·论著·

睡眠剥夺对小鼠肝脏脂肪代谢及肝功能的影响*

朱珊[1,2] 夏勇军[3] 翟茜[1]

(1. 西安交通大学第一附属医院麻醉手术部,陕西 西安 710061;2. 西安交通大学附属红会医院麻醉科,陕西 西安 710018;
3. 武警陕西省总队医院麻醉科,陕西 西安 710000)

【摘要】 目的 探索睡眠剥夺对小鼠肝脏脂肪变性、胆固醇(TC)和甘油三酯含量(TG)以及肝功能的影响。**方法** 将 8 周雄性 C57BL/6 小鼠随机分为对照组(WT 组)与慢性睡眠限制组(CSR 组),每组 9 只,CSR 组采用小鼠睡眠剥夺仪对小鼠进行睡眠剥夺,每日睡眠剥夺 20 h,连续 7 d;对照组小鼠同样条件下自由睡眠 7 d。7 d 后采用 HE 染色、油红染色、BIODIPY 染色观察小鼠肝脏脂肪变性情况,采用 ELISA 试剂盒测定肝脏组织总胆固醇 TC 及 TG 含量变化,并通过检测两组小鼠血清中天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性评估肝功能改变。**结果** 与 WT 组比较,CSR 组小鼠出现肝脏脂肪变性,同时肝脏组织中 TC、TG 含量明显增加($P < 0.01$),血清 ALT、AST 浓度均升高($P < 0.01$)。**结论** 慢性睡眠限制会引起小鼠肝脏组织 TC、TG 沉积,进而导致肝脏脂肪变性及肝功能损伤。

【关键词】 睡眠剥夺;肝脏;脂肪变性;肝功能;胆固醇;甘油三酯

【中图分类号】 R33 **【文献标志码】** A **DOI**:10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2026. 01. 005

Effects of sleep deprivation on hepaticlipid metabolism and function in mice

ZHU Shan[1,2], XIA Yongjun[3], ZHAI Qian[1]

(1. *Department of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an* 710061, *China*;
2. *Department of Anesthesiology, Honghui Hospital, Xi'an Jiaotong University, Xi'an* 710018, *China*;
3. *Department of Anesthesiology, Shaanxi Provincial Corps Hospital of the Armed Police Force, Xi'an* 710000, *China*)

【Abstract】 Objective To explore the effects of sleep deprivation on fatty degeneration, cholesterol and triglyceride contents and hepatic function in mice. **Methods** Mice were randomly divided into WT group and chronic sleep restriction group (CSR group). In the CSR group, mice were deprived of sleep for 20 hours a day for 7 days. Mice in the control group were free to sleep for 7 days under the same conditions. Seven days later, HE staining, oil red staining and BIODIPY staining were used to observe the fatty degeneration of mice's liver, and the changes of total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) in liver tissue were observed by using ELISA kits. The changes of liver function were evaluated by detecting the activity of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in serum of two groups of mice. **Results** Compared with WT group, the mice in CSR group showed fatty degeneration of liver, and the contents of TC and TG in liver tissue increased significantly ($P<0.01$), and the concentrations of ALT and AST in serum increased ($P<0.01$). **Conclusion** Chronic sleep restriction can cause the deposition of TC and TG in liver tissue of mice, which lead to hepatic steatosis and liver function damage.

【Key words】 Sleep deprivation; Hepatic; Fatty degeneration; Hepatic function; Cholesterol; Triglyceride

睡眠不足也称为睡眠剥夺(Sleep deprivation, SD),是指个体由于自身原因或外界因素导致的睡眠时间不足或睡眠节律紊乱[1]。短期或长期的睡眠不足会对机体造成不同程度的危害,导致机体代谢、免疫和内分泌等功能失调,造成肥胖、糖尿病、心血管疾病的发生,增加死亡风险[2-3]。睡眠不足会导致机体代谢紊乱,而肝脏作为主要的代谢器官可参与糖、脂、蛋白质等物质的代谢过程,因此睡眠不足对肝脏功能可能存在不可忽视的影响[4]。但目前关于睡眠不足的研究主要集中于认知障碍,对肝脏脂质代谢变化的研究较少,因此本实验对慢性睡眠限制(Chronic sleep restriction, CSR)小鼠肝脏出现的形态及功能损害进

基金项目:中国博士后科学基金第 74 批面上资助项目(2023M 742796)

通信作者:翟茜,副研究员,E-mail:zhaiqian312@163. com

引用本文:朱珊,夏勇军,翟茜. 睡眠剥夺对小鼠肝脏脂肪代谢及肝功能的影响[J]. 西部医学,2026,38(1):27-31. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2026. 01. 005

行探索，为今后 SD 相关肝功能损伤的机制研究及防治措施提供参考依据。

1　材料与方法

1.1　实验动物与分组　选用 8 w 雄性 C57BL/6 小鼠，体重 20～23 g，饲养于西安交通大学第一附属医院脑科学研究中心。本研究所涉及的所有动物实验均获得了西安交通大学动物实验伦理委员会的批准[(2024-028)实动快审第(04)号]。使用简单随机分组的方法将 18 只小鼠分为对照组(WT 组)和慢性睡眠限制组(CSR 组)，每组 9 只。

1.2　动物模型构建　采用睡眠剥夺仪(上海欣软信息科技有限公司，中国)对小鼠进行慢性睡眠限制。该睡眠剥夺仪为旋转筒模式，通过转棒旋转驱赶实验小鼠以剥夺其睡眠，设置实验参数，转速 7 rpm，顺时针逆时针交替进行，每 3 圈交替一次，每 6 圈间歇 18 s，剥夺强度为均衡。每日自 20:00 开始剥夺，剥夺至次日 16:00，每天剥夺 20 h，休息 4 h，普通饲料喂养，连续剥夺 7 d。箱顶安装有节律灯，照明时间为 8:00～20:00。对照组小鼠置于相同的装置中，自由睡眠，其他配置及操作均相同。两组动物均自由进食进水。7 d 后，使用 3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉小鼠，取血液及肝脏组织用于后续实验。

1.3　测定指标　TC 及 TG 含量测定：①使用高脂样本 TC 酶法测定试剂盒(普利莱，E1026)检测小鼠肝脏组织中 TC 含量。每 1 mg 肝脏组织中加 10 μL 裂解液对肝脏组织进行裂解，并用电动高速匀浆器破碎组织。按说明书要求进行工作溶液配制，然后将胆固醇标准品用无水乙醇稀释为2 500、1 250、625、312.5 四个浓度梯度，并设置空白孔。各工作液中，分别加入蒸馏水、标准品、待测样品室温孵育 20 min，测定各管 OD 值，绘制标准曲线、计算浓度，并以蛋白浓度进行校正。②使用高脂样本 TG 酶法测定试剂盒(普利莱，E1025)检测小鼠肝脏组织中 TG 含量。步骤及方法均同 TC 含量检测。ALT 及 AST 活力检测：①使用 ALT/GPT 活性检测试剂盒(普利莱，E2022)对小鼠血液中 ALT 含量进行检测。底物缓冲液和 PB 缓冲液将丙酮酸标准品稀释成 0、1.1、2.2、3.3、4.4、5.5 七个浓度，配制丙酮酸标准品工作液，按并在 520 nm 处读吸光度 OD 值，绘制标准曲线。使用酶标仪测定反应体系：按照说明书要求，加入合适剂量样本、标准品工作液、蒸馏水、PB 缓冲液、底物缓冲液、丙酮酸标准品、显色剂、2,4-二硝基苯肼溶液、终止试剂，混匀孵育后测定各标准品和样本管吸光度值，绘制标准曲线，根据标准曲线计算样本对应的丙酮酸质量，然后根据 ALT 酶活力单位计算公式：样本 ALT 酶活力=(样本管丙酮酸微克数－样本对照管丙酮酸微克数)×250/2.5，计算 ALT 酶活性，并以蛋白浓度进行校正。②使用 AST/GOT 活性检测试剂盒(普利莱，E2024)对小鼠血液中 AST 含量进行检测。步骤及方法均同 AST 活力检测。

1.4　组织形态学检测　HE 染色：取新鲜肝叶组织，PBS 冲洗后放入 4% PFA 中固定，按照脱水透明-浸蜡包埋-切片贴片-脱蜡-HE 染色-脱水透明-封片的流程操作，随后在明场下观察拍摄。油红染色：取新鲜肝叶组织，PBS 冲洗后放入 4% PFA 中固定，通过 OCT 包埋和冰冻切片步骤制备相应的组织切片，随后固定-油红染色-背景分化-苏木素染色-封片，最后将制备好的切片用全自动切片扫描仪进行扫描拍摄。BODIPY 染色：取新鲜肝叶组织，PBS 冲洗后放入 4% PFA 中固定，而后制备组织切片。制备 BODIPY 工作液及储备液，使用 BODIPY 工作液进行染色，避光处理 30 min，用 PBS 缓冲液洗涤 3 次，然后使用 DAPI 对细胞核进行染色，处理 10 min，用 PBS 缓冲液洗涤 3 次，荧光封片剂进行封片后使用荧光显微镜采集图像。

1.5　统计学分析　采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计分析并绘制统计图，所有统计值均采用($\bar{x} \pm s$)表示。使用独立样本 t 检验比较两组间差异。结果均来自至少 3 次的独立重复实验，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　睡眠剥夺引起小鼠肝脏脂肪变性　HE 染色结果表明，WT 组小鼠肝脏组织呈多面体形，胞核大而居中，胞浆丰富，细胞排列整齐成条索状，沿中央静脉成放射状分布，相邻肝板间吻合连接，其间有少量红细胞填充。CSR 组小鼠肝细胞明显水肿，有少量肝细胞坏死，出现胞浆深染，核固缩，裂解或溶解，中央静脉周围伴随炎细胞浸润，肝血窦腔明显扩大而不规则，其间有大量红细胞充填。同时 WT 组肝组织中的脂肪空泡较小，而在 CSR 组的肝组织中，观察到明显的脂肪变性，脂滴累积增加，伴随着典型的气球样变($P<0.05$)，见图 1A、B。油红染料能与中性脂肪的脂肪酸发生特异性结合，形成红色颗粒或沉积物，使含有中性脂肪的组织呈现红色。为了比较 CSR 小鼠的肝脏脂质变性和积累情况，研究进行了油红 O 染色。结果显示，CSR 组脂滴大小和面积明显多于 WT 组($P=0.0001$)，见图 1C、D。进一步进行 BODIPY 染色探究肝细胞脂滴的累积情况，结果显示 CSR 会显著增加细胞内的脂滴沉积，见图 1E。以上结果均证明了 CSR 诱导肝脏脂肪变性的形成。

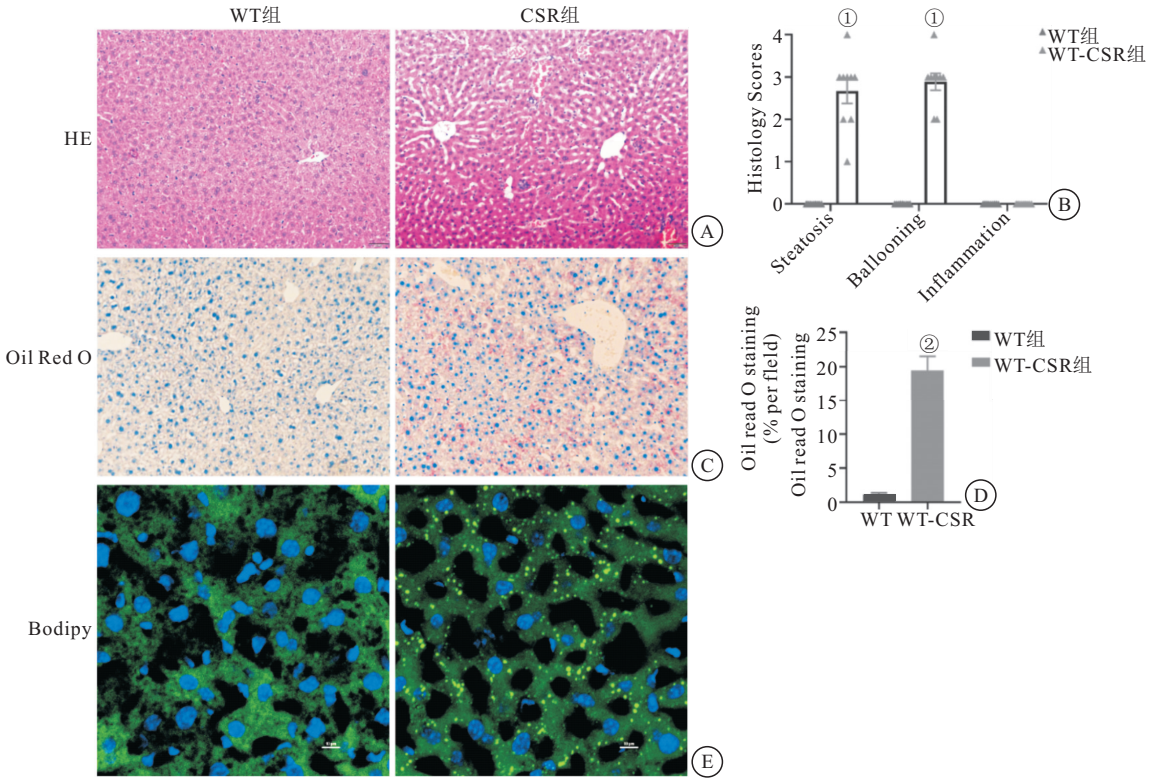

图 1　肝脏脂肪变性程度(HE、油红 O、BODIPY 染色)比较

Figure 1　Comparison of liver steatosis (HE, Oil Red O, BODIPY staining)

注:与 WT 组比较,①$P<0.05$, ②$P<0.001$。

2.2　睡眠剥夺引起小鼠肝功能损伤　同时,我们对小鼠肝脏组织进行了 TC 和 TG 含量的测定,结果显示 CSR 组 TG 水平高于 WT 组($P=0.0035$),见图 2A;TC 的水平也高于 WT 组($P=0.0058$),见图 2B。接下来,对两组小鼠血液中 AST 及 ALT 水平进行检测,与 WT 组比较,CSR 组小鼠在睡眠剥夺后 AST 及 ALT 的活力升高($P<0.0001$ *vs* $P=0.0073$),说明 CSR 引起小鼠肝功能损伤,见图 2C~D。

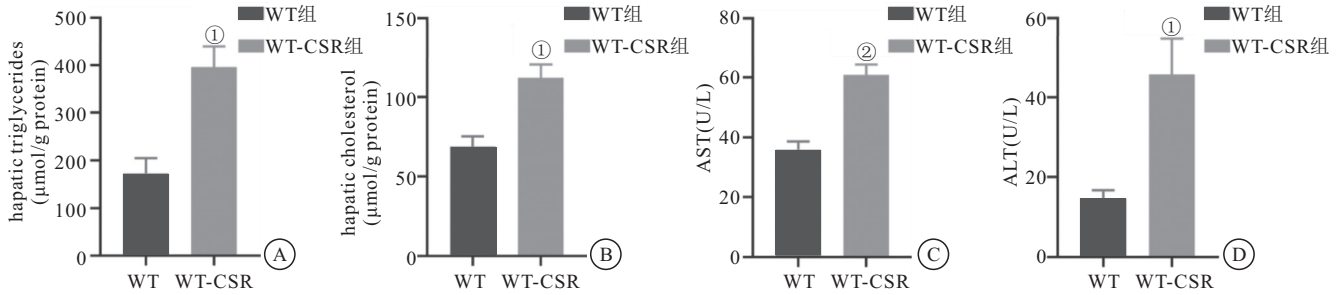

图 2　小鼠肝脏 TC、TG、AST、ALT 水平比较

Figure 2　Comparison of TC, TG, AST and ALT levels in the liver

注:与 WT 组比较,①$P<0.01$, ②$P<0.001$。

3　讨论

睡眠是包括人类在内所有动物均必需的一项生理过程,人类一生中大约有三分之一的时间在睡眠中度过,然而睡眠不足已成为当今社会普遍存在的焦点问题,睡眠障碍尤其是失眠在人群中的发生率高达三分之一。睡眠不足对多系统功能产生不良影响,包括认知功能下降、肥胖和心血管疾病风险增加、免疫功能受损、细胞损伤修复延迟等[5-7]。同时,失眠与代谢关系密切,可以影响包括肝脏脂质代谢在内的多种代谢过程[8]。本研究主要聚焦于睡眠不足对机体肝脏脂肪代谢的影响,通过建立 CSR 小鼠模型,模拟临床患者失眠状态,以肝脏形态学特征以及能够反映肝功能变化的血液学指标作为探究肝脏是否损害及损害程度的指标。

肝细胞占肝内细胞总数的 70%,是所有脂质代谢通路发生的主要场所,包括脂肪生成、甘油三酯合成

和储存、载脂蛋白组装和分泌以及脂肪酸氧化[9]。非酒精性脂肪性肝病(Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是由肝脏脂质代谢失调引起的,主要表现为脂质来源过多与代谢途径减少之间的不平衡[10-11]。有临床研究发现,睡眠不足与非酒精性脂肪肝的发生风险增加显著相关[4,12];动物研究发现 6 h 急性 SD 显著增加小鼠肝脏 TG 含量和糖异生,诱导胰岛素抵抗[8],而长期 SD 可上调猕猴肝脏脂肪生成酶表达从而诱导脂质代谢紊乱和胰岛素抵抗[13]。此外,与 NAFLD 常常并存的肥胖和糖尿病被证实与睡眠剥夺密切相关[5,14],提示睡眠不足可能通过共同代谢通路增加 NAFLD 发生风险,但慢性睡眠限制与肝脏脂肪变性间的关系及其原因,以及对肝功能的影响尚不明确。在本研究中,通过 HE 染色、油红染色、BODIPY 染色我们发现,与对照组相比,CSR 小鼠中出现大量脂肪空泡、脂滴累积明显增加,肝细胞出现不同程度的水肿、坏死、脂肪变性,伴随典型的气球样变,且这种变化具有统计学差异。肝脏中的脂质过载会导致细胞损伤和细胞死亡,释放出 IL-6、IL-1β 和 TNF-α 等炎症介质,引发炎症反应[15-16],故 NAFLD 有进展为非酒精性脂肪肝炎的可能,甚至导致肝硬化或肝癌的发生[17]。本研究观察到 CSR 小鼠出现炎细胞浸润,Kupffer 细胞增生,说明肝脏存在炎症反应,但这种差异没有统计学意义,提示 CSR 诱导的脂肪病变可能处于 NAFLD 的早期阶段,组织病理改变较轻;肝小叶的结构排列紊乱,肝血窦内大量红细胞填充,说明肝血流量减少,有引发一系列肝脏疾病的风险。此外,与形态学结果一致,本研究通过对肝脏中胆固醇及甘油三酯含量测定发现,CSR 可以诱导 TG 及 TC 在肝脏中的过度累积。而过度生物脂质堆积会引发细胞内脂质代谢紊乱,促进脂质在肝脏内的沉积,导致脂肪肝的形成[18]。

ALT 和 AST 是最常用的反应肝细胞损害的指标[19]。ALT 主要存在于肝细胞胞浆中,少量存在于线粒体,当肝细胞膜的通透性发生改变时,ALT 就从细胞内溢出到血液循环中,约 1%的肝细胞坏死就可以使 ALT 活力增高 1 倍,是急性肝细胞损害的敏感标志[20-22]。在肝脏中,AST 主要分布在肝细胞线粒体内,也存在于肝细胞胞浆中,但线粒体中的 AST 含量更高。在肝细胞损伤时,AST 的升高通常晚于 ALT,AST 的升高可提示线粒体损伤,其活性随肝细胞损害的程度而增高,可作为肝脏严重损伤的指标[23]。本研究对检测肝功能的检测表明,与对照组相比,CSR 组小鼠血清 ALT 及 AST 活性均升高,差异具有统计学意义,预示 SD 引起了肝脏功能受损。本研究采用了多角度的检测手段,包括组织形态学(HE 染色、油红 O 染色、BODIPY 染色)和生化指标(TC、TG 含量测定,以及血清 ALT、AST 活性检测),全面评估了睡眠剥夺对肝脏脂肪变性和功能损伤的影响。这些结果表明,睡眠剥夺可能是 NAFLD 的早期诱因之一,为睡眠障碍与代谢性疾病的关系提供了新的实验依据。尽管研究未深入探讨具体分子机制,但通过形态学和功能学数据,提示睡眠剥夺可能通过脂质代谢紊乱和炎症反应导致肝脏损伤。这为未来研究睡眠剥夺如何通过特定信号通路(如 AMPK、内质网应激等)影响肝脏代谢奠定了基础。

肝脏是全身的代谢中心,本研究证实,SD 可引起脂质在肝脏中过度累积,并对肝脏造成损伤,导致肝脏脂肪变性以及血液中关键代谢酶含量上升,但其具体机制目前尚不清楚,有待在未来研究中进一步探索。肝脏的脂质代谢紊乱可以引发一系列并发症的出现,例如肥胖、胰岛素抵抗、2 型糖尿病等[24]。因此,研究 SD 引起肝脏脂质代谢紊乱的具体发病机制,以及进行新型药物的研制或探索其他有效的干预措施对于代谢疾病的防治具有重要意义。

4　结论

慢性睡眠限制会引起小鼠肝脏组织 TC、TG 沉积,进而导致肝脏脂肪变性及肝功能损伤。

【参考文献】

[1] BANDYOPADHYAY A, SIGUA N L. What is sleep deprivation? [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2019, 199(6): P11-P12.

[2] ABRAMS R M. Sleep deprivation[J]. Obstet Gynecol Clin N Am, 2015, 42(3): 493-506.

[3] QUEIROZ S, RUIZ F, PRADO J, *et al*. The consequences of partial sleep restriction for habitual sleep duration, sleepiness and reaction time in healthy males[J]. Sleep Health, 2020, 6(6): 814-821.

[4] PENG K, LIN L, WANG Z Y, *et al*. Short sleep duration and longer daytime napping are associated with non-alcoholic fatty liver disease in Chinese adults[J]. J Diabetes, 2017, 9(9): 827-836.

[5] PARAMESWARAN G, RAY D W. Sleep, circadian rhythms, and type 2 diabetes mellitus[J]. Clin Endocrinol, 2022, 96(1): 12-20.

[6] MA Y J, LIANG L R, ZHENG F F, *et al*. Association between sleep duration and cognitive decline[J]. JAMA Netw Open, 2020, 3(9): e2013573.

[7] MCALPINE C S, KISS M G, RATTIK S, *et al*. Sleep modulates haematopoiesis and protects against atherosclerosis[J]. Nature, 2019, 566(7744): 383-387.

[8] SHIGIYAMA F, KUMASHIRO N, TSUNEOKA Y, *et al*. Mechanisms of sleep deprivation-induced hepatic steatosis and

insulin resistance in mice[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2018, 315(5): E848-E858.

[9] LEBEAUPIN C, VALLÉE D, HAZARI Y, *et al*. Endoplasmic reticulum stress signalling and the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease[J]. J Hepatol, 2018, 69(4): 927-947.

[10] POWELL E E, WONG V W, RINELLA M. Non-alcoholic fatty liver disease[J]. Lancet, 2021, 397(10290): 2212-2224.

[11] GADIPARTHI C, SPATZ M, GREENBERG S, *et al*. NAFLD epidemiology, emerging pharmacotherapy, liver transplantation implications and the trends in the United States[J]. J Clin Transl Hepatol, 2020, 8(2): 215-221.

[12] KIM D, KIM H J, KUSHIDA C A, *et al*. Short sleep duration is associated with abnormal serum aminotransferase activities and nonalcoholic fatty liver disease[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2018, 16(4): 588-590.

[13] ZHAO Y, SHU Y, ZHAO N, *et al*. Insulin resistance induced by long-term sleep deprivation in Rhesus macaques can be attenuated by Bifidobacterium[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2022, 322(2): E165-E172.

[14] CHAPUT J P, MCHILL A W, COX R C, *et al*. The role of insufficient sleep and circadian misalignment in obesity[J]. Nat Rev Endocrinol, 2023, 19(2): 82-97.

[15] HUBY T, GAUTIER E L. Immune cell-mediated features of non-alcoholic steatohepatitis[J]. Nat Rev Immunol, 2022, 22(7): 429-443.

[16] SCHUSTER S, CABRERA D, ARRESE M, *et al*. Triggering and resolution of inflammation in NASH[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2018, 15(6): 349-364.

[17] FERGUSON D, FINCK B N. Emerging therapeutic approaches for the treatment of NAFLD and type 2 diabetes mellitus[J]. Nat Rev Endocrinol, 2021, 17(8): 484-495.

[18] TACKE F, PUENGEL T, LOOMBA R, *et al*. An integrated view of anti-inflammatory and antifibrotic targets for the treatment of NASH[J]. J Hepatol, 2023, 79(2): 552-566.

[19] 张效敏，芦瑞萍，海秀玲，等. 浅析血清谷丙转氨酶水平与肝脏病理改变的关系[J]. 医药前沿，2019，9(11)：32-34.

[20] LALA V, ZUBAIR M, MINTER D A. Liver Function Tests[M]. StatPearls: StatPearls Publishing, 2024.

[21] DUAN M H, CHI X L, XIAO H M, *et al*. High-normal alanine aminotransferase is an indicator for liver histopathology in HBeAg-negative chronic hepatitis B[J]. Hepatol Int, 2021, 15(2): 318-327.

[22] WANG X D, PAN C W, ZHOU G Y, *et al*. Effect of liver steatosis on liver stiffness measurement in chronic hepatitis B patients with normal serum alanine aminotransferase levels: a multicentre cohort study[J]. J Viral Hepat, 2022, 29(3): 196-204.

[23] HASANJANI ROUSHAN M R, HAJIAHMADI M, SHAFAIE S. Histopathological features of liver and its relation to serum transaminase levels in 91 cases of anti-HBe-positive chronic hepatitis B[J]. Int J Clin Pract, 2005, 59(7): 791-794.

[24] SHENG D D, ZHAO S M, GAO L, *et al*. BabaoDan attenuates high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease via activation of AMPK signaling[J]. Cell Biosci, 2019, 9: 77.

（收稿日期：2025-02-09；修回日期：2025-10-30；编辑：张翰林）

《西部医学》2026 年各期重点内容安排

期次	重点内容	期次	重点内容	期次	重点内容	期次	重点内容
1	呼吸 感染	4	影像 介入	7	消化 普外	10	内分泌 血液
2	肾内 泌尿	5	妇产 儿科	8	骨科 创伤	11	风湿免疫 全科
3	心内 心外	6	神内 神外	9	肿瘤 血管外	12	急诊 重症

注：请广大作者按各期重点内容提前 6 个月投送符合本刊要求的学术论文。

（本刊编辑部）