

# 六味地黄丸入血成分对自杀基因杀伤肝癌细胞的增效作用

杜标炎<sup>1\*</sup>, 周瑶<sup>2</sup>, 易华<sup>1</sup>, 张广献<sup>3</sup>, 谭宇蕙<sup>3</sup>, 吴映雅<sup>3</sup>, 郭玉荣<sup>4</sup>, 罗惠<sup>1</sup>

(1. 广州中医药大学病理教研室, 广州 510006;

2. 湖南中医药高等专科学校形态教研室, 湖南 株洲 412012;

3. 广州中医药大学大学生化教研室, 广州 510006; 4. 广西柳州市中医院, 广西 柳州 545001)

**[摘要]** **目的:**探讨六味地黄丸主要入血成分对单纯疱疹病毒胸苷激酶/丙氧鸟苷(HSV-tk/GCV)自杀基因系统杀伤大鼠肝癌细胞(CBRH7919)的增效作用。**方法:**按 CBRH7919/tk 占总细胞数 10% 的比例混合 CBRH7919 与 CBRH7919/tk 细胞, 分别接种 96 孔板, 每孔加细胞悬液 100  $\mu\text{L}$  ( $2 \times 10^3$  个/孔), 设置对照组、低、中、高 3 种浓度的六味地黄丸入血成分组、GCV 组、各浓度六味地黄丸入血成分联合 GCV 组; 培养 24 h 后分别加入入血成分马钱素和丹皮酚(质量浓度均为 25, 50, 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 莫诺苷、5-羟甲基-2-糠酸、獐牙菜苷(浓度均为 37.5, 75, 150  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 5 种化合物和 5 种化合物混合组分(质量浓度为 0.006 7, 0.013 5, 0.027  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ); 及其混合组分(质量浓度为 0.034  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 作用后淋巴细胞培养上清(占培养液体积分数 7.5%, 15%, 30%), 设 6 个复孔, 37  $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  培养箱培养 72 h 后 MTT 法测定细胞存活率, 检测六味地黄丸主要入血成分及淋巴细胞培养上清对自杀基因系统杀伤肝癌细胞的影响。**结果:**自杀基因系统联合马钱素、莫诺苷、5-羟甲基-2-糠酸、獐牙菜苷和丹皮酚 5 种化合物及 5 种化合物的混合组分, 均未显示其对肿瘤自杀基因疗法的直接增效作用; 但含药上清联合 GCV 组对肝癌细胞生长抑制率分别为 (22.72  $\pm$  3.12)%, (26.68  $\pm$  1.92)%, (30.50  $\pm$  3.53)%; 与单独自杀基因(10% tk/GCV)组抑制率(15.37  $\pm$  3.96)% 比较, 差异均有统计学显著性意义;  $q$  值分别为 1.50, 1.75, 2.24, 均大于 1.15, 具有协同增效作用, 并呈一定的量效关系。**结论:**六味地黄丸主要入血成分能刺激淋巴细胞产生某些活性物质, 并发挥了对 HSV-tk/GCV 自杀基因治疗系统对肝癌 CBRH7919 细胞杀伤的增效作用, 这些淋巴细胞产生的内源性活性物质可能才是六味地黄丸对肿瘤自杀基因疗法增效作用的药效物质基础。

**[关键词]** 肝癌; 基因治疗; 自杀基因; 单纯疱疹病毒胸苷激酶/丙氧鸟苷系统; 六味地黄丸

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0220-05

**[doi]** 10.11653/syfyj2013160220

## Enhancing Effect of Constituents Absorbed into Blood after Oral Administration of Liuwei Dihuang Wan on Killing Hepatocarcinoma Cells with HSV-tk/GCV System

DU Biao-yan<sup>1\*</sup>, ZHOU Yao<sup>2</sup>, YI Hua<sup>1</sup>, ZHANG Guang-xian<sup>3</sup>,

TAN Yu-hui<sup>3</sup>, WU Ying-ya<sup>3</sup>, GUO Yu-rong<sup>4</sup>, LUO Hui<sup>1</sup>

(1. Department of Pathology, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

2. Department of Morphology, Hunan College of Traditional Chinese Medicine (TCM), Zhuzhou 412012, China;

3. Department of Biochemistry, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

4. Guangxi Province Hospital of TCM Liuzhou Branch, Liuzhou 545001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the enhancing effect on killing hepatocarcinoma cells of CBRH7919 by herpes simplex virus thymidine kinase and ganciclovir (HSV-tk/GCV) system together with constituents absorbed into blood after oral administration of Liuwei Dihuang Wan. **Method:** MTT assay was used to detect growth inhibition of CBRH7919 after being treated with tk/GCV system and constituents including loganin, morroniside,

**[收稿日期]** 20120515(007)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81072906)

**[通讯作者]** \* 杜标炎, 医学博士, 教授, 博士生导师, 从事中西医结合肿瘤防治研究, Tel: 020-39358015(办), E-mail: dubybill@sohu.com

5-(methoxymethyl)-2-furoic acid, sweroside, paeonol and mixed drugs of these five compounds; also to detect growth inhibition of CBRH7919 after being treated with tk/GCV system and lymphocytic supernatant fluid activated by constituents. **Result:** There was no synergy killing effect on CBRH7919 between tk/GCV system and constituents; while there was synergy killing effect on CBRH7919 treated with tk/GCV system lymphocytic supernatant fluid activated by constituents together, which showed significantly dose-effect relationship. **Conclusion:** The active substrate activated by constituents of Liuwei Dihuang Wan has synergy effect on HSV-tk/GCV system, and the endogenous active substrate may be the material basis of synergy effect of Liuwei Dihuang Wan on HSV-tk/GCV system.

**[Key words]** hepatoma; gene therapy; suicide gene; HSV-tk/GCV system; Liuwei Dihuang Wan

基因治疗特别是自杀基因疗法已成为肝癌治疗最具前景的新治疗方法之一。但单纯自杀基因治疗仍难以完全消除所有的肿瘤细胞,故寻找各种增效方法是目前肿瘤基因治疗研究热点之一。笔者前期研究结果表明,自杀基因治疗联合补肾方药六味地黄丸在体内外均能起到增效作用<sup>[1-2]</sup>。王喜军等<sup>[3]</sup>采用血清药物化学方法证明马钱素、莫诺昔、5-羟甲基-2-糠酸、獐牙菜苷和丹皮酚5种化合物为六味地黄丸主要入血成分,并通过实验论证了上述化合物是六味地黄丸药效的物质基础。本研究拟将自杀基因疗法(HSV-tk/GCV系统)与上述5种入血化合物联合应用,探讨其对肿瘤自杀基因疗法的增效作用,及其增效作用的药效物质基础。

## 1 材料

**1.1 试剂与仪器** 细胞培养用 RPMI-1640 粉和 0.25% 含 EDTA 胰酶(Gibco 公司),新生牛血清(奥地利 PAA 公司),青、链霉素合剂(杭州吉诺生物医药技术有限公司),四甲基偶氮唑盐(MTT)、二甲基亚砷(DMSO)、丙氧鸟苷(GCV,分子式  $C_9H_{13}N_5O_4$ , 相对分子质量 255.2,美国 Sigma 公司),大鼠淋巴细胞分离液(天津市津脉基因测绘技术有限公司),细胞培养用培养板、培养瓶、冻存管等(德国 Greiner bio-one 公司),一次性微孔滤膜(美国 Corning 公司)。XDS-1B 型倒置显微镜(重庆 COIC,中国);680 型酶标仪(Bio-Rad,美国);HZ211-220 型电子天平(岛津,日本)。

**1.2 药物** 丹皮酚(批号 090627,纯度 >98%)、马钱素(批号 090317,纯度 >98%)均为上海融禾医药科技发展有限公司;莫诺昔(山东省分析测试中心,批号 20090302,纯度 >98%);5-羟甲基-2-糠酸(上海物竞化工科技有限公司,批号 A05S033,纯度 >98%);獐牙菜苷(深圳市美荷生物科技有限公司,批号 08110605,纯度 >98%)。混合组分药物的配制<sup>[3-4]</sup>:按照丹皮酚:(马钱素 + 莫诺昔 + 獐牙菜苷)

:5-羟甲基-2-糠酸 3:8:1 的质量比例,称取丹皮酚 3 mg,马钱素 + 莫诺昔 + 獐牙菜苷等比混合成分 8 mg,5-羟甲基-2-糠酸 1 mg,溶于 150  $\mu$ L DMSO 和 150  $\mu$ L 无水乙醇中,RPMI-1640 培养基补至 1 mL,现用现配,用 150  $\mu$ L RPMI-1640 培养基稀释至所需浓度即可。

**1.3 细胞株与动物** 大鼠肝癌细胞株(CBRH7919)购于中山大学细胞库,CBRH7919/tk 由本实验室构建并鉴定保存。SD 大鼠,180 ~ 220 g,雄性,健康,SPF 级[动物合格证号 SCXK(粤)2008-0020],广州中医药大学实验动物中心提供。

## 2 方法

**2.1 六味地黄丸入血成分对自杀基因系统杀伤肝癌细胞的影响** 按 CBRH7919/tk 占总细胞数 10% 的比例混合 CBRH7919 与 CBRH7919/tk 细胞,接种 96 孔板,每孔加细胞悬液 100  $\mu$ L ( $2 \times 10^3$  个/孔),补充培养液至每孔体积 200  $\mu$ L,设 6 个复孔;实验设置对照组、低浓度(丹皮酚和马钱素 25  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>,莫诺昔、5-羟甲基-2-糠酸和獐牙菜苷 37.5  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>,混合成分 0.006 7 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>)、中浓度(丹皮酚和马钱素 50  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>,莫诺昔、5-羟甲基-2-糠酸和獐牙菜苷 75  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>,混合成分 0.013 5 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>)、高浓度(丹皮酚和马钱素 100  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>,莫诺昔、5-羟甲基-2-糠酸和獐牙菜苷 150  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>,混合成分 0.027 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>) 3 种浓度的中药组、GCV 组(GCV 终浓度为 15.7  $\mu$ mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>)、低、中、高浓度中药联合 GCV 组;37  $^{\circ}$ C,5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 h 后再分别加入相应浓度的 GCV 或/和药物,再培养 72 h 后 MTT 法检细胞存活率。

**2.2 MTT 法检测药物作用后淋巴细胞培养上清对自杀基因系统杀伤肝癌细胞的影响** 大鼠颈椎脱臼处死,75% 乙醇浸泡消毒,无菌条件下取脾;分离脾淋巴细胞,用 RPMI-1640 培养液制备成 18 mL 细胞悬液,平均分配置 2 个平皿中;设置空白上清组、含

药上清组;含药上清组向已有 9 mL 细胞悬液的平皿中加入混合组分药物工作液 1 mL/皿(培养液终质量浓度  $0.034 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ),空白上清组已有 9 mL 细胞悬液的平皿中加入等体积 RPMI-1640 培养液,每组 3 皿,  $37 \text{ }^\circ\text{C}$   $5\% \text{ CO}_2$  培养箱中培养 72 h;按组收集细胞悬液,  $1\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清至新离心管中,制备含药淋巴细胞培养上清和空白淋巴细胞培养上清。按 CBRH7919/tk 占总细胞数 10% 的比例混合 CBRH7919 与 CBRH7919/tk 细胞,分别接种 96 孔板,每孔加细胞悬液  $100 \text{ } \mu\text{L}$  ( $2 \times 10^3$  个/孔),按照上述分组添加用 RPMI-1640 培养基稀释的相应浓度的药物或培养淋巴细胞上清液至每孔培养液总体积  $200 \text{ } \mu\text{L}$ ,每组设 6 个复孔;实验设置对照组, 7.5%, 15%, 30% (均为淋巴上清占培养体系体积分数,后同)空白上清组, GCV 组, 7.5%, 15%, 30% 空白上清联合 GCV 组;对照组, 7.5%, 15%, 30% 含药上清组, GCV 组 (GCV 终浓度为  $15.7 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 7.5%, 15%, 30% 含药上清联合 GCV 组,  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $5\% \text{ CO}_2$  培养箱培养 24 h 后分别加入淋巴细胞培养上清液或/和 GCV,再培养 72 h 后 MTT 法检细胞成活率。

**2.3  $q$  值<sup>[5]</sup>法判断协同效应**  $q = \text{实际联合药效 } R' / (\text{理论联合药效 } R(A+B))$ , 理论联合药效  $R(A+B) = RA + RB - RA \cdot RB$ , RA, RB 为单独药物或淋巴细胞培养上清液、自杀基因治疗系统药效,实际联合药效  $R'(A+B)$  为自杀基因系统联合药物或淋巴细胞培养上清液的细胞生长抑制率。 $q < 0.85$  为拮抗作用;  $0.85 \leq q < 1.15$  为相加作用;  $q \geq 1.15$  为协同作用。

**2.4 统计方法** 各组实验数据均重复 3 次以上。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,各组间数据的比较,多组间比较采用方差分析,两样本均数的比较采用  $t$  检验,数据统计采用 SPSS 13.0 统计软件处理。 $P < 0.05$  有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 六味地黄丸主要入血成分对自杀基因系统杀伤肝癌细胞无明显增效作用** 各浓度丹皮酚联合 GCV 对含 10% tk 的肝癌细胞的抑制率与单独自杀基因 10% tk/GCV 组(只加  $15.7 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  GCV 的对照组)抑制率比较,差异没有统计学意义;各浓度马钱素联合 GCV 对含 10% tk 的肝癌细胞的抑制率与单独自杀基因 10% tk/GCV 组(只加 GCV 的对照组)的抑制率比较,差异没有统计学意义;各浓度莫诺昔联合 GCV 对含 10% tk 的肝癌细胞的抑制率均

为负数,不具有增效作用;各浓度 5-羟甲基-2-糠酸联合 GCV 对含 10% tk 的肝癌细胞抑制率与单独自杀基因 10% tk/GCV 组抑制率比较,高浓度联合组差异有统计学意义;各浓度獐牙菜苷联合 GCV 对含 10% tk 的肝癌细胞作用,不具有协同增效作用;各浓度的混合成分联合 GCV 组对含 10% tk 的肝癌细胞的抑制率与单独自杀基因 10% tk/GCV 组(只加 GCV 的对照组)抑制率比较,差异均没有统计学意义。协同性分析表明,各药物联合自杀基因治疗均无协同作用,多为相加或拮抗作用(图 1~2)。

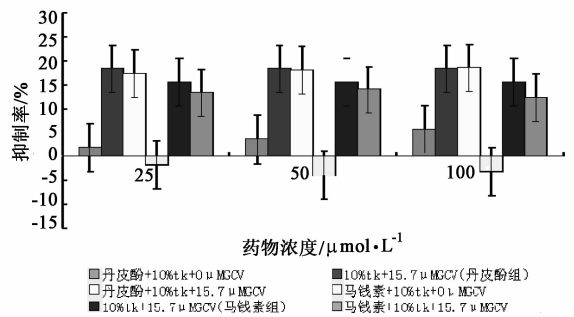


图 1 丹皮酚、马钱素对 CBRH7919 细胞株 tk/GCV 系统增效作用的量效关系 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

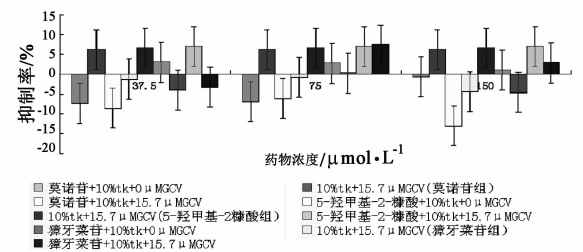


图 2 莫诺昔、5-羟甲基-2-糠酸和獐牙菜苷对 CBRH7919 细胞株 tk/GCV 系统增效作用的量效关系 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

**3.2 药物作用** 淋巴细胞上清对自杀基因系统杀伤肝癌细胞具有协同增效作用 结果显示,各比例的空白上清对细胞没有明显的促进生长或抑制作用;空白上清联合 GCV 组对含 10% tk 的肝癌细胞的抑制率与单独自杀基因 10% tk/GCV 组(只加 GCV 的对照组)的抑制率比较,差异均无统计学意义;  $q$  值均  $< 1.15$ 、 $\geq 0.85$ , 为相加作用。7.5%, 15%, 30% 含药上清对细胞没有明显的促进生长或抑制作用;但含药上清联合 GCV 组对含 10% tk 的肝癌细胞抑制率分别为  $(22.72 \pm 3.12)\%$ ,  $(26.68 \pm 1.92)\%$ ,  $(30.50 \pm 3.53)\%$ ;与单独自杀基因 10% tk/GCV 组(只加 GCV 的对照组)的抑制率  $(15.37 \pm 3.96)\%$  比较,差异均有统计学意义;  $q$  值分别为 1.50, 1.75, 2.24, 均大于 1.15, 具有协同增效作用(表 1)。

表1 淋巴细胞的含药培养上清培养72 h对CBRH7919细胞株tk/GCV系统治疗增效作用的量效关系( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	上清 /%	抑制率/%		q 值	组别	上清 /%	抑制率/%		q 值
		GCV 0	GCV 15.7 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$				GCV 0	GCV 15.7 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	
对照	-	0.00 $\pm$ 6.86	14.87 $\pm$ 4.97		对照	-	0.00 $\pm$ 6.06	15.37 $\pm$ 3.96	-
空白上清	7.5	-2.87 $\pm$ 5.01	10.49 $\pm$ 6.16	0.85	含药上清	7.5	-0.22 $\pm$ 2.03	22.72 $\pm$ 3.12 <sup>1)</sup>	1.50
	15	0.54 $\pm$ 4.51	13.16 $\pm$ 2.80	0.86		7.5	-0.12 $\pm$ 2.82	26.68 $\pm$ 1.92 <sup>1)</sup>	1.75
	30	7.69 $\pm$ 9.34	19.94 $\pm$ 4.17	0.93		30	-2.05 $\pm$ 6.16	30.50 $\pm$ 3.53 <sup>1)</sup>	2.24

注:与同体积空白上清组比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;  $q \geq 1.15$  为协同作用,  $0.85 \leq q < 1.15$  为相加作用。

#### 4 讨论

自杀基因治疗由于存在旁观者效应(bystander effect)的独特机制已成为恶性肿瘤基因治疗的研究热点和最具应用前景的肿瘤基因治疗方法。所谓旁观者效应是指导入了自杀基因的肿瘤细胞加入前体药物后,不仅自身被杀死,其邻近未导入自杀基因的细胞也被杀死现象<sup>[6]</sup>。旁观者效应形成的机制主要包括<sup>[7-8]</sup>:“缝隙连接”;免疫介导;“细胞凋亡”等机制。基于旁观者效应机制的联合治疗是其自杀基因治疗增效的重要途径之一。

免疫介导是自杀基因治疗旁观者效应的重要机制之一。我们前期研究以六味地黄丸的免疫药理作用<sup>[9-11]</sup>与肿瘤自杀基因疗法旁观者效应的免疫介导机制的内在联系为切入点,结合中医学“久病及肾”及“扶正祛邪”理论指导(以滋阴补肾代表复方六味地黄丸“扶正”,通过增强自杀基因治疗旁观者效应发挥杀伤肿瘤细胞“祛邪”的效果),选取六味地黄丸为增效药物,以实验性肝细胞癌为治疗对象,体内外实验研究比较了自杀基因疗法联合六味地黄丸治疗与单纯自杀基因治疗或单纯六味地黄丸治疗的抗肿瘤效果。研究结果显示:联合治疗组对肿瘤生长的抑制作用较单纯自杀基因治疗组或单纯六味地黄丸治疗组更为明显。

任何药物药理效应必有其相应的物质基础,从复方药物中必能分离出其相应肿瘤自杀基因疗法增效作用的活性成分。王喜军等<sup>[3]</sup>研究采用血清药物化学分析表明:马钱素、莫诺昔、5-羟甲基-2-糠酸、獐牙菜苷和丹皮酚5种化合物为六味地黄丸入血原形成分,并通过实验论证了上述化合物是六味地黄丸药效的物质基础。

这5种化合物是否与六味地黄丸对肿瘤自杀基因疗法的增效作用相关?参考王喜军等报道的药物血药浓度及各药物入血后血药浓度比例并结合笔者预实验情况确定实验药物浓度及混合药物比例进行实验<sup>[3-4]</sup>,实验结果表明:自杀基因系统联合马钱

素、莫诺昔、5-羟甲基-2-糠酸、獐牙菜苷和丹皮酚5种化合物及其混合组分,均未显示其对肿瘤自杀基因疗法的直接增效作用。考虑到六味地黄丸为一种免疫调节方药,王喜军的研究也表明上述活性成分具有免疫调节作用,又有研究文献显示,许多神经递质、内分泌激素和细胞因子可调控细胞缝隙连接功能<sup>[12]</sup>。那么,六味地黄丸对肿瘤自杀基因疗法的增效作用是否可能通过免疫途径间接介导呢?笔者将5种化合物的混合组分加入淋巴细胞培养体系,并离心得到淋巴细胞培养上清液,将药物作用后淋巴细胞培养上清联合自杀基因治疗系统,结果表明药物作用后淋巴细胞培养上清对自杀基因系统杀伤肝癌细胞具有协同增效作用,并呈一定的量效关系,提示药物混合组分能刺激淋巴细胞产生某些活性物质(可能为淋巴因子、淋巴细胞产生的递质和激素类物质等成分),并发挥了对HSV-tk/GCV治疗系统的增效作用,这些淋巴细胞产生的内源性某些活性物质可能才是六味地黄丸对肿瘤自杀基因疗法增效作用的药效物质基础。本研究结果还有一个重要提示,中药方药作用于机体后产生的内源性物质可能是中药方药发挥药理效应的重要途径,而在采用通常的研究方法时,中药方药作用于机体后产生的内源性物质的作用可能多被忽视了。

近年来出现的基于“只有能入血的化合物成分才是其药效作用的物质基础”的假说的血清药物化学方法为这一困境提供了解决的可能途径。但该方法也可能存在由于技术条件限制,使一些入血成分未能检出,而导致实验出现失真的可能性,也值得注意。

#### [参考文献]

- [1] 杜标炎,王慧峰,谭宇蕙,等. 六味地黄丸对小鼠移植性肝癌自杀基因治疗的增效作用[J]. 广州中医药大学学报,2007,24(2):132.

# 地黄饮子对卒中后抑郁大鼠海马 5-羟色胺受体的影响

范文涛<sup>1,2\*</sup>, 王倩<sup>2</sup>, 刘柏炎<sup>1</sup>

(1. 湖南中医药大学, 长沙 410208; 2. 陕西中医学院, 陕西 咸阳 712046)

**【摘要】** 目的:通过观察地黄饮子对卒中后抑郁大鼠 5-羟色胺<sub>1A</sub>受体(5-HT<sub>1A</sub>R)与 5-羟色胺<sub>2A</sub>受体(5-HT<sub>2A</sub>R) mRNA 水平表达的影响,进一步探讨地黄饮子治疗脑卒中后抑郁的可能作用机制。方法:健康成年 SD 大鼠 60 只,雌雄各半,随机分为 6 组(空白组、模型组、百优解组、地黄饮子高、中、低剂量组)每组 10 只,除空白对照组每笼饲养 5 只外(雌雄分开),其余各组均采用单独饲养法,每笼饲养 1 只。卒中后抑郁模型建立成功后,模型组、氟西汀组和地黄饮子高、中、低剂量组分别以 2.0 mL 蒸馏水、盐酸氟西汀(1.8 mg·kg<sup>-1</sup>)和地黄饮子(按生药)450,150,75 mg·kg<sup>-1</sup>ig,1 次/d,持续用药至行为学检测。在脑卒中后抑郁大鼠模型上,采用实时荧光定量 RT-PCR 方法,对卒中后抑郁大鼠 5-HT<sub>1A</sub>R 与 5-HT<sub>2A</sub>R mRNA 水平进行观察。结果:大鼠海马 5-HT<sub>1A</sub>R 相对表达水平与空白组(1.12±0.16)比较,模型组(0.23±0.13)有显著性差异( $P < 0.01$ );地黄饮子中、高剂量组(0.76±0.13,0.75±0.11)与模型组比较,有显著性差异( $P < 0.05$ )。各组大鼠海马 5-HT<sub>2A</sub>R mRNA 表达水平与空白组(1.13±0.12)比较,模型组(2.21±0.21)有显著性差异( $P < 0.05$ );地黄饮子高、中剂量组(1.21±0.21,1.25±0.26),与模型组比较,有显著性差异( $P < 0.05$ )。结论:地黄饮子可能是通过上调 5-HT<sub>1A</sub>R mRNA、下调 5-HT<sub>2A</sub>R mRNA 在海马区的表达,达到治疗卒中后抑郁的目的。

**【关键词】** 地黄饮子; 卒中后抑郁; 海马区; 5-羟色胺<sub>2A</sub>受体

**【中图分类号】** R285.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2013)16-0224-05

**【doi】** 10.11653/syfy2013160224

**【收稿日期】** 20121129(025)

**【基金项目】** 陕西省教育厅科研项目(12JK1027);咸阳市科研基金项目[2011K13-01(3)];陕西省“13115”科技创新工程重大科技专项(2010ZDKG-65)

**【通讯作者】** \* 范文涛,博士研究生,主治医师,讲师,从事中医脑病临床与实验研究,Tel:13892999670,E-mail:1404113637@qq.com

- [ 2 ] 杜标炎,张爱娟,谭宇蕙,等. 自杀基因系统联合六味地黄丸对肝癌细胞杀伤的协同作用[J]. 广州中医药大学学报,2008,25(4):319.
- [ 3 ] 王喜军,孙文军,张宁,等. 六味地黄丸血中移行成分的分离及结构鉴定[J]. 中国天然药物,2007,5(4):277.
- [ 4 ] 王喜军,张宁,孙晖,等. 六味地黄丸血中移行成分对氢化可的松致大鼠肾虚动物模型的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(2):33
- [ 5 ] 戴体俊. 合并用药的定量分析[J]. 中国药理学通报,1998,14(5):479.
- [ 6 ] Moolten F L. Tumor chemosensitivity conferred by inserted herpes thymidine kinase genes:paradigm for a prospective cancer control strategy [J]. Cancer Res, 1986,46(10):5276.
- [ 7 ] Colombo B M, Benedetti S, Ottolenghi S, et al. The ‘bystander effect’: association of U-87 cell death with ganciclovir-mediated apoptosis of nearby cells and lack of effect in athymic mice[J]. Hum Gene Ther, 1995,6(6):763.
- [ 8 ] Kianmanesh A R, Perrin H, Panis Y, et al. A ‘distant’ bystander effect of suicide Gene Therapy: regression of nontransduced tumors together with a distant transduced tumor [J]. Hum Gene Ther, 1997,8(15):1807.
- [ 9 ] 齐春会,乔善义. 六味地黄多糖体外对正常及衰老小鼠脾细胞免疫功能的影响[J]. 中国药理学通报,1999,15(2):157.
- [ 10 ] 吴军,赵凤鸣,王明艳,等. 四君子汤、六味地黄汤对环磷酰胺致小鼠免疫抑制的拮抗作用实验研究[J]. 四川中医,2007,25(10):12.
- [ 11 ] 杜标炎,徐勤. 六味地黄汤对糖皮质激素肾阴虚模型免疫器官淋巴细胞凋亡的抑制作用(Ⅱ)[J]. 广州中医药大学学报,2000,17(3):204.
- [ 12 ] Alves L A, Nihei O K, Fonseca P C, et al. Gap junction modulation by extracellular signaling molecules: the thymus model [J]. Braz J Med Biol Res, 2000,33:457.

[责任编辑 聂淑琴]