧菌侵袭迹象。大鼠宿主防御的失败是更普遍的致命过程(如多器官衰竭综合征)的非必要部分,而不是慢性宿主防御缺陷的最终结果。另外全睡眠剥夺研究均没有找到严重的内部病灶,也说明在睡眠剥夺期间感染不是长期存在,而是在睡眠剥夺晚期爆发。细菌不是来源于肺部,也不是来源于皮肤,主要还是来源于睡眠剥夺晚期肠道细菌的易位,该文章首次将睡眠剥夺和肠道菌群建立了联系。

为了进一步探讨睡眠剥夺大鼠晚期发病的前提条件,Everson等^[18]测定了正常无菌组织[血液、4个器官,6个局部淋巴结、肠(回肠末端12~15 mm和盲肠)和皮肤]中活微生物不同时间的分布情况。结果表明肠系膜淋巴结的早期感染可能是由肠道细菌易位引起的,细菌迁移至肠外组织并导致短暂感染;组织中致病微生物及其毒素的存在使宿主处

于败血症和慢性抗原挑战的风险下。细菌易位和致病后遗症可能是剥夺睡眠对健康产生不利影响的机制。

20世纪80~90年代,研究人员试图通过对肠道菌群的检测,找出肠道菌群和败血症之间的关系,进而确定睡眠剥夺导致大鼠死亡的原因,最后揭示睡眠的功能。在这一系列的探索性在体动物实验中,首次确定了睡眠剥夺与肠道菌群紊乱具有相关性。

1.2 睡眠剥夺和肠道菌群紊乱相关性问题的再提出

20世纪80~90年代,肠道菌群都是用传统方法进行培养的,而事实上60%的微生物没有被培养过^[19]。这就局限了睡眠剥夺和肠道菌群紊乱相关性问题的深入研究。随着近几年高通量测序技术的发展,微生物的检测手段日趋成熟,肠道菌群相关性的研究也更多地进入研究视野。在这种大环境下,睡眠剥夺与肠道菌群紊乱相关性研究也再次被提出。

2016年李云等^[20]用荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)的方法检测肠道菌群表明间歇性睡眠剥夺大鼠的大肠杆菌,拟杆菌及有益菌双歧杆菌和乳酸杆菌减少,有害产气荚膜梭菌增多,给予姜黄素后,可使产气荚膜梭菌减少,其他特定菌增加。2017年王慧等^[21],2018年Dhaliwal等^[22]也用了相似的平台进行大鼠的连续睡眠剥夺,分别为120、72 h,特定菌群也出现了不同程度的改变。

2016年Benedict等^[23]用16S核糖体核糖核酸(16S rRNA)多样性分析,结果显示部分睡眠剥夺2 d后,成年正常体质量男性粪便中厚壁菌门与拟杆菌门的比例增加了,红蝈菌科和韦荣球菌科丰度增加,软壁菌门丰度下降;但是没有发现 β 多样性的变化。而2017年Zhang等^[24]的实验结果表明睡眠剥夺大鼠粪便中微生物 β 多样性降低,与对照组相比,睡眠剥夺组大鼠粪便细菌只有操作分类单元(OTU)tm7a-3,统计学上表现出小于1%的差异。

Poroyko等^[25]用16S rRNA多样性分析检测了慢性碎片化睡眠模型小鼠的肠道菌群,发现在门、科、目、属水平上,肠道菌群都有显著改变。虽然慢性碎片化睡眠和睡眠剥夺是有区别的,但是该实验的结果具有非常重要的指示意义。

睡眠剥夺与肠道菌群紊乱相关性问题的再次提出阶段,暗示了在体动物和人体实验中睡眠剥夺与肠道菌群紊乱可能存在的因果关系,但是需要进

一步确认并探求机制。

2 睡眠剥夺与肠道菌群紊乱相关性研究存在的问题

为了探究睡眠的机制与改善睡眠的方法,一系列睡眠剥夺实验提出了睡眠剥夺与肠道菌群紊乱相关性。随着细菌检验方法的进步,研究者试图通过不同的实验角度、实验目的、不同的检验手段进一步验证。而随着研究的深入,该领域研究面临的诸多问题也越来越明显,主要有实验方法、受试动物的差异、相关性不等于因果关系、不同肠道型的具体微生物含量存在差异、机制不明确5个方面。

2.1 实验方法

肠道菌群研究多数依靠核糖体RNA的一个亚基16S rRNA进行分类研究,然而16S rRNA在许多不同种类细菌中具有很强保守性,或者不能简单依靠16S rRNA对所有细菌进行精确分类,所以研究结果与真实情况极可能存在一定的偏差,而用细菌门比例作为分析睡眠与肠道菌群的关联也就存在缺陷。另外常用的肠道菌群分析方法还有传统方法和qPCR方法,进一步加剧了肠道菌群分析差异。

目前睡眠剥夺和肠道菌群紊乱相关性研究中,用到的睡眠剥夺方法有水平睡眠剥夺法、轻柔刺激法和强迫运动睡眠剥夺法。每种睡眠剥夺方法都有优缺点,而且剥夺的睡眠时相不尽相同,例如水平睡眠剥夺法特异性地剥夺快速眼球运动睡眠^[26]。不同睡眠剥夺方法导致的肠道菌群紊乱可能完全不同,对后续的机制研究指导意义存在疑问。

2.2 受试动物的差异

不同的实验选择不同的受试动物,然而不同的动物种属之间肠道细菌比例存在非常大的差异性;不仅如此,同种不同品系的动物之间依然存在很大区别。即使对于同品系动物而言,由于造模方法以及实验条件的差异同样会影响肠道菌群的变化,而引起假阳性结果。因此,实验的重复性不仅要考虑更符合实际的检测手段,还必须要在研究中避免因自然差异或其他外界因素对菌群带来的影响。

2.3 相关性不等于因果关系

诸多研究利用Meta-分析说明睡眠剥夺前后菌群状态存在差异,从而推断某种菌群改变与睡眠存在相关性。但这种差异是导致疾病的原因还是疾病导致的结果,甚至可能只是一种伴随现象往往无法确定。因此,虽然相关性往往会暗示某种因果关

系,但并不等于直接的因果关系,还必须在分类细节以及对代谢物的效应等方面深入研究,利用重建菌群分析对睡眠的影响来验证假说。

2.4 不同肠道型的具体微生物含量存在差异

尽管很多研究方法能够有效地检测和揭示与睡眠相关的肠道微生物结构变化,但这些方法对肠道微生物与宿主肠道相互作用的反映能力却十分有限。对不同肠道菌群的比较分析也不能有效地体现出具体菌群丰度与具体大分子代谢潜力的变化。因肠道型(enterotypes)不同,在微生物数量差别很大的情况下,研究人员很难基于测序比对将微生物的具体特征与诸如代谢物浓度或宿主生理参数等其他重要数据联系起来。

2.5 睡眠剥夺导致肠道菌群紊乱的机制不明确

睡眠剥夺,无论是全睡眠剥夺、睡眠限制还是碎片化睡眠都是一种压力源,但尚无研究证实睡眠剥夺过程是如何引起菌群变化的。睡眠剥夺导致了肠道菌群的改变,是直接改变;还是因为食物摄取增加的二次效应,进而导致不同角度研究睡眠剥夺对肠道菌群的影响会产生相反的结果。因此,需要从睡眠机制的角度更为规范地研究菌群变化机制。

3 睡眠剥夺与肠道菌群紊乱相关性研究的建议

睡眠剥夺与肠道菌群紊乱相关性问题的提出和再提出提示睡眠剥夺与肠道菌群紊乱可能存在因果关系,目前机制不清楚。鉴于目前睡眠剥夺与肠道菌群紊乱相关性研究存在的问题,开展研究时应侧重在受试对象的选择、实验方法的确定、机制探讨3个方面。

3.1 受试对象的选择

受试对象的种系、饲料、性别、年龄、饲养环境、个体差异对肠道菌群都有影响,当动物成熟后,饲养环境和饲料对肠道菌群的影响程度最大^[27,28]。选择大鼠作为受试对象,样本多,脑电和肌电容易标记;选择人作为受试对象,数据更有说服力;但是选择小鼠作为受试对象,对机制研究更有帮助。所以在睡眠剥夺与肠道菌群紊乱相关性研究中必须统一受试对象种系、饲料、性别、年龄、饲养环境等,尽量排除其他影响因素。

3.2 实验方法的确定

鉴于不同睡眠剥夺方式对不同睡眠时相的影响,可能对肠道菌群的影响也不同。目前多被认可的是跑台睡眠剥夺方法,它是强迫运动睡眠剥夺方法中的一种。有研究表明睡眠剥夺后的代谢异常

并不是由长时间运动引起的,而且强迫运动仅使压力荷尔蒙肾上腺酮轻微增长^[29-30]。所以目前选择跑台睡眠剥夺方法作为睡眠剥夺与肠道菌群紊乱相关性研究中最适合的,同时也要统一睡眠剥夺的强度。另外也需要统一样本收集方式、保存方式、数据分析和统计方法以降低对实验结果产生的直接或间接影响。

无论对于睡眠剥夺还是其他实验而言,样本肠道微生物分析方法基本集中于不同微生物群和代谢途径角度的测序分析,然而该角度的测序分析忽略了整体微生物丰度变化可能也是引起宿主产生疾病的主要原因,并不能体现微生物数量改变给宿主带来的影响。应将基于测序技术的微生物分类方法与流式细胞技术相结合,将肠道菌群结构与肠道本身的具体类型相联系,进而可以更为有效地阐述肠道微生物丰度变化对肠道菌群结构、表型的影响。最后与睡眠剥夺建立联系,找到睡眠剥夺导致肠道菌群紊乱的机制。另外也可以用传统方法和qPCR方法作为测序技术的补充,进一步验证菌群紊乱的结果。

3.3 机制探讨

生物性压力源(stress)又称应激源,主要通过内分泌系统和神经系统影响肠道菌群,机体的昼夜节律(circadian rhythms)同样能够调节肠道的免疫反应。在睡眠剥夺与肠道菌群紊乱因果关系确定的前提下,睡眠剥夺作为一种生物性压力源,极有可

能通过调节胃肠道和中枢神经系统功能“微生物-脑-肠轴”^[31-37],进一步影响肠道菌群。睡眠剥夺导致肠道菌群紊乱机制的假说见图1。微生物-脑-肠轴是肠道、微生物群和大脑之间的一个复杂的交流网络,一方面睡眠剥夺激活下丘脑-垂体-肾上腺轴,导致了皮质醇的改变;另一方面睡眠剥夺激活了迷走神经。共同作用于肠上皮细胞、肠免疫细胞和肠肌肉层引起免疫功能、黏膜、渗透性等改变,最后导致了肠道菌群的改变^[38-39]。其中免疫细胞对生物钟的效应或许能够深入理解睡眠和肠道之间的双相关系。

4 以肠道菌群为靶点研发改善睡眠的药物

肠道菌群在微生物-脑-肠轴的睡眠-觉醒机制中发挥重要的作用,胃肠道失调与睡眠障碍密切相关。有研究表明,微生物-脑-肠轴系统中肠道菌群的定植参与神经系统发育,激发了参与肌动活动和焦虑行为的神经细胞线路的信号机制,该研究又进一步确定肠道菌群的定植对于神经系统的发育至关重要,必须从幼年期就开始关注,并可通过肠道菌群的改善达到调节神经系统发育来改善或预防某些疾病的目的^[40-41]。肠道菌群还可以作用于免疫系统,促使血液中的细胞因子发生改变,从而影响中枢神经系统,导致睡眠障碍的发生^[42]。另外,在肠-脑模型中,肠道菌群扮演着不可或缺的角色,通过调节肠道内激素的分泌,实现肠脑信息传递,这些信号可能会促使人体摄取某些有利于某

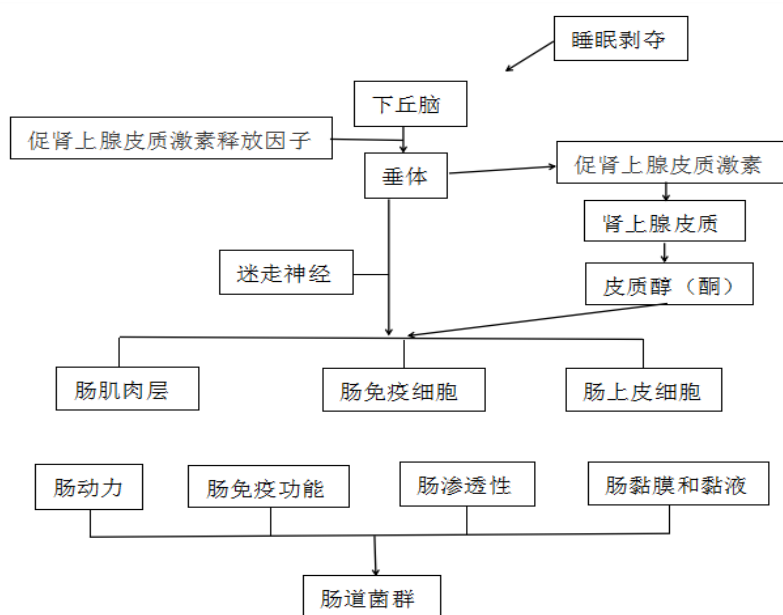


图1 睡眠剥夺导致肠道菌群紊乱机制的假说

Fig. 1 hypothesis about mechanism of sleep deprivation leading to gut microbiota disorder

些细菌生长的营养素,从而影响人的摄食行为、生理状态、节律活动而治愈或缓解疾病。

目前已有一些实验结果表明某些中药提取物或者益生菌对睡眠剥夺导致的肠道菌群紊乱有改善作用。王慧等^[21]用小檗碱进行干预发现其可以拮抗睡眠剥夺诱导的大鼠肠道菌群结构和辅助性T细胞17/调节性T细胞失衡。李云等^[19]发现姜黄素逆转了间歇性睡眠剥夺大鼠特定肠道菌的失调,可能为其改善抑郁样状态的机制之一。印度旁遮普大学 Dhaliwal 等^[22]研究表明补充一种来源于植物的乳酸杆菌 MTCC 9510 逆转了睡眠剥夺小鼠表现出来的特定肠道菌以及行为和生化方面的变化。

基于微生物-脑-肠轴,睡眠-肠道菌群有着千丝万缕、复杂的关系。在阐明睡眠剥夺导致肠道菌群紊乱机制的基础上,将会加快从肠道菌群角度对失眠药物的研发。

5 结语

睡眠具有重要的生理功能,睡眠不足不仅会损害个人的健康与幸福,对国家的经济也会造成重大影响。现代社会失眠问题越来越严重,而抗失眠药物的长期服用伴随产生的毒副作用对患者的身心健康又会造成极大的危害。人体内的共生细菌分布广泛,绝大多数存在于消化系统,特别是肠道。鉴于肠道菌群的数量和种类,近些年来越来越受到人们的重视。也有大量的实验研究证实了肠道菌群的作用,比较成熟的是肠道菌群和肥胖以及自闭症的研究。对益生菌/益生元或者粪便移植的合理应用也在悄悄地改变着某些人的生活。

从目前已发表睡眠剥夺与肠道菌群的相关性研究的文献来看,睡眠与肠道菌群是相关的。但是什么样的睡眠剥夺条件改变了肠道菌群的比例、种类、代谢物等,还未能确定。所以应通过大量实验尽量统一受试对象,实验方法以建立符合该领域实验的微生物学标准,也就是确定怎样的睡眠剥夺条件导致了肠道菌群的比例、种类或者代谢物的变化,来提高研究中的数据准确性及后期实验的重复性进而保证实验数据的可靠性。在确定睡眠剥夺与肠道菌群紊乱因果关系后探讨睡眠剥夺改变肠道菌群的机制。睡眠剥夺作为一种压力源,有可能也是通过微生物-脑-肠轴的神经通路、内分泌通路来影响肠道菌群的。这就需要对其进一步验证,来探讨具体的发生机制。如果睡眠剥夺影响肠道菌群机制一旦确定,就可以反过来从肠道菌群的角度来探索睡眠的奥秘。

在微生物-脑-肠轴系统中,肠道微生物对于宿主免疫系统的形成有重要的作用,宿主的免疫系统与肠道菌群是相互制约相互影响的。而睡眠对肠道菌群和宿主免疫系统的变化密切相关,因此笔者认为,在该系统的制约循环中,可以肠道菌群的变化为切入点,通过调节肠道菌群的比例(益生菌/益生元)激活巨噬细胞来提高非特异性及特异性免疫反应、自然杀伤细胞的活力,增强细胞因子的表达水平,进而促进免疫球蛋白特别是分泌性的IgA的表达,为提高集体的抗病能力,包括改善睡眠提供新的思路。

诸多中药里含有的化学物质在疾病预防的同时也是肠道微生物有效的益生元成分,对于调节肠道菌群的组成保证体内平衡、改善功能紊乱以及相应的病理情况起重要的作用。有人对基于肠道菌群新靶点的中药防治糖尿病研究进行了实验研究,涉及到的中药单体成分有小檗碱、根皮苷、大黄酸等,中药组方有葛根芩连汤、升降散、补中益气汤、黄连解毒汤、温阳益气活血方等^[43]。然而,对基于肠道菌群新靶点的中药成分改善睡眠的研究却很少。事实上有些中成药制剂对于失眠有很好的疗效,如七叶神安分散片的主要组分是由三七叶中提取的总皂苷,常用于失眠、心悸等病症的治疗^[44]。关于在诸多改善睡眠中成药开发过程中其药理作用机制的研究一直是一个瓶颈无法突破,中药和肠道菌群的互作一般被忽略。笔者认为肠道菌群、睡眠与中药三者之间的相互作用关系也许是一个更为关键的切入点,或者以肠道菌群作为新的作用靶点,或许可以为相关失眠药物的开发及其药理作用机制的阐述提供新的方向和思路。

在脑肠模型中,肠道菌群扮演着不可或缺的角色,其也可通过调节肠道内激素的分泌,实现肠脑信息传递,这些信号可能会促使人体摄取某些有利于某些细菌生长的营养素,从而影响人的摄食行为、生理状态、节律活动有助于治愈或缓解疾病,包括失眠。总之,阐明睡眠剥夺导致肠道菌群紊乱的机制,为以肠道菌群为切入点的失眠药物研发提供新思路,具有极大的理论和现实意义。

参考文献

- [1] 王雨珊,李万丛,游颖,等. 中药调节肠道菌群改善人体健康的研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(9): 2203-2209.
- [2] Cunnington D, Junge M. Chronic insomnia: diagnosis and non-pharmacological management [J]. BMJ, 2016, 16 (355): i5819. DOI: 10.1136/bmj.i5819.

- [3] Vitiello M V. Sleep disorders and aging: understanding the causes [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 1997, 52: M189-191.
- [4] Newman A B, Enright P L, Manolio T A, et al. Sleep disturbance, psychosocial correlates, and cardiovascular disease in 5201 older adults: the cardiovascular health study [J]. *J Am Geriatr Soc*, 1997, 45(1): 1-7.
- [5] Owens J. Classification and epidemiology of childhood sleep disorders [J]. *Sleep Med Clin*, 2007, 2(3): 353-361.
- [6] Honaker S M, Mehzerl J J. Sleep in pediatric primary care: A review of the literature [J]. *Sleep Med Rev*, 2015, 25: 31-39.
- [7] Owens J A. Insufficient sleep in adolescents and young adults: an update on causes and consequences [J]. *Pediatrics*, 2014, 134(3): e921-932.
- [8] Suka M, Yoshida K, Sugimori H. Persistent insomnia is a predictor of hypertension in Japanese male workers [J]. *J Occup Health*, 2003, 45(6): 344-350.
- [9] Harvey A G. Insomnia, psychiatric disorders, and the transdiagnostic perspective [J]. *Curr Dir Psychol Sci* 2008, 17(5): 299-303.
- [10] Novati A, Roman V, Cetin T, et al. Chronically restricted sleep leads to depression-like changes in neurotransmitter receptor sensitivity and neuroendocrine stress reactivity in rats [J]. *Sleep*, 2008, 31(11): 1579-1585.
- [11] Vgontzas A N, Liao D, Bixler E O, et al. Insomnia with objective short sleep duration is associated with a high risk for hypertension [J]. *Sleep*, 2009, 32(4): 491-497.
- [12] Fernandez-Mendoza J, Vgontzas A N, Liao D, et al. Insomnia with objective short sleep duration and incident hypertension: the Penn State cohort [J]. *Hypertension*, 2012, 60(4): 929-935.
- [13] Rechtschaffen A, Gilliland M A, Bergmann B M, et al. Physiological correlates of prolonged sleep deprivation in rats [J]. *Science*, 1983, 221(4606): 182-184.
- [14] Everson C A, Bergmann B M, Rechtschaffen A. Sleep deprivation in the rat: III. Total sleep deprivation [J]. *Sleep*, 1989, 12(1): 13-21.
- [15] Kushida C A, Everson C A, Suthipinittharm P, et al. Sleep Deprivation in the Rat: VI. Skin Changes [J]. *Sleep*, 1989, 12(1): 42-46.
- [16] Everson C A. Sustained sleep deprivation impairs host defense [J]. *Am J Physiol*, 1993, 265(5 Pt 2): R1148-1154.
- [17] Bergmann B M, Gilliland M A, Feng P F, et al. Are physiological effects of sleep deprivation in the rat mediated by bacterial invasion? [J]. *Sleep*, 1996, 19(7): 554-562.
- [18] Everson C A, Toth L A. Systemic bacterial invasion induced by sleep deprivation [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2000, 278(4): R905-916.
- [19] Forsythe P, Sudo N, Dinan T, et al. Mood and gut feelings [J]. *Brain Behav Immun*, 2010, 24(1): 9-16.
- [20] 李云, 周明眉, 苟小军, 等. 姜黄素对间歇性睡眠剥夺大鼠特定肠道菌的影响 [J]. *中草药*, 2016, 47(5): 794-798.
- [21] 王慧, 张艳鹤, 杨记康, 等. 小檗碱调节睡眠剥夺大鼠的肠道菌群结构以及Th17/Treg细胞平衡 [J]. *基础医学与临床*, 2017, 13(6): 860-864.
- [22] Dhaliwal J, Singh D P, Singh S, et al. *Lactobacillus plantarum* MTCC 9510 supplementation protects from chronic unpredictable and sleep deprivation-induced behaviour, biochemical and selected gut microbial aberrations in mice [J]. *J Appl Microbiol*, 2018, 125(1): 257-269.
- [23] Benedict C, Vogel H, Jonas W, et al. Gut microbiota and glucometabolic alterations in response to recurrent partial sleep deprivation in normal-weight young individuals [J]. *Mol Metab*, 2016, doi: 10.1016/j.molmet.2016.10.003.
- [24] Zhang S L, Bai L, Goel N, et al. Human and rat gut microbiome composition is maintained following sleep restriction [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(8): E1564-E1571.
- [25] Poroyko V A, Carreras A, Khalyfa A, et al. Chronic sleep disruption alters gut microbiota, induces systemic and adipose tissue inflammation and insulin resistance in mice [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 35405.
- [26] 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, 10: 227-234.
- [27] 尹业师, 王欣. 影响实验小鼠肠道菌群的多因素比较研究 [J]. *实验动物科学*, 2012, 29(4): 12-18.
- [28] Bai Z, Zhang H, Li N, et al. Impact of environmental microbes on the composition of the gut microbiota of adult BALB / c mice [J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0160568. doi: 10.1371/journal.pone.0160568.
- [29] Weljie A M, Meerlo P, Goel N, et al. Oxalic acid and diacylglycerol 36:3 are cross-species markers of sleep debt [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(8): 2569-2574.
- [30] Roman V, Walstra I, Luiten P G M, et al. Too little sleep gradually desensitizes the serotonin 1A receptor system [J]. *Sleep*, 2005, 28(12): 1505-1510.
- [31] Grenham S, Clarke G, Cryan JF, et al. Brain-gut-microbe communication in health and disease [J]. *Front Physiol*, 2011, 2: 94.
- [32] Cryan J F, O'Mahony S M. The microbiome-gut-brain axis: from bowel to behavior [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2011, 23(3): 187-192.
- [33] Aziz Q, Thompson D G. Brain-gut axis in health and

- disease [J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(3): 559-578.
- [34] Mayer E A. Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2011, 12(8): 453-466.
- [35] Collins S M, Surette M, Bercik P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10(11): 735-742.
- [36] Rhee S H, Pothoulakis C, Mayer E A. Principles and clinical implications of the brain-gut- enteric microbiota axis [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2009, 6(5): 306-314.
- [37] Dinan T G, Cryan J F. Regulation of the stress response by the gut microbiota: implications for psychoneuroendocrinology [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2012, 37(9): 1369-1378.
- [38] Carabotti M, Scirocco A, Maselli M A, et al. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems [J]. *Ann Gastroenterol*, 2015, 28(2): 203-209.
- [39] Cryan J F, Dinan T G. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behavior [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2012, 13(10): 701-712.
- [40] Heijtz R D, Wang S, Anuar F, et al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(7): 3047-3052.
- [41] Mukherji A, Kobiita A, Ye T, et al. Homeostasis in intestinal epithelium is orchestrated by the circadian clock and microbiota cues transduced by TLRs [J]. *Cell*, 2013, 153(4): 812-827.
- [42] Krueger J M, Obál F J, Fang J, et al. The role of cytokines in physiological sleep regulation [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 933(1): 211-221.
- [43] 郑礼胜, 邵文, 兰新新, 等. 基于肠道菌群新靶点的中药防治糖尿病研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2017, 40(8): 1173-1181.
- [44] 林菁红, 林冠, 卓振权. 七叶神安分散片联合地西洋治疗焦虑性失眠的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2018, 33(9): 2241-2244.