

基于失眠 - 炎症相关基因共表达网络探讨失眠与炎症的相关性及机制

王雨欣*, 盛嘉敏

成都中医药大学针灸推拿学院, 四川 成都

收稿日期: 2024年1月21日; 录用日期: 2024年2月14日; 发布日期: 2024年2月21日

摘要

目的: 运用生物信息学方法, 分析原发性失眠差异基因与炎症相关基因和相关富集通路, 进一步通过共表达网络与抗失眠药物的关系深入探讨其与治疗药物的关系。方法: 使用GEO2R对数据库中筛选出的原发性失眠芯片数据进行差异基因表达分析, 并与炎症相关基因取交集。对差异基因进行本体论富集分析和功能富集分析, 利用String数据库进行蛋白网络互作分析, 并使用Cytoscape软件获取关键基因。最后, 利用CTD数据库将关键基因与失眠药物相关基因进行比对。结果: 与健康对照相比, 原发性失眠患者有2382个差异表达基因, 主要涉及细胞因子介导的信号通路、对细菌来源分子的反应和对脂多糖的反应等生物过程。蛋白互作网络的分析筛选出IL10、CCL5、IL18、IL1B等10个关键基因。通过CTD数据库, 发现有CCL5、CCR7、IL10、IL18、IL1B等6个关键基因与褪黑素相互作用。结论: 原发性失眠患者血清中存在明显的基因表达差异, 褪黑素治疗失眠的机制可能与NLRP3相关。

关键词

原发性失眠, 差异基因, 生物信息学, 褪黑素, 炎症机制

To Explore the Correlation and Mechanism between Insomnia and Inflammation Based on the Co-Expression Network of Insomnia and Inflammation Related Genes

Yuxin Wang*, Jiamin Sheng

College of Acupuncture and Moxibustion, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

*通讯作者。

文章引用: 王雨欣, 盛嘉敏. 基于失眠-炎症相关基因共表达网络探讨失眠与炎症的相关性及机制[J]. 临床医学进展, 2024, 14(2): 3158-3169. DOI: 10.12677/acm.2024.142447

Abstract

Objective: To analyze the differentially expressed genes and inflammation-related genes and related enriched pathways in primary insomnia using bioinformatics methods, and to further explore the relationship between anti-insomnia drugs and therapeutic drugs through the co-expression network. **Methods:** GEO2R was used to analyze the differential gene expression of primary insomnia microarray data screened from the database, and the intersection with inflammation-related genes was taken. Ontology enrichment analysis and functional enrichment analysis were performed on the differentially expressed genes. Protein network interaction analysis was performed using String database, and the key genes were obtained using Cytoscape software. Finally, the key genes were aligned with insomnia drug-related genes using the CTD database. **Results:** Compared with healthy controls, patients with primary insomnia had 2382 differentially expressed genes, which were mainly involved in biological processes such as cytokine-mediated signaling pathways, response to bacterial-derived molecules, and response to lipopolysaccharide. Ten key genes including IL10, CCL5, IL18 and IL1B were screened by protein interaction network analysis. Through the CTD database, six key genes were found to interact with melatonin, including CCL5, CCR7, IL10, IL18, and IL1B. **Conclusion:** There are significant gene expression differences in the serum of patients with primary insomnia, and the mechanism of melatonin in the treatment of insomnia may be related to NLRP3.

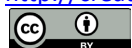
Keywords

Primary Insomnia, Differentially Expressed Genes, Bioinformatics, Melatonin, Mechanisms of Inflammation

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

原发性失眠(Primary insomnia, PI)是一种不受其他疾病、精神障碍或药物滥用等因素影响的失眠症状。临床上,患者常常表现为入睡困难、易醒或早醒以及难以重新入睡[1]。根据流行病学调查的结果显示,我国人群中患有PI的比例高达45.5% [1],这一比例明显超过了全球平均水平[2]。近年的研究表明,炎症因子如肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor α , TNF- α)、白介素1 (Interleukin 1, IL-1)和白介素6 (Interleukin 6, IL-6)等的表达与PI的发展密切相关。Opp MR [3] [4] [5]的多篇文章提出将IL-1注射到实验动物的中枢或外周时,会增加非快速眼动睡眠(Non-Rapid Eye Movement Sleep, NREMS)的时间,而使用IL-1受体拮抗剂可减少实验动物的NREM睡眠时间。该机制与中缝背核5-羟色胺能神经元[4]及 γ -氨基丁酸能神经元[3]有关。Irwin [6]提出,当某些导致慢性轻度炎症的因素持续存在时(如自然和社会环境因素的社会威胁、社会逆境;亚临床炎症疾病;慢性细菌病毒感染),会造成睡眠结构性破坏及连续性障碍,三者形成恶性循环,进而促进了机体炎症反应,包括系统性炎症(CRP、IL-6和TNF水平)、细胞炎症(单核细胞产生IL-6和TNF)以及炎症转录活性(NF- κ B和AP-1)升高。抗病毒免疫下降,即1型干扰素应答基因、TH1细胞相关细胞因子谱、IL-2、IL-12、病毒特异性记忆T细胞降低,IL-10

水平升高[7]。故若能探索和明确有助于改善 PI 的潜在炎症治疗靶点, 无疑对防治 PI 是至关重要的。此外, 测序技术和组学技术的迅猛发展已从大数据的角度为探索和应对疾病事件提供了机遇和广阔前景。故本研究旨在利用生物信息学分析, 并利用 R 语言、功能富集分析、String 数据库等筛选 PI 中核心炎症相关基因, 并利用 CTD 数据库将关键基因与失眠药物有关基因进行匹配, 以期对失眠药物的作用机制研究提供依据。

2. 资料与方法

2.1. GEO 数据集筛选及炎症相关基因获取

将 GEO 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)作为检索源, 检索自建库以来至 2023 年 10 月 31 日 PI 相关的数据集。GEO 数据库的检索式为(Primary insomnia) and (randomized controlled trials or RCTs)。纳入标准包括: (1) 以人为研究对象的, 公开发表的语种为中文或英文的高通量转录组学测序数据; (2) 数据集包含 15 个以上患者样本和健康人样本。排除标准包括: (1) 同一研究阶段报道者; (2) 测序组织为组织液等液体或非高通量转录组水平的测序数据; (3) 无法获得全文或高通量测序数据者。最终在 7 个相关数据集中选择下载 GSE208668 数据, 平台号为 GPL10904 Illumina HumanHT-12 V4.0 expression beadchip (gene symbol), 包含原发性失眠患者 17 例, 对照组 25 例。从分子特征数据库中下载 200 个炎症相关基因(GSEA|MSigDB (<https://www.gsea-msigdb.org/gsea/msigdb>))。

2.2. 差异基因(DEGs)的筛选

使用 GEO2R 在线工具对 GSE208668 数据集中的 PI 患者血液样本和对照组无失眠健康老年人血液样本进行差异基因分析。差异基因的筛选条件为: $|\log FC| \geq 1$ 和 $\text{adj. } P \text{ val (adjust } P \text{ value)} < 0.05$; 通过主成分分析(Principal component analysis, PCA)验证 GSE208668 中数据的重复性; 最后将筛选出的差异基因与炎症相关基因集取交集获得 PI 中共表达的 DEGs, 利用上海腾云云绘图网站(<https://hiplot.com.cn/home/index.html>)及微生信网站(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)进行可视化。

2.3. 基因本体论富集分析

利用 Metascape 数据库(<https://metascape.org/>)对 DEGs 上传进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路的富集分析, GO 分析包括细胞成分(Cellular components, CC)、生物过程(Biological process, BP)和分子功能(Molecular function, MF), 设定物种为人类, $P < 0.05$, 富集结果利用上海腾云云绘图网站(<https://hiplot.com.cn/home/index.html>)进行数据可视化。

2.4. 蛋白互作网络(PPI)的绘制

将输入到 String 网站(<https://cn.string-db.org>)进行蛋白互作分析, 并设置最低置信度 > 0.7 及人类物种以获得相关结果。

2.5. 核心靶基因的筛选

将蛋白互作网络文件下载后导入 Cytoscape 3.9.1 进行可视化处理, 使用 CytoHubba 插件中 MCC 算法, 筛选出排名前 10 位的核心基因。

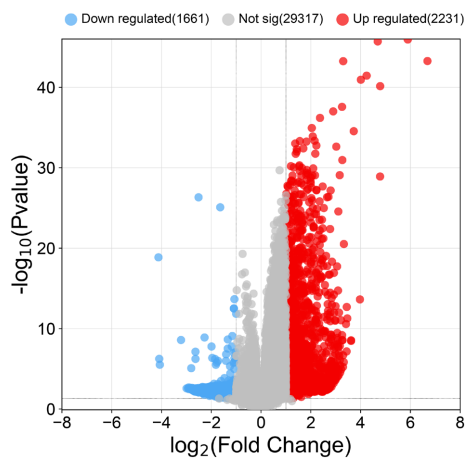
2.6. 治疗药物匹配

CTD 数据库, 全称 Comparative Toxicogenomics Database, 比较毒理基因组学数据库。将上述核心基因输入 CTD 数据库, 与目前常见失眠治疗药物相关基因进行匹配。

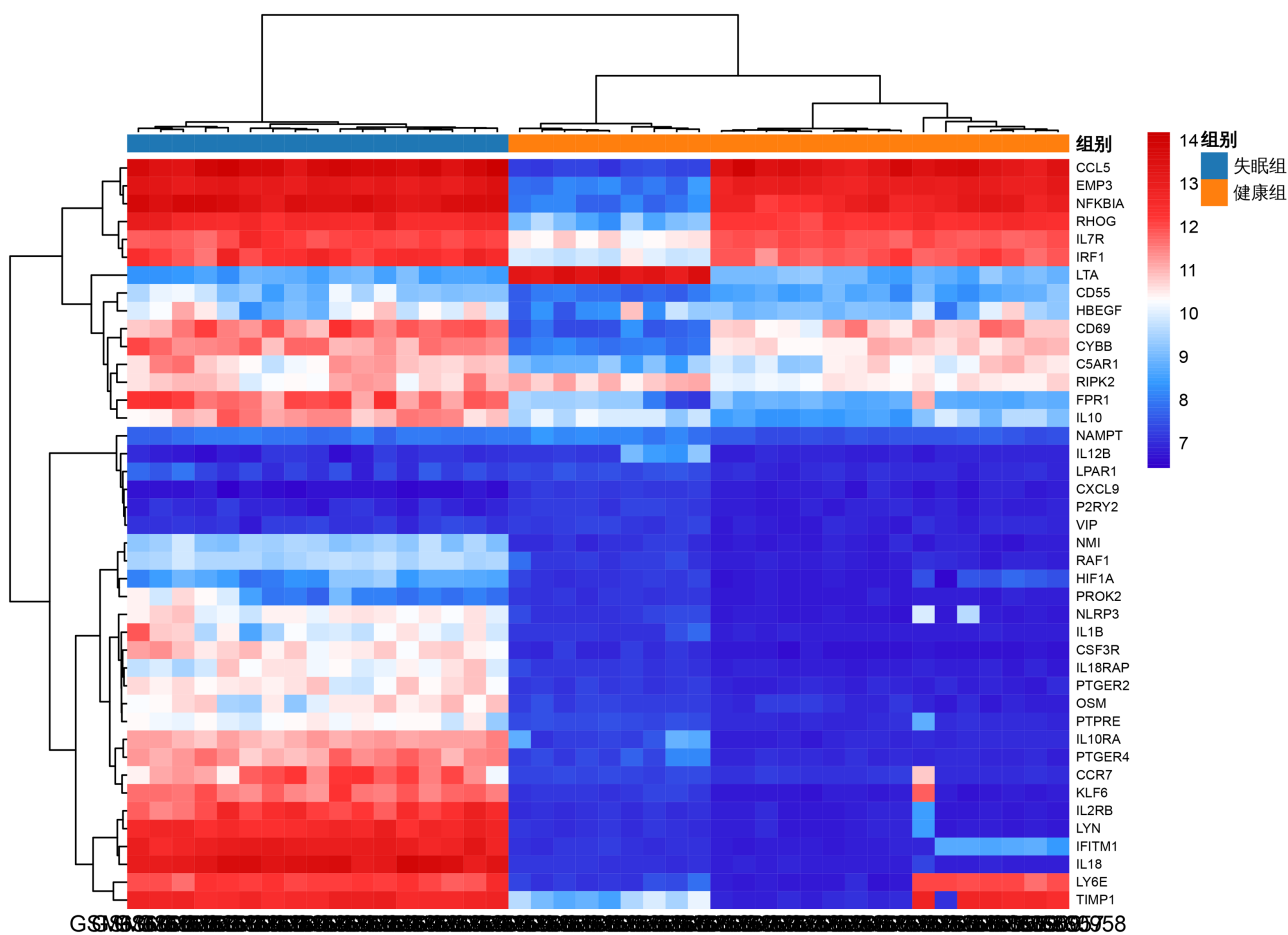
3. 研究结果

3.1. DEGs 筛选

利用 GEO2R 进一步的分析, PI 组共有 2382 个差异基因, 其中包括 2002 个上调基因和 380 个下调基因, 用火山图可视化(图 1(a)), 用热图可视化差异基因表达情况(图 1(b))。同时, PCA 分析结果表明



(a)



(b)

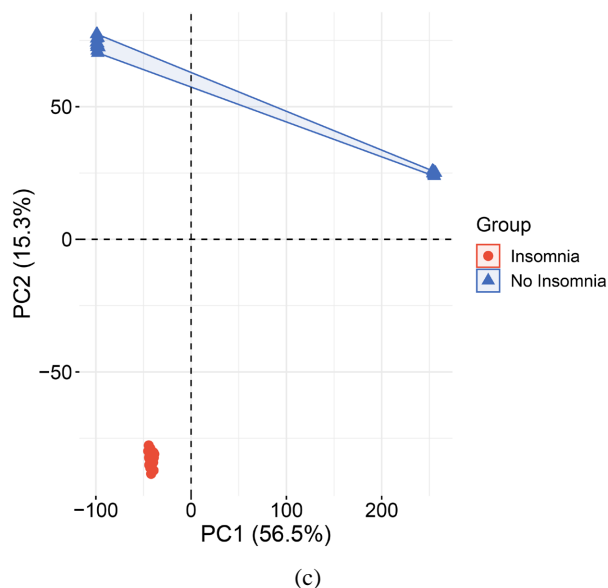


Figure 1. Results of analysis of differentially expressed genes between healthy subjects and PI patients in the insomnia dataset GSE208668

图 1. 失眠数据集 GSE208668 中健康受试者与 PI 患者差异表达基因的分析结果

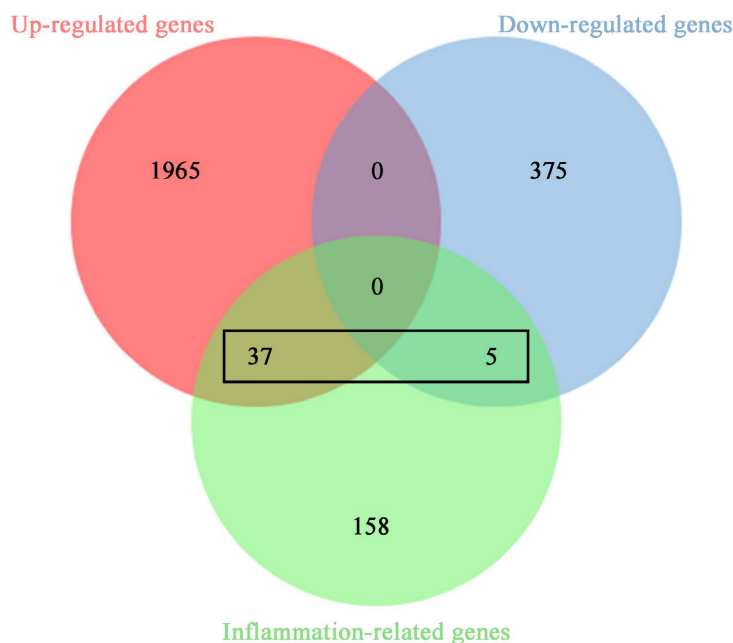


Figure 2. Inflammation-related co-expressed DEGs in PI

图 2. PI 中炎症相关共表达 DEGs

GSE208668 数据集的重复性良好(图 1(c))。与炎症相关基因集取交集后共筛选出 42 个炎症相关共表达 DEGs (图 2)。

3.2. DEGs 相关性分析, PPI 网络构建及关键基因筛选

利用 String11.5 数据库获得 PPI 网络。结果表明, 上述炎症相关共表达 DEGs 之间存在相互作用(图 3), 且每个基因互作数越多, 其圆面积越大, 颜色越深。将蛋白互作网络文件导入 Cytoscape3.9.1, 并使用

CytoHubba 插件的 MCC 算法, 筛选出排名前 10 位的核心基因为 IL10、CCL5、IL18、IL1B、CD69、CCR7、IL10RA、IL7R、CXCL9、NFKBIA。

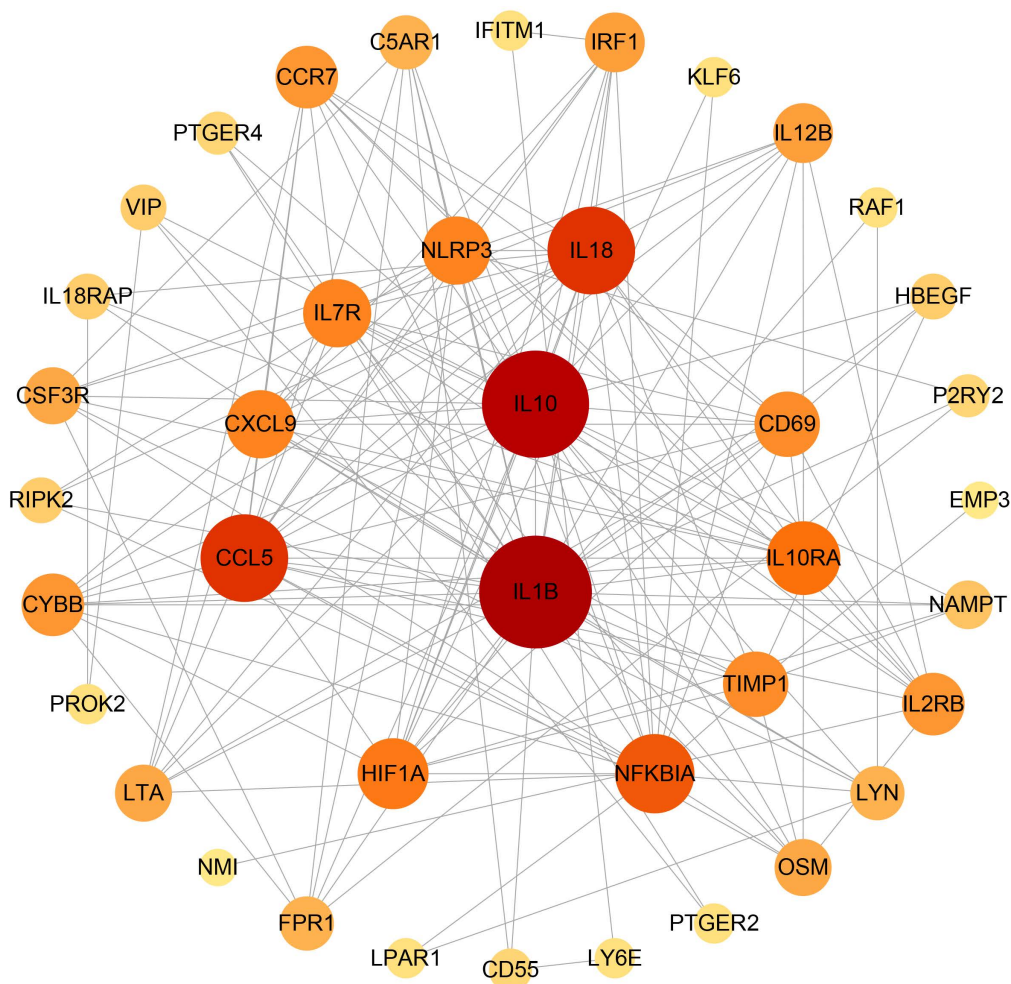


Figure 3. Protein interaction network of differentially expressed genes associated with inflammation
图 3. 炎症相关共表达差异基因的蛋白互作网络

3.3. 炎症相关共表达差异基因的 GO 和 KEGG 富集分析

炎症相关共表达差异基因的 GO 富集分析结果表明, 见图 4, 主要涉及细胞因子介导的信号通路、对细菌来源分子的反应、对脂多糖的反应(生物过程); 质膜外侧、内吞小泡、内吞囊泡膜(细胞成分); 受体配体活性、细胞因子活性、免疫受体活性(分子功能)。在 KEGG 富集分析中炎症相关差异基因主要涉及细胞因子 - 细胞因子受体相互作用、病毒蛋白与细胞因子和细胞因子受体的相互作用、C 型凝集素受体信号通路。

3.4. 关键靶基因与失眠常用治疗药物相互作用基因匹配结果

为了从炎症机制探讨失眠药物的治疗机制, 将上述核心基因与失眠治疗药物苯二氮卓类、非苯二氮卓类、褪黑素能药物等在 CTD 数据库中进行比较。结果发现, 与褪黑素有 6 个基因重叠, 分别是: CCL5、CCR7、IL10、IL18、IL1B、NFKBIA, 结果见图 5。

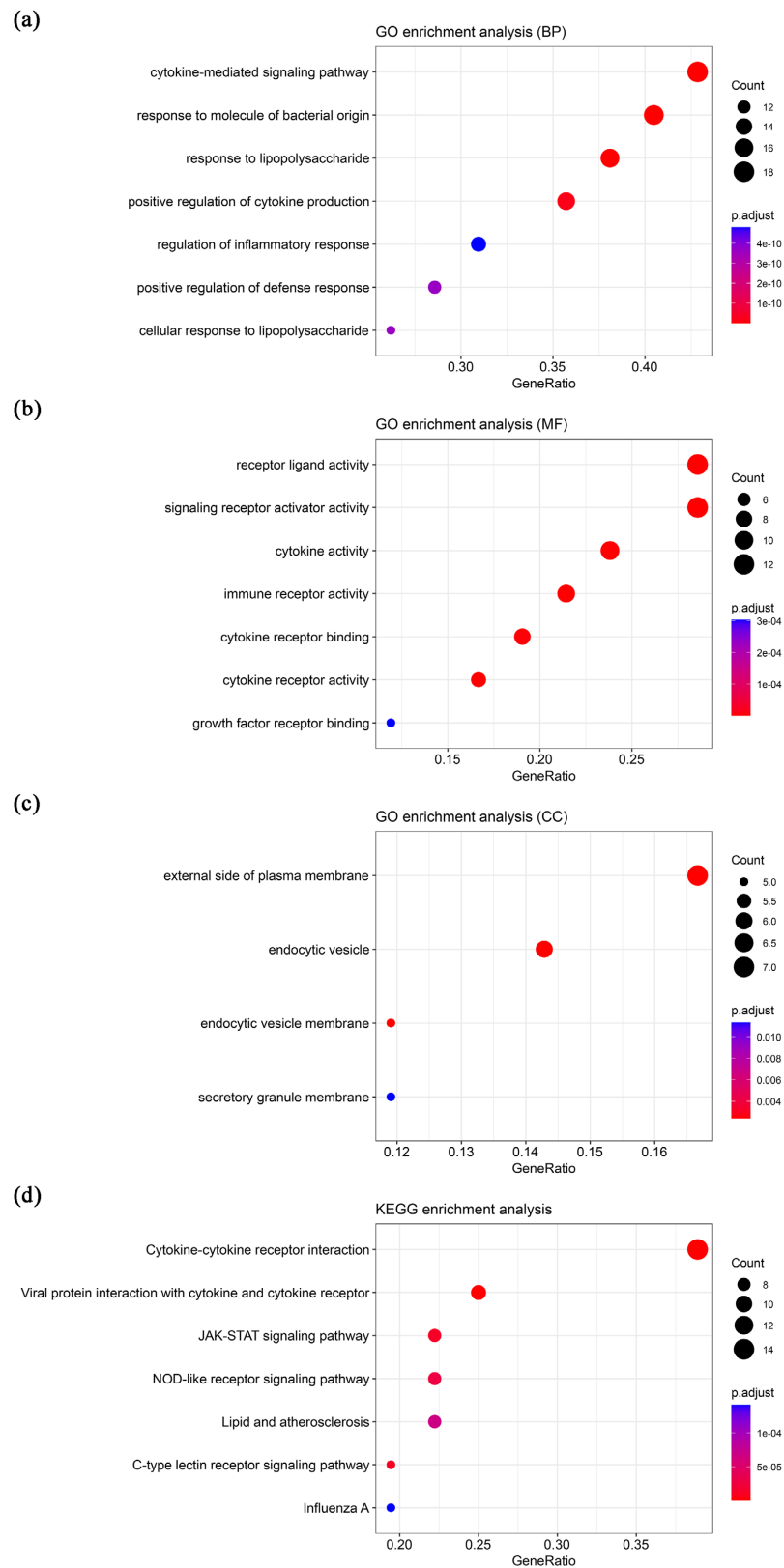


Figure 4. Functional enrichment analysis of differentially co-expressed genes associated with inflammation
图 4. 炎症相关共表达差异基因的功能富集分析

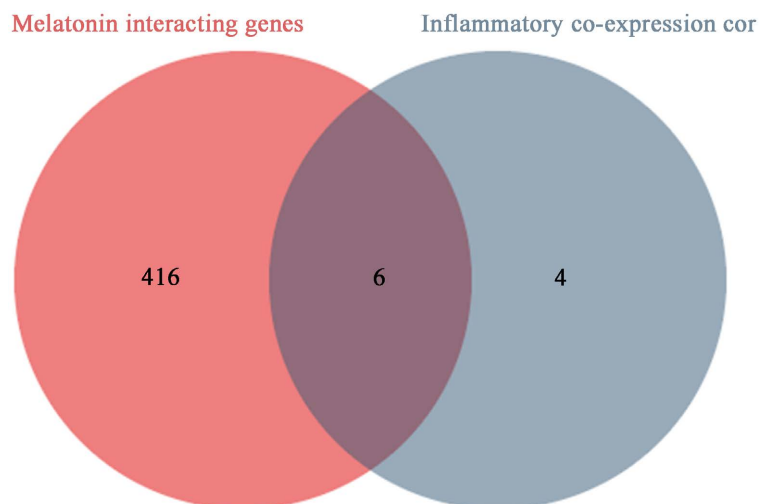


Figure 5. Venn diagram of key target genes interacting with melatonin
图 5. 关键靶基因与褪黑素相互作用基因的韦恩图

4. 讨论

原发性失眠患者在认知领域, 如记忆、注意力和执行功能等方面面临着损害, 这对他们的社交功能造成了严重影响, 并增加了事故和慢性疾病发生的风险[8]。因此, 有效改善 PI 患者的临床症状成为当前研究的热点。然而, 目前尚不清楚 PI 的发病机制, 但现在普遍认为它可能与中枢神经系统的炎症有关[9]。失眠会增加炎症性疾病和感染性疾病的风险[10], 同时, 人类在应对慢性应激源和炎症性疾病状态时, 睡眠的正常适应功能可能发生失调, 从而导致炎症增加, 损害抗病毒免疫应答。因此患有炎症性疾病和感染性疾病的人更容易出现睡眠问题[7]。Irwin 提出, 当某些导致慢性轻度炎症的因素持续存在时(如自然和社会环境因素的社会威胁、社会逆境; 亚临床炎症疾病; 慢性细菌病毒感染), 会造成睡眠结构性破坏及连续性障碍, 三者形成恶性循环, 进而促进了机体炎症反应, 包括系统性炎症(CRP、IL-6 和 TNF 水平)、细胞炎症(单核细胞产生 IL-6 和 TNF)以及炎症转录活性(NF- κ B 和 AP-1)升高[7]。在临床中予以适当抗炎干预则有利于睡眠障碍的改善。

在本研究中, 特别关注 PI 炎症差异基因的分析。通过使用生物信息学工具和统计学方法, 筛选出了一些关键的致病基因, 这些基因在 PI 的发生和发展中起着重要的作用。这些发现提供了更深入的关于 PI 致病机制的理解, 并为开发新型 PI 治疗方法提供了一些重要思路。值得注意的是, 我们的研究结果需要更进一步的研究和验证, 以更好地指导 PI 的临床治疗。

分析数据集 GSE208668, 结果显示, PI 组差异基因共 2382 个, 其中上调基因 2002 个, 下调基因 380 个, 提示 PI 发病是由众多基因相互作用导致的结果。与炎症相关基因集取交集后共筛选出 42 个炎症相关共表达差异基因, 其中上调基因 36 个, 下调基因 6 个。本研究通过构建蛋白互作网络, 对上述差异性基因进行了分析, 筛选出了 10 个关键基因, 它们分别是 IL10、CCL5、IL18、IL1B、CD69、CCR7、IL10RA、IL7R、CXCL9、NFKBIA。

进一步对这 10 个关键基因进行富集分析, 结果显示这些基因主要参与细胞因子介导的信号通路、对细菌来源分子的反应以及对脂多糖的反应等重要生物过程。此外, 这些基因还构成了细胞的质膜外侧、内吞小泡和内吞囊泡膜等细胞成分, 在分子功能层面上介导受体配体活性、细胞因子活性和免疫受体活性等重要功能。同时涉及细胞因子-细胞因子受体相互作用、病毒蛋白与细胞因子以及细胞因子受体的相互作用, 以及 C 型凝集素受体信号通路等关键途径。其中核心共表达差异基因 IL-10 是一种由 th2 型 T

细胞、巨噬细胞、单核细胞、树突细胞、中性粒细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞、自然杀伤细胞[11]、小胶质细胞[12]和心脏巨噬细胞[13],甚至肿瘤细胞[14]产生的多效细胞因子。IL-10功能性地作用于多种细胞,具有广泛的抗炎活性,巨噬细胞是IL-10抑制作用的主要靶点[15]。在巨噬细胞中,IL-10主要抑制核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B)靶基因;而在树突状细胞和肥大细胞中,间接破坏干扰素调节因子(interferon regulatory factor, IRF);在中性粒细胞中,IL-10似乎诱导了IRF破坏和间接抑制NF- κ B [16],而NF- κ B活化是睡眠障碍影响白细胞炎症基因表达和炎症相关疾病风险的分子途径[17]。总之,IL-10通过调节局部细胞因子微环境和限制抗原呈递,从而阻止T细胞反应的有效发展[18]。研究表明,血液透析患者的外周血单个核细胞合成IL-10较少,而IL-10抑制IL-1b、TNF-a和IL-6的产生,这可能通过对促炎细胞因子产生的抑制性反馈缺陷导致这些患者的慢性炎症状态[19]。低水平的IL-10可能影响血液透析患者的睡眠质量,血清IL-10浓度越低,睡眠质量越差[20]。

为进一步明确这些失眠关键基因在药物治疗中是如何变化的,我们进一步将上述核心基因与失眠治疗药物苯二氮卓类、非苯二氮卓类、褪黑素能药物等在CTD数据库中进行比较。结果发现,我们筛选到的基因中有6个基因与褪黑素相关基因集有重叠。褪黑素(N-乙酰基-5-甲氧基色胺, MT),是一种色氨酸衍生分子,在人体内主要在松果体合成,视网膜和胃肠道等器官也会产生[21]。以往认为褪黑素调节睡眠的生理机制包括以下两个途径,其一是通过调整视交叉上核的褪黑素受体。视网膜的神经纤维检测到环境的亮度,并将信息传递到位于下丘脑的视交叉上核(suprachiasmatic nucleus, SCN),调节MT的合成,激活位于视交叉上核的膜受体MT1和MT2,进而诱导睡眠规律的产生[22]。MT1主要抑制神经元活动,调节睡眠;MT2则主要诱导睡眠相位的改变[23]。其二是通过影响体内 γ -氨基丁酸(gamma-aminobutyric acid, GABA)的含量,达到调节睡眠与觉醒周期的作用[24]。机体中调节正常睡眠-觉醒过程的网状上行激活系统主要是由GABA神经元组成,GABA的表达活性增会使下丘脑和脑干的促觉醒基因得到抑制,起到助眠的作用[25]。近年来,越来越多的研究发现,除了上述作用之外,褪黑素的抗炎作用不容忽视。有学者研制出褪黑素注射剂用于脓毒血症患者的II期临床,观察到了与实验动物中一致的抗炎作用[26]。褪黑素可通过调节免疫细胞的数量以及调控细胞因子表达而具有免疫调节作用[27]。

本次研究通过CTD数据库发现褪黑素的相互作用基因与前期数据挖掘发现的10个炎性共表达基因有6个重叠,分别是CCL5、CCR7、IL10、IL18、IL1B、NFKBIA。

趋化因子配体5(CCL5)是趋化因子之一,可以调节T细胞的表达和分泌,主要在中枢神经系统中发挥作用[28]。研究表明[29]CCL5水平与失眠严重程度相关,在慢性失眠障碍患者中CCL5水平明显降低。此外,CCL5与生物钟基因有关,生物钟基因表达降低会降低CCL-5的表达[30]。

多种免疫细胞亚群表达的受体CC趋化因子7(CC-chemokine receptor 7,简称CCR7)及其配体参与着T细胞亚群和抗原呈递的树突状细胞向淋巴结迁移归巢的过程[31]。白介素10受体a(Interleukin 10 Receptor Subunit Alpha, IL10RA)该基因编码的蛋白质是白细胞介素10的受体。该蛋白质在结构上与干扰素受体相关。它已被证明可介导白细胞介素10的免疫抑制信号,从而抑制促炎细胞因子的合成。核转录因子 κ B抑制因子 α (NFKB inhibitor alpha,简称NFKBIA)是核因子 κ B(nuclear factor kappa-B,简称NF- κ B)信号传导中的一个抑制因子,与促炎细胞因子的转录、免疫反应和抗凋亡基因有关。NFKBIA通过与NF- κ B的结合-解离和暴露-保护蛋白来调节NF- κ B活性[32]。

与核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)相关的蛋白包括白细胞介素18(Interleukin-18, IL-18)、与凋亡相关的斑点样蛋白(Apoptosis-associated speck-like protein, ASC)和半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(cysteinyl aspartate specific proteinase-1, caspase-1) [33]。Caspase-1蛋白水解无活性和未成熟的IL-1 β 和IL-18,并将其转化为可从细胞释放的活性和成熟形式,并参与促炎症反应的发生[34]。有研究证明NLRP3在失眠患者中表达增加,并且客观睡眠时间短、慢波睡眠减少、睡眠

片段化增加与 NLRP3 相关蛋白激活呈正相关[35]。这可能是通过失眠激活交感神经系统使肾上腺素和去甲肾上腺素水平升高, 刺激白细胞肾上腺素能受体和激活核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 介导的炎症信号通路来激活 NLRP3 炎症小体[17]。一项关于获得性免疫缺陷综合症患者失眠与细胞因子多态性的研究证实 IL1B 与入睡型失眠的发病风险存在负相关, 而 Krueger [36] 也指出 IL-1 β 具有睡眠调节特性, 可能增加非快速眼动睡眠。因此, NLRP3 炎症小体在失眠患者中表达增加可能是通过失眠激活交感神经系统, 刺激白细胞肾上腺素能受体和激活核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 介导的炎症信号通路实现的, 而褪黑素可抑制 NF- κ B 信号通路活化[37]。且除 NF- κ B 途径外, 有学者制作了褪黑素核受体缺失的脓毒症小鼠模型, 证实了褪黑素可通过降低活性氧的细胞质水平和阻止线粒体释放线粒体 DNA 来降低 NLRP3 炎性体活性[38]。综上所述, 本文为褪黑素改善失眠的作用机制提出新的假设, 但是否可通过调节 NLRP3 炎性体而改善失眠, 仍需进一步研究。

本文通过生物信息学分析, 筛选出多个与 PI 炎症共表达差异基因, 完善了原发性失眠的基因调控网络, 其中 IL-10 差异性表达最为明显。且提出 NLRP3 是否可作为褪黑素改善失眠新的作用机制。PI 发病机制复杂, 对 IL-10 及其可能涉及的通路进行深入研究, 可以在治疗早期进行监测, 以确定给定的治疗是否能有效减少免疫激活。外周生物标志物的可用性既能识别具有特定病理生理过程的患者, 又能客观监测相关途径的治疗反应, 可为 PI 的靶向治疗及个体化治疗提供新的方向。

参考文献

- [1] 孟宪波. 睡眠质量与心理健康相关研究进展[J]. 中国民康医学, 2012, 24(14): 1755+1771.
- [2] 王海棠, 夏兰, 冯寅, 等. 慢性失眠对客观认知功能的影响[J]. 中华保健医学杂志, 2011, 13(2): 83-86.
- [3] Opp, M.R. (2009) Sleep and Psychoneuroimmunology. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, **29**, 295-307. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2009.02.009>
- [4] Imeri, L., Mancina, M. and Opp, M.R. (1999) Blockade of 5-Hydroxytryptamine (Serotonin)-2 Receptors Alters Interleukin-1-Induced Changes in Rat Sleep. *Neuroscience*, **92**, 745-749. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(99\)00006-8](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(99)00006-8)
- [5] Opp, M.R. and Imeri, L. (2001) Rat Strains That Differ in Corticotropin-Releasing Hormone Production Exhibit Different Sleep-Wake Responses to Interleukin 1. *Neuroendocrinology*, **73**, 272-284. <https://doi.org/10.1159/000054644>
- [6] Irwin, M.R., Olmstead, R. and Carroll, J.E. (2016) Sleep Disturbance, Sleep Duration, and Inflammation: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies and Experimental Sleep Deprivation. *Biological Psychiatry*, **80**, 40-52. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.05.014>
- [7] Irwin, M.R. (2019) Sleep and Inflammation: Partners in Sickness and in Health. *Nature Reviews Immunology*, **19**, 702-715. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0190-z>
- [8] Lange, T., Dimitrov, S. and Born, J. (2010) Effects of Sleep and Circadian Rhythm on the Human Immune System. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1193**, 48-59. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05300.x>
- [9] 胡春艳, 郭齐, 刘港, 等. 柴桂枣安汤对失眠模型大鼠的治疗作用及其机制[J]. 江苏大学学报(医学版), 2021, 31(2): 147-151.
- [10] Ohayon, M.M. (2002) Epidemiology of Insomnia: What We Know and What We Still Need to Learn. *Sleep Medicine Reviews*, **6**, 97-111. <https://doi.org/10.1053/smr.2002.0186>
- [11] Moore, K.W., de Waal Malefyt, R., Coffman, R.L. and O'Garra, A. (2001) Interleukin-10 and the Interleukin-10 Receptor. *Annual Review of Immunology*, **19**, 683-765. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11244051/>
- [12] Lobo-Silva, D., et al. (2016) Balancing the Immune Response in the Brain: IL-10 and Its Regulation. *Journal of Neuroinflammation*, **13**, 297. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27881137/>
- [13] Hulsmans, M., et al. (2018) Cardiac Macrophages Promote Diastolic Dysfunction. *Journal of Experimental Medicine*, **215**, 423-440. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29339450/>
- [14] Itakura, E., Huang, R.R., Wen, D.R., et al. (2011) IL-10 Expression by Primary Tumor Cells Correlates with Melanoma Progression from Radial to Vertical Growth Phase and Development of Metastatic Competence. *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.*, **24**, 801-809. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2011.5>
- [15] Shouval, D.S., Biswas, A., Goettel, J.A., et al. (2014) Interleukin-10 Receptor Signaling in Innate Immune Cells Re-

- gulates Mucosal Immune Tolerance and Anti-Inflammatory Macrophage Function. *Immunity*, **40**, 706-719. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.03.011>
- [16] Hutchins, A.P., Takahashi, Y. and Miranda-Saavedra, D. (2015) Genomic Analysis of LPS-Stimulated Myeloid Cells Identifies a Common Pro-Inflammatory Response but Divergent IL-10 Anti-Inflammatory Responses. *Scientific Reports*, **5**, Article No. 9100. <https://doi.org/10.1038/srep09100>
- [17] Irwin, M.R., Wang, M., Ribeiro, D., et al. (2008) Sleep Loss Activates Cellular Inflammatory Signaling. *Biological Psychiatry*, **64**, 538-540. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.05.004>
- [18] Saraiva, M., Vieira, P. and O'Garra, A. (2020) Biology and Therapeutic Potential of Interleukin-10. *The Journal of Experimental Medicine*, **217**, e20190418. <https://doi.org/10.1084/jem.20190418>
- [19] Erten, Y., Kokturk, O., Yuksel, A., et al. (2005) Relationship between Sleep Complaints and Proinflammatory Cytokines in Haemodialysis Patients. *Nephrology (Carlton, Vic.)*, **10**, 330-335. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1797.2005.00418.x>
- [20] Taraz, M., Khatami, M.R., Hajiseyedjavadi, M., et al. (2013) Association between Antiinflammatory Cytokine, IL-10, and Sleep Quality in Patients on Maintenance Hemodialysis. *Hemodialysis International*, **17**, 382-390. <https://doi.org/10.1111/hdi.12035>
- [21] Hirsch-Rodriguez, E., Imbesi, M., Manev, R., et al. (2007) The Pattern of Melatonin Receptor Expression in the Brain May Influence Antidepressant Treatment. *Medical Hypotheses*, **69**, 120-124. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2006.11.012>
- [22] Rios, E.R.V., Venâncio, E.T., Rocha, N.F.M., et al. (2010) Melatonin: Pharmacological Aspects and Clinical Trends. *The International Journal of Neuroscience*, **120**, 583-590. <https://doi.org/10.3109/00207454.2010.492921>
- [23] 梁竹, 魏玮, 陶利. 褪黑素在治疗睡眠障碍中的研究进展[J]. 解放军药学报, 2014, 30(1): 82-85.
- [24] 张如意, 王平, 张舜波, 等. 褪黑素治疗睡眠障碍的作用机制探讨[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(2): 308-310.
- [25] 独家能, 刘聪, 郝旭亮, 等. 生理性失眠发病机制的研究进展[J]. 中国医药导报, 2017, 14(29): 37-40.
- [26] 萧文泽, 张佳敏. 褪黑素抑制炎症小体 NLRP3 的研究进展[J]. 神经损伤与功能重建, 2020, 15(1): 33-35, 41.
- [27] 马焱, 唐康, 张春梅, 等. 褪黑素在感染性疾病中作用的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2019, 35(6): 563-568.
- [28] Zhang, Y., Zhang, Z., Wang, S.J., et al. (2023) Molecular Targets and Mechanisms Involved in the Action of Banxia Shumi Decoction in Insomnia Treatment. *Medicine*, **102**, e33229. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000033229>
- [29] Xia, L., Zhang, P., Niu, J.W., et al. (2021) Relationships between a Range of Inflammatory Biomarkers and Subjective Sleep Quality in Chronic Insomnia Patients: A Clinical Study. *Nature and Science of Sleep*, **13**, 1419-1428. <https://doi.org/10.2147/NSS.S310698>
- [30] Jiang, Q., Liu, H., Wang, S., et al. (2018) Circadian Locomotor Output Cycles Kaput Accelerates Atherosclerotic Plaque Formation by Upregulating Plasminogen Activator Inhibitor-1 Expression. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, **50**, 869-879. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmy087>
- [31] Förster, R., Davalos-Misslitz, A.C. and Rot, A. (2008) CCR7 and Its Ligands: Balancing Immunity and Tolerance. *Nature Reviews Immunology*, **8**, 362-371. <https://doi.org/10.1038/nri2297>
- [32] Zhang, G.L., Zou, Y.F., Feng, X.L., et al. (2011) Association of the NFKBIA Gene Polymorphisms with Susceptibility to Autoimmune and Inflammatory Diseases: A Meta-Analysis. *Inflammation Research*, **60**, 11-18. <https://doi.org/10.1007/s00011-010-0216-2>
- [33] Wang, J., Wu, X., Liang, W., et al. (2020) Objective Short Sleep Duration Is Related to the Peripheral Inflammasome Dysregulation in Patients with Chronic Insomnia. *Nature and Science of Sleep*, **12**, 759-766. <https://doi.org/10.2147/NSS.S270045>
- [34] Minutoli, L., Puzzolo, D., Rinaldi, M., et al. (2016) ROS-Mediated NLRP3 Inflammasome Activation in Brain, Heart, Kidney, and Testis Ischemia/Reperfusion Injury. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2016**, Article ID: 2183026. <https://doi.org/10.1155/2016/2183026>
- [35] Aghelan, Z., Karima, S., Khazaie, H., et al. (2022) Interleukin-1 α and Tumor Necrosis Factor α as an Inducer for Reactive-Oxygen-Species-Mediated NOD-Like Receptor Protein 1/NOD-Like Receptor Protein 3 Inflammasome Activation in Mononuclear Blood Cells from Individuals with Chronic Insomnia Disorder. *European Journal of Neurology*, **29**, 3647-3657. <https://doi.org/10.1111/ene.15540>
- [36] Krueger, J.M. (2008) The Role of Cytokines in Sleep Regulation. *Current Pharmaceutical Design*, **14**, 3408-3416. <https://doi.org/10.2174/138161208786549281>
- [37] Markus, R.P., Fernandes, P.A., Kinker, G.S., et al. (2018) Immune-Pineal Axis—Acute Inflammatory Responses Coordinate Melatonin Synthesis by Pinealocytes and Phagocytes. *British Journal of Pharmacology*, **175**, 3239-3250.

<https://doi.org/10.1111/bph.14083>

- [38] Liu, Z., Gan, L., Xu, Y., *et al.* (2017) Melatonin Alleviates Inflammasome-Induced Pyroptosis through Inhibiting NF- κ B/GSDMD Signal in Mice Adipose Tissue. *Journal of Pineal Research*, **63**, e12414. <https://doi.org/10.1111/jpi.12414>