

## 逍遥散加减方对高催乳素血症大鼠多巴胺转运体的影响

刘凯鑫<sup>1</sup>, 李燕<sup>1\*</sup>, 黄世梅<sup>2</sup>, 刘宇<sup>1</sup>, 代康莉<sup>1</sup>

(1. 贵州中医药大学, 贵阳 550025; 2. 阜康医院, 拉萨 850000)

**[摘要]** 目的:运用逍遥散加减治疗高催乳素血症(HPRL)模型大鼠,探讨逍遥散加减对HPRL大鼠模型中枢多巴胺转运体(DAT)蛋白激酶C(PKC)依赖信号通路的影响。方法:采用慢性复合应激联合甲氧氯普胺腹腔注射,制作HPRL大鼠模型。将96只大鼠随机分成6组,分别为正常组、模型组、西药组(溴隐亭组,0.001 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、逍遥散加减方高、中、低剂量组(分别予以逍遥散加减方60,30,15 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)。给药14 d后,采用酶联免疫吸附测定法检测血清催乳素(PRL)含量,免疫组化法测定大鼠下丘脑酪氨酸羟化酶(TH)的表达;蛋白免疫印迹法检测大鼠下丘脑多巴胺转运体(DAT),蛋白激酶C(PKC)蛋白的表达。结果:与正常组比较,模型组PRL含量显著升高( $P<0.01$ ),TH,PKC的表达显著降低( $P<0.01$ ),DAT的表达显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,PRL含量溴隐亭组、逍遥散加减方中剂量组含量显著降低( $P<0.01$ ),TH的表达逍遥散加减方高、中剂量组升高( $P<0.05$ , $P<0.01$ ),PKC的表达逍遥散加减方中、低剂量组及溴隐亭组显著升高( $P<0.01$ ),DAT的表达逍遥散加减方高、中、低剂量组及溴隐亭组均显著降低( $P<0.01$ )。结论:逍遥散加减方可以增加TH的表达,并能通过PKC依赖信号通路下调DAT水平,从而调节催乳素水平。

**[关键词]** 高催乳素血症; 疏肝健脾法; 多巴胺转运体; 作用机制

**[中图分类号]** R2-0;R22;R285.5;R289;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)04-0051-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20220302

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20211125.1127.002.html>

**[网络出版日期]** 2021-11-26 11:50

## Effect of Modified Xiaoyaosan on Dopamine Transporter in Rats with Hyperprolactinemia

LIU Kai-xin<sup>1</sup>, LI Yan<sup>1\*</sup>, HUANG Shi-mei<sup>2</sup>, LIU Yu<sup>1</sup>, DAI Kang-li<sup>1</sup>

(1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China;

2. Fukang Hospital, Lasa 850000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of modified Xiaoyaosan on central dopamine transporter (DAT)/protein kinase C (PKC)-dependent signaling pathway in hyperprolactinemia (HPRL) rats. **Method:** HPRL rat model was established by chronic combined stress combined with intraperitoneal injection of metoclopramide. Ninety-six rats were randomly divided into six groups, namely, the blank group, model group, western medicine (bromocriptine, 0.001 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) group, and high-, medium-, and low-dose (60, 30, 15 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) modified Xiaoyaosan groups. After 14 days of administration, the serum prolactin (PRL) content was detected by enzyme-linked immunosorbent assay, the expression of tyrosine hydroxylase (TH) in rat hypothalamus by immunohistochemistry, and the protein expression of DAT and PKC in hypothalamus by Western blot. **Result:** Compared with the blank group, the model group exhibited significantly increased PRL and DAT ( $P<0.01$ ), but decreased TH and PKC ( $P<0.01$ ). Compared with the model group, bromocriptine and modified Xiaoyaosan at the medium dose significantly lowered the content of PRL ( $P<0.01$ ). The modified Xiaoyaosan at the medium and high doses elevated the expression of TH ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). The expression

**[收稿日期]** 20210907(032)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81774361)

**[第一作者]** 刘凯鑫,在读硕士,从事中医药对女性生殖轴调控机制的研究,E-mail:834625527@qq.com

**[通信作者]** \*李燕,博士,主任医师,教授,从事中医药对女性生殖轴调控机制的研究,E-mail:987570074@qq.com

levels of PKC in the medium- and low-dose modified Xiaoyaosan groups and the western medicine group were significantly increased ( $P<0.01$ ), while the DAT expression levels in the high-, medium-, and low-dose modified Xiaoyaosan groups and the western medicine group were decreased ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** The modified Xiaoyaosan is able to up-regulate the expression of TH and down-regulate the level of DAT through PKC-dependent signaling pathway, thereby regulating the PRL.

**[Keywords]** hyperprolactinemia (HPRL); liver-soothing and spleen-invigorating method; dopamine transporter (DAT); mechanism of action

各种原因引起的外周血催乳素(PRL)水平持续增高的状态称为高催乳素血症(HPRL)<sup>[1]</sup>。一般指血清 PRL $>1.14\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 常见月经紊乱, 不孕, 异常泌乳, 头痛目眩, 视物不清及性功能改变等<sup>[2]</sup>。现阶段对于 HPRL 的治疗依然以多巴胺受体激动剂为主流, 常伴有胃肠道不良反应、体位性低血压等<sup>[1]</sup>, 并且存在复发率高、冲动控制障碍的风险<sup>[3-4]</sup>。逍遥散出自《太平惠民和剂局方》, 是疏肝健脾的经典方剂, 在临床中对于 HPRL 的治疗取得了良好的疗效<sup>[5]</sup>。在前期的研究中发现逍遥散加减方可以作用于中枢神经系统, 能增加下丘脑多巴胺第2受体(D2R)数量, 激动D2R, 并可以调节环磷酸腺苷(cAMP)/蛋白激酶A(PKA)信号转导通路<sup>[6]</sup>, 细胞外信号调节激酶(ERK)/丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路<sup>[7]</sup>, 提升多巴胺(DA)的利用率, 发挥降低催乳素的作用。多巴胺由多巴胺能神经元释放, 并依赖多巴胺转运体(DAT)的重摄取机制维持DA的平衡和信号强度。研究表明, HPRL 的发生与压力、应激密切相关<sup>[8]</sup>, 而在应激刺激下脑内的多个多巴胺系统包括结节-漏斗环路, 会发生多巴胺神经元的损伤<sup>[9]</sup>。那么逍遥散调节 HPRL 是否从中枢多巴胺能神经元启动, 又是否通过 DAT 参与对 HPRL 的调节, 国内外尚未见相关报道。本研究将建立肝郁型病证结合 HPRL 模型大鼠, 并探讨逍遥散加减方对其下丘脑 DAT 及蛋白激酶C(PKC)依赖通路的影响。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF级SD雌性8周龄大鼠96只, 体重(200±20)g, 购于中国人民解放军第四军医大学, 合格证号SCXK(军)2017-0011。按国际标准放置在贵州医科大学临床实验中心SPF级动物实验室饲养, 并通过贵州医科大学动物伦理委员会批准(批号1900656)。垫料、饲料和饮水均经无菌处理, 自由饲料、饮水, 室温(24±1.5)℃, 相对湿度40%~60%, 高效过滤器每小时换气10~15次。

**1.2 药物** 逍遥散加减方的组成为生麦芽30g, 当

归15g, 北柴胡15g, 白芍20g, 茯苓15g, 白术15g, 炙甘草10g。药品由贵州省中医药大学第一附属医院药剂科采购, 经该院药剂科潘定举副主任药师根据2015年版《中华人民共和国药典》鉴定, 均为正品; 以上药物依照传统中药煎煮方法, 加入药材重量7倍的蒸馏水, 浸泡30min后大火煮开, 小火煎30min, 过滤药液, 在药渣继续加入蒸馏水, 按上述方法再煎煮1次, 将2次药液混合后浓缩制成6, 3, 1.5g·mL<sup>-1</sup>, 4℃保存备用。甲磺酸溴隐亭(2.5mg/片, 30片/瓶)(瑞士Novartis公司, 批号T87612A)加蒸馏水制备成0.1g·L<sup>-1</sup>混悬液备用。盐酸甲氧氯普氨注射液(上海禾丰制药有限公司, 批号H31021522)。

**1.3 试剂** 兔抗鼠DAT抗体, PKC抗体, 小鼠酪氨酸羟化酶(TH)单克隆抗体(英国Abcam公司, 批号分别为GR266695-15, GR305856-5, ab129991);  $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体[京天成生物技术(北京)有限公司, 批号100298]; 大鼠PRL酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, 批号E-EL-R0052c); 预染蛋白Maker(美国Thermo公司, 批号00459134); RIPA裂解缓冲液, 蛋白酶抑制剂, BCA蛋白定量试剂盒, 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)加样缓冲液, SDS-PAGE凝胶制备试剂盒, ECL高灵敏度化学发光检测试剂盒, 一步法快速蛋白免疫印迹法(Western blot)辣根过氧化物酶(HRP)试剂盒(兔)(北京康为世纪生物科技有限公司, 批号分别为01408, 60345, 30324, 50346, 20335, 30330, 20330); 生物素二抗山羊抗兔工作液, 正常山羊血清, 浓缩型DAB试剂盒(北京中山金桥科贸有限公司, 批号分别为SP-9001, ZLI-9021, K135925C); 多聚甲醛(国药集团, 批号20180312); 无水乙醇(AR级), 二甲苯(AR级), 碘酸钠(AR级), 硫酸铝钾(AR级)(成都市科龙化工试剂厂, 批号分别为20180119, 20180312, 20170104, 20170114); 苏木素(AR级, 北京百灵威科技有限公司, 批号LM10N13); 甘油(丙

三醇,AR级)(天津市富宇精细化工有限公司,批号2017041);中性树胶(上海懿洋仪器有限公司,批号20170408)。

**1.4 仪器** EPS-300型电泳仪(上海天能科技有限公司);164-5050型电泳电源(电泳仪),Mini-PROTEAN Tetra Electrophoresis System型蛋白电泳槽,Mini Trans-Blot型蛋白转印系统(美国Bio-Rad公司);SK-D1807-E型三维摇床(美国Scilogex公司);ZS-2型板式酶标仪(北京新风机电公司);TGL-20M型台式高速冷冻离心机(湘仪贝克仪器仪表有限公司);RS-25S型超声波细胞粉碎机(宁波荣顺船舶工程有限公司);LIDE 200型扫描仪(日本佳能公司);AUW-220D型电子分析天平(日本岛津公司);2016型转轮式切片机(德国徕卡公司);BMJ-III型包埋机(常州郊区中威电子仪器厂);PHY-III型病理组织漂烘仪,TSJ-II型全自动封闭式组织脱水机(常州市中威电子仪器有限公司);BA400Digital型数码三目摄像显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司)。

## 2 方法

**2.1 模型制备** 慢性应激被广泛应用于情感性动物模型,中医学者将其运用于肝郁脾虚证疾病研究中<sup>[10]</sup>。本实验中采用慢性复合应激联合甲氧氯普胺腹腔注射建立肝郁型病证结合HPRL动物模型,模拟疾病的发病特点,建立更加符合临床特征,更加贴合中医证候的动物模型。慢性应激<sup>[11]</sup>采取束缚填塞(4 h/次),4℃冰水游泳(5 min/次)、禁食(24 h/次)、禁水(24 h/次)、昼夜颠倒、潮湿垫料、夹尾7种方式。7种刺激方法随机安排21 d内连续进行(7种造模方法均为每24 h/次,其中连续禁食不超过48 h,禁水不超过24 h)。冰水游泳将模型动物置于深20 cm的4度冰水池中,放置时间为5 min,再将其放入25℃的温水池中回暖后回笼;禁食时不禁水,禁水时不禁食;束缚期间禁食禁水;从造模第1天开始,共进行21 d。甲氧氯普胺腹腔注射75 mg·kg<sup>-1</sup>,2次/日,连续15 d<sup>[12]</sup>。

根据人体-大鼠肝郁证诊疗标准对照表<sup>[13]</sup>对大鼠行为进行评价,模型动物出现明显的倦怠少动,呼吸急促,易怒,毛发枯黄,尾部眼周瘀斑等症状时,认为肝郁型模型建立成功。并在实验结束时对模型动物进行血清PRL含量检测。

**2.2 分组与给药** 选取8周龄SPF级SD雌性大鼠96只,按照随机数字表进行分组,分为正常组、模型组、溴隐亭组、中药高、中、低剂量组,每组16只。根据人与大鼠换算公式换算中药各组的剂量<sup>[14]</sup>,逍

散加减方高、中、低剂量分别为60,30,15 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,以灌胃方式给药;西药组溴隐亭剂量为0.001 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。

**2.3 标本采集** 大鼠给药治疗14 d后,按照体质量比给予大鼠腹腔注射等比例的3%水合氯醛进行麻醉,腹主动脉取血分离血清留待ELISA检测;大鼠断头处死取下丘脑:取出大鼠下丘脑放入微型管中,-80℃保存,每组8个样本用于蛋白免疫印迹法(Western blot)检测,8个样本用于免疫组化检测。

**2.4 ELISA检测血清PRL含量** 实验结束后对大鼠腹主动脉取血,3 000 r·min<sup>-1</sup>离心12 min(离心半径12.5 cm,下同)收集血清。在96孔板各孔中分别加入标准品及样品各100 μL,室温孵育90 min。弃去孔中液体,洗涤3次,每孔加入生物素抗体工作液100 μL,室温孵育60 min。再次洗涤3次。加入酶结合物工作液100 μL,室温孵育30 min后充分清洗5次。加入底物溶液90 μL,室温孵育15 min左右。加入终止液50 μL,立即在酶标仪450 nm波长处测量吸光度A。

**2.5 Western blot检测模型动物下丘脑DAT,PKC蛋白的表达** 取组织按照1:99加入蛋白酶抑制剂,混匀制成工作液,并冰浴匀浆及超声破碎;1万 r·min<sup>-1</sup>离心20 min,收集上清;使用BCA定量试剂盒,计算各样本蛋白含量;按1:5比例加入上样缓冲液,混匀,沸水浴5 min,4℃保存备用。SDS-PAGE凝胶电泳后转膜。转膜结束,使用一步法快速Western blot试剂盒,加入封闭液,20 min;将封闭后的PVDF膜用漂洗液洗1次。将混匀的一抗与二抗HRP,室温孵育5 min,加入一步法抗体稀释液;DAT(1:1 000),PKC(1:2 000)一抗,β-actin(1:5 000),4℃摇床孵育12 h;洗液漂洗3次。加入显色液,避光显色。使用Gel-Pro analyzer 4图像分析软件灰度值读取。

**2.6 免疫组化测定模型动物下丘脑TH含量** 固定组织经全自动脱水机脱水,包埋,切片后如下操作:将脱蜡后的切片放入染色缸,3%甲醇双氧水室温10 min;PBS洗3次,每次5 min;将切片浸入0.01 mol·L<sup>-1</sup>柠檬酸盐缓冲液(pH 6.0),微波炉中大火加热至沸腾后断电,间隔5 min后,反复1次,冷却后,PBS洗2次,每次5 min;滴加山羊血清封闭液,室温20 min;滴加一抗(1:100),4℃过夜;滴加生物素化二抗山羊抗兔工作液(1:200),37℃,30 min;PBS水洗3次,每次5 min;使用DAB显色试剂盒显色,镜下控制反应时间,2 min左右,蒸馏水洗涤;苏

木素轻度复染,脱水,透明,中性树胶封片。数码三目摄像显微摄像系统显微摄像系统对切片进行图像采集。

**2.7 统计学处理** 运用SPSS 25.0软件对数据做正态分布检验和组间方差齐性检验;若两项符合,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用参数统计的One-Way ANOVA进行统计处理,组间比较采用SNK法;若有一项不符合,则采用非参数统计中的多个独立样本Kruskal-WallisH检验进行统计处理,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对HPRL大鼠血清PRL的影响** 与正常组比较,模型组PRL含量显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,溴隐亭组,逍遥散加减中剂量组含量显著降低( $P<0.01$ ),逍遥散加减高剂量组,逍遥散加减低剂量组含量有所下降,但差异无统计学意义。见表1。

表1 逍遥散加减对HPRL大鼠血清PRL的影响( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Table 1 Effect of Xiaoyaosan on serum PRL expression in hypothalamus of HPRL rats ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	PRL/μg·L <sup>-1</sup>
正常		2.028±1.557
模型		5.642±3.847 <sup>2)</sup>
溴隐亭	0.001	2.313±2.441 <sup>4)</sup>
逍遥散加减	60	4.463±1.621 <sup>2,5)</sup>
	30	2.609±2.247 <sup>4,7)</sup>
	15	4.517±1.389 <sup>2,6,8)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ ,<sup>2)</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup> $P<0.05$ ,<sup>4)</sup> $P<0.01$ ;与溴隐亭组比较<sup>5)</sup> $P<0.05$ ,<sup>6)</sup> $P<0.01$ ;与逍遥散加减高剂量组比较<sup>7)</sup> $P<0.01$ ;与逍遥散加减中剂量组比较<sup>8)</sup> $P<0.01$ (表2~3同)。

**3.2 对HPRL大鼠下丘脑TH表达的影响** 与正常组比较,模型组TH表达明显降低( $P<0.05$ );与模型组比较,溴隐亭组,逍遥散加减中剂量组表达显著升高( $P<0.01$ ),逍遥散加减高剂量组表达升高( $P<0.05$ );与溴隐亭组比较,逍遥散加减中剂量组表达显著升高( $P<0.01$ );逍遥散加减各剂量组间差异无统计学意义。见图1,表2。

**3.3 对HPRL大鼠下丘脑DAT,PKC蛋白表达的影响** 与正常组比较,模型组DAT表达显著升高( $P<0.01$ ),差异有显著统计学意义;与模型组比较,溴隐亭组,逍遥散加减高、中、低剂量组表达显著降低( $P<0.01$ );与溴隐亭组比较,逍遥散加减高、低剂量组表达显著降低( $P<0.01$ );与逍遥散加减高剂量

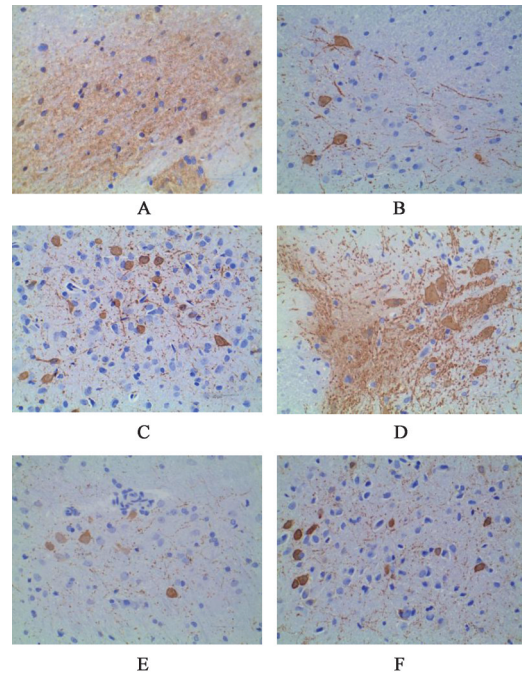


图1 逍遥散加减对HPRL大鼠下丘脑TH表达的影响(免疫组化,×400)

Fig. 1 Effect of Xiaoyaosan on TH expression in hypothalamus of HPRL rats(IHC,×400)

表2 逍遥散加减对HPRL大鼠下丘脑TH表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Table 2 Effect of Xiaoyaosan on TH expression in hypothalamus of HPRL rats ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	TH
正常		0.329±0.023
模型		0.288±0.006 <sup>1)</sup>
溴隐亭	0.001	0.302±0.002 <sup>4)</sup>
逍遥散加减	60	0.312±0.014 <sup>3)</sup>
	30	0.321±0.002 <sup>4,6)</sup>
	15	0.306±0.020

组比较,逍遥散加减中、低剂量组表达显著升高( $P<0.01$ );与逍遥散加减中剂量比较,逍遥散加减低剂量表达显著升高( $P<0.01$ )。与正常组比较,模型组PKC表达显著降低( $P<0.01$ );与模型组比较,溴隐亭组,逍遥散加减中、高剂量组表达显著升高( $P<0.01$ );与溴隐亭组比较,逍遥散加减高、中剂量组表达显著降低( $P<0.01$ );与逍遥散加减高剂量组比较,逍遥散加减中、剂量组表达显著升高( $P<0.01$ );与逍遥散加减中剂量组比较,逍遥散加减低剂量表达显著升高,差异有显著统计学意义( $P<0.01$ )。见表3,图2。

表3 逍遥散加减对HPRL大鼠下丘脑DAT,PKC蛋白表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Table 3 Effect of Xiaoyaosan on expression of DAT and PKC in hypothalamus of HPRL rats ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	DAT/ $\beta$ -actin	PKC/ $\beta$ -actin
正常		0.154±0.03	0.488±0.028
模型		0.965±0.039 <sup>2)</sup>	0.195±0.016 <sup>2)</sup>
溴隐亭	0.001	0.630±0.037 <sup>2,4)</sup>	0.506±0.021 <sup>4)</sup>
逍遥散加减	60	0.335±0.029 <sup>2,4,6)</sup>	0.194±0.013 <sup>2,6)</sup>
	30	0.629±0.042 <sup>2,4,7)</sup>	0.259±0.019 <sup>2,4,6,7)</sup>
	15	0.820±0.031 <sup>2,4,6,7,8)</sup>	0.508±0.044 <sup>4,7,8)</sup>

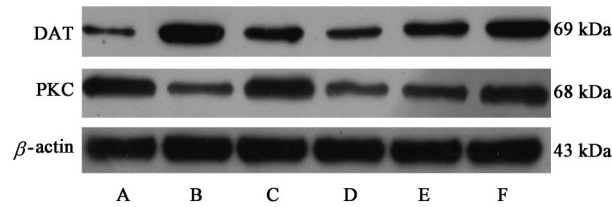


图2 各组大鼠下丘脑DAT,PKC蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of DAT and PKC protein expression in hypothalamus of rats

#### 4 讨论

HPRL在中医学中将其归纳于“闭经”“溢乳”“不孕”“月经不调”等范畴。正如王旭高所言“乳房属胃,乳汁血之所化,无孩子而乳房膨胀,亦下乳汁,非血之有余,乃不循其道为月水,反随肝气上入乳房,变为乳汁”。《济阴纲目》中亦提出:“脾胃虚弱,气血乏源……冲任失和,阴血不循常道而上化乳汁自溢。”肝气条达,脾胃健运,则经血、乳汁生化有源,疏泄有常;若肝失疏泄,脾胃失运,血不循常道反随肝气上逆,发为本病。SOTO-PEDRE等<sup>[15]</sup>发表的一份流行病学调查指出,该病发病年龄的高峰出现在25~44岁年龄段,平均年龄约35.2岁。根据女性生理特点,该年龄段多为育龄期妇女,《河间六书》云:“妇人……天癸既行,皆属厥阴论之”,《金匱要略》有云:“见肝之病,知肝传脾,当先实脾”因此从肝脾论治是贯穿本病治疗的思路。国医大师刘尚义在对育龄期妇女月经失调的诊治中,也提出了“木土相依,肝脾平和,气机轮转,清浊复位”的思想。运用疏肝健脾的中药使得肝脾和,则清浊复位,经水如常。在一项Mate分析<sup>[16]</sup>中也指出中医疏肝法相较于溴隐亭治疗,在降低催乳素、改善中医证候、降低复发率等方面更具优势。逍遥散加减方疏肝解郁,养血健脾,在前期研究中也证实逍遥散加减方可降低模型大鼠PRL水平,故本研究选用该方探讨其在下丘脑多巴胺转运体机制中的调控。方中柴胡辛开苦降,疏肝解郁;重用生麦芽回乳消

胀、温中下气,与柴胡共为君药。配伍辛散之当归,酸苦之白芍,与柴胡共用补肝体而助肝用,共奏和血柔肝之效。同时佐以健脾的白术、茯苓、甘草实土以御木侮,使气血生化有源。全方气血兼顾,肝脾同调,使得气血和,清浊复,血不外溢。

PRL的调节主要受到下丘脑催乳素释放抑制因子(PIF)的调节,目前PIF主要以DA为主。现代研究表明DA调控PRL主要通过结节垂体束和结节漏斗多巴胺能系统实现。本研究靶点定位多巴胺能神经元,并针对多巴胺转运体的调节展开研究。多巴胺转运体(DAT)是一种特异性分布于多巴胺神经元表面的跨膜蛋白,属于Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>离子依赖型转运蛋白基因家族<sup>[17-18]</sup>。这类转运蛋白可以利用钠离子和氯离子产生的电化学驱动力来转运神经递质,并且这种转运机制还依赖于DAT的内向和外向构象之间的交替通道<sup>[19]</sup>。DAT的结合位点多位于N端与C端,DAT与底物和抑制剂的结合后会导致其构象的改变,从而改变DA的信号途径<sup>[20]</sup>。释放出的多巴胺在扩散之前可以快速地多被多巴胺转运体质量摄取转运回胞内,以此调节神经递质信号的强度,还可以维持多巴胺的平衡<sup>[17]</sup>。在动物研究和基因敲除小鼠的研究中都表明,DAT重摄取的减少可以增加突触间隙DA的含量,改善中枢神经信号传导<sup>[21-22]</sup>。

DA的合成受到酪氨酸羟化酶(TH)的影响,而DAT的回摄作用对于维持突触后DA浓度的平衡至关重要。TH是DA的合成反应的起始酶及限速酶,TH的表达会直接影响到包括DA在内儿茶酚胺类递质的合成<sup>[18]</sup>,而DA的清除主要通过多巴胺转运体再摄取的方式进行。本实验结果显示模型组TH的表达降低,而DAT的表达升高,可以推测由于DAT的再摄取增加,使得DA的浓度降低,从而导致催乳素的升高。在逍遥散加减干预后,TH的抑制被改善,而DAT的表达下降,这意味着逍遥散可以

通过提高TH水平,抑制DAT的再摄取使突触间隙DA浓度增加,从而降低催乳素的水平,改善HPRL。

TH, DAT属于特异性表达在多巴胺能神经元上的蛋白<sup>[18]</sup>,本实验表明逍遥散调节HPRL的机制,不止在多巴胺水平,也可以通过对多巴胺能神经元相关信号发挥作用。DAT的功能受到多种方式的调节,如磷酸化、棕榈酰化、糖基化以及泛素化<sup>[23]</sup>,其中PKC激活是目前研究较多的一条信号通路。蛋白激酶C(PKC)是许多信号通路的下游调节效应器,PKC的磷酸化会抑制DAT的转运。PKC的磷酸化会刺激转运蛋白的内吞作用,从而导致了DAT在膜表面的流失,使得DA的再回摄减少<sup>[20]</sup>。同时有研究指出PKC对DAT的抑制作用还可能通过泛素化,或直接抑制DAT蛋白的方式发生,在细胞系的实验也证明PKC的激活会促进多巴胺转运体的内吞<sup>[17]</sup>。在实验中模型组DAT的表达升高,PKC的表达降低;在逍遥散加减干预后,逍遥散加减组DAT的表达显著下降,而PKC的表达显著升高。这提示逍遥散通过激活PKC信号通路,从而下调DAT水平,增加DA的利用率,达到降低催乳素的作用。在逍遥散加减各剂量组之间,并没有显著的量效关系,同时逍遥散加减中剂量组对模型动物的调节一直处于高效稳定的水平,其中原因还需要进一步探索,推测这可能与信号通路之间的交互作用,机体对不同逍遥散加减浓度的敏感度以及有效吸收率有关。

综上所述,实验造模中引入了慢性不可预见性应激的复合模型,并使用逍遥散对肝郁型病证结合动物模型展开对证研究。结果表明逍遥散提高了HPRL动物模型下丘脑TH的表达,降低了DAT的蛋白表达,提高了PKC的表达,提示其治疗HPRL的作用机制可能是通过PKC依赖的DAT信号通路,影响中枢DA的信号传导来实现的。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] 中华医学会妇产科学分会内分泌学组. 女性高催乳素血症诊治共识[J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51(3): 161-168.
- [2] 谢幸, 孔北华, 段涛. 妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018.
- [3] DE SOUSA S, BARANOFF J, RUSHWORTH R L, et al. Impulse control disorders in dopamine agonist-treated hyperprolactinemia: prevalence and risk factors [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2020, 105(3): e108-

e118.

- [4] PEKIC S, MEDIC S M, POPOVIC V. Hyperprolactinemia/prolactinomas in the postmenopausal period: challenges in diagnosis and management [J]. Neuroendocrinology, 2019, 109(1): 28-33.
- [5] 刘青青. 加味逍遥散汤治疗高泌乳素血症的临床疗效及其对泌乳素的影响[J]. 中医临床研究, 2016, 8(20): 76-77.
- [6] 李燕, 张鸿雁, 凌晓红. 加味逍遥散对HPRL大鼠多巴胺受体cAMP/PKA信号转导通路的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(2): 167-170.
- [7] 许露, 李燕, 张芳, 等. 逍遥散加减对高泌乳素血症模型大鼠中枢多巴胺受体ERK信号转导通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(15): 70-76.
- [8] STUDERUS E, ITTIG S, BECK K, et al. Relation between self-perceived stress, psychopathological symptoms and the stress hormone prolactin in emerging psychosis [J]. J Psychiatr Res, 2020, doi: 10.1016/j.jpsychires.2020.06.014.
- [9] SUGAMA S, KAKINUMA Y. Loss of dopaminergic neurons occurs in the ventral tegmental area and hypothalamus of rats following chronic stress: possible pathogenetic loci for depression involved in Parkinson's disease [J]. Neurosci Res, 2016, 111: 48-55.
- [10] 童萍, 李玉芳, 李睿博, 等. 基于“病证结合”构建与评价一种新的抑郁症肝郁脾虚证小鼠模型[J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(1): 50-53.
- [11] ZHANG Y, YUAN S, PU J, et al. Integrated metabolomics and proteomics analysis of hippocampus in a rat model of depression [J]. Neuroscience, 2018, 371: 207-220.
- [12] WEI Y, LA L, WANG L, et al. Paeoniflorin and liquiritin, two major constituents in Chinese herbal formulas used to treat hyperprolactinemia-associated disorders, inhibits prolactin secretion in prolactinoma cells by different mechanisms [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 204: 36-44.
- [13] 石亮, 孙佳惠, 孙蓉. 单一情绪刺激与复合情绪刺激对肝郁证动物模型作用的比较[J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(4): 82-88.
- [14] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [15] SOTO-PEDRE E, NEWBY P J, BEVAN J S, et al. The epidemiology of hyperprolactinaemia over 20 years in the tayside region of scotland: the prolactin

- epidemiology, audit and research study (PROLEARS) [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2017, 86(1):60-67.
- [16] 董智钰,张泰魏,李燕,等. 疏肝法治疗高催乳素血症 Meta分析[J]. 亚太传统医药, 2020, 16(1):168-172.
- [17] 赵成江,朱树勇,周嘉伟. 多巴胺重摄取的分子机制 [J]. 生命的化学, 2014, 34(2):136-146.
- [18] 宋宇尘,雷爽,韩新民,等. 安神定志灵对 ADHD 模型动物前额叶 TH、DAT 的影响[J]. 中成药, 2020, 42(1):195-199.
- [19] MULVIHILL K G. Presynaptic regulation of dopamine release: role of the DAT and VMAT2 transporters [J]. Neurochem Int, 2019, 122:94-105.
- [20] 吴恒乾,白洁. 多巴胺转运体功能及其与神经精神疾病的相关研究 [J]. 生理科学进展, 2015, 46(4): 317-321.
- [21] 顾国祥,孙继超,韩新民. 柴胡皂苷 a 对 ADHD 模型大鼠前额叶中多巴胺含量及其合成、释放、清除信号通路的影响[J]. 中药材, 2019, 42(8):1890-1895.
- [22] SANNA F, BRATZU J, SERRA M P, et al. Altered sexual behavior in dopamine transporter (DAT) knockout male rats: a behavioral, neurochemical and intracerebral microdialysis study [J]. Front Behav Neurosci, 2020, 14: 58.
- [23] 杨璇,王清,宋秋萍,等. 多巴胺转运体的功能及调控机制[J]. 医学综述, 2017, 23(22):4369-4375.
- [责任编辑 周冰冰]

·书讯·

## 大学生抑郁症患者心理咨询与治疗 ——评《临床心理治疗学》

随着科技水平的进步,人们的交流问题的方式也越来越多元化。随着社会经济的发展,生活工作节奏的加快,这是促进或阻碍青年人发展的一个重要因素。尤其是大学生刚刚进入社会,而产生的心理压力和心理不适应越来越大。抑郁症是导致认知障碍方面的疾病,促使大学生抑郁症发病率明显上升,面临极高的复发风险。抑郁症特点是心情持续的低落,开始无缘无故的流泪,闷闷不乐到悲痛欲绝,部分患者还会出现轻生行为,甚至到自杀,一部分极端的患者会产生伤害他人的行为。大学生患抑郁症心理咨询,主要采用认知方面的疗法来改变患者的认知模式,从而消除自卑的心理,使其的抑郁情绪得到缓解,然后逐步走出抑郁的心理状态。

《临床心理治疗学》王长虹主编,由人民军医出版社2004年9月出版。这本书就详细介绍了有关大学生抑郁症患者心理咨询与治疗,分三篇四十章节,全面系统地阐述了关于一系列心理健康及有关的心心理疗法。第一章讲述心理健康与心理障碍的判定,心理障碍的检查与诊断,各年龄段的心理特点及常见心理症状;不同阶段的大学生心理状况也是不一样的,不能单纯的把大学生的心理状态笼统的归为一个阶段。第二章详细介绍了行为动机与挫折,包括行为动机的主要特征,产生挫折的原因及十五种心理预防机制,心理防御机制是指个体面对挫折或冲突的紧张、焦虑的情境中而产生的对外界的心理防护;可以把心理预防机制分为五大类,包括逃避预防机制、自骗性防御机制、攻击性预防机制、代偿性预防机制、建设预防机制。第三章临床心理治疗概论和心理咨询发展简史,有对专业人员的基本要求、心理治疗的督导、心理治疗的分类、心理治疗的适用范围、心理治疗的原则、心理治疗的影响因素及临床心理治疗的过程,有效的心理治疗对于患有心理疾病患者来说是十分重要的。第四章讲述了支持性心理治疗的基本原则与基本理论、治疗原则及临床应用,支持性心理治疗就是指通过语言或者肢体行为对抑郁症患者进行安抚,从而达到让其消除焦虑或恐惧的目的。第五章讲述了认知疗法,认知疗法的理论和发展、常用的治疗技术,认知疗法是指通过纠正患者不良的认知来达到缓解患者心理焦虑的目的。第六章精神分析法、弗洛伊德的理论学说、精神病理学说及临床心理治疗中常见的问题,精神分析法的创世人弗洛伊德,精神分析法是指通过了解患者的意识形态及包括了解患者的潜意识来改变患者错误的思维,通过现实原则来进行纠正。第七章讲了行为疗法的理论基础、学习理论及八种行为疗法的治疗技术。第八章家庭治疗及家庭治疗的目标和适用范围,还有五种家庭治疗的模式、具体实施阶段、治疗结束阶段,家庭心理治疗是指患者在进行外部治疗的同时,家庭成员要通过与患者沟通及关心患者来达到一种辅助治疗的目的。第九章合理情绪疗法及情绪疗法的基本理论包括治疗目标、治疗步骤还有基本治疗技术。第十章对认知领悟疗法,认知领悟疗法是帮助患者真正意识到心理问题的意义,从认知方面开导和提高患者的自愈能力。第十一章讲了森田疗法及治疗原理、理论基础及治疗步骤、临床应用。第十二章详细介绍了催眠疗法。第十三章主要讲婚姻与家庭疗法,婚姻关系的适应、婚姻关系的发展,常见的婚姻问题,婚姻疗法的目标,婚姻疗法的原则及婚姻疗法的治疗技术。第十四章增强了疏导疗法的具体操作性。第十五章咨客中心疗法,倡导非指导性的治疗方式,治疗过程采用咨客中心疗法的特点。后三十五章的内容围绕抑郁症患者心理咨询与治疗措施。

《临床心理治疗学》这本书讲解了抑郁症患者的治疗方法,不能说可以完全解决抑郁症的问题,但却是在解决抑郁症这一道路上进行探寻。大学生作为抑郁症的高发群体,此书为大学生治疗抑郁,重新找回心理健康和自信提供了有效的方法。

(作者刘萍萍,西安外国语大学,西安 710018)