

二精丸对去卵巢+D-半乳糖联合 $A\beta_{1-40}$ 致肾阴虚 AD 大鼠海马多巴胺神经功能的影响

黄丽萍¹, 邱小鹏¹, 杨喜洋¹, 严斐霞¹, 燕波¹, 官扬¹, 谢永艳¹, 孙梦盛¹, 周茂福¹, 陈耀辉²(1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004; 2. 江西省人民医院, 江西 南昌 330006)

摘要: **目的** 探讨二精丸对去卵巢+D-半乳糖联合 β -淀粉样蛋白₁₋₄₀($A\beta_{1-40}$)致肾阴虚阿尔茨海默病(AD)大鼠海马多巴胺神经功能的影响。**方法** 将 56 只雌性 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、二精丸高剂量组($9.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、二精丸中剂量组($4.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、二精丸低剂量组($2.25\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。造模大鼠在卵巢摘除手术 1 周后, 腹腔注射 D-半乳糖($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 每日 1 次, 持续 7 周; 卵巢摘除手术 4 周后, 双侧海马注射 $A\beta_{1-40}$ 建立肾阴虚 AD 大鼠模型。卵巢摘除手术 5 周后, 各组按照相应剂量开始灌胃给药, 模型组与假手术组灌胃等量生理盐水, 给药容量为 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$, 每日 1 次, 连续 30 d。末次给药 1 h 后断头取海马组织, 采用 ELISA 法检测大鼠海马组织多巴胺(DA)水平, 采用免疫组化法检测大鼠海马 CA1 区多巴胺 D1 受体、酪氨酸羟化酶(TH)的表达情况。**结果** 与假手术组比较, 模型组大鼠的海马组织 DA 水平显著降低($P<0.01$), 海马 CA1 区多巴胺 D1 受体及 TH 表达明显下调($P<0.01$)。与模型组比较, 二精丸高剂量组大鼠的海马组织 DA 水平明显升高($P<0.01$); 二精丸各剂量组大鼠海马 CA1 区的 D1 受体表达明显上调($P<0.05$, $P<0.01$); 二精丸高、中剂量组大鼠海马 CA1 区的 TH 表达明显上调($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 二精丸能够提高海马组织的 DA 水平, 上调海马组织的多巴胺 D1 受体及 TH 表达, 促进去卵巢+D-半乳糖联合 $A\beta_{1-40}$ 致肾阴虚 AD 大鼠的海马多巴胺神经功能。**关键词:** 二精丸; 阿尔茨海默病; 肾阴虚; 去卵巢; D-半乳糖; $A\beta_{1-40}$; 多巴胺神经功能; 多巴胺 D1 受体; 酪氨酸羟化酶; 大鼠

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2021)04-0479-05

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.04.005

Effect of *Erjing* Pill on Hippocampal Dopaminergic Function in AD Rats with Kidney Yin Deficiency Induced by Ovariectomy + D-galactose Combined with $A\beta_{1-40}$

HUANG Liping¹, QIU Xiaopeng¹, YANG Xiyang¹, YAN Feixia¹, YAN Bo¹, GUAN Yang¹, XIE Yongyan¹, SUN Mengsheng¹, ZHOU Maofu¹, CHEN Yaohui² (1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004 Jiangxi, China; 2. Jiangxi Provincial People's Hospital, Nanchang 330006 Jiangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of *Erjing* pill on hippocampal dopaminergic nerve function of Alzheimer's disease (AD) rats with kidney yin deficiency induced by ovariectomy + D-galactose combined with amyloid β_{1-40} ($A\beta_{1-40}$). **Methods** Fifty-six female SD rats were grouped according to a random number table, namely Sham operation group, model group, *Erjing* pill high dose group($9.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), *Erjing* pill medium dose group($4.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and *Erjing* pill low dose group($2.25\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$). One week after ovariectomy, the rats were intraperitoneally injected with D-galactose daily for 7 weeks; and then bilateral hippocampus was injected with $A\beta_{1-40}$ 4 weeks after ovariectomy to establish kidney yin deficiency AD rat model. Rats in the Sham operation group and model group were given normal saline by gavage, and the high, medium and low dose groups of *Erjing* pills were given suspensions of

收稿日期: 2020-05-27

作者简介: 黄丽萍, 女, 博士, 教授, 研究方向: 中药神经药理学研究。Email: jxnchlp@163.com。通信作者: 陈耀辉, 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 肾病临床与实验研究。Email: yhchendoc@163.com。

基金项目: 江西省主要学科学术和技术带头人资助项目(20182BCB22005); 江西省自然科学基金项目(20171BAB205083); 江西省卫计委中医药科研计划项目(2016A023)。

Erjing pill by gavage, $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, once a day for 30 days from the 6th week after ovariectomy. One hour after the last administration, the hippocampus was decapitated and the dopamine (DA) content in the hippocampus was determined by ELISA. The expression levels of dopamine D1 receptor and tyrosine hydroxylase (TH) in hippocampus were determined by immunohistochemistry. **Results** Compared with the Sham operation group, the DA level, the number of D1 receptor and TH positive cells in the model group were significantly reduced ($P < 0.01$). Compared with the model group, the high dose group of *Erjing* pill can significantly increase the DA level in the hippocampus of AD rats ($P < 0.01$); the high, medium and low dose groups of *Erjing* pill can increase the numbers of D1 positive cells ($P < 0.05$, $P < 0.01$); and the high and medium dose groups of *Erjing* pill can significantly increase the numbers of TH positive cells in CA area of the hippocampus of AD rats ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** *Erjing* pill may improve the learning and memory abilities of AD rats with kidney *yin* deficiency resulted from ovariectomy + D-galactose combined with $\text{A}\beta_{1-40}$ by increasing the contents of hippocampus TH and DA, increasing the number of D1-positive cells and up-regulating the hippocampal dopaminergic function to prevent and treat AD.

Keywords: *Erjing* pill; Alzheimer's disease; kidney *yin* deficiency; ovariectomy; D-galactose; $\text{A}\beta_{1-40}$; dopaminergic function; dopamine D1 receptor; tyrosine hydroxylase; rats

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是常见的以进行性记忆丧失和认知能力下降为特征的神经退行性疾病。AD 的病理学特征包括细胞内超磷酸化的 Tau 蛋白构成神经原纤维缠结, 细胞外 β -淀粉样蛋白 ($\text{A}\beta$) 沉积所致的老年斑, 以及不同大脑区域的神经元丢失^[1-2]。随着全球社会老龄化程度的加重, AD 的发病率呈逐年上升的趋势^[3], 研究和开发有效的 AD 防治药物已成为当前医药界研究的热点。

研究^[4]发现, AD 的发生发展与雌激素水平低下密切相关, 女性绝经后 AD 的发病率是同龄男性的 1.5~3 倍。中医学认为“肾主智, 肾虚则智不足”。随着年龄增加, 女性体内肾气日衰, 天癸将竭, 脑髓失养, 易发为痴呆。二精丸由黄精、枸杞子 2 味中药组成, 具有滋肾养阴益智的功效。现代药理研究^[5-9]表明, 二精丸或组成二精丸的单味中药黄精、枸杞均有具有改善学习记忆、防治 AD 的作用; 二精丸可提高长期应激刺激法、甲状腺素+利血平法、去卵巢+D-半乳糖联合 $\text{A}\beta_{1-40}$ 致肾阴虚 AD 模型大鼠的学习记忆能力, 改善其痴呆症状, 但其作用机制尚不清楚。近年来研究^[10]发现, 脑内多巴胺神经通路与 AD 发病机制有关, 有望成为治疗 AD 的新靶点。因此, 本研究拟采用前期已建立的去卵巢+D-半乳糖联合 $\text{A}\beta_{1-40}$ 致肾阴虚 AD 大鼠模型^[9], 观察二精丸对其海马多巴胺神经功能的影响, 以期为临床应用二精丸防治 AD 的研究提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物 雌性 SD 大鼠 56 只, SPF 级, 体质量

220~250 g, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 动物生产许可证号: SCXK(湘)2016-0002, 动物质量合格证号: 43004700028052, 动物使用许可证号: SYXK(赣)2014-0008。

1.2 药物及试剂 多花黄精、枸杞, 购于亳州市中信中药饮片厂, 经江西中医药大学刘勇副教授鉴定为正品。 $\text{A}\beta_{1-40}$ (批号: MR0646, 用无菌生理盐水稀释成 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 37°C 孵育 7 d, 4°C 冰箱保存)、D-半乳糖 (批号: WXBC3457V), 均购于美国 Sigma 公司; Anti-Tyrosine Hydroxylase antibody (批号: GR328037-2)、Anti-Dopamine Receptor D1 antibody (批号: GR311805-1), 均购于英国 Abcam 公司; Rat dopamine (DA) ELISA Kit (批号: AD20180516), 购于美国 Andygene 公司。

1.3 主要仪器 ZH-蓝星 B 型脑立体定位仪、ZH-RXZ 型柔性颅骨钻, 安徽正华生物仪器设备有限公司; AE-240 型十万分之一电子天平, 瑞士梅特勒公司; FZ102 型微型植物粉碎机, 天津泰斯特仪器有限公司; RM2255 型石蜡切片机、DMI3000B 型显微镜, 德国 Lecia 公司; UV-1750 型紫外分光光度计, 日本岛津公司。

1.4 药物制备 各取黄精、枸杞 1 400 g, 加 5 倍体积的自来水浸泡 30 min 后, 煮沸, 煎煮 2 次, 第 1 次煎煮 40 min, 第 2 次煎煮 50 min, 2 次煎液滤过后合并, $80 \sim 100^\circ\text{C}$ 水浴浓缩至药液浓度为含生药量 $1.2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 于 -20°C 冰箱保存备用。

1.5 分组、模型复制及给药 雌性 SD 大鼠按体质量随机分为模型组、二精丸高剂量组 ($9.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、

二精丸中剂量组 ($4.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、二精丸低剂量组 ($2.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)，每组 11 只，另随机选取 12 只作为假手术组。

大鼠适应性喂养 1 周后，摘除动物卵巢，假手术组仅去除卵巢周围的部分脂肪，不切除卵巢。卵巢摘除手术 1 周后，大鼠腹腔注射 D-半乳糖 ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)，每日 1 次，持续 7 周。卵巢摘除手术 4 周后，大鼠双侧海马注射 $\text{A}\beta_{1-40}$ ，假手术组注射等量生理盐水。 $\text{A}\beta_{1-40}$ 注射方法：大鼠以 10% 水合氯醛 ($4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) 腹腔注射麻醉，固定于立体定位仪。消毒皮肤并切开，牙科钻钻开颅骨，暴露硬脑膜，在海马齿状回背侧缓慢注入 $5 \mu\text{L}$ 的凝聚状态的 $\text{A}\beta_{1-40}$ ，注射速度为 $1 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ ，5 min 注射完毕，留针 2 min，缓慢撤针。缝合创口，消毒，术后自由饲养 1 周。

卵巢摘除手术 5 周后，各组按照相应剂量开始灌胃给药，模型组与假手术组灌胃等量生理盐水，给药容量为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，每日 1 次，连续 30 d。

1.6 取材及处理 末次给药 1 h 后，以 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠，剪开胸腔，暴露心脏，以 PBS 和 4% 多聚甲醛灌注，待肝脏变硬、四肢僵硬即可停止灌注。将一侧脑组织于液氮冻存，用于 ELISA Kit 检测；另一侧脑组织以 10% 中性甲醛固定 24 h，自来水冲洗过夜；次日酒精梯度脱水，二甲苯透明，石蜡包埋。切片前于 -20°C 预冷，经过切片、摊片等步骤后，将切片置于切片架上晾干，待用。

1.7 ELISA 法检测大鼠海马组织多巴胺(DA)水平 按照 ELISA Kit 说明书步骤操作，测定 AD 大鼠海马组织的 DA 水平。

1.8 免疫组化法检测大鼠海马 CA1 区多巴胺 D1 受体、酪氨酸羟化酶(TH)的表达 取大鼠脑组织，常规石蜡包埋，切片，于 60°C 烘箱中烤片 2 h；切片常规脱蜡至水；高温高压法修复抗原：将切片浸入柠檬酸缓冲液中高温高压修复 7 min，自然冷却至室温，PBS 漂洗 3 次，每次 3 min；内源性过氧化物酶室温封闭 15 min；PBS 淋洗 2 次，每次 3 min；羊血清工作液室温封闭 15 min；甩干后，滴加一抗工作液， 4°C 孵育过夜；PBS 漂洗 3 次，每次 15 min；生物素标记羊抗兔二抗工作液室温孵育 15 min；PBS 充分淋洗后，以 DAB 工作液显色 10 min；水洗终止显色；复染、透明后封片。在 $\times 200$ 显微镜视野下观察海马 CA1 区 D1 受体和 TH 的阳性细胞的表达情况，并对压 CA1 区边线的细胞采取取上不取下的计数方法统计其阳性细胞数。

1.9 统计学处理方法 采用 SPSS 17.0 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)，两两比较采用 LSD 检验；以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 二精丸对肾阴虚 AD 大鼠海马组织 DA 含量的影响

结果见表 1。与假手术组比较，模型组大鼠的海马组织 DA 水平显著降低，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。与模型组比较，二精丸高剂量组大鼠的海马组织 DA 水平明显升高，差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。结果表明，二精丸能提高肾阴虚 AD 大鼠海马组织的 DA 含量。

表 1 二精丸对肾阴虚 AD 大鼠海马组织多巴胺(DA)含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of *Erjing* pill on the content of DA in hippocampus of AD rats with kidney yin deficiency ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数/只	剂量/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	DA/($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
假手术组	11	—	324.76 ± 77.22
模型组	10	—	$138.05 \pm 22.91^{**}$
二精丸高剂量组	10	9.00	$220.28 \pm 72.21^{**}$
二精丸中剂量组	11	4.50	193.12 ± 58.66
二精丸低剂量组	11	2.25	188.28 ± 49.13

注：与假手术组比较， $^{**}P < 0.01$ ；与模型组比较， $^{**}P < 0.01$

2.2 二精丸对肾阴虚 AD 大鼠海马组织多巴胺 D1 受体表达的影响

结果见图 1、表 2。假手术组大鼠海马 CA1 区细胞层次清晰，细胞排列整齐、无破损，D1 受体阳性细胞表达多，细胞着色深。与假手术组比较，模型组大鼠海马 CA1 区 D1 受体阳性细胞数量显著减少 ($P < 0.01$)，胞浆和突起着色较浅；与模型组比较，二精丸各剂量组大鼠海马 CA1 区 D1 受体阳性细胞数量明显增多 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，细胞着色加深。结果表明，二精丸能够提高肾阴虚 AD 大鼠海马组织的多巴胺 D1 受体的表达量。

2.3 二精丸对肾阴虚 AD 大鼠海马组织 TH 表达的影响

结果见表 3、图 2。与假手术组比较，模型组大鼠海马 CA1 区的 TH 阳性细胞排列不整齐，数量显著减少 ($P < 0.01$)。与模型组比较，二精丸高、中剂量组大鼠海马 CA1 区的 TH 阳性细胞数量明显增多 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，细胞形态规则，着色加深。结果表明，二精丸能够提高肾阴虚 AD 大鼠海马组织的 TH 表达量。

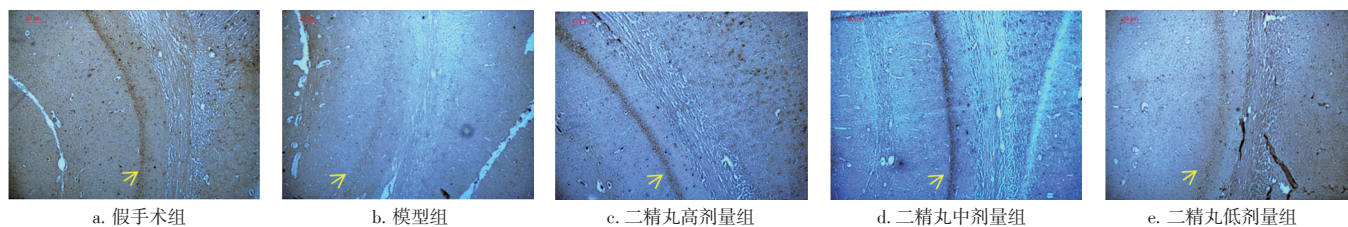


图1 二精丸对肾阴虚 AD 大鼠海马 CA1 区多巴胺 D1 受体表达的影响(免疫组化, $\times 200$)

Figure 1 Effect of *Erjing* pill on the expression of D1 receptor in hippocampal CA1 region of AD rats with kidney yin deficiency (IHC, $\times 200$)

表2 二精丸对肾阴虚 AD 大鼠海马 CA1 区多巴胺 D1 受体表达的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of *Erjing* pill on the expression of D1 receptor in hippocampal CA1 region of AD rats with kidney yin deficiency ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	阳性细胞数/个
假手术组	11	—	88.25 ± 2.50
模型组	10	—	44.60 ± 11.78 ^{##}
二精丸高剂量组	10	9.00	85.00 ± 12.69 ^{**}
二精丸中剂量组	11	4.50	63.33 ± 2.08 ^{**}
二精丸低剂量组	11	2.25	60.00 ± 4.36 [*]

注: 与假手术组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

表3 二精丸对肾阴虚 AD 大鼠海马 CA1 区酪氨酸羟化酶表达的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of *Erjing* pill on the expression of tyrosine hydroxylase in hippocampal CA1 region of AD rats with kidney yin deficiency ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数/只	剂量/(g·kg ⁻¹)	阳性细胞数/个
假手术组	11	—	94.67 ± 4.16
模型组	10	—	49.25 ± 2.87 ^{##}
二精丸高剂量组	10	9.00	73.60 ± 6.58 ^{**}
二精丸中剂量组	11	4.50	64.75 ± 3.86 [*]
二精丸低剂量组	11	2.25	56.75 ± 0.50

注: 与假手术组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$

3 讨论

多巴胺(DA)是哺乳动物大脑中一种重要的儿茶酚胺类神经递质, 主要分布于前额叶皮质、海马、纹状体、伏隔核、杏仁核、中脑、下丘脑、延髓等部位, 参与机体运动、学习记忆、内分泌调节以及调控突触可塑性等。多巴胺受体在中枢神经系统分为2类, 即D1样受体(包含D1和D5受体)和D2样受体(包含D2、D3和D4受体)^[11]。D1受体是体内分布最广泛、数目最多的突触后受体, 主要分布于尾壳核、伏隔核、视束、脑皮层和杏仁核^[12], DA通过D1受体调控前额叶皮层神经元的活动和工作记忆过程, D1受体缺乏会导致大鼠空间学习障碍^[13]。激活D1受体能够保护海马神经元免受A β 低聚物所致的突触功能障碍, 并且在特定的情况下, 激活D1受体可使海马CA1区的长时程增强, 改善大鼠的空间学习记忆能力^[9, 14]。酪氨酸羟化酶(TH)作为催化L-酪氨酸转变为左旋多巴并进一步转化为DA的重要催化酶, TH在DA系统中起着重要的作用。总之, 多巴胺受体与中枢神经系统疾病如阿尔茨海默病(AD)关系密切, 已经成为防治AD的重要靶点^[15]。

雌激素不仅具有生殖调控作用, 对中枢多巴胺系统也有调节作用。研究^[16]表明, 与正常雌鼠相比, 去卵巢雌鼠的TH细胞数量下降了28.09%, 说明雌激素的含量高低与TH细胞数量有一定的关联。雌激素水平的高低与脑内DA含量密切相关, 雌激素一方面

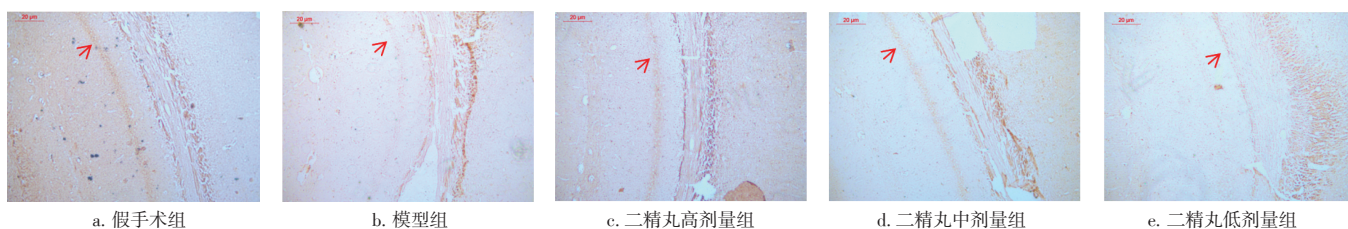


图2 二精丸对肾阴虚 AD 大鼠海马 CA1 区酪氨酸羟化酶表达的影响(免疫组化, $\times 200$)

Figure 2 Effect of *Erjing* pill on the expression of tyrosine hydroxylase in hippocampal CA1 region of AD rats with kidney yin deficiency (IHC, $\times 200$)

可通过降低甲基转移酶(COMT)的转录,减少 DA 分解,进而增加 DA 水平;另一方面,雌激素可直接作用于纹状体,调节 DA 的产生与释放^[17]。

本课题组前期建立了去卵巢法+D-半乳糖联合海马注射 $A\beta_{1-40}$ 致肾阴虚 AD 大鼠模型^[9],该模型可以模拟绝经期女性雌激素水平低下,同时又表现出认知功能障碍、海马区 $A\beta$ 和 p-Tau 升高、海马区神经元损伤等病理特征。研究^[9]结果表明,二精丸可能通过上调肾阴虚 AD 大鼠脑内雌激素 β 受体(ER β)表达和雌激素水平,减少脑内 $A\beta$ 淀粉样蛋白的沉积,抑制 Tau 蛋白的过度磷酸化,进而维持海马神经元细胞形态,减少海马神经元细胞凋亡,从而改善 AD 大鼠的学习记忆能力及认知功能障碍。本研究进一步发现,该模型大鼠脑内的 DA 水平明显下降,D1 和 TH 阳性细胞数量明显减少,提示该肾阴虚 AD 大鼠模型亦可能会引起脑内多巴胺功能的下调;与模型组相比,二精丸能够提高肾阴虚 AD 大鼠海马组织的多巴胺 D1 受体及 TH 的表达量,提高海马组织的 DA 水平。提示二精丸对脑内多巴胺神经功能有较好的促进作用,其作用可能与能提高大鼠雌激素水平和脑内雌激素表达有关^[9]。

综上所述,二精丸可能通过增加脑内雌激素受体的表达,提高海马组织的 DA 水平,上调海马组织的多巴胺 D1 受体及 TH 表达,促进海马组织多巴胺神经功能,促进脑内神经突触间传递,从而改善去卵巢法+D-半乳糖联合海马注射 $A\beta_{1-40}$ 致肾阴虚 AD 模型大鼠的学习记忆能力和病理损伤,发挥防治 AD 的药理作用。

参考文献:

- [1] GRAHAM W V, BONITO-OLIVA A, SAKMAR T P. Update on Alzheimer's disease therapy and prevention strategies[J]. *Annu Rev Med*, 2017, 68: 413-430.
- [2] 李林. 中国阿尔茨海默病研究进展[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2015, 29(5): 765-783.
- [3] HICKMAN R A, FAUSTIN A, WISNIESKI T. Alzheimer disease and its growing epidemic: risk factors, biomarkers, and the urgent need for therapeutics[J]. *Neurol Clin*, 2016, 34(4): 941-953.
- [4] ROSARIO E R, CARROLL D C, PIKE C J, et al. Protective actions of sex steroid hormones in Alzheimer's disease[J]. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 2009, 30(2): 239-258.
- [5] 许小强, 黄敬耀, 赵涛, 等. 二精丸总多糖抗长期应激大鼠学习记忆障碍的作用机制[J]. *江西中医学院学报*, 2007, 19(4): 54-57.
- [6] 许小强, 黄敬耀, 罗荣, 等. 二精丸有效部位对肾阴虚模型大鼠学习记忆障碍的影响及其分子机制[J]. *中草药*, 2007, 38(4): 564-569.
- [7] 黄敬耀, 涂秀英, 楼兰英, 等. 二精灵抗衰老作用的药理实验研究[J]. *中国中药杂志*, 1998, 23(12): 748-749.
- [8] 黄敬耀, 周瑾, 魏海, 等. 复方二精灵抗老年性痴呆的药理实验研究[J]. *江西医学院学报*, 2001, 41(2): 53-56.
- [9] 陈耀辉, 燕波, 官扬, 等. 二精丸对去卵巢+D-半乳糖联合 $A\beta_{1-40}$ 致肾阴虚 AD 大鼠学习记忆能力的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2019, 30(12): 1417-1423.
- [10] JURGENSEN S, ANTONIO L L, MUSSI G E, et al. Activation of D1/D5 dopamine receptors protects neurons from synapse dysfunction induced by amyloid- β oligomers[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(5): 3270-3276.
- [11] 鞠平, 王冬梅, 李勇辉, 等. 中脑多巴胺神经元位相性兴奋与行为强化[J]. *生理科学进展*, 2006, 37(1): 71-74.
- [12] 徐蕾, 张雪寒. 多巴胺 D1、D2 受体在大鼠前扣带皮层钙结合蛋白阳性中间神经元的分布[J]. *生理学报*, 2015, 67(2): 163-172.
- [13] TANG T S, BEZPROZVANNY I. Dopamine receptor-mediated Ca^{2+} signaling in striatal medium spiny neurons[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(40): 42082-42094.
- [14] 唐李娟, 张宗泽, 陈婷, 等. 多巴胺及其受体与学习记忆的研究进展[J]. *国际精神病学杂志*, 2018, 45(5): 813-815.
- [15] CADER J L, JAYANTHI S, MCCOY M T, et al. Dopamine D1 receptors, regulation of gene expression in the brain, and neurodegeneration[J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2010, 9(5): 526-538.
- [16] 马元怡. 雌激素对大鼠黑质多巴胺能神经元保护作用的实验研究[D]. 昆明: 昆明医学院, 2006.
- [17] LAZZARI V M, ZIMMERMANN-PERUZATTO J M, AGNES G, et al. Hippocampal gene expression patterns in oxytocin male knockout mice are related to impaired social interaction[J]. *Behavioural Brain Research*, 2019, 364(17): 464-468.

(编辑: 邹元平)