

· 药效与毒理学研究 ·

熟地黄对阴虚模型大鼠血清褪黑素及脑内 γ -氨基丁酸的影响

杨泽宇, 郭宏雅, 朱璞玉, 邱灵燕, 王剑(广州中医药大学, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 观察熟地黄对阴虚模型大鼠血清褪黑素及脑内 γ -氨基丁酸(GABA)的影响, 探讨其滋阴宁静的作用机制。**方法** 将雄性 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、熟地黄组($30\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 每组 10 只; 模型组、熟地黄组灌胃耗阴复方药液($30\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 每日 1 次, 连续 10 d; 第 11 天熟地黄组开始灌胃熟地黄药液, 每日 1 次, 连续 10 d。观察大鼠的一般情况, 测定体质量、饮水量, 通过旷场行为学检测其活跃度; 采用高通量测序检测大鼠脑组织中阴虚相关基因的差异表达; ELISA 法检测大鼠血清褪黑素含量; 高效液相色谱法检测大鼠脑组织中 GABA 含量; Western Blot 法检测下丘脑组织中 GABA 合成酶 Gad67 及其转录因子 EGR1 的蛋白表达。**结果** 与正常组比较, 模型组大鼠的体质量明显下降($P<0.05$), 饮水量以及活跃度明显提高($P<0.05$); 促甲状腺激素释放激素(TRH)及促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)基因表达量明显提高($P<0.05$); 血清褪黑素含量、脑组织 GABA 含量, 以及 Gad67 和 EGR1 的蛋白表达量均明显下降($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较, 熟地黄组大鼠体质量明显升高($P<0.05$), 饮水量以及活跃度明显下降($P<0.05$); TRH 及 CRH 基因表达量明显降低($P<0.05$, $P<0.01$); 血清褪黑素含量、脑组织 GABA 含量, 以及 Gad67 和 EGR1 的蛋白表达量均明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 熟地黄可能通过提高大鼠血清褪黑素及脑内 GABA 水平来发挥其滋阴宁静的作用。

关键词: 熟地黄; 滋阴宁静; 褪黑素; γ -氨基丁酸; 大鼠

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2021)04-0455-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.04.001

Effect of Rehmanniae Radix Praeparata on Serum Melatonin and GABA in Yin Deficiency Rats

YANG Zeyu, GUO Hongya, ZHU Puyu, QIU Lingyan, WANG Jian(Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To study the tranquilizing effect of Rehmanniae radix praeparata on yin deficiency model rats and its effect on the expression of melatonin and GABA. **Methods** Male SD rats were randomly divided into normal group, model group, and Rehmanniae radix praeparata(*Shudi*) group($30\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), with 10 rats in each group. Rats in the model group and the *Shudi* group were given the compound medicine solution($30\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) once every day for 10 days to establish the yin-deficiency model. On the 11th day, the *Shudi* group rats were given the Rehmannia decoction for 10 consecutive days. The normal group was given the same volume of distilled water for 20 days. By observing the general situation of the animals, water intake and the activity of open field behavior, whether the model was successfully developed was determined. High-throughput sequencing was used to detect the differential expression of yin deficiency related genes in rats' brain tissue. ELISA kit was used to detect the serum content of melatonin. High performance liquid chromatography was used to detect the content of GABA in rat's brain tissue. Western Blot was used to detect the expression of yin deficiency related proteins, Gad67 and EGR1, in rat's brain

收稿日期: 2020-09-25

作者简介: 杨泽宇, 男, 硕士研究生, 研究方向: 中医药延缓衰老。Email: 359608890@qq.com。通信作者: 王剑, 博士, 研究员, 研究方向: 中医药延缓衰老。Email: 768306011@qq.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81873210)。

tissue. **Results** Compared with the normal group, the body weight of the model group was decreased significantly ($P < 0.05$); the water intake and activity were significantly increased ($P < 0.05$); the gene expression of thyroid stimulating hormone releasing hormone (TRH) and adrenocorticotrophic hormone releasing hormone (CRH) were significantly increased ($P < 0.05$); the content of melatonin in serum, the content of GABA in brain tissue, and the protein expression of Gad67 and EGR1 were significantly decreased in the model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, the body weight of the *shudi* group was increased significantly ($P < 0.05$); the amount of drinking water and activity ($P < 0.05$), TRH and CRH gene expression were decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$); serum melatonin content, brain GABA content, and Gad67 and EGR1 protein expression were significantly increased in the *Shudi* group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** Rehmanniae radix praeparata can improve the contents of serum melatonin and brain GABA, and play the role of nourishing *yin* and tranquility.

Keywords: Rehmanniae radix praeparata; nourishing *yin* and tranquilizing; melatonin; γ -aminobutyric acid; rats

中医学的“阴”亦可理解为体内多种有着滋润、宁静、抑制阳热等作用的物质所综合形成的一种功能。有研究^[1-3]发现,阴虚证发生时,体内多种激素分泌功能出现异常,其中以下丘脑-垂体-甲状腺轴、下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的功能亢进为主要表现。 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)是人体重要的抑制性递质,可以抑制调节上述分泌腺体的功能^[4-6]。褪黑素(Melatonin, MT)是松果体分泌的激素之一,其对下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴具有抑制作用,可降低血皮质酮浓度^[7]。研究^[8]发现,库欣综合征患者血液中褪黑素浓度降低。褪黑素还可抑制甲状腺对促甲状腺素激素的反应,或直接抑制甲状腺细胞分泌甲状腺素^[9-11]。故推测,褪黑素与GABA含量的降低,可能是“阴”之宁静作用减弱的原因之一。

中药熟地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的根茎,经加工蒸晒而成,其味甘、性微温,入肝、肾经,具有补血滋阴,益精填髓的功效。《本草正》记载“熟地黄性平,气味纯静,故能补五脏之真阴。诸经之阴血虚者,非熟地不可。”为了模拟阴虚证的病因病机,多采用劳损伤阴造模、激怒伤阴造模、喂食温燥性质的中药造模、利尿伤阴造模、饮食偏好造模、复合型造模等多种方式^[12]。本研究拟采用耗阴复方灌胃建立阴虚证大鼠模型,观察熟地黄对其血清褪黑素及脑内GABA的影响,以探讨熟地黄滋阴宁静的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 8周龄雄性SD大鼠,30只,SPF级,体

质量(200 ± 10)g,购自南方医科大学实验动物中心,动物质量合格证号:44002100025954,动物生产许可证号:SCXK(粤)2016-0041。

1.2 药品 熟地黄及耗阴复方(黑附片、干姜、苍术、草豆蔻、泽泻、肉桂)中药饮片,均购自广州百和堂药房,经广州中医药大学基础医学院李彩霞副教授鉴定合格。将黑附片、干姜、苍术、草豆蔻、泽泻、肉桂等中药饮片按照1:1:1:1:1:1的比例称取,置于烧杯中,加入8倍体积水浸泡30 min后,煮沸30 min,收集药液。熟地黄单独加8倍体积水浸泡30 min后,煮沸30 min,收集药液。熟地黄及耗阴复方药液均用旋转蒸发仪浓缩至 $2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度,贴上标签后,置于4℃冰箱保存。

1.3 试剂 大鼠褪黑素ELISA测定试剂盒,武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,货号:E-EL-R0031c;2,4-二硝基氟苯(DNFB,批号:73177)、GABA标准品(批号:A2129)、水合氯醛(批号:47335-U),美国Sigma公司;BCA蛋白浓度测定试剂盒,美国Thermo公司,批号:SJ256263;Gad67一抗抗体,美国Affinity公司,批号:AF0163;EGR1一抗抗体,美国CST公司,批号:4154;HRP标记山羊抗兔二抗抗体,武汉谷歌生物科技有限公司,批号:180534;ECL发光液,美国Millipore公司,批号:1705102。

1.4 主要仪器 TGL-16型高速台式冷冻离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司;EnSpire多功能酶标仪,美国PerkinElmer公司;HPLC-40型高效液相色谱仪、UV-VIS型紫外可见光检测器,日本岛津株式会社;Tanon 6600型发光成像工作站,上海天能科

技有限公司。

1.5 分组、模型复制及给药 动物称体质量后随机分为 3 组：正常组、模型组、熟地黄组($30\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)，每组 10 只。模型组、熟地黄组大鼠每天下午 14:00~16:00 灌胃耗阴复方药液($30\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，为临床成人用量按体表面积比换算的 5 倍剂量)1 次，连续 10 d，以达到耗阴造模的目的；第 11 天熟地黄组开始灌胃熟地黄药液，连续 10 d。正常组灌胃同等体积的蒸馏水，持续 20 d。

1.6 大鼠的一般情况观察及取材 于造模开始前及模型复制期间观察大鼠的毛色、活动、反应、排便等一般情况的变化。取材前 3 d，各组动物改为单只单笼饲养，清空水瓶后，用量杯取 200 mL 水加入饮水瓶，每 24 h 测量 1 次饮水量。取材前 1 d，各组动物进行旷场行为学实验，检测其活跃度，然后禁食 24 h 后取材。在取材当天进行体质量检测后，大鼠腹腔注射 8%水合氯醛溶液($5\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)麻醉，5 min 后手术打开腹腔，腹主动脉采血；然后断头处死大鼠，冰上分离大脑半球、下丘脑，以锡纸包裹、标记后用液氮快速冷冻，取材结束后转移至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.7 高通量测序 将大鼠下丘脑组织送交广州锐博生物有限公司，对促甲状腺激素释放激素(TRH)、促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)、谷氨酸脱羧酶 1(Gad67)、早期生长因子 1(EGR1)基因进行第二代高通量测序，并建立数据库。由本课题组完成相关数据的分析挖掘。基因表达量采用 RPKM(Expected number of reads per kilobase of transcript sequence per millions base pairs sequenced)值表示，RPKM 是每百万 reads(测序片段数据)中来自某一基因每千碱基长度的 reads 数目，其同时考虑了测序深度和基因长度对 reads 计数的影响，是目前最为常用的基因表达水平估算方法^[13]。

1.8 ELISA 法检测大鼠血清中褪黑素的含量 取大鼠血液，以 $3\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min，收集血清；严格按大鼠血清褪黑素 ELISA 试剂盒说明书操作，检测各样品血清中褪黑素的含量。

1.9 高效液相色谱法检测大鼠脑匀浆中 GABA 的含量

1.9.1 样品溶液的制备 取大鼠脑组织与甲醇按 1:4 ($m:V$)匀浆，离心沉淀，取上清液再用乙腈以 $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min 沉淀，除去蛋白，保留上清即为样品溶液。

1.9.2 标准品溶液的配制 精密称取 GABA 标准品

10 mg，置于 10 mL 容量瓶中，用甲醇：水=1:1 ($V:V$)溶解并稀释至刻度，配制成浓度为 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的储备液。

1.9.3 进样前衍生化 各取标准品及样品溶液 80 μL ，加入 $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸钠溶液 40 μL ，再加入 0.5% DNFB 溶液 20 μL ，混匀，暗中 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴衍生 60 min，即可用于进样。

1.9.4 色谱条件 色谱柱：Agilent TC-C₁₈ (5 μm ，4.6 mm $\times$ 250 mm)；流动相 A 相为 $0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸钠缓冲液，B 相为乙腈：水=1:1 ($V:V$)；流速：1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ；柱温： $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ；进样量：30 μL 。样品检测流动相采用梯度洗脱(1~5 min，10% B；5~18 min，10%~95% B；18~19 min，95%~10% B；19~25 min，10% B)，检测波长：320 nm。

1.9.5 制作标准曲线 取标准品储备液，用甲醇：水=1:1 ($V:V$)稀释成 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 至 $7.812\,5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 8 个梯度浓度，衍生化后各取 30 μL 进样，按照上述色谱条件进行测定，以峰面积与标准品浓度进行线性回归，绘制标准曲线。

1.10 Western Blot 法检测 Gad67、EGR1 蛋白的表达 取大鼠下丘脑组织进行匀浆，加入适量裂解液(RIPA：PMSF=100:1)，冰上裂解 30 min，超声 5 min，离心($12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，15 min)取上清；BCA 蛋白定量，将样品浓度调整一致后，煮沸变性。蛋白上样 30 μg ，于 10%分离胶中电泳(条件：80 V，30 min；120 V，60 min)；湿转(条件：300 mA，80 min)于 PVDF 膜上。所有抗体用 5%BSA 稀释，比例参照说明书。室温封闭 2 h 后，一抗 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜或者室温孵育 2 h；TBST 洗脱 5 min $\times$ 6 次，加入二抗室温孵育 1 h；TBST 洗脱 5 min $\times$ 6 次后，采用 ECL 化学发光工作液配合天能全自动化学发光图像分析仪曝光条带。采用 ImageJ 图像分析软件分析各组蛋白条带灰度值后，进行半定量分析。以正常组的蛋白表达量为 1，计算模型组与熟地黄组的蛋白相对表达量。

1.11 统计学处理方法 采用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析，计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示；多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)，两两比较用 LSD 检验；以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 熟地黄对阴虚模型大鼠一般情况的影响 结果见表 1。与正常组比较，模型组大鼠体质量明显下

降,饮水量以及活跃度明显上升,差异均有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,熟地黄组大鼠体质量明显升高,饮水量以及活跃度明显下降,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结果表明,耗阴复方灌胃可以造成大鼠消瘦、口渴、烦躁以及尿黄便干、毛发干枯等阴虚症状,而熟地黄可以缓解上述症状。

表 1 熟地黄对阴虚模型大鼠体质量、饮水量、活跃度的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effects of Rehmanniae radix praeparata on body weight, water intake and activity of *yin* deficiency rats($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	体质量/g	每日饮水量/mL	活跃度
正常组	-	213 ± 17	29.75 ± 1.08	7.61 ± 0.57
模型组	30	184 ± 21 [*]	39.33 ± 1.75 [*]	8.12 ± 0.38 [*]
熟地黄组	30	196 ± 19 [#]	35.92 ± 1.86 [#]	7.62 ± 0.64 [#]

注:与正常组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$

2.2 熟地黄对阴虚模型大鼠下丘脑基因表达差异的影响 结果见表 2。与正常组比较,模型组大鼠的 TRH、CRH 基因表达量明显升高, Gad67、EGR1 基因的表表达量明显下降,差异均有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较,熟地黄组大鼠的 TRH、CRH 基因表达量明显降低, Gad67、EGR1 基因的表表达量明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。结果表明,阴虚模型大鼠下丘脑-垂体-甲状腺轴、下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的功能出现了亢奋,而熟地黄可以有效缓解该状态。

表 2 高通量检测阴虚相关差异基因表达量(RPKM 值, $n=3$)

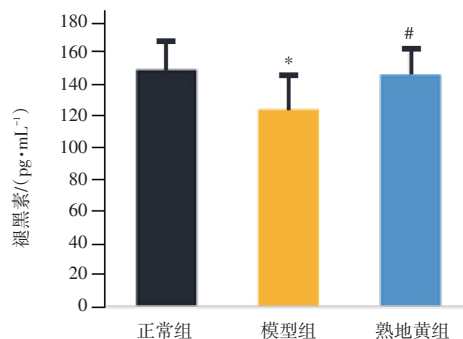
Table 2 High throughput detection of differentially expressed genes related to *yin* deficiency(RPKM value, $n=3$)

基因名称	正常组	模型组	熟地黄组
促甲状腺激素释放激素(TRH)	50.38	71.27 [*]	0.55 ^{##}
促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)	3.33	7.67 [*]	5.76 [#]
谷氨酸脱羧酶 1(Gad67)	83.07	49.96 ^{**}	77.34 ^{##}
早期生长因子 1(EGR1)	24.73	12.44 ^{**}	25.20 ^{##}

注:与正常组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

2.3 熟地黄对阴虚模型大鼠血清褪黑素含量的影响

结果见图 1。与正常组比较,模型组大鼠的血清褪黑素含量明显下降,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,熟地黄组大鼠的血清褪黑素含量明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。结果表明,阴虚模型大鼠的褪黑素表达量降低,而熟地黄能够明显上调褪黑素的表达。



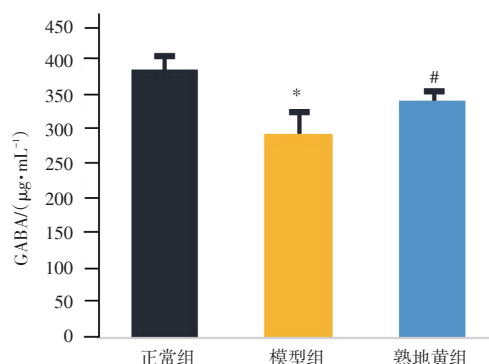
注:与正常组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$

图 1 熟地黄对阴虚模型大鼠血清褪黑素含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Figure 1 Effect of Rehmanniae radix praeparata on serum melatonin content in *yin* deficiency rats($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

2.4 熟地黄对阴虚模型大鼠脑内 GABA 含量的影响

通过绘制标准曲线得到 GABA 线性回归方程: $Y=44\ 528X$, $R^2=0.993\ 6$;根据峰面积计算 GABA 含量,结果见图 2。与正常组比较,模型组大鼠的脑内 GABA 含量明显下降,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,熟地黄组大鼠的脑内 GABA 含量明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。结果表明,阴虚模型大鼠脑内抑制性神经递质 GABA 的表达量明显降低,而熟地黄能够上调其脑内 GABA 的表达。



注:与正常组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$

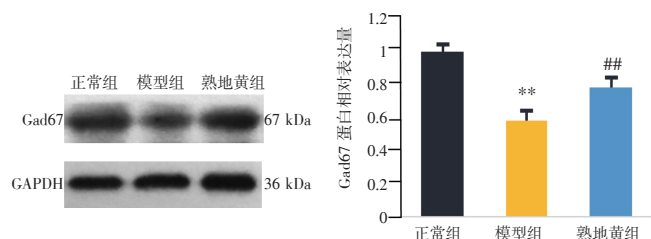
图 2 熟地黄对阴虚模型大鼠脑内氨基丁酸(GABA)含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Figure 2 Effect of Rehmanniae radix praeparata on GABA content in brain of *yin* deficiency rats($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

2.5 熟地黄对阴虚模型大鼠下丘脑中 Gad67、EGR1 蛋白表达水平的影响

结果见图 3、图 4。与正常组比较,模型组大鼠下丘脑中的 Gad67、EGR1 蛋白表达量明显降低,差异均有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较,熟地黄组大鼠下丘脑中的 Gad67、EGR1 蛋白表达量明显升高,差异均有统计学意义($P<$

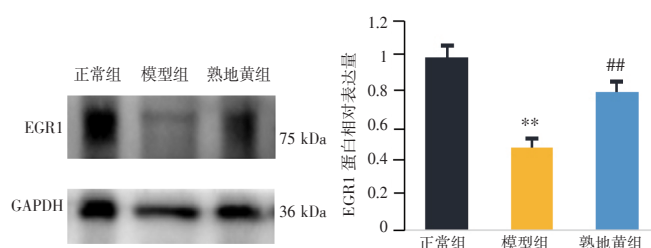
0.01)。结果表明, 熟地黄可以上调 GABA 合成酶 Gad67 及其转录因子 EGR1 的蛋白表达水平。



注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ## $P < 0.01$

图 3 熟地黄对阴虚模型大鼠下丘脑中 Gad67 蛋白表达水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Figure 3 Effect of Rehmanniae radix praeparata on expression of Gad67 protein in hypothalamus of yin deficiency rats($\bar{x} \pm s$, $n=6$)



注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ## $P < 0.01$

图 4 熟地黄对阴虚模型大鼠下丘脑中 EGR1 蛋白表达水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Figure 4 Effect of Rehmanniae radix praeparata on EGR1 protein expression in hypothalamus of yin deficiency rats($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

3 讨论

阴虚导致人体“阴”的宁静功能降低, 引起内分泌轴的功能紊乱, 使人产生发热、烦躁、焦虑等症状, 如不及时干预, 会影响到人们的生活质量及工作状态。阴虚在生活压力大的人群如大学生、上班族中的发生率稳定上升^[14], 并且年轻化的趋势明显, 处于 15~35 岁之间的人群, 其发生阴虚的比例较其他年龄段明显提高^[15]。

根据《内经》中阴阳相互制约对抗的观点, 给予动物喂食辛温燥烈之药, 由于“阳胜则阴病”“火热灼津, 营阴暗耗”, 导致实验动物“阴”的亏虚, 从而造成阴虚模型。本实验所用耗阴复方中以附子-干姜药对及肉桂大热温阳, 又用苍术、草豆蔻温中燥湿, 更以泽泻利尿行水。该复方并非单一因素的温阳或燥湿, 而是在中医理论的指导下, 更全面地造成阴虚大鼠模型。通过大鼠体质量、饮水量、旷场行为学以及促甲状腺激素释放激素(TRH)、促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)的基因表达等指标, 表明

本研究所用耗阴复方可切实造成大鼠阴虚模型。

褪黑素是一种广谱的生理调节激素, 通过广泛分布于体内的褪黑素受体, 影响人体各系统功能。 γ -氨基丁酸(GABA)是目前已知的 60 多种作为神经递质的化学物质之一, 是最普通的脑内抑制性递质, 全脑 1/3 的突触以 GABA 作为递质。对 GABA 敏感的神经元特别集中于丘脑、下丘脑和枕叶皮层等脑结构中。其作用是降低神经元活性, 防止神经细胞过热。目前已有研究^[16-17]表明, 褪黑素及 GABA 对内分泌系统下丘脑-垂体-甲状腺轴、下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴具有抑制作用。本研究结果表明, 阴虚模型大鼠的血清褪黑素及脑内 GABA 含量明显降低, 表明其可能是“阴”之宁静功能的物质基础之一。阴虚证发生时, 褪黑素与 GABA 含量降低, 导致下丘脑-垂体-甲状腺轴、下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴功能出现亢奋, 进而使患者产生潮热、躁动、不安等症状。本研究还发现, 熟地黄可以上调阴虚模型大鼠体内的褪黑素与 GABA 的表达, 这可能是其发挥滋阴宁静作用的机制之一。

谷氨酸脱羧酶(Gad)在大脑中广泛存在, 其不仅对合成 GABA 的过程产生调控, 而且其活性水平还直接决定了脑内 GABA 的含量水平, 是 GABA 含量最直接的标志物与特异酶^[16]。Gad 包含 2 个不同亚种, 分别是 Gad65 和 Gad67。已经有大量的研究^[17]表明, Gad65 和 Gad67 在中枢神经系统内的分布和功能是不尽相同的, 其中 Gad65 与惊厥、焦虑等神经性疾病相关, 而 Gad67 的主要作用可能是合成 GABA。EGR1 是一种参与神经元反应的转录因子, 已有研究^[18]证明, EGR1 可以与 Gad67 启动子区域结合, 提高 GAD67 基因的表达。本研究结果表明, 熟地黄可上调大鼠脑内 EGR1、Gad67 蛋白的表达, 这可能是其提高机体 GABA 水平的机制之一。

综上所述, 阴虚可引起体内褪黑素与 GABA 水平下降, 导致内分泌轴的功能亢进, 而中药熟地黄可能通过提高体内褪黑素及 GABA 水平, 发挥其滋阴宁静的作用。

参考文献:

- [1] TSIGOSA C, CHROUSOS P G. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress[J]. Journal of Psychosomatic Research, 2002, 53(4): 865-871.
- [2] 蒋倩, 李锋涛, 钱大玮, 等. 麋鹿角不同部位对肾阳虚证大鼠的作用[J]. 中药药理与临床, 2014, 30(6): 84-86.

- [3] 郑小伟, 包素珍, 刘明哲, 等. 金匱腎氣丸对肾阳虚大鼠垂体 ACTH 基因表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(3): 238-240.
- [4] CASTRIOTO A, KISTNER A, KLINGER H, et al. Psychostimulant effect of levodopa: reversing sensitisation is possible[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2013, 84(1): 18-22.
- [5] KOWAL C, DIAMOND B. Aspects of CNS lupus: mouse models of anti-NMDA receptor antibody mediated reactivity[J]. Methods Mol Biol, 2012, 900: 181-206.
- [6] IJIMA M, FUKUMOTO K, CHAKI S. Acute and sustained effects of a metabotropic Glutamate5 receptor antagonist in the novelty-suppressed feeding test[J]. Behav Brain Res, 2012, 235(2): 287-292.
- [7] 徐峰, 李经才, 马弛琛, 等. 松果腺对血清皮质酮的影响及其作用部位分析[J]. 沈阳药科大学学报, 1995, 12(3): 204-208.
- [8] SOSZYNSKI P. Decreased melatonin concentration in Cushing's syndrome[J]. Horm Metab Res, 1989, 21(12): 673-674.
- [9] OZTURK G. The effect of melatonin on liver superoxide dismutase activity, serum nitrate and thyroid hormone levels[J]. Jpn J Physiol, 2000, 50(1): 149-53.
- [10] WRIGHT M L. Direct influence of melatonin on the thyroid and comparison with prolactin[J]. J Exp Zool, 2000, 286(6): 625-631.
- [11] WRIGHT M L. Effect of melatonin on the response of the thyroid to thyrotropin stimulation *in vitro*[J]. Gen Comp Endocrinol, 1997, 108(2): 298-305.
- [12] 史莹, 过建春, 荀运浩. 阴虚证动物模型的建立方法及造模思路评析[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(3): 725-727.
- [13] 高原, 王翌霞, 张亮, 等. 转录组测序深度对表达基因检出及表达量估计的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2014, 29(5): 642-647.
- [14] 于洪洁, 王勇, 杨丽萍. 阳虚、阴虚体质在大学生中的流行病学调查[J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(4): 619-621.
- [15] 王琦, 朱燕波. 中国一般人群中中医体质流行病学调查—基于全国9省市21 948例流行病学调查数据[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(1): 7-12.
- [16] TAMAMAKI N, YANAGAWA Y, TOMIOKE R, et al. Green fluorescent protein expression and colocalization with calretinin, parvalbumin and somatostatin in the GAD67-GFP knock in mouse[J]. Comp Neurol, 2003, 467: 60-79.
- [17] WOODRUFF A R, MONYER H, SAH P. GABAergic excitation in the basolateral amygdala[J]. J Neurosci, 2006, 26: 11881-11887.
- [18] LUO Y, LATHIA J, MUGHAL M, et al. Sdf1alpha/excr4 signaling, via ERKs and the transcription factor egr1, induces expression of a 67-kDa form of glutamic acid decarboxylase in embryonic hippocampal neurons[J]. J Biol Chem, 2008, 283(36): 24789-800.

(编辑: 邹元平)

《中药新药与临床药理》“临床研究”栏目2021年扩大征稿

为更全面地反映中医药学术研究成果, 打造高质量的中医药学术交流平台, 优化杂志学科内容结构及满足作者的需求, 本刊从2021年起加强对临床中药研究科研成果的报道。栏目论文基本要求:

1. 研究对象: 中药新药(各期临床研究)、新上市后的中药制剂、医院中药制剂及已有一定研究基础的中药汤剂等。
2. 研究类型: 临床随机对照试验。

投稿网站: www.zyxy.com.cn。本刊只接受稿件采编系统投稿, 不接收纸质和Email投稿, 系统投稿不收取审稿费。

入选核心期刊情况: 本刊为中国中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库来源期刊(CSCD)及RCCSE中国核心学术期刊。