基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003705

体育锻炼通过调节自噬改善睡眠剥夺所致的认知功能障碍

郭 珊，唐 玲
（重庆医科大学附属大学城医院神经内科，重庆 401331）

【摘 要】目的：自噬失调导致的神经元坏死是睡眠障碍引发认知功能降低的关键机制，体育锻炼是改善认知功能的有效方法，但相关机制尚有待研究。本研究旨在探讨体育锻炼对睡眠障碍相关自噬异常的调节作用。**方法：**选用C57BL/6雄性小鼠，采用睡眠剥夺模拟睡眠障碍，小鼠随机分为空白对照（control，CON）组、运动对照（exercise，EX）组、睡眠剥夺（sleep deprivation，SD）组及运动干预（EX+SD）组。采用Morris水迷宫评价小鼠认知功能，HE染色及透射电镜评估海马神经元损伤程度，蛋白免疫印迹法检测自噬蛋白的表达。**结果：**与空白对照组相比，睡眠剥夺显著延长小鼠寻找隐藏平台的时间（*P*=0.000）、减少小鼠在目标象限停留的时间（*P*=0.000）；形态学分析发现，睡眠剥夺小鼠海马CA3区神经元发生变性、出现细胞核固缩（*P*=0.000），而神经元超微结构中自噬体增加（*P*=0.000）；蛋白免疫印迹发现，睡眠剥夺小鼠海马中Beclin-1（*P*=0.000）、微管相关蛋白1轻链3-Ⅱ型（microtubule-associated protein light chain 3 Ⅱ，LC3 Ⅱ）（*P*=0.000）和p62（*P*=0.000）的水平均显著升高。而体育锻炼可抑制睡眠剥夺诱导的Beclin-1（*P*=0.01）、LC3Ⅱ（*P*=0.018）和p62（*P*=0.036）上调，减少神经元中的自噬体数目（*P*=0.001），减轻神经元形态学损伤（*P*=0.002），改善实验小鼠认知行为学异常。**结论：**本研究的结果表明，睡眠剥夺可诱发自噬启动，但自噬通量受阻，这可能是导致神经元损伤和认知障碍的重要病理环节，而运动锻炼可促进自噬流通畅、减轻神经元损伤和认知障碍。

【关键词】睡眠障碍；睡眠剥夺；体育锻炼；认知功能；自噬
【中图分类号】R741 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2024-01-27

Physical exercise ameliorates cognitive impairment caused by sleep deprivation by modulating autophagy

Guo Shan，*Tang Ling*
（*Department of Neurology*，*University-Town Hospital of Chongqing Medical University*）

【Abstract】*Objective*：Neuronal necrosis resulting from autophagy dysregulation is a key mechanism of cognitive decline caused by sleep disorders. Physical exercise is an effective method to improve cognitive function，but the related mechanism remains to be investigated. The objective of this study was to explore the regulatory effect of physical exercise on autophagy abnormalities associated with sleep disorders. ***Methods*：**C57BL/6 male mice were randomly divided into a control group，an exercise（EX）group，a sleep deprivation（SD）group，and an exercise intervention（EX+SD）group. Sleep deprivation was used to simulate sleep disorders. Morris water maze was used to evaluate the cognitive function of mice. Hematoxylin-eosin staining and transmission electron microscopy were used to evaluate the degree of hippocampal neuronal injury. Western blotting was adopted to measure the expression of autophagy-related proteins. ***Results*：**Compared with the control group，sleep deprivation significantly extended the time of searching for the hidden platform（*P*=0.000）and reduced the time of staying in the target quadrant（*P*=0.000）. The morphological analysis revealed that neurons in CA3 region of the hippocampus of sleep-deprived mice showed degeneration and karyopyknosis（*P*=0.000），while autophagosomes increased in the neuron ultrastructure（*P*=0.000）. Western blotting showed that Beclin-1（*P*=0.000），LC3（microtubule-associated protein light chain 3，MAPLC3）Ⅱ（*P*=0.000），and p62（*P*=0.000）levels were significantly increased in the hippocampus of sleep-deprived mice. However，physical exercise inhibited the up-regulation of Beclin-1（*P*=0.01），LC3 Ⅱ（*P*=0.018），and p62（*P*=0.036）induced by sleep deprivation，reduced the number of autophagosomes in neurons（*P*=0.001），alleviated the morphological injury of neurons（*P*=0.002），and improved the cognitive behavioral abnormalities of experimental mice. ***Conclusion*：**The results of this study indicate that sleep deprivation can induce autophagy initiation，but the autophagy flux is blocked，which may be an important pathological link leading to neuronal injury and cognitive impairment. Exercise can promote the patency of autophagy flux and reduce neuronal injury and cognitive impairment.

【Key words】sleep disorder；sleep deprivation；physical exercise；cognitive function；autophagy

作者介绍：郭 珊，Email：495967456@qq.com，
研究方向：睡眠障碍。
通信作者：唐 玲，Email：tangling@hospital.cqmu.edu.cn。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.r.20250109.1006.004
（2025-01-09）

睡眠在中枢神经系统功能恢复、记忆巩固等方面具有不可替代的重要作用[1-2]。睡眠剥夺（sleep deprivation，SD）是指由于各种主观或客观因素造成的个体睡眠减少或睡眠缺失，以至无法满足生理睡眠需求的情况，包括睡眠碎片化、睡眠缺失和睡眠不足[3]，在现代社会极其普遍。大量临床研究表明，睡眠剥夺会增加患心脑血管疾病、糖尿病、焦虑抑郁症、认知功能障碍等疾病的风险[4-5]。同时，进一步在基础研究中发现，睡眠剥夺可在分子和细胞水平上产生影响，导致海马区神经元代谢紊乱、神经元损伤[6]。因此，改善海马体神经元损伤可能是预防及减轻睡眠剥夺诱导认知功能减退的有效措施。

自噬是清除受损细胞器、维持细胞稳态的关键细胞事件[7]。研究证实，功能失调的自噬可破坏神经元内稳态，致神经元变性，并使个体易患神经退行性或神经精神类疾病[8]。同时研究发现，功能异常的自噬与学习和记忆功能下降密切相关，改善异常自噬可能有益于啮齿动物的记忆受损修复[9-11]。因此，改善异常自噬功能可能是减轻神经元损伤，从而预防及治疗睡眠剥夺所致的认知功能下降的有效方法。

而研究发现，体育锻炼能控制人体不良情绪如抑郁、焦虑等，同时体育锻炼可通过增加脑内五羟色胺的水平及机体的免疫力对睡眠水平进行改善[12-13]。此外研究证实，规律的体育锻炼可以诱导机体内海马神经发生，对于大脑神经退化有着逆转作用，增强大脑神经的可塑性，进而改善人体的认知功能[14-15]。但关于体育锻炼对睡眠剥夺所致的认知功能障碍的自噬调节作用仍不清楚。因此，本研究以自噬为切入点，探讨了体育锻炼改善睡眠剥夺诱导的小鼠认知功能障碍的机制。

1 材料与方法

1.1 动物

C57BL/6雄性小鼠44只，6～8周龄，体质量18～20 g，由重庆医科大学动物研究中心提供。将小鼠随机分为4组，每组11只，分别为空白对照（CON）组、运动对照（EX）组、睡眠剥夺（SD）组及运动干预（EX+SD）组。每组11只小鼠均行行为学检测，取材后6只用于蛋白免疫印记分析检测，5只行苏木素-伊红染色法检查及透射电镜检查。所有小鼠均置于受控环境下（23±2）℃，光照/黑暗循环12 h，自由供给食物和水。实验前适应性饲养动物1周。对这些小鼠进行的实验程序得到了重庆医科大学伦理委员会的正式批准（批准号：IACUC-CQMU-2024-0177）。

1.2 运动方案

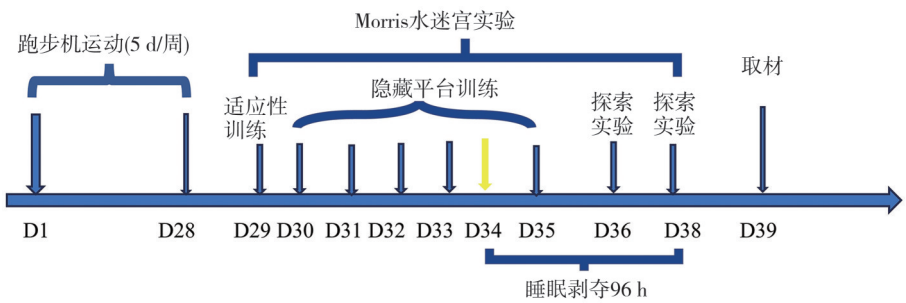
EX组及EX+SD组小鼠予以跑步机运动，参考温和的体育锻炼方案进行跑步机训练，跑步机在上午9点到下午2点30分的光周期中使用，持续4周，每周周一至周五运动5 d，周末休息2 d[16]。首先，在每次跑步运动方案开始前，小鼠先熟悉跑步机5 min，以减轻环境应激。根据运动方案，第1周和第2周，每日运动时间均为30 min，为避免肌肉疲劳分2次（间隔5 min）完成，其中第1周速度为10 m/min，第2周速度为15 m/min。第3周运动时长为45 min，分3次（间隔5 min）完成，速度为15 m/min。第4周运动时长为60 min，分4次（间隔5 min）完成，速度为15 m/min。实验程序见图1。

1.3 Morris水迷宫和快动眼睡眠剥夺处理

待完成4周跑步运动后，4组小鼠均采用Morris水迷宫实验考察学习及记忆行为[17]。学习功能检测需重复隐藏平台实验5轮，每轮将小鼠分别从4个象限面朝池壁放入水中，每次60 s。若小鼠60 s内找到平台，则找到平台时自动停止记录时间，60 s内仍未找到平台的小鼠，用导向杆将大鼠引导至平台，时间记为60 s。记录每只小鼠每次到达平台的潜伏期，每轮取4个象限实验数据平均值，作为学习能力的测量。实验程序见图1。

SD组、EX+SD组小鼠在隐藏平台试验第4轮结束后，按改良多平台法开始剥夺睡眠96 h[18]，其中在睡眠剥夺24 h后当日，4组小鼠均完成第5轮隐藏平台实验，以进一步检测睡眠剥夺对学习能力的影响。

睡眠剥夺实验即将SD组及EX+SD组每组11只小鼠被放置在53 cm×39 cm×20 cm的聚丙烯笼中。每个笼子包含24个平台（直径2.5 cm，高5 cm），平台在水位上约1 cm（水温19 ℃~21 ℃）。睡眠剥夺期间这些动物可以在小平台间自由移动。在整个过程中小鼠可于箱顶盖自由获得水和食物。在此期间，CON组和EX组小鼠则继续睡在鼠笼里。



跑步机运动：4周，5 d/周，每天每运动15 min，休息5 min
第1周：10米/min，30 min/d；第2周：15米/min，30 min/d
第3周：15米/min，45 min/d；第4周：15米/min，60 min/d

注：D1即第1天，依此类推；D34（黄色箭头）当日上午8:00开始行睡眠剥夺实验，当日不行隐藏平台训练

图1 实验程序

在睡眠剥夺第48 h及96 h后，4组小鼠均完成2轮空间探索实验，以评价4组小鼠空间记忆的保留情况。小鼠在没有平台的水迷宫中自由游泳60 s，记录每只小鼠在目标象限的停留时间，作为空间记忆的测量。用计算机跟踪系统监测小鼠的运动轨迹。

1.4 取材

Morris水迷宫试验24 h后，以3.5%水合氯醛（0.1 mL/10 g）麻醉小鼠，冰盘上剥离全脑，电镜标本取1 mm×1 mm×1 mm海马组织固定于2.5%的戊二醛溶液，HE染色标本固定于4%的多聚甲醛溶液，其余样本冻存于−80 ℃冰箱，待后续行蛋白免疫印迹（Western blot，WB）分析使用。

1.5 苏木素-伊红染色法

固定24 h以上的海马组织经石蜡包埋，切成厚度约为4 μm的石蜡切片，经脱蜡、染色、脱水、透明、封片，于显微镜下观察海马组织病理学变化。

1.6 透射电镜

固定的海马组织经0.1 mmol/L磷酸缓冲液（PH7.4）配制的1%锇酸避光室温固定2 h，依次用浓度梯度乙醇脱水处理，渗透，包埋，超薄切片，在透射电镜下观察并拍照，主要观察海马神经元超微结构，自噬体形成，细胞器结构改变等。

1.7 Western blot法

各组海马组织在含有RIPA裂解缓冲液（P0013K，碧云天）、蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物（P1050，碧云天）的裂解缓冲液中按比例进行超声研磨。裂解后，样品在4 ℃下以12 000 g离心15 min，去除上清。然后用BCA蛋白浓度测定试剂盒（P0010S，碧云天）测定上清的蛋白质浓度。用10%或12% SDS-PAGE分离蛋白，转移到PVDF膜（IPVH00010，Millipore）上，然后用兔一抗（LC3 Ⅰ/Ⅱ，1∶500，P62，1∶500，Wanlei Bio，China；Beclin-1，1∶1 000，Cell Signaling Technology，USA）4 ℃孵育过夜。TBST洗涤后，用辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔IgG（1∶8 000；Abclonal，China）在室温下孵育2 h。蛋白条带使用特超敏ECL化学发光底物试剂盒（BL520A；Bioshop）可视化。使用Image J软件定量蛋白质条带强度。用目标蛋白条带的灰度值与内参（GAPDH）条带的灰度值之比表示该蛋白的相对表达水平。

1.8 统计学方法

采用GraphPad Prism 8.0软件和SPSS 26.0软件进行统计学分析，计量资料采用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，Morris数据采用重复测量的方差分析，其余数据用单因素方差分析进行组间比较。检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 体育锻炼改善了睡眠剥夺小鼠的认知功能

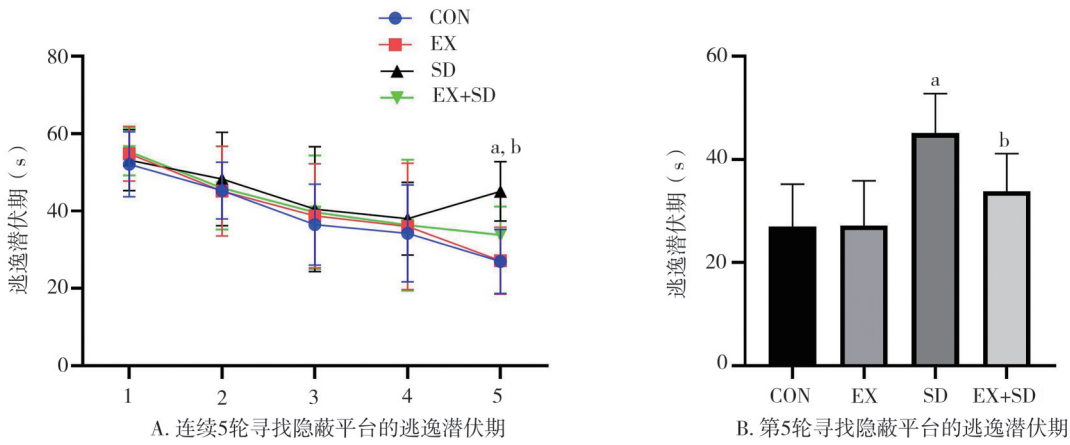
2.1.1 体育锻炼改善了睡眠剥夺小鼠的学习能力 在睡眠剥夺前，通过探索试验和记忆测试对所有小鼠进行空间学习评估训练，使各组小鼠达到相同的表现水平。如图2A所示，随着训练时间的增加，在睡眠剥夺前，隐藏平台测试中所有小鼠的逃逸潜伏期都逐渐降低，组间无差异，提示在睡眠剥夺前4组小鼠学习能力无明显差异。在第5轮隐藏平台测试，即睡眠剥夺的第24 h，与CON组（26.96±8.25）小鼠相比，SD组（445.11±7.67）小鼠寻找隐藏平台的时间（图2B）明显延长（q=7.049，P=0.000），而与SD组小鼠相比，EX+SD组（33.81±7.33）的小鼠寻找隐藏平台的时间缩短（q=3.914，P=0.043）。提示睡眠剥夺显著损害了小鼠的学习功能，而体育锻炼改善了睡眠剥夺小鼠的学习能力。

2.1.2 体育锻炼改善了睡眠剥夺小鼠的记忆能力 为了评估体育锻炼对睡眠剥夺诱导的记忆功能的影响，将睡眠剥夺48 h及睡眠剥夺96 h，本研究在水迷宫中进行了探索实验。如图3A及图3B所示，睡眠剥夺处理48 h和96 h后，SD组（11.33±6.04，7.87±3.46）小鼠在目标象限停留的时间明显少于CON组（20.85±3.71，q=6.080，P=0.000；16.64±4.31，q=6.690，P=0.000），而体育锻炼可减轻睡眠剥夺小鼠空间记忆损伤（18.85±5.27，q=4.284，P=0.023；13.50±3.93，q=3.382，P=0.049）。提示体育锻炼减轻了睡眠剥夺小鼠的空间记忆的损害。

以上结果表明，与CON组小鼠相比，睡眠剥夺可致小鼠学习能力及空间记忆能力下降，而体育锻炼明显改善了睡眠剥夺小鼠这些变化。提示体育锻炼减轻了睡眠剥夺小鼠的认知功能障碍。

2.2 体育锻炼减轻了睡眠剥夺小鼠海马神经元的形态变化

睡眠剥夺改变了小鼠海马CA3区神经元细胞体的形态。如图4A所示，CON组小鼠海马CA3区神经元形态正常，排列紧密，神经元细胞体丰满，细胞核大而圆。而SD组



A. 连续5轮寻找隐蔽平台的逃逸潜伏期　　B. 第5轮寻找隐蔽平台的逃逸潜伏期

注：a，与CON组相比，P=0.000；b，与SD组相比，P=0.043

图2 各组小鼠在Morris水迷宫中寻找隐蔽平台的逃逸潜伏期（n=11，$\bar{x}\pm s$）

小鼠海马CA3区神经元形态学受到损伤，细胞变形，坏死明显，可见细胞核固缩，HE染色较深（黑色箭头所示）。体育锻炼明显改善了睡眠剥夺小鼠CA3区的这些形态学变化，可见EX+SD组小鼠海马神经元细胞仍存在排列较紊乱，但大部分形态正常，胞体呈规则形状，神经元连接趋于紧密。相应的，如图4B所示，与SD组（41.94 ± 6.759）%相比，EX+SD组（19.58 ± 4.062）%小鼠的CA3区域中受损细胞的百分比明显降低（q=8.275，P=0.002）。以上结果表明，体育锻炼可以预防或减轻睡眠剥夺引起的小鼠海马区神经元结构损伤。

2.3 体育锻炼抑制了睡眠剥夺小鼠海马体中的异常自噬

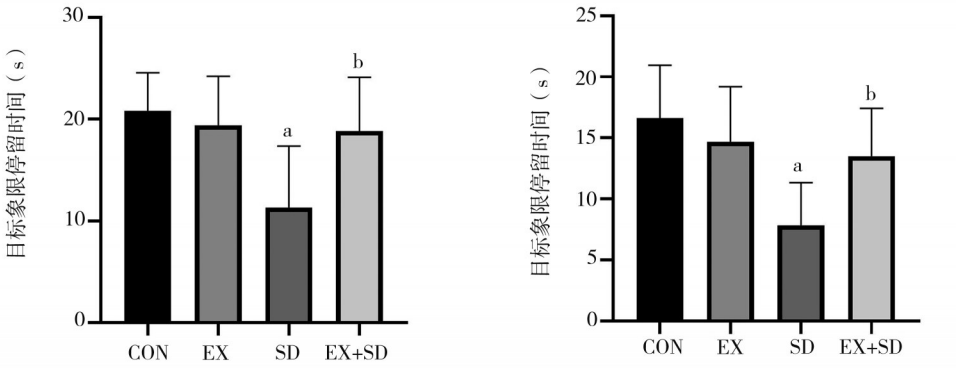
为了探讨体育锻炼是否对睡眠剥夺小鼠海马体神经元的超微结构有一定影响，通过透射电镜检查了超薄脑切片。如图5A所示，CON组神经细胞结构完整，大小适中，形态椭圆或梭形，线粒体未见明显病理改变，线粒体嵴排列较整齐。与CON组比较，SD组神经细胞形态异常，细胞膜结构紊乱，细胞质可见较多自噬体（黑色箭头所示），细胞器结构不完整，线粒体存在明显肿胀伴有空泡化，线粒体嵴断裂且数量减少。与SD组比较，EX+SD组神经细胞膜及核膜较完整，核仁清晰，细胞质自噬体较SD组减少，细胞器结构损伤较SD组减轻，线粒体损伤减轻，仅见部分嵴断裂，肿胀程度亦相对较轻。如图5B，与CON组（0.333 ± 0.577）相比，SD组（5.667 ± 0.577）小鼠海马神经元自噬体明显增加（q=16.00，P=0.000），而与SD组相比，EX+SD组（2.333 ± 0.577）小鼠海马体神经元自噬体明显减少（q=10.00，P=0.001）。结果表明，睡眠剥夺诱导小鼠海马表现出异常自噬，而体育锻炼可通过促使自噬体清除增加以减少自噬体形成。

2.4 体育锻炼对睡眠剥夺小鼠Beclin-1的影响

由于体育锻炼对睡眠剥夺小鼠海马体神经元显示出神经保护作用，接下来研究了对海马神经元自噬相关蛋白的影响。如图6所示，与CON组（1.000 ± 0.516）相比，SD组（2.373 ± 0.185）Beclin-1在海马中的表达明显增加（q=16.36，P=0.000）。而体育锻炼可以降低睡眠剥夺小鼠Beclin-1（1.912 ± 0.208，q=5.494，P=0.010）的表达。结果表明，睡眠剥夺诱导小鼠海马自噬启动增加，而体育锻炼可以减轻这种现象。

2.5 体育锻炼对睡眠剥夺小鼠LC3Ⅱ/Ⅰ、p62的影响

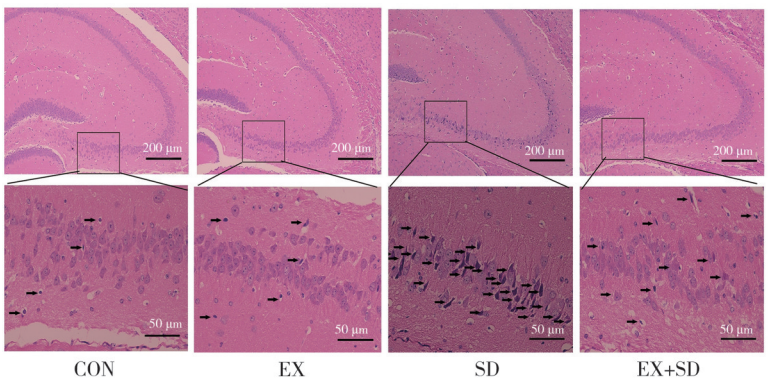
同时，在睡眠剥夺小鼠的海马体还可看到参与自噬的其他相关蛋白发生了变化。如图7所示，与CON组（1.000 ± 0.156，1.000 ± 0.232）相比，SD组（1.938 ± 0.257，1.938 ± 0.265）LC3Ⅱ/Ⅰ和p62，在海马中的表达明显增加（q=8.666，P=0.000；q=7.958，P=0.000）。而体育锻炼可以降低是睡眠剥夺小鼠LC3Ⅱ/Ⅰ（1.395 ± 0.261，q=5.014，P=0.018）和p62（1.412 ± 0.240，q=4.466，P=0.036）的表达。这些结果表明，睡眠剥夺会引起小鼠海马自噬体与溶酶体融合受阻，体育锻炼可以减轻这种状况。



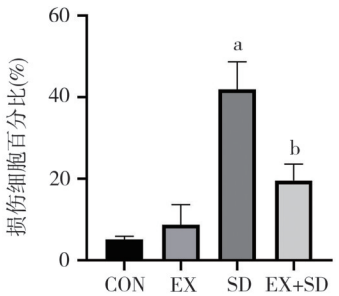
A. 睡眠剥夺48 h后在目标象限停留的时间　　B. 睡眠剥夺96 h后在目标象限停留的时间

注：a，与CON组相比，P=0.000、0.000；b，与SD组相比，P=0.023、0.049

图3　各组小鼠在Morris水迷宫实验中目标象限停留时间（n=11，$\bar{x} \pm s$）



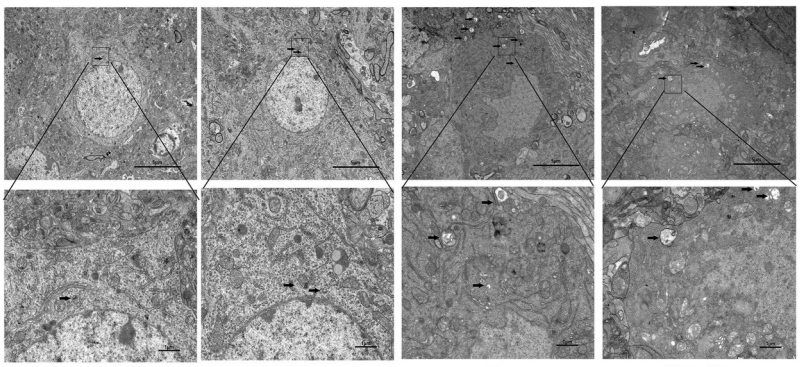
A. 海马体CA3区神经元HE染色（100 ×，200 μm；400 ×，50 μm）



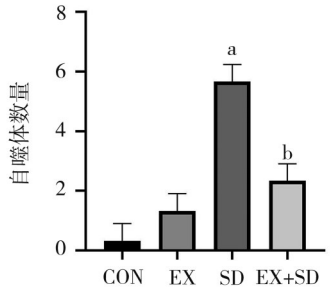
注：a，与CON组相比，P=0.000；b，与SD组相比，P=0.002

B. 海马体CA3区中放大区域受损细胞占比

图4　各组小鼠海马体CA3区神经元的HE染色（n=3，$\bar{x} \pm s$）



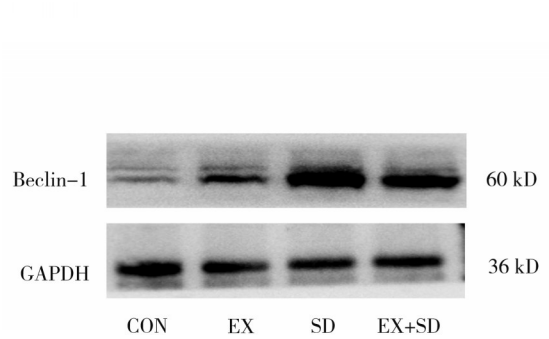
A. 透射电镜下海马体神经元形态和自噬体（2 500×，5 μm；7 000×，1 μm）

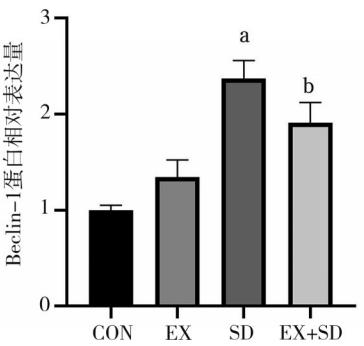


注：a，与CON组相比，P=0.000；b，与SD组相比，P=0.001

B. 海马体中自噬体数量

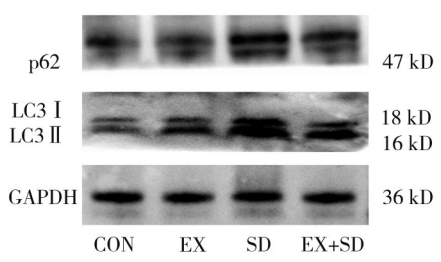
图5　透射电镜检测各组小鼠海马体神经元自噬体的形成（n=3，$\bar{x}\pm s$）

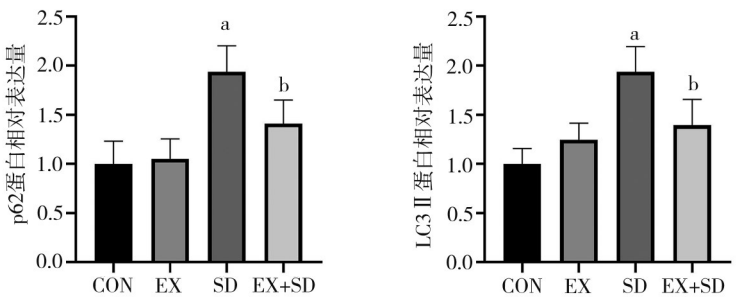




注：a，与CON组相比，P=0.000；b，与SD组相比，P=0.010

图6　Western blot检测各组小鼠海马体中Beclin-1的表达（n=4，$\bar{x}\pm s$）





注：a，与CON组相比，P=0.000、0.000；b，与SD组相比，P=0.036、0.018

图7　Western blot检测各组小鼠海马体中LC3Ⅱ及p62的表达（n=4，$\bar{x}\pm s$）

3　讨　论

众所周知，良好的睡眠有助于包括学习和记忆在内的认知功能的长期巩固[19]，而睡眠障碍或睡眠剥夺则可引起显著的学习记忆能力降低。与相关报道一致，本研究也发现，睡眠剥夺可引起小鼠的学习能力和空间记忆能力明显降低，并伴随有海马CA3区神经元的形态学损伤[17]。在现代社会，睡眠障碍的发生率逐年增长，《2022中国国民健康睡眠白皮书》数据显示，当下我国有超过3亿人存在睡眠障碍（每天睡眠少于6 h），且睡眠障碍被认为是神经退行性疾病等多种神经精神疾病的主要危险因素之一[20-21]。因而，探寻睡眠障碍诱导神经元损伤和认知功能降低的干预措施具有极其普遍而重要的社会健康意义。

目前的研究表明，海马区神经递质紊乱、线粒体损伤、氧化应激等是睡眠障碍诱导神经元损伤的重要机制[22-23]，这与睡眠障碍致认知功能降低密切相关。与这些损伤途径不同的是，自噬可将功能失调的蛋白质和受损细胞器包裹到自噬体中，并转移到溶酶体中进行降解，以维持细胞稳态[7]。有研究

证实，自噬功能障碍可影响雄性大鼠的长期空间记忆形成[9]、导致啮齿类动物的记忆减退[17]。而本研究也发现，睡眠剥夺可引起小鼠海马神经元内自噬体数目的增加，这进一步说明，睡眠剥夺引起的神经元损伤和认知功能降低可能也与自噬功能的改变有关。

Beclin-1 属于自噬相关蛋白家族，与Ⅲ类磷脂酰肌醇 3 激酶（Class Ⅲ PI3K）相结合构成自噬双层膜，并作为信号分子促进其他自噬相关蛋白的聚集，是介导其他自噬蛋白向自噬前体定位的关键蛋白，是常用的自噬体形成启动的标志物[24-25]。在本研究中，Beclin-1 水平增加表明 SD 诱导小鼠海马神经元自噬活性增加。LC3 是自噬体延伸和形成的标志物[26]。在自噬分子信号通路中，Atg 基因通过 Atg12-Atg5 和 LC3-Ⅱ（Atg8-Ⅱ）复合物控制自噬体的形成。LC3/Atg8 的 C 端被 Atg4 蛋白酶酶切后生成细胞质 LC3-Ⅰ。LC3-Ⅰ与磷脂酰乙醇胺（PE）也以泛素样反应的方式连接，这个反应需要 Atg7 和 Atg3（分别为 E1 和 E2 样酶）。LC3 的脂质形式，即 LC3-Ⅱ，吸附在自噬体膜上。从而将 LC3 与自噬小体联系起来[27-28]。本研究中，LC3 Ⅱ水平增高进一步说明睡眠剥夺诱导自噬活性增加。p62 是反映自噬通量的重要指标，它通过直接结合自噬体膜上的 LC3 选择性地进入自噬体中，作为自噬底物被降解[29]。联合检测 LC3 Ⅱ和 p62 的水平，有助于判定自噬流是否通畅。本研究中，LC3 Ⅱ和 p62 同步增高，说明睡眠剥夺诱导了海马神经元自噬启动但自噬通量下游受阻。这提示睡眠剥夺致认知功能减退和神经元损伤与自噬信号通路有关。

研究表明，自噬通量受阻与细胞的程序性细胞死亡有密切关联[30]。在糖尿病大鼠海马，自噬通量受阻致使海马自噬体数目增加[31]，自噬缺陷导致受损的蛋白聚集体积累，而毒性蛋白聚集体在细胞器膜上的增加可进一步导致细胞器损伤并最终导致神经元死亡[32]，这伴随糖尿病大鼠海马神经元细胞超微结构明显受损[33]，而海马体是大脑中最重要的学习和记忆功能区域，因此有研究认为海马自噬通量受损导致了糖尿病大鼠认知障碍[34]；而自噬通量恢复使得自噬体数目增加减少，海马区神经元坏死减少，逆转认知功能障碍[33]。因而，在本实验中，睡眠剥夺引起的自噬通量受阻可能导致变性蛋白质和受损细胞器在神经元内堆积，这可能是其导致神经元受损，从而致认知功能降低的重要病理环节。

近年来，体育锻炼作为疾病预防和治疗的非药物替代方案被大众广泛接受。相关研究发现，运动锻炼不仅可有效缓解肝脂肪变性等代谢相关性疾病[35]，也有助于改善失眠[36]，使得睡眠效率提高、睡眠开始后清醒时间减少和醒来次数减少等，同时运动还可以减轻睡眠不足引起的认知功能下降[37]。动物实验证实，跑步机运动可能通过减少海马神经炎症[38]、调节线粒体氧化磷酸化产能[39]，降低海马线粒体生物发生相关因子的表达改善大鼠的学习和记忆功能[40-42]。同时也有研究发现，定期或强迫运动可通过逆转睡眠剥夺引起的氧化应激和长时程增强缺陷来恢复睡眠剥夺大鼠的空间学习和记忆障碍[43-45]。而本研究则表明，体育锻炼可能通过调节自噬通路，恢复睡眠剥夺诱导的自噬流受阻，这可能有助于海马神经元中变性蛋白质和受损细胞器的清除，减轻神经元受损，从而改善认知功能。

综上所述，本研究结果表明，睡眠剥夺诱导自噬异常主要表现为自噬通量受阻，这可能导致变性蛋白质和受损细胞器在神经元内的聚集，进一步引起神经元损伤和神经认知功能障碍；而运动锻炼则可恢复受阻的自噬流，减轻神经元损伤和认知功能障碍。虽然运动激活自噬通量的分子信号机制有待进一步的深入研究，但是本研究结果为解释运动锻炼健康保健作用的机制提供了新的研究资料。

参 考 文 献

[1] de Zambotti M, Trinder J, Silvani A, et al. Dynamic coupling between the central and autonomic nervous systems during sleep: a review [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2018, 90: 84-103.

[2] Aleisa AM, Helal G, Alhaider IA, et al. Acute nicotine treatment prevents REM sleep deprivation-induced learning and memory impairment in rat[J]. Hippocampus, 2011, 21(8): 899-909.

[3] Touitou Y, Reinberg A, Touitou D. Association between light at night, melatonin secretion, sleep deprivation, and the internal clock: health impacts and mechanisms of circadian disruption[J]. Life Sci, 2017, 173: 94-106.

[4] Jike M, Itani O, Watanabe N, et al. Long sleep duration and health outcomes: a systematic review, meta-analysis and meta-regression[J]. Sleep Med Rev, 2018, 39: 25-36.

[5] Tobaldini E, Pecis M, Montano N. Effects of acute and chronic sleep deprivation on cardiovascular regulation[J]. Arch Ital Biol, 2014, 152(2/3): 103-110.

[6] Lu YZ, Xiao Y, Tu YB, et al. Propofol-induced sleep ameliorates cognition impairment in sleep-deprived rats[J]. Sleep Breath, 2023, 27(1): 181-190.

[7] Muller S, Brun S, René F, et al. Autophagy in neuroinflammatory diseases[J]. Autoimmun Rev, 2017, 16(8): 856-874.

[8] Polajnar M, Zerovnik E. Impaired autophagy: a link between neurodegenerative and neuropsychiatric diseases[J]. J Cell Mol Med, 2014, 18(9): 1705-1711.

[9] Hylin MJ, Zhao J, Tangavelou K, et al. A role for autophagy in long-term spatial memory formation in male rodents[J]. J Neurosci Res, 2018, 96(3): 416-426.

[10] Wang DM, Ji XM, Liu JJ, et al. Dopamine receptor subtypes differentially regulate autophagy[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(5): 1540.

[11] Wang LJ, Du JL, Zhao FY, et al. Trillium tschonoskii maxim sapo-

nin mitigates D-galactose-induced brain aging of rats through rescuing dysfunctional autophagy mediated by Rheb-mTOR signal pathway[J]. Biomedecine Pharmacother, 2018, 98: 516-522.
[12] Neumeister A, Young T, Stastny J. Implications of genetic research on the role of the serotonin in depression: emphasis on the serotonin type 1A receptor and the serotonin transporter[J]. Psychopharmacology, 2004, 174(4): 512-524.
[13] Krueger JM, Fang JD, Hansen MK, et al. Humoral regulation of sleep[J]. News Physiol Sci, 1998, 13: 189-194.
[14] Chou W, Liu YF, Lin CH, et al. Exercise rehabilitation attenuates cognitive deficits in rats with traumatic brain injury by stimulating the cerebral HSP20/BDNF/TrkB signalling axis[J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(11): 8602-8611.
[15] Chen ZZ, Hu Q, Xie QF, et al. Effects of treadmill exercise on motor and cognitive function recovery of MCAO mice through the caveolin-1/VEGF signaling pathway in ischemic penumbra[J]. Neurochem Res, 2019, 44(4): 930-946.
[16] Sahin L, Cevik OS, Cevik K, et al. Mild regular treadmill exercise ameliorated the detrimental effects of acute sleep deprivation on spatial memory[J]. Brain Res, 2021, 1759: 147367.
[17] Cao Y, Li QL, Liu LL, et al. Modafinil protects hippocampal neurons by suppressing excessive autophagy and apoptosis in mice with sleep deprivation[J]. Br J Pharmacol, 2019, 176(9): 1282-1297.
[18] Machado RB, Hipólide DC, Benedito-Silva AA, et al. Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: quantification of sleep loss and recovery[J]. Brain Res, 2004, 1004(1/2): 45-51.
[19] 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.
Ma Z, Wang P, You QY. Discussion on the relevance of sleep, sleep deprivation and learning and memory[J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2014, 29(4): 995-997.
[20] Benca RM. Sleep in psychiatric disorders[J]. Neurol Clin, 1996, 14(4): 739-764.
[21] Wulff K, Gatti S, Wettstein JG, et al. Sleep and circadian rhythm disruption in psychiatric and neurodegenerative disease[J]. Nat Rev Neurosci, 2010, 11(8): 589-599.
[22] Siddique SA, Tamilselvan T, Vishnupriya M, et al. Evaluation of neurotransmitter alterations in four distinct brain regions after rapid eye movement sleep deprivation (REMSD) induced Mania-like behaviour in Swiss albino mice[J]. Neurochem Res, 2018, 43(6): 1171-1181.
[23] Salehpour F, Farajdokht F, Erfani M, et al. Transcranial near-infrared photobiomodulation attenuates memory impairment and hippocampal oxidative stress in sleep-deprived mice[J]. Brain Res, 2018, 1682: 36-43.
[24] Wirawan E, Lippens S, Vanden Berghe T, et al. Beclin1: a role in membrane dynamics and beyond[J]. Autophagy, 2012, 8(1): 6-17.
[25] Pattingre S, Espert L, Biard-Piechaczyk M, et al. Regulation of macroautophagy by mTOR and Beclin 1 complexes[J]. Biochimie, 2008, 90(2): 313-323.
[26] Mizushima N, Yoshimori T, Levine B. Methods in mammalian autophagy research[J]. Cell, 2010, 140(3): 313-326.
[27] He RN, Peng JY, Yuan PF, et al. Divergent roles of BECN1 in LC3 lipidation and autophagosomal function[J]. Autophagy, 2015, 11(5): 740-747.
[28] Yang ZF, Klionsky DJ. Mammalian autophagy: core molecular machinery and signaling regulation[J]. Curr Opin Cell Biol, 2010, 22(2): 124-131.
[29] Pankiv S, Clausen TH, Lamark T, et al. p62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy[J]. J Biol Chem, 2007, 282(33): 24131-24145.
[30] Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009[J]. Cell Death Differ, 2009, 16(1): 3-11.
[31] Kang X, Li C, Xie Y, et al. Hippocampal ornithine decarboxylase/spermidine pathway mediates H_2S-alleviated cognitive impairment in diabetic rats: involving enhancment of hippocampal autophagic flux[J]. J Adv Res, 2020, 27: 31-40.
[32] Cui DR, Sun DW, Wang XT, et al. Impaired autophagosome clearance contributes to neuronal death in a piglet model of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(7): e2919.
[33] Ma LY, Lv YL, Huo K, et al. Autophagy-lysosome dysfunction is involved in Aβ deposition in STZ-induced diabetic rats[J]. Behav Brain Res, 2017, 320: 484-493.
[34] Guan ZF, Zhou XL, Zhang XM, et al. Beclin-1- mediated autophagy may be involved in the elderly cognitive and affective disorders in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. Transl Neurodegener, 2016, 5: 22.
[35] Pi HF, Liu MY, Xi Y, et al. Long-term exercise prevents hepatic steatosis: a novel role of FABP1 in regulation of autophagy-lysosomal machinery[J]. FASEB J, 2019, 33(11): 11870-11883.
[36] Siu PM, Yu AP, Tam BT, et al. Effects of Tai Chi or exercise on sleep in older adults with insomnia: a randomized clinical trial[J]. JAMA Netw Open, 2021, 4(2): e2037199.
[37] Rajizadeh MA, Esmaeilpour K, Masoumi-Ardakani Y, et al. Voluntary exercise impact on cognitive impairments in sleep-deprived intact female rats[J]. Physiol Behav, 2018, 188: 58-66.
[38] Park SS, Kim TW, Sung YH, et al. Treadmill exercise ameliorates short-term memory impairment by suppressing hippocampal neuroinflammation in poloxamer-407-induced hyperlipidemia rats[J]. Int Neurourol J, 2021, 25(Suppl 2): S81-S89.
[39] Breuer ME, Koopman WJ, Koene S, et al. The role of mitochondrial OXPHOS dysfunction in the development of neurologic diseases[J]. Neurobiol Dis, 2013, 51: 27-34.
[40] Navazani P, Vaseghi S, Hashemi M, et al. Effects of treadmill exercise on the expression level of BAX, BAD, BCL-2, BCL-XL, TFAM, and PGC-1α in the hippocampus of thimerosal-treated rats[J]. Neurotox Res, 2021, 39(4): 1274-1284.
[41] Lee JN, Gao FB. Inhibition of autophagy induction delays neuronal cell loss caused by dysfunctional ESCRT-III in frontotemporal dementia[J]. J Neurosci, 2009, 29(26): 8506-8511.
[42] Komatsu M, Waguri S, Chiba T, et al. Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice[J]. Nature, 2006, 441(7095): 880-884.
[43] Kholghi G, Alipour V, Rezaie M, et al. The interaction effect of sleep deprivation and treadmill exercise in various durations on spatial memory with respect to the oxidative status of rats[J]. Neurochem Res, 2023, 48(7): 2077-2092.
[44] Zagaar MA, Dao AT, Alhaider IA, et al. Correction to: prevention by regular exercise of acute sleep deprivation-induced impairment of late phase LTP and related signaling molecules in the dentate gyrus[J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(1): 902.
[45] Chennaoui M, Arnal PJ, Sauvet F, et al. Sleep and exercise: a reciprocal issue?[J]. Sleep Med Rev, 2015, 20: 59-72.

（责任编辑：李青颖）

本文引用格式：
郭 珊，唐 玲. 体育锻炼通过调节自噬改善睡眠剥夺所致的认知功能障碍[J]. 重庆医科大学学报，2025，50(2)：260-266.