

当归拈痛汤对类风湿关节炎大鼠滑膜细胞 凋亡通路的影响

尚延春 申 晟 柴巍巍 刘云龙

(河南省洛阳正骨医院(河南省骨科医院)膝部损伤科,郑州,450000)

摘要 目的:观察当归拈痛汤对类风湿关节炎大鼠足趾关节的改变情况及探讨其对滑膜细胞凋亡通路的影响。方法:选取 50 只 Wistar 雄性大鼠,并随机分为模型组、低剂量组、中剂量组和高剂量组;除对照组外其余均建立胶原诱导的关节炎(Collagen Induced Arthritis, CIA)模型,在类风湿关节炎模型制备成功后开始给药;对照组和模型组予以 6.5 g/kg 生理盐水,低剂量组、中剂量组和高剂量组均为当归拈痛汤灌胃给药,分别给予生药 6.5 g/kg, 13.0 g/kg, 19.5 g/kg。干预时间 28 d。采用容积法测量双后肢的足趾关节肿胀度;采用足趾关节苏木精-伊红(HE)染色计算细胞凋亡数;采用免疫印迹法(Western Blotting, WB)检测 Bcl-2、PI3K、Bax 的蛋白表达情况。结果:对照组未见足趾肿胀情况,给药 1 d 模型组、低剂量组、中剂量组和高剂量组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),给药 7~28 d 各剂量给药组肿胀度均低于模型组($P < 0.05$),至 14~28 d 中、高剂量组的肿胀度显著低于低剂量组($P < 0.05$),而 28 d 高剂量组的肿胀度又明显低于中剂量组($P < 0.05$)。足趾关节 HE 染色中,对照组、模型组、低剂量组、中剂量组和高剂量组中的细胞凋亡数呈逐渐上升的趋势($P < 0.05$)。PI3K 和 Bcl-2 蛋白在模型组中表达上调,经过给药治疗,随着剂量的逐渐升高而下调($P < 0.05$);而 Bax 蛋白的表达情况则与 PI3K 相反,随着剂量的增加而上调($P < 0.05$)。结论:当归拈痛汤能有效改善类风湿关节炎大鼠足趾关节肿胀度,促进滑膜细胞的细胞凋亡数进而抑制滑膜细胞增殖的进程,而 PI3K 通路对细胞凋亡的调控起到关键的作用。

关键词 滑膜;细胞凋亡;PI3K 通路;当归拈痛汤;类风湿关节炎;大鼠;足趾肿胀度

Experimental Study on Danggui Niantong Decoction in Treating Rheumatoid Arthritis Rats Based on the Apoptotic Pathway of Synovial Cells

Shang Yanchun, Shen Sheng, Chai Weiwei, Liu Yunlong

(Department of Knee Injury, Luoyang Zhenggu Hospital of Henan Province (Henan Orthopedic Hospital),
Zhengzhou 450000, China)

Abstract Objective: To observe the changes of the toe joint of the rats with rheumatoid arthritis (RA) and the effects on the expression of the apoptotic pathway of synovial cells. **Methods:** Except the control group, a total of 50 male Wistar rats were to establish collagen induced arthritis (collagen induced, arthritis, CIA) model, and randomly divided into model group, low dose group, middle dose group and high dose group; the medicine was given after rheumatoid arthritis model was successfully established. The control group and model group were given 6.5 g/kg normal saline, and low dose group, middle dose group and high dose group were given gavage Danggui Niantong Decoction of 6.5, 13, 19.5, g/kg. The time of intervention was 28 days. The swelling degree of toe joints was measured by volumetric method, and the number of apoptotic cells was calculated by HE staining of toe joints, and the protein expression of Bcl-2, PI3K and Bax was detected by Western blotting (WB). **Results:** 1) The control group had no toe swelling, compared with the drug 1 d model group, low dose group, middle dose group and high dose groups, there were without statistically significant difference ($P > 0.05$). The administration of the first 7 d-28 d in each dosage group swelling degree was lower than the model group ($P < 0.05$). The swelling degree of the middle and high dose of 14 d-28 d was significantly lower than that in low dose group ($P < 0.05$), and the high dose of 28 d group was higher than that of the swelling degree of the middle dose group ($P < 0.05$). 2) In the HE staining of toe joints, the number of apoptotic cells in the control group, model group, low dose group, middle dose group and high dose group increased gradually ($P < 0.05$). 3) WB detection showed that the expression of PI3K and Bcl-2 in the model group was upregulated. After administration, the expression of Bax protein was decreased ($P < 0.05$), while the expression of Bax protein was opposite to that of PI3K, and increased with the increase of dose ($P < 0.05$). **Conclusion:** Danggui Niantong Decoction can effectively improve the joint swelling of rheumatoid arthritis rats, promote the apoptosis of synovial cells and inhibit the process of synovial cell proliferation, and the PI3K pathway plays a key role in the regulation of

基金项目:河南省中医药科学研究专项课题(2016ZY2088)

作者简介:尚延春(1974.06—),男,硕士研究生,副主任医师,研究方向:膝关节外科,E-mail:Springriver8@163.com

通信作者:申晟(1986.04—),男,硕士研究生,主治医师,研究方向:膝关节外科,E-mail:shensheng416@163.com

apoptosis.

Key Words Synovial membrane; Apoptosis; PI3K pathway; Danggui Niantong Decoction; Rheumatoid arthritis; Rats; HE staining; Toe swelling degree

中图分类号:R289.4;R593.2 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.07.039

类风湿性关节炎(Rheumatoid Arthritis, RA)是临床常见的自身免疫性疾病,滑膜组织炎症反应及关节破坏、畸形及功能丧失是其主要病理改变,给患者日常生活及工作造成严重影响^[1-3]。目前现代医学并无特异性药物对其进行治疗,多数靶向治疗药物虽可在一定程度改善 RA 临床症状,但费用高或不良反应多严重影响治疗依从性。RA 属于中医学“痹证”条目,历代医家均对痹证进行大量条目的论述,风湿热痹是痹证的主要证候,素体脾胃亏虚致气血不足,风湿之邪乘虚而入蛰伏体内,郁久化热,湿热交织壅堵骨节经脉而发此病,故健脾益气、祛风清热除湿是治疗本病的关键^[4]。当归拈痛汤首载于金代医学家张元素的《医学启源》,是治疗湿热致痛的经典名方,其在治疗类风湿性关节炎亦兼顾了病机,临床不乏其疗效的临床报道^[5-7],但其作用机制目前尚无统一论,我们制备 RA 模型大鼠,利用当归拈痛汤梯度干预,观察疗效差异及作用机制。现报道如下。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 动物 选取 50 只的洁级雄性 Wistar 大鼠(由中国医科大学实验动物中心提供),体重为(100±20)g,饲养条件室温 20℃、自由饮水饮食、通风良好。

1.1.2 药物 当归拈痛汤(当归 15 g、羌活 10 g、防风 10 g、升麻 5 g、猪苓 12 g、泽泻 10 g、茵陈 10 g、陈皮 10 g、黄芩 10 g、葛根 15 g、苍术 15 g、白术 15 g、苦参 10 g、知母 10 g、甘草 5 g、全蝎 5 g、地龙 15 g、黑豆 15 g),所有中药饮片由本院中药房提供,经过煎药室水煎、抽滤、浓缩制作成 200% 的浓缩水煎药液(1 mL 约含 1.64 g 生药)。

1.1.3 试剂与仪器 1)类风湿性关节炎造模试剂,产品:鸡 II 型胶原(CC II)和完全弗氏佐剂(CFA)均购于 Sigma 公司。2)免疫印迹法(Western blotting, WB)试剂,产品:Bcl-2 鼠抗鼠单克隆抗体、PI3K 鼠抗鼠单克隆抗体、碱性磷酸酶标记的羊抗兔及羊抗鼠抗体均购自 Cell Signaling 公司;而 Bax、 β -actin 兔抗鼠单克隆抗体则为福州沃森生物科技有限公司产品。3)凝胶成像系统 SYSTEM GelDoc XR+(型号:

1708195,中国 Bio-Rad 公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 适应性饲养 1 周后随机分为 5 组即对照组、模型组、低剂量组、中剂量组和高剂量组,除对照组,其余均建立在胶原诱导的关节炎(Collagen Induced Arthritis, CIA)大鼠模型上。CIA 模型的建立:将 CC II 溶解于 0.1 mol/L 冰醋酸中,并加入等体积的 CFA 充分乳化,最终配制出终浓度为 0.5 mg/mL 的乳剂,即 II 型胶原溶液。根据 0.3 mL/100 g 的用量以 10% 水合氯醛麻醉大鼠后,将总量为 1 mL 的 II 型胶原溶液皮下注射于大鼠背部及鼠尾根部多点,1 周后上述方法、相同剂量再次皮下注射;对照组仅采用等体积的生理盐水于相同位置皮下注射。

1.2.2 干预方法 在类风湿性关节炎模型制备成功后开始给药:对照组和模型组给予 6.5 g/kg 生理盐水,低剂量组、中剂量组和高剂量组均为当归拈痛汤灌胃给药,分别给予生药 6.5, 13.0, 19.5 g/kg。干预时间 28 d。

1.2.3 检测指标与方法

1.2.3.1 足趾关节肿胀度 容积法测量双后肢的足趾肿胀度:计分法评价四肢足趾肿胀度:正常的足趾记为 0 分;仅有 1 个足趾关节肿胀记为 1 分;2 个或超过 2 个足趾肿胀或 1 个踝关节肿胀变形记为 2 分;全部四肢的足趾关节肿胀记为 3 分。每只大鼠总记分 0~12 分。

1.2.3.2 足趾关节苏木精-伊红(HE)染色 治疗 28 d 后,麻醉猝死大鼠后取其左前肢和右后肢近端第 3 足趾关节进行固定,包埋切片后常规 HE 染色,在显微镜下调亡细胞核于滑膜组织中呈深蓝或青紫色,在 400 倍视野中计算每张切片的滑膜组织带的细胞凋亡数,计数 5~10 个视野,取每个视野平均细胞凋亡数进行统计分析。

1.2.3.3 免疫印迹法(Western blotting, WB)检测 治疗 28 d 后麻醉猝死大鼠,取其后肢滑膜组织冻存 -80℃ 保存,将剪碎滑膜组织加入蛋白裂解缓冲液中裂解,将碱性酮液及酚试剂加入所取上清液,根据 BCA 试剂盒说明书,测样品浓度,并将样品取等量上样于浓缩胶中,经十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶

表 1 5 组足趾肿胀度比较($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	给药 1 d	给药 7 d	给药 14 d	给药 28 d
对照组 (n = 10)	0	0	0	0
模型组 (n = 10)	1.10 ± 0.27	4.42 ± 2.32	5.73 ± 1.72	6.48 ± 0.86
低剂量组 (n = 10)	1.14 ± 0.22	3.22 ± 1.13 *	4.52 ± 1.35 *	4.41 ± 0.53 *
中剂量组 (n = 10)	1.19 ± 0.31	3.13 ± 1.06 *	3.61 ± 2.02 *△	2.54 ± 0.67 *△
高剂量组 (n = 10)	1.12 ± 0.29	2.94 ± 1.43 *	2.43 ± 2.78 *△#	1.62 ± 0.89 *△#

注:与模型组比较, *P < 0.05; 与低剂量组比较, △P < 0.05; 与中剂量组比较, #P < 0.05

(SDS-PAGE) 电泳、聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜进行转膜, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h 后, 一抗 4 °C 孵育过夜 [羊抗鼠 Bcl-2、PI3K 及兔抗鼠 Bax 抗体 (1:200)、13-actin 鼠抗鼠抗体 (1:400)], 经过 3 次磷酸缓冲盐溶液 (PBS) 洗膜后, 室温孵育相应碱性磷酸酶标记的二抗 2 h, ECL 碱性磷酸酶显色, 于凝胶自动成像分析系统下成像, 对产物进行半定量分析。进行组间比较时则设对照组相对值为 1。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行分析, 计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 方差齐选择 LSD-t 或方差不齐选择 Tamhane's 检验, 以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 5 组足趾肿胀度比较 对照组未见足趾肿胀情况, 给药 1 d 模型组、低剂量组、中剂量组和高剂量组间比较, 差异无统计学意义 (P > 0.05), 给药 7 ~ 28 d 各剂量给药组肿胀度均低于模型组 (P < 0.05), 至 14 ~ 28 d 中、高剂量组的肿胀度显著低于低剂量组 (P < 0.05), 而给药 28 d 高剂量组的肿胀度又明显低于中剂量组 (P < 0.05)。

2.2 5 组足趾关节 HE 染色比较 足趾关节 HE 染色中, 对照组、模型组、低剂量组、中剂量组和高剂量组中的细胞凋亡数呈逐渐上升的趋势 (P < 0.05)。见图 1。

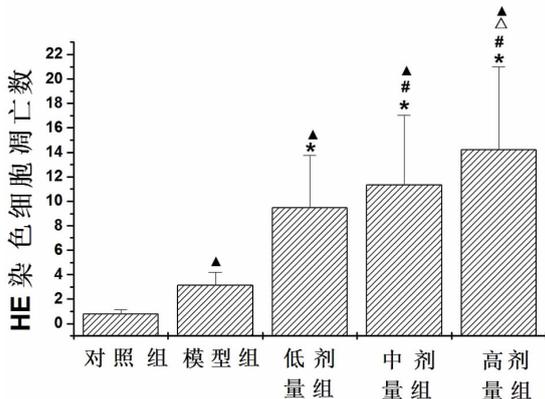


图 1 5 组给药 28 d 细胞凋亡数比较 (HE 染色 × 400)

注:与对照组比较, *P < 0.05; 与模型组比较, △P < 0.05; 与低剂量组比较, #P < 0.05; 与中剂量组比较, ▲P < 0.05

2.3 当归拈痛汤抑制滑膜细胞凋亡通路 WB 检测中显示 PI3K 通路在模型组中表达上调, 经过给药治疗, 随着剂量的逐渐升高而下调 (P < 0.05); Bcl-2 蛋白的改变情况同 PI3K 一致 (P < 0.05), 而 Bax 蛋白的表达情况则与 PI3K 相反, 随着剂量的增加而上调 (P < 0.05)。见图 2。

而 Bcl-2/Bax 的比值中, 假设对照组为 1, 则模型组比值最高, 其次分别是低剂量组、中剂量组、高剂量组 (P < 0.05)。见表 2。

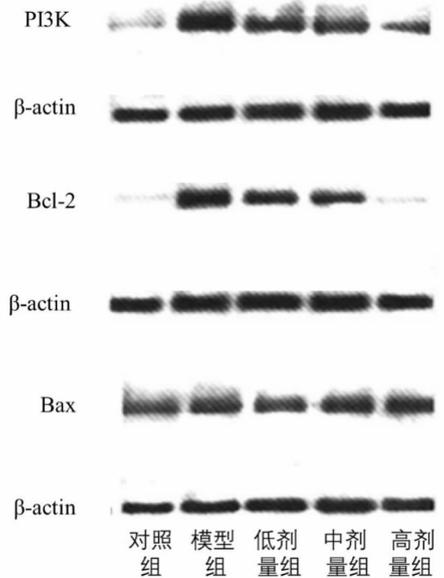


图 2 当归拈痛汤抑制滑膜细胞凋亡通路

表 2 5 组 Bcl-2/β-actin、Bax/β-actin 和 Bcl-2/Bax 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Bcl-2/β-actin	Bax/β-actin	Bcl-2/Bax
对照组 (n = 10)	1	1	1
模型组 (n = 10)	5.02 ± 0.19 *	1.04 ± 0.37	4.82 ± 0.22 △
低剂量组 (n = 10)	4.64 ± 0.32 *△	1.23 ± 0.13 *△	3.77 ± 0.15 *△
中剂量组 (n = 10)	4.19 ± 0.21 *△▲	1.41 ± 0.16 *△▲	2.97 ± 0.14 *△▲
高剂量组 (n = 10)	3.32 ± 0.19 *△▲#	1.94 ± 0.13 *△▲#	1.71 ± 0.12 *△▲#

注:与对照组比较, *P < 0.05; 与模型组比较, △P < 0.05; 与低剂量组比较, ▲P < 0.05; 与中剂量组比较, #P < 0.05

3 讨论

RA 以关节肿胀疼痛、活动不利、晨僵为主要临床特征, 是病因复杂的自身免疫性疾病, 具有易复发、病情缠绵难愈的特点, 严重影响患者的生命质量

及日常工作。非甾体抗炎药、糖皮质激素、免疫抑制剂是目前临床治疗 RA 的主要药物种类,虽可在一定程度上缓解病情,但耐受性差、不良反应明显,限制了患者的依从性,故探寻新的用药方案具有重要价值。近年来,中草药以其毒性低、疗效显著等特点被诸多医学科研工作者纳入研究。目前有多种类风湿性关节炎的动物模型,本研究采用胶原诱导的关节炎模型制备方法,经过数十年的不断验证已然成为研究类风湿性关节炎最重要的动物模型之一,本研究研究显示此方法制备而成的 RA 大鼠模型其足趾病理学表现及滑膜病理 HE 染色结果均与国内外诸多文献^[8-10]结果相一致,这提示本研究的模型可行且造模成功。

RA 属于中医“痹证”“历节风”范畴,历代医家对痹证“历节风”研究方兴未艾^[11]。《黄帝内经》认为“痹证”与风湿二邪的关系密切,当痹证日久不愈则化热成瘀,瘀阻脉络耗气伤津。清代医家林佩琴在其《类证治裁·痹证论治》一书中描述:“久痹不愈,必有湿痰败血瘀滞经络”。故素体亏虚,风湿侵袭机体而成瘀阻,并贯穿本病发生发展过程,因此益气活血,祛风化湿通络是治疗本病的关键。当归拈痛汤源自《医学启源》,是治疗湿热致痛的经典名方,方中重用羌活、茵陈,可祛风胜湿,清热利湿,共为君药。《本草拾遗》中写到“茵陈可通关节,去滞热”,故羌活、茵陈合用是疏风清热、化湿止痛经典组合。猪苓、泽泻是利水渗湿的要药,黄芩、苦参可清热燥湿;防风、升麻及葛根解表疏风。上述几味中药分别从“湿”“风”“热”方面进行治疗。白术、苍术为佐药可燥湿健脾,运化水湿以祛邪。RA 多以湿邪为胜,药方中诸药多以祛湿为主,药性以苦燥为著,极易耗血伤阴,故加党参、当归以益气生血,知母清热养阴,达到祛邪不伤正的目的。方中甘草可调和诸药药性。纵观整方药物配伍,具有发散风湿与利湿清热相配,表里共治;苦燥渗利兼顾益气养血,祛邪而不伤正^[12-13]。本研究结果显示加用当归拈痛汤的大鼠不论是在改善足肿胀度方面还是病理学方面均明显优于模型组,这提示当归拈痛汤确对 RA 有理想疗效,并具有一定的剂量依赖性。

目前虽对 RA 的发病机制尚无统一定论,但有研究显示 RA 化膜细胞以自分泌或旁分泌的形式分泌大量活性因子,各类活性因子间相互作用后形成复杂的生物网络,介导滑膜细胞的增殖及凋亡过程,有研究人员指出,滑膜细胞增殖/凋亡过程的失衡是 RA 发生发展的重要机制,诱导其凋亡是控制病情

的关键。由此我们考虑当归拈痛汤可有效治疗 RA 是否与介导滑膜细胞凋亡程序有关,并进一步研究。近年来随着分子生物学研究不断深入,各类细胞因子及其相关受体介导细胞增殖、生长、发育、凋亡等一系列过程已被不断证实,其中 PI3K/AKT 通路与细胞凋亡的关系密切,成为研究重点。PI3K/AKT 信号通路的异常激活是滑膜细胞凋亡失衡的机制之一^[14-15],因此我们认为从 PI3K/AKT 信号通路研究当归拈痛汤的作用机制具有理论可行性。于静雅和陈勇^[15]发现 PI3K 在 RA 滑膜细胞中具有高表达,活化的 PI3K 可激活 AKT,从而介导多种下游蛋白的磷酸化,抑制细胞凋亡。PI3K 可展现出丝氨酸/苏氨酸激酶的活性,又具有磷脂酰肌醇激酶的活性,对 G 蛋白有活化效应,其水平上调后可活化下游因子 AKT,抑制诸多凋亡基因的转录。本研究中当归拈痛汤干预的大鼠滑膜组织 PI3K 水平下调,促进了凋亡程序的启动。我们对 Bcl-2 及 Bax 2 个细胞因子进一步检测,Bcl-2 家族是细胞凋亡程序的“开关分子”,Bcl-2 与 Bax 的水平变化决定着细胞的命运,Bcl-2 是抗细胞凋亡的重要因子,Bax 水平上调是促进了细胞凋亡^[16-17],Bcl-2 与 Bax 均在细胞核、内质网膜及线粒体膜有广泛分布,当 Bcl-2 表达下调或 Bax 水平增加时可改变线粒体的孔道形态,导致其通透性增加,促进了细胞凋亡,Bcl-2 与 Bax 表达改变诱导细胞凋亡被研究人员视为“内源性途径”改变细胞命运^[18]。本研究发现类风湿性关节炎大鼠 Bcl-2 水平明显上调,Bax 表达被抑制,提示 RA 模型大鼠的滑膜组织中的滑膜细胞凋亡被抑制,从而导致其增殖能力凸显,滑膜细胞的过度增殖导致了关节软骨和骨组织浸润生长,从而出现关节畸形功能下降。当归拈痛汤干预后大鼠滑膜组织的 Bcl-2 水平下调,Bax 表达增加,可见该汤剂可有效诱导滑膜细胞凋亡,改善病情。

总之,我们证实了当归拈痛汤确对 RA 有理想疗效,其作用机制可能与促进滑膜细胞凋亡有关,从而抑制了滑膜细胞向关节软骨和骨组织的过度增殖,改善了 RA 的病情。

参考文献

- [1] 廖子鸿,周志华,戴冠东. 甲氨蝶呤加用雷公藤多甙片治疗类风湿性关节炎的临床效果探析[J]. 中国生化药物杂志,2016,23(5):136-138.
- [2] 周丽琴,张菊. 塞来昔布对类风湿性关节炎患者血清生化指标影响及其疗效与安全性评价[J]. 中国生化药物杂志,2015,18(6):111-113,117.
- [3] 吴素叶,薛阿利,赵朴,等. 沙利度胺联合甲氨蝶呤对类风湿性关

节炎患者外周血调节性 T 细胞及细胞因子 IL-6 表达的调节作用 [J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(11): 47-49.

[4] 朱震, 张世勤, 汪悦, 等. 类风湿性关节炎中医证素分布 [J]. 南京中医药大学学报, 2012, 28(6): 531-534.

[5] 潘翠琦, 范舜华, 潘碧琦, 等. 当归拈痛汤对类风湿性关节炎患者 RF 和抗 CCP 抗体的影响 [J]. 按摩与康复医学, 2014, 34(7): 70-71.

[6] 姚璐莎, 付中喜, 范伏元. 当归拈痛汤治疗类风湿性关节炎湿热痹阻证临床观察 [J]. 中医药导报, 2013, 27(2): 61-62.

[7] 王勇, 王永彬. 古方今用治疗湿热痹 50 例临床观察 [J]. 中国现代药物应用, 2007, 1(11): 35.

[8] 张传英, 蔡荣林, 唐照亮. 艾灸对类风湿性关节炎大鼠炎症因子和滑膜细胞凋亡的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(3): 190-194, 后插 5.

[9] 陈玉兴, 卓俊城, 黄雪君, 等. 痹痛消胶囊对大鼠类风湿性关节炎的作用及其机制 [J]. 中成药, 2016, 38(6): 1211-1215.

[10] 洪刚, 雷云, 温家明, 等. 重组人 II 型肿瘤坏死因子受体-抗体融合蛋白生物仿制药对大鼠类风湿性关节炎的治疗作用 [J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2014, 12(4): 367-371.

[11] 张永文, 张晓立, 程艳. 中医分型论治类风湿性关节炎关节畸形

[J]. 河南中医, 2016, 36(7): 1294-1296.

[12] 张黎群. 当归拈痛汤加减治疗高尿酸血症 42 例临床观察 [J]. 中医药导报, 2011, 17(4): 23-25.

[13] 徐春娟, 陈荣. 当归拈痛汤研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 281-283.

[14] 孟明, 梁红格, 方皓, 等. PI3K/Akt/mTOR 通路及自噬在类风湿性关节炎滑膜细胞增生中的意义 [J]. 医学研究与教育, 2013, 33(5): 69-74.

[15] 于静雅, 陈勇. PI3K-AKT 信号通路及其在类风湿性关节炎滑膜细胞增殖和凋亡中的作用 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2014, 30(12): 1326-1329.

[16] 李莉, 古正涛, 刘志锋, 等. 活性氧调控 Bcl-2、Bax 表达参与热打击后人脐静脉内皮细胞凋亡的研究 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26(7): 458-463.

[17] 魏建昌, 张通, 杨平, 等. 藤黄酸对人结直肠癌细胞凋亡及 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 表达的影响 [J]. 实用医学杂志, 2016, 32(11): 1745-1748.

[18] 王卫东, 陈正堂. Bcl-2/Bax 比率与细胞“命运” [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2007, 14(4): 393-396.

(2018-01-26 收稿 责任编辑: 杨觉雄)

(上接第 1717 页)

[12] 陈文伟. 石菖蒲、赤芍醇提取物对实验性抑郁及血管活性肠肽和 P 物质的影响 [J]. 华西医学, 2006, 21(2): 321-322.

[13] Steru L, Chermat R, Thierry B, et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice [J]. Psychopharmacology (Berl), 1985, 85(3): 367-370.

[14] 李苒, 高杉, 李琳, 等. 抑郁症发病机制的研究进展 [J]. 天津中医药, 2013, 30(2): 121-125.

[15] Saeedi Saravi SS, Arefidoust A, Saeedi Saravi SS, et al. Mammalian target of rapamycin (mTOR)/nitric oxide system possibly modulate

antidepressant-like effect of 17 α -ethinyl estradiol in ovariectomized mice [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 89: 591-604.

[16] 王景霞, 刘妍, 张建军. 一氧化氮与抑郁症 [J]. 现代医学, 2011, 39(1): 104-107.

[17] Ostadhadi S, Imran Khan M, Norouzi-Javidan A, et al. Antidepressant effect of pramipexole in mice forced swimming test: A cross talk between dopamine receptor and NMDA/nitric oxide/cGMP pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 81: 295-304.

(2017-08-15 收稿 责任编辑: 芮莉莉)