

分类号:
学号: 20222014084

密级: 公开
单位代码: 10759

石河子大学

硕士学位论文



FAM 激活 DRN 5-HT 神经元改善 PCPA 失眠模型大鼠焦虑-失眠共病的机制研究

学位申请人	李群涛
指导教师	李燕 殷姜文
申请学位门类级别	医学硕士
学科、专业名称	临床医学
研究方向	围术期睡眠障碍
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子

2025年5月

分类号:
学号: 20222014084

密级: 公开
单位代码: 10759

石河子大学

硕士学位论文



FAM 激活 DRN 5-HT 神经元改善 PCPA 失眠模型大鼠焦虑-失眠共病的机制研究

学位申请人	李群涛
指导教师	李燕 殷姜文
申请学位门类级别	医学硕士
学科、专业名称	临床医学
研究方向	围术期睡眠障碍
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子
2025年5月

**Study on the Mechanism of FAM Activating DRN 5-HT Neurons to
Improve Anxiety-Insomnia Comorbidity in PCPA Insomnia Model
Rats**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Medicine

By

Li Qun-tao

(Anesthesiology)

Dissertation Supervisor: Li Yan

Yin Jiang-wen

May,2025

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：李群清

时间：2025年5月20日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：李群清

时间：2025年5月20日

导师签名：李燕

时间：2025年5月20日

中文摘要

目的：以往的研究表明，阿魏酸具有镇静和催眠的作用。作为阿魏酸的衍生物，阿魏酸甲酯的活性较阿魏酸更强，毒性更低。本研究旨在通过建立 PCPA 失眠大鼠模型，探究阿魏酸甲酯对 PCPA 失眠模型大鼠焦虑和失眠共病的改善作用及其潜在机制。

方法：本实验分为三部分：（1）观察阿魏酸甲酯对 PCPA 失眠模型大鼠焦虑与失眠的影响。将大鼠随机分为 5 组：空白对照组（Control 组）、PCPA 失眠模型组（PCPA 组）、低剂量阿魏酸甲酯组（PCPA+FAM 10 mg 组）、中剂量阿魏酸甲酯组（PCPA+FAM 20 mg 组）、高剂量阿魏酸甲酯组（PCPA+FAM 40 mg 组）。（2）观察 DRN 5-HT 神经元对 PCPA 失眠模型大鼠的焦虑及睡眠的影响，将大鼠随机分为 4 组：空白对照组（Control 组）、PCPA 失眠模型组（PCPA 组）、化学激活组（hM3Dq+CNO 组）、化学对照组（hM3Dq+Saline 组）。（3）研究验证阿魏酸甲酯是否通过 DRN 5-HT 神经元改善 PCPA 失眠大鼠的焦虑及睡眠。根据第一部分实验结果，选择最佳治疗剂量阿魏酸甲酯，采用化学遗传学及光遗传学技术，对 DRN 5-HT 神经元进行特异性调控。化学遗传学部分，将大鼠随机分为 3 组：化学抑制组（hM4Di+CNO 组）、化学空载对照组（mCherry+CNO 组）、生理盐水组（hM4Di+Saline 组）；光遗传学部分，将大鼠随机分为 2 组：光遗传抑制组（eNpHR3.0+Light on 组）和光遗传对照组（EGFP+Light on 组）；以上为实验分组。通过给予 SD 大鼠腹腔注射 400 mg/kg PCPA，建立失眠模型。使用神经行为学即旷场实验（OFT）和高架十字迷宫实验（EPMT）对大鼠的焦虑水平进行评估，通过免疫荧光染色观察 5-HT 神经元 c-Fos 阳性的蛋白表达变化，第二、三部分实验在 DRN 区脑立体定位注射 AAV 病毒，并进行注射位置及转染验证。通过在体脑电技术对各组大鼠脑电肌电数据进行采集，使用睡眠分析软件对大鼠睡眠-觉醒及皮质脑电变化进行分析。

结果：第一部分结果显示，与 Control 组比较，PCPA 组大鼠的焦虑水平更高（ $P<0.05$ ），总睡眠时间更短（ $P<0.05$ ），DRN 5-HT 神经元 c-Fos 阳性的蛋白表达量更少（ $P<0.05$ ）。与 PCPA 组相比，PCPA+FAM 20 mg 组与 PCPA+FAM 40 mg 组大鼠的焦虑水平更低（ $P<0.05$ ），总睡眠时间更长（ $P<0.05$ ），但昼夜节律无明显差异，DRN 5-HT 神经元 c-Fos 阳性的蛋白表达量更多（ $P<0.05$ ）。第二部分结果显示，hM3Dq+CNO 组与 hM3Dq+Saline 组相比，hM3Dq+CNO 组大鼠焦虑水平更低（ $P<0.05$ ），睡眠时长延长（ $P<0.05$ ）。脑电频谱分析结果显示，hM3Dq+CNO 组与 hM3Dq+Saline 组 δ 波段功率百分比更高（ $P<0.05$ ）， α 波段功率百分比更低（ $P<0.05$ ），其余各波段功率百分比无明显差异。免疫荧光结果显示，与 hM3Dq+Saline 组相比，hM3Dq+CNO 组 DRN 5-HT 神经元 c-Fos 阳性的蛋白表达量更多（ $P<0.05$ ）。第三部分结果显示，对给予 FAM 20 mg 治疗组大鼠进行化学遗传学与光遗传学调控发现，与 mCherry+CNO 组相比，hM4Di+CNO 组的焦虑水平更高（ $P<0.05$ ）。hM4Di+CNO 组 6 小时的总睡眠时间显著更短（ $P<0.05$ ）。eNpHR3.0+Light on 组与 EGFP+Light on 组在焦虑水平上存在统计学显著差异（ $P<0.05$ ），eNpHR3.0+Light on 组大鼠的焦虑水平更高，且

EEG 记录到的睡眠时间更短。脑电频谱分析结果显示，eNpHR3.0+Light on 组 β 波段功率百分比高于 EGFP+Light on 组 ($P<0.05$)，其余各波段功率百分比无明显差异。

结论：阿魏酸甲酯通过激活 PCPA 失眠模型大鼠 DRN 5-HT 神经元，改善大鼠焦虑与失眠共病。

关键词：阿魏酸甲酯；中缝背核；5-羟色胺神经元；失眠；焦虑

Abstract

Objective: Previous studies have indicated that ferulic acid possesses sedative and hypnotic functions. As a derivative of ferulic acid, ferulic acid methylester (FAM) exhibits stronger activity and lower toxicity than ferulic acid. This study is intended to establish a rat model of insomnia induced by PCPA, with the aim of exploring the improvement effect of FAM on the comorbidity of anxiety and insomnia in PCPA-induced insomnia model rats and its underlying mechanisms.

Methods: This experiment was partitioned into three sections: (1) To observe the influences of FAM on anxiety and insomnia in PCPA-induced insomnia rats. The rats were randomly allocated into 5 groups: blank control group (Control), PCPA insomnia model group (PCPA), low-dose ferulic acid methylester group (PCPA + FAM 10 mg), medium-dose ferulic acid methylester group (PCPA + FAM 20 mg), and high-dose ferulic acid methylester group (PCPA + FAM 40 mg). (2) To investigate the impacts of DRN 5-HT on anxiety and sleep in PCPA-induced insomnia rats, the rats were randomly categorized into 4 groups: blank control group (Control group), PCPA insomnia model group (PCPA group), chemical activation group (hM3Dq + CNO group), and chemical control group (hM3Dq + Saline group). (3) To investigate and validate whether methyl ferulate ameliorates the anxiety-like behavior and sleep quality of PCPA-induced insomnia rats via DRN 5-HT neurons, in light of the results of the first part of the experiment, Chemogenetic and optogenetic techniques were employed for the specific regulation of 5-HT neurons in the DRN. In the chemogenetic section, rats were randomly classified into three groups: the chemogenetic inhibition group (hM4Di + CNO group), the chemogenetic empty-load control group (mCherry + CNO group), and the saline group (hM4Di + Saline group). In the optogenetic part, rats were randomly divided into two groups: the optogenetic inhibition group (eNpHR3.0 + Light on group) and the optogenetic control group (EGFP + Light on group). The abovementioned represents the experimental groupings. An insomnia model was established in SD rats through intraperitoneal injection of 400 mg/kg PCPA. The anxiety levels of the rats were assessed by neurobehavioral open field test (OFT) and elevated plus maze test (EPMT). In the first part, the changes in the activity of DRN 5-HT neurons were observed using immunofluorescence staining. In the second and third parts of the experiment, AAV virus was stereotactically injected into the DRN region of the brain, and the injection site and transfection were verified. The electroencephalogram (EEG) and electromyogram (EMG) data of each group of rats were collected using the electroencephalogram technology, and the sleep-wake and cortical EEG changes of the rats were analyzed through sleep analysis software.

Results: The results of the first part indicated that, in comparison with the Control group, the rats in the PCPA group presented a higher anxiety level ($P < 0.05$), shorter total sleep duration ($P < 0.05$), and lower protein expression of c-Fos positive 5-HT neurons in the DRN region ($P < 0.05$). In contrast to the PCPA

group, the anxiety levels of rats in the PCPA + FAM 20 mg group and the PCPA + FAM 40 mg group were lower ($P < 0.05$), the total sleep duration was longer ($P < 0.05$), yet there was no obvious difference in the circadian rhythm, and the protein expression of c-Fos positive 5-HT neurons in the DRN region was greater ($P < 0.05$). The results of the second part demonstrated that, in comparison with the hM3Dq + Saline group, the anxiety level of rats in the hM3Dq + CNO group was lower ($P < 0.05$), and the sleep duration was prolonged ($P < 0.05$). The results of electroencephalogram (EEG) spectral analysis revealed that the percentage of delta band power in the hM3Dq + CNO group was higher ($P < 0.05$), and the percentage of alpha band power was lower ($P < 0.05$), while there were no significant differences in the percentage of power in the other bands. The immunofluorescence results indicated that, compared with the hM3Dq + Saline group, the protein expression of c-Fos positive in 5-HT neurons in the DRN region was higher in the hM3Dq + CNO group ($P < 0.05$). The results of the third part showed that in the group of rats treated with 20 mg FAM, the chemogenetic and optogenetic regulation revealed that compared with the mCherry + CNO group, the anxiety level of the hM4Di + CNO group was higher ($P < 0.05$). The total sleep time of the hM4Di + CNO group at 6 hours was significantly shorter ($P < 0.05$). There was a statistically significant difference in anxiety levels between the eNpHR3.0 + Light on group and the EGFP + Light on group ($P < 0.05$), with the anxiety level of the eNpHR3.0 + Light on group being higher and the sleep time recorded by EEG being shorter. The results of the electroencephalogram spectral analysis showed that the percentage of power in the beta band of the eNpHR3.0 + Light on group was higher than that of the EGFP + Light on group ($P < 0.05$), while there was no significant difference in the percentage of power in the other bands.

Conclusions: Ferulic acid methylester improves comorbidity of anxiety and insomnia in PCPA-induced insomnia model rats by activating 5-HT neurons in the dorsal raphe nucleus.

Key words:

Ferulic Acid Methylester; Dorsal Raphe Nucleus; 5-hydroxytryptamine Neurons; Insomnia; Anxiety

目录

中文摘要	I
Abstract	I
目录	III
中英文缩略词对照表	V
第 1 章 前言	1
第 2 章 材料与amp;方法	3
2.1 材料	3
2.1.1 实验动物	3
2.1.2 所用试剂	3
2.1.3 所用仪器	4
2.1.4 主要溶液配制	6
2.2 方法	6
2.2.1 PCPA 失眠大鼠模型制备	6
2.2.2 实验分组及给药	6
2.2.3 脑立体定位 AAV 注射	8
2.2.4 EEG 电极置入和在体脑电记录	9
2.2.5 行为学实验	10
2.2.6 睡眠潜伏期、睡眠时间变化	11
2.2.7 化学遗传学实验	12
2.2.8 光遗传学实验	12
2.2.9 免疫荧光实验	13
2.3 统计学分析	14
第 3 章 结果	15
3.1 PCPA 失眠大鼠模型验证	15
3.2 各组大鼠的一般状态及体重变化	16
3.2.1 大鼠的一般状态变化	16
3.2.2 大鼠的体重变化	16
3.3 阿魏酸甲酯改善 PCPA 失眠模型大鼠的焦虑样行为及睡眠质量	17
3.3.1 阿魏酸甲酯改善 PCPA 失眠模型大鼠的焦虑样行为	17
3.3.2 阿魏酸甲酯改善 PCPA 失眠模型大鼠的睡眠质量	20

3.3.3 阿魏酸甲酯上调了 PCPA 失眠模型大鼠 DRN 5-HT 神经元中 c-Fos 蛋白的表达	22
3.4 化学遗传学激活 DRN 5-HT 神经元改善了 PCPA 失眠模型大鼠的焦虑样行为及睡眠质量	24
3.4.1 AAV 脑立体注射位置及转染验证	24
3.4.2 化学激活 DRN 5-HT 神经元改善 PCPA 失眠模型大鼠的焦虑水平	25
3.4.3 化学激活 DRN 5-HT 神经元通过缓解 PCPA 失眠模型大鼠焦虑促进睡眠	27
3.4.4 DRN 5-HT 神经元与 c-Fos 蛋白共表达	28
3.5 化学遗传学抑制 DRN 中 5-HT 神经元调控阿魏酸甲酯对 PCPA 失眠模型大鼠焦虑样行为及睡眠影响	29
3.5.1 化学遗传学病毒 AAV 脑立体定位注射位置验证	30
3.5.2 化学遗传学抑制 DRN 5-HT 神经元, 降低了阿魏酸甲酯对 PCPA 失眠模型大鼠焦虑样行为的改善作用	30
3.5.3 化学遗传学抑制 DRN 5-HT 神经元, 降低了阿魏酸甲酯对 PCPA 失眠模型大鼠睡眠的改善作用	33
3.6 光遗传学抑制 DRN 5-HT 神经元调控阿魏酸甲酯对 PCPA 失眠模型大鼠焦虑样行为及睡眠的影响	35
3.6.1 光遗传学病毒 AAV 脑立体定位注射位置验证	35
3.6.2 光遗传学抑制 DRN 5-HT 神经元, 降低了阿魏酸甲酯对 PCPA 失眠模型大鼠焦虑样行为的改善作用	36
3.6.3 光遗传学抑制 DRN 5-HT 神经元, 降低了阿魏酸甲酯对 PCPA 失眠模型大鼠睡眠的改善作用	37
3.6.4 光遗传学抑制 DRN 5-HT 神经元引起皮质脑电变化	38
第 4 章 讨论	39
第 5 章 结论	43
第 6 章 文献综述	44
失眠与焦虑共病机制的研究进展	44
6.1 5-羟色胺系统参与失眠与焦虑调控	45
6.2 食欲素 (Orexin) 参与失眠与焦虑调控	46
6.3 多巴胺 (DA) 系统参与失眠与焦虑调控	47
6.4 HPA 轴参与失眠与焦虑调控	49
6.5 褪黑素参与失眠与焦虑调控	50
参考文献	52

中英文缩略词对照表

英文缩写	英文全称	中文全称
AAV	Adeno-Associated Virus	腺相关病毒
BSA	Bovine serum albumin	牛血清白蛋白
BNST	Bed nucleus of the stria terminalis	终纹床核
BLA	Basal lateral amygdala	基底外侧杏仁核
CNO	Clozapine N-oxide	氯氮平-N-氧化物
DAPI	4',6-Diamidino-2-Phenylindole	4',6-二脒基-2-苯基
DRN	Dorsal raphe nucleus	中缝背核
DMSO	Dimethyl sulfoxide	二甲基亚砜
EEG	Electroencephalography	脑电图
EMG	Electromyogram	肌电图
EPMT	Elevated plus maze test	高架十字迷宫实验
FAM	Ferulic acid methylester	阿魏酸甲酯
IF	Immunofluorescence	免疫荧光
i.g.	Intragastric	灌胃
i.p.	Intraperitoneal	腹腔注射
MT	Melatonine	褪黑素
NREM	Non-Rapid Eye Movement	非快速眼动睡眠
OFT	Open field test	旷场实验
PBS	Phosphate buffer solution	磷酸盐缓冲液
PCPA	p-chlorophenylalanine	对氯苯丙氨酸
PFA	Paraformaldehyde	多聚甲醛
REM	Rapid Eye Movement	快速眼动睡眠
HPA	The hypothalamic-pituitary-adrenal axis	下丘脑-垂体-肾上腺轴
VTA	Ventral tegmental area	中脑腹侧被盖区
5-HT	5-hydroxytryptamine	5-羟色胺

第 1 章 前言

失眠是一种常见的睡眠障碍，以难以入睡、睡眠维持困难、睡眠质量差为特点，并伴有明显的日间症状，如疲劳、注意力下降、认知功能受损、易怒、焦虑和情绪低落，是多种躯体、精神和行为疾病所具有的常见临床表现^[1,2]。相关流行病学调查显示^[3,4]，目前全球约 30%的人口存在睡眠不足或睡眠障碍，严重影响人们的生活质量，失眠患者中超过 40%的人群认为焦虑和烦躁的情绪是使人失眠的主要因素。有研究指出焦虑和失眠之间存在双向关系，两者之间具有高度相关性，患有焦虑或焦虑相关障碍的个体往往睡眠质量较差^[5]，睡眠不足会进一步加剧焦虑^[6]，即造成失眠-焦虑-失眠的恶性循环^[7]。而围术期发生睡眠障碍，尤其是围术期失眠的发生率高达 40%，多由于患者更换睡眠环境、术前对手术、麻醉紧张、焦虑等因素产生，但围术期睡眠障碍并未得到广泛关注，即使给予药物干预，效果也欠佳^[8]。同时围术期睡眠障碍往往与术后谵妄的发生密切相关。临床工作中，关注围术期睡眠障碍是加强围术期管理、ERAS 的重要环节。因此，进一步探究失眠伴焦虑的潜在机制，寻找失眠与焦虑的改善方法是如今治疗睡眠障碍性疾病的关键所在。

既往研究发现，失眠相关发病机制非常复杂，涉及中枢神经递质障碍、炎症因子、下丘脑-垂体-肾上腺轴（The hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA axis）功能异常、睡眠神经环路紊乱等因素^[9,10]，其中 5-羟色胺系统（5-hydroxytryptamine, 5-HT）被认为是参与睡眠觉醒调节的关键神经节点，分布于中缝背核（Dorsal raphe nucleus, DRN）的 5-HT 神经元在调控和维持慢波睡眠质量及对机体的疲劳恢复中具有不可取代的作用，并且其与焦虑、抑郁等情绪障碍的发生密切相关^[11,12]。

DRN 位于中脑导水管下方，由多种神经元亚型组成，其中 5-HT 神经元是其主要成分之一，且 DRN 是中枢神经系统中 5-HT 的主要来源。研究发现了 DRN 5-HT 神经元广泛投射到大脑皮质、杏仁核、基底前脑、丘脑、下丘脑、蓝斑核、脑桥网状结构^[13]，参与调控焦虑、奖赏、睡眠-觉醒及药物成瘾等多种神经活动^[14,15]。有研究发现激活高度焦虑状态下的 DRN 的 5-HT 神经元，可通过作用于终纹床核（The bed nucleus of the stria terminalis, BNST）的 5-HT_{1A}Rs 减少焦虑样行为表现出抗焦虑效应^[16]。中枢 5-HT 系统的功能障碍是睡眠和情绪障碍的共同特征。五羟色胺再摄取抑制剂（Selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs）是一种常用且高效的治疗焦虑和抑郁相关的药物，也可以减少快速眼动睡眠的过度活跃^[17]。5-HT 含有多个不同的受体亚型，每个受体亚型具备各自不同的功能；5-HT 受体至少可分为 7 类，命名为 5-HT₁₋₇。5-HT₁、5-HT₂、

5-HT₃ 和 5-HT₅ 类分别由 5 个（5-HT_{1A}、B、D、E、F）、3 个（5-HT_{2A}、B、C）和 2 个（5-HT_{3A}、B 和 5-HT_{5A}、B）亚型组成，而 5-HT₄、5-HT₆ 和 5-HT₇ 受体目前各有一个亚型^[18]。除 5-HT₃ 受体外，所有其他 5-HT 受体在结构上都与 G 蛋白偶联受体相关^[19]。有研究发现上调 5-HT_{1A} 受体，可以增加中枢递质 5-HT 的活性与亲和力，并增加其释放，从而改善失眠症状和缓解焦虑^[20]；将 5-HT（1B）、5-HT（2A/2C）、5-HT（3）和 5-HT（7）受体激动剂局部显微注射到 DRN 中，抑制大鼠快速眼动睡眠（Rapid eye movement, REM）。相比之下，显微注射 5-HT_{1A} 受体激动剂可促进 REM^[21]。

当下，在临床实践中用于失眠治疗的药物大致能够被归类为非苯二氮卓类、苯二氮卓类、褪黑素受体激动剂以及促食欲素受体拮抗剂，但会发生包括药物依赖、药物耐受、反弹性失眠和健忘症等副作用^[22]，而新型催眠药，如唑吡坦和佐匹克隆，也可能由于改变慢波形态破坏纺锤波—慢波的耦合，从而影响记忆巩固^[23]。因此，有必要通过对与睡眠相关的神经核团进行基础研究从而寻找改善睡眠的相关靶点，为临床寻找改善睡眠的合适药物提供基础依据。

阿魏酸甲酯（Ferulic Acid Methyl ester, FAM），由新疆本土植物中药阿魏中提取和纯化的化合物，化学名为 4-羟基-3-甲氧基肉桂酸甲酯，分子量为 208.21，其也是阿魏酸的衍生物。FAM 具有抗氧化、抗菌、防辐射、抗高血压、抗癌及心肌细胞保护作用等多种生物活性^[24,25]；由于 FAM 毒性低，代谢快，在一些国家已被批准作为食品添加剂^[26,27]。研究发现，阿魏酸具备缩短睡前觉醒时间以及提升睡眠质量的功能。其能够显著降低睡眠期间的觉醒次数，缩减浅睡眠阶段，延长深睡眠阶段，且于次日清晨降低阈值，拥有强大的调整时差的作用^[28]。近期，我国研究者发现阿魏酸和低聚糖阿魏酸酯可通过调节脑肠交互过程缓解焦虑和抑郁样症状^[29]。有研究^[30]指出阿魏酸能协同缩短戊巴比妥大鼠的睡眠潜伏期，延长睡眠时间，增加入睡只数。有研究发现阿魏酸钠改善睡眠作用可能与 5-HT 神经系统相关，但具体的机制仍有待进一步研究^[31]。而阿魏酸甲酯及阿魏酸钠都是阿魏酸的衍生物，将阿魏酸和甲醇通过酯化反应得到阿魏酸甲酯^[32]。阿魏酸甲酯和阿魏酸相比，易溶于热水、甲醇、乙醇和乙酸乙酯，阿魏酸甲酯相比阿魏酸具有更强的活性和较低的毒性^[33,34]。

结合上述研究，本研究提出科学假说：FAM 通过 DRN 5-HT 神经元改善焦虑和失眠共病。以 DRN 5-HT 神经元为切入点，通过结合 PCPA 失眠大鼠模型，运用行为学和体脑电技术、免疫荧光、化学遗传学及光遗传等技术，研究 FAM 对焦虑和失眠“共病”的作用机制。希望能够揭示 FAM 潜在的治疗作用，为焦虑和失眠共病的临床治疗提供新的思路 and 策略，为治疗焦虑和失眠共病药物的开发提供实验依据。

第2章 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 实验动物

本实验使用 SPF 级雄性 SD 大鼠，体重 250 g - 300 g，所有动物均从中国河南省斯克贝斯生物科技股份有限公司进行购买，许可证书编号：SCXK（豫）02020-0005。饲养于石河子大学实验动物中心。实验大鼠能够自由活动，可自由摄取食物和水，且处于 12 小时的明暗周期（8:00 - 20:00 为光照时段）之中，室温介于 23 - 25 °C，湿度在 53% - 55% 范围内。动物实验涉及的相关程序获石河子大学第一附属医院伦理委员会批准（批准编号：A2023-196-01）。本实验严格遵循中国科学技术部在 2006 年发布的《关于善待实验动物的指导性意见》。

2.1.2 所用试剂

表 2-1 实验相关试剂

试剂名称	生产公司
阿魏酸甲酯（CAS 22329-76-6）	源叶生物公司，中国
对氯苯丙氨酸甲酯盐酸盐（CAS 14173-40-1）	MedChemExpress 公司 美国
兔单克隆抗体[EPR19191] to TPH2（AB184505）	Abcam 公司，英国
小鼠单克隆抗体[N486/32] to c-Fos（AB302667）	Abcam 公司，英国
山羊抗兔 IgG（Alexa Fluor® 488）（AB150077）	Abcam 公司，英国
绵羊抗小鼠 IgG（H+L）（TRITC）（AB6805）	Abcam 公司，英国
山羊抗小鼠 IgG（H+L）（TRITC）（SA00007-1）	三鹰公司，中国
Clozapine N-oxide	APExBIO 公司，美国
DAPI	Solarbio 公司，中国
PBS 磷酸盐缓冲液粉剂	赛维尔公司，中国

续表 2-1 实验相关试剂

试剂名称	生产公司
rAAV-TPH2-hM4D (Gi) -mCherry-WPREs	枢密公司, 中国
rAAV-TPH2-hM3d (Gq) -EGFP-WPREs	枢密公司, 中国
rAAV-TPH2-mCherry-WPREs-hGH polys	枢密公司, 中国
rAAV-TPH2-EGFP-WPRE-hGH pA	枢密公司, 中国
rAAV-TPH2-eNpHR3.0-EGFP-WPREs	枢密公司, 中国
TritonX-100	Solarbio 公司, 中国
Tween-20	Sigma 公司, 美国
甘氨酸	Sigma 公司, 美国
颅钉	Pinnacle 公司, 美国
焊锡丝	海川崎公司, 中国
仿生牙托粉	牙易佰公司, 中国
3-0 外科尼龙线	Ethicon 公司, 美国
颅骨手术外科器械包	RWD 公司, 中国
牛血清白蛋白 (BSA)	Solarbio 公司, 中国
异氟醚	RWD 公司, 中国
义齿自凝型基托树脂	牙易佰公司, 中国
抗荧光衰减封片剂	索莱宝公司, 中国
丙泊酚中/长链脂肪乳注射液	费森尤斯卡比公司, 德国

2.1.3 所用仪器

表 2-2 实验相关仪器

实验仪器	生产公司
-80℃超低温冰箱	Thermo Fisher 公司, 美国
-20℃冰箱	美的公司, 中国
4℃冰箱	美的公司, 中国
大鼠脑电电极	Pinnacle 公司, 美国

续表 2-2 实验相关仪器

实验仪器	生产公司
冰冻切片机	Leica 公司, 德国
电子分析天平	赛多利斯公司, 中国
数显脑立体定位仪	众实迪创公司, 中国
大鼠透明行为观察箱	RWD 公司, 中国
小动物麻醉机	RWD 公司, 中国
光纤跳线	RWD 公司, 中国
光纤陶瓷插芯	荧博公司, 中国
波形发生器	RWD 公司, 中国
黄光激发器	RWD 公司, 中国
功率计	Sanwa 公司, 日本
恒温水浴锅	长风公司, 中国
颅骨钻	RWD 公司, 中国
微电极拉制仪	RWD 公司, 中国
微量进样器 (10 μ L)	高鸽公司, 中国
微量颅内注射泵	Harvard Apparatus, 美国
微量注射泵	欧莱博公司, 中国
漩涡混合器	海门其林贝尔公司, 中国
荧光显微镜	Nikon 公司, 日本
移液器	Eppendorf 公司, 德国
Labmaze V3.0 动物行为视频分析系统	众实迪创公司, 中国
在体脑电机电记录仪器	Pinnacle 公司, 美国
在体脑电记录系统	Sirenica Acquisition 公司, 美国