

肠胃清药物血清协同奥沙利铂对人结肠癌 耐药细胞增殖及凋亡的影响

余文燕, 孙珏, 许建华, 王国娟, 张瑞娟, 范忠泽*
(上海中医药大学附属普陀医院肿瘤科, 上海 200062)

[摘要] 目的:探讨肠胃清药物血清协同奥沙利铂(L-OHP)对 HCT116/L-OHP 细胞增殖及凋亡的影响。方法:采用 MTT 法检测 L-OHP 联合肠胃清药物血清对 HCT116/L-OHP 细胞的生长抑制情况,流式细胞仪碘化丙啶(PI)染色分析细胞周期分布及 Annexin V-FITC 试剂盒监测对 HCT116/L-OHP 凋亡的影响。结果:HCT116/L-OHP 细胞对 L-OHP 的耐药指数为 9.17 倍,48 h L-OHP 作用于 HCT116 和 HCT116/L-OHP 的 IC_{50} 分别为 (9.88 ± 0.42) , $(85.81 \pm 2.76) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 联用肠胃清药物血清后 HCT116/L-OHP 的 IC_{50} 降至 $(35.2 \pm 2.8) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 逆转指数为 2.44 倍 ($P < 0.05$)。联用前后细胞周期分别停滞在 G_1 , G_2 期及 G_1 期,其中 G_1 , G_2 期各组间两两比较 $P < 0.001$, S 期组间除奥沙利铂组与奥沙利铂联用肠胃清组比较 $P < 0.05$ 外,余 $P < 0.001$ 。联用前后细胞凋亡率分别为 $(8.6 \pm 0.31)\%$, $(23.73 \pm 2.36)\%$, 各组间除空白组与奥沙利铂组比较 $P < 0.05$ 外,余 $P < 0.001$ 。结论:肠胃清药物血清能有效地逆转人结肠癌耐药奥沙利铂细胞株 HCT116/L-OHP 对奥沙利铂的耐药,诱导 HCT116/L-OHP 凋亡,改变细胞周期分布。

[关键词] 结肠癌; 肠胃清; 奥沙利铂; 流式细胞术

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0182-05

[doi] 10.11653/syjf2013100182

Effect of Changweiqing Drug Serum Associated with Oxaliplatin on Human Colon Cancer Resistant Cells' Proliferation and Apoptosis

YU Wen-yan, SUN Jue, XU Jian-hua, WANG Guo-juan, ZHANG Rui-juan, FAN Zhong-ze*
(Department of Oncology, Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional
Chinese Medicine, Shanghai 200062, China)

[Abstract] **Objective:** To approach the effect of Changweiqin (CWQ) drug serum associated with oxaliplatin on the proliferation and apoptosis of human colon cancer resistant cell lines HCT116/L-OHP. **Method:** To investigate the growth and inhibition of HCT116/L-OHP treated with Oxaliplatin (L-OHP) and CWQ drug serum in HCT116/L-OHP by MTT assay, analyze the cell cycle distribution by flow cytometry propidium iodide (PI) staining, and monitor its apoptosis by Annexin V-FITC kit. **Result:** Oxaliplatin resistance index to HCT116/L-OHP is 9.17. The IC_{50} value of Oxaliplatin in 48 hours when treated to HCT116 and HCT116/L-OHP respectively is $(9.88 \pm 0.42) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $(85.81 \pm 2.76) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. After connected with CWQ drug serum, the IC_{50} value decreased to $(35.2 \pm 2.8) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and the reverse index is 2.44 ($P < 0.05$). The cell cycle which treated before and after Oxaliplatin associated with CWQ respectively arrested at the G_1 , G_2 phase and G_1 phase. The P value between each group in G_1 and G_2 phase are all less than 0.001. The P value between each group in S phase are all less than 0.001 while the P value between Oxaliplatin treated with CWQ group and Oxaliplatin group is

[收稿日期] 20130124(015)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30873404,8107315);上海市科委中药现代化专项资助项目(09dz1975500,10DZ1975500);上海市名老中医学术经验研究工作室建设项目(ZYSNXD-CC-MZY036)

[第一作者] 余文燕, 博士生, 医师, 从事中医内科学, Tel:021-62572723-4308

[通讯作者] * 范忠泽, 硕士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 博士后合作导师, Tel:021-62572723-4308, E-mail:henrie09@163.com

equal to 0.021. The apoptosis rate of HCT116/L-OHP were (8.6 ± 0.31)% and (23.73 ± 2.36)% respectively. The *P* value is equal to 0.037 when Oxaliplatin group is compared with blank group. The *P* value of Oxaliplatin group compared with blank group is equal to 0.046, while the *P* value of others is less than 0.001. **Conclusion:** CWQ drug serum can reverse the resistance of Oxaliplatin to human colon cancer cell lines HCT116/L-OHP, induce cells' apoptosis and change the cell cycle's distribution.

[**Key words**] colon cancer; CWQ; oxaliplatin; flow cytometry

大肠癌是人类常见的消化系恶性肿瘤,化疗是治疗该病的主要手段之一,但大肠癌细胞对化疗药物的多药耐药性严重阻碍了该病的治疗进程,如何防治大肠癌多药耐药已成为当今治疗大肠癌的一大难题。自1970年Biedler发现肿瘤多药耐药现象以来,已进行了许多该领域的机制探讨^[1]。中药复方肠胃清由生黄芪,党参,麸炒白术,预知子,薏苡仁,野葡萄藤,红藤,猪苓组成。前期研究发现其在体内外对胃肠道恶性肿瘤具有一定的抑制作用^[2-4],且未见毒副作用。为进一步阐明其在联合化疗药物治疗结肠直肠癌方面的作用及其机制,用体外细胞培养的方式,观察肠胃清药物血清联合奥沙利铂对肿瘤细胞的抑制作用及凋亡的影响。

1 材料

1.1 肠胃清 复方肠胃清由生黄芪30g,党参15g,麸炒白术15g,预知子24g,薏苡仁30g,野葡萄藤30g,红藤30g,猪苓24g,生药共198g组成,200目过滤,浓缩、风干、制粉,1g提取物含生药6.06g,由上海中医药大学药学院制备^[5]。

1.2 细胞株 结肠癌细胞株HCT116,购于南京凯基生物公司;结肠癌耐奥沙利铂细胞株HCT116/L-OHP由本课题组前期研究成功构建。

1.3 试剂及药物 四甲基偶氮唑盐(MTT, Sigma; M2128-1G),Annexin V-FITC/PI双染法细胞凋亡检测试剂盒(Mbchem™; M3021,上海美季生物技术有限公司)。奥沙利铂(南京制药厂有限公司)。

1.4 动物 SD大鼠购于上海西普尔-必凯实验动物有限公司,许可证号SCXK(沪)2003-0002,饲养于上海中医药大学附属普陀医院动物实验室,许可证号SYXK(沪)2005-0008。

1.5 仪器 GALAXYS型CO₂培养箱(英国RS Biotech公司),FACSCalibur型流式细胞仪(美国Becton Dickinson公司),680型全自动酶标仪(美国Bio-Rad公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 HCT116及HCT116/L-OHP细胞均培养于含10%胎牛血清以及100 U·mL⁻¹青霉素

和50 g·L⁻¹链霉素的RPMI1640培养基,置于37℃5%CO₂孵箱内,其中HCT116/L-OHP培养液中含10 mg·L⁻¹L-OHP以维持耐药性。2~3d换液,取对数生长期细胞进行实验。

2.2 制备药物血清 SD清洁级雄性大鼠30只,体重在200~250g左右,随机分为2组,A组为中药复方药物血清组20只,按27.225 g·kg⁻¹肠胃清颗粒(每克颗粒含生药6.06g)灌胃,B组为空白对照组,灌服等体积的生理盐水。连续给药5d,末次禁食12h给药,2h内腹主动脉采血,离心,分离血清,56℃水浴30min灭活,使用0.22 μm微孔滤膜过滤除菌分装,-40℃冰箱保存备用^[6-7]。

2.3 四甲基偶氮唑盐比色法(MTT法)检测细胞增殖活性

2.3.1 肠胃清药物血清联用浓度 取对数生长期的HCT-116/L-OHP细胞经胰酶消化制成单细胞悬液,调整密度至1×10⁵/mL,接种于96孔板中,100 μL/孔。待4-6h细胞贴壁后换成无血清的培养液饥饿6h,后换回含血清的培养液100 μL,分别含浓度为2.5%,5%,10%,20%的肠胃清药物血清及空白血清,并设调零组,每个浓度设5个复孔,培养48h后以1:10的体积加入5 g·L⁻¹的MTT 10 μL,继续培养4h,小心吸弃孔内液体,加入DMSO 150 μL/孔溶解蓝色结晶,经微型混合振荡器低速振荡10min,用酶联免疫标记分析仪于570nm波长测定各孔吸光度(A),计算细胞抑制率[抑制率=1-(肠胃清药物血清实验组A-调零组A)/(空白血清对照组A-调零组A)×100%]。以药物浓度为横轴,抑制率为纵轴绘制浓度效应曲线,确定最大无毒剂量(IC₁₀),以此作为肠胃清药物血清联用浓度。

2.3.2 细胞对药物的敏感性 方法同2.3.1,待细胞贴壁后分别加入不同浓度的L-OHP,每种药物浓度均设5个复孔,培养24,48,72h;肠胃清药物血清联用L-OHP组培养48h后处理方法同前,计算细胞抑制率公式同2.3.1,浓度效应曲线绘制同2.3.1,确定半数抑制浓度(IC₅₀)。计算耐药指数(IR)=耐药细胞IC₅₀/亲本细胞IC₅₀。

2.4 染色法检测细胞凋亡及周期分布 操作同前, 细胞接种于 6 孔板内, 2 mL/孔, 实验分为空白组, L-OHP 组, 肠胃清联用 L-OHP 组, 每组均设 3 个复孔, 选用 48 h 的 1/3 IC₅₀ 为用药浓度, 药物作用 48 h 后消化细胞, 装于 1.5 mL EP 管内, 离心 4 ℃ 2 000 r·min⁻¹ 5 min, 弃上清, 每管用 500 μL 含 5% FBS 的 PBS 轻柔混匀后等速离心, 重复洗涤 2 次。检测细胞周期予每管加细胞固定液(含 70% 预冷乙醇, 5% FBS, 25% PBS) 200 μL 固定 1 h 后等速离心, 弃上清, 继用 PBS 洗涤 2 次, 方法同前, 弃上清, 避光条件下, 每管加 100 μL PI, 静置 30 min, 加 300 μL PBS 混匀, 上流式细胞仪检测。检测细胞凋亡则用 400 μL Bidding Buffer 悬浮细胞, 在悬液中加入 5 μL Annexin V-FITC, 轻轻混匀后于 2~8 ℃ 避光条件下孵育 15 min, 后加入 10 μL PI 同等条件下孵育 5 min, 1 h 内上流式细胞仪检测。

2.5 统计学处理 采用 SPSS 16.0 统计学软件进行统计分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 进行 Bartlett 检测方差齐性, 各组间两两比较, 方差齐采用 LSD 法, 方差不齐则采用 Dunnett's T3 法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 确定肠胃清药物血清联用浓度 结果显示 HCT116 细胞生长呈不同程度的抑制, 抑制率随肠胃清药物血清浓度的增加而增高, 并呈浓度依赖性 ($P < 0.05$, 表 1), 肠胃清药物血清对 HCT116 及 HCT116/L-OHP 细胞 IC₁₀ 分别为 (2.33 ± 0.21)% 和 (5.88 ± 0.98)%, 故以 6% 的肠胃清药物血清作为 HCT116/L-OHP 联用浓度。

表 1 不同浓度肠胃清药物血清作用于 HCT116, HCT116/L-OHP 的细胞抑制率比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$) %

肠胃清药物 血清体积分数/%	细胞抑制率	
	HCT116	HCT116/L-OHP
2.5	12.92 ± 1.27 ¹⁾	3.63 ± 1.15
5	18.57 ± 0.28 ¹⁾	12.49 ± 6.43
10	31.22 ± 0.69 ¹⁾	17.84 ± 6.59
20	52.42 ± 0.49 ¹⁾	27.51 ± 3.26

注: 相同药物浓度 2 种细胞的抑制率比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 奥沙利铂对 HCT116/L-OHP 细胞增殖的影响 分别以质量浓度为 1.95, 3.91, 7.81, 15.63, 31.25, 62.5 mg·L⁻¹ 的 L-OHP 作用于 HCT116 细胞 24, 48, 72 h, MTT 检测结果显示 L-OHP 处理 48, 72

h 后各浓度间两两比较 $P < 0.05$ (表 2)。以质量浓度为 7.81, 15.63, 31.25, 62.5, 125, 250 mg·L⁻¹ 的 L-OHP 处理 HCT116/L-OHP 24 h, 48 h, 72 h, 其中 L-OHP 处理 72 h 后各浓度间两两比较 $P < 0.05$ (表 3)。L-OHP 处理 HCT116 和 HCT116/L-OHP 组内各时间段 IC₅₀ 浓度间两两比较 $P < 0.05$ (表 4), 因 48 h L-OHP 耐药指数最为显著, 故选取该时间段作为后续联用肠胃清观察时间。

表 2 24, 48, 72 h 不同质量浓度 L-OHP 作用于 HCT116 的抑制率 ($\bar{x} \pm s, n = 3$) %

质量浓度 /mg·L ⁻¹	抑制率		
	24 h	48 h	72 h
1.95	4.97 ± 1.97	22.59 ± 4.5 ¹⁾	26.66 ± 2.48 ²⁾
3.91	8.79 ± 1.15	29.65 ± 6.75 ¹⁾	39.42 ± 3.62 ²⁾
7.81	8.21 ± 2.74	42.4 ± 3.61 ¹⁾	54.67 ± 3.32 ²⁾
15.63	16.38 ± 3.90	58.5 ± 2.93 ¹⁾	65.44 ± 0.39 ²⁾
31.25	33.30 ± 0.72	79.74 ± 8.29 ¹⁾	73.83 ± 0.8 ²⁾
62.5	45.18 ± 2.16	81.2 ± 6.75 ¹⁾	90.15 ± 1.86 ²⁾

注: 48 h 各浓度间两两比较¹⁾ $P < 0.05$; 72 h 各浓度间两两比较²⁾ $P < 0.05$ 。

表 3 24, 48, 72 h 不同浓度 L-OHP 作用于 HCT116/L-OHP 的抑制率 ($\bar{x} \pm s, n = 3$) %

L-OHP 质量 浓度/mg·L ⁻¹	HCT116/L-OHP 的抑制率		
	24 h	48 h	72 h
7.81	-15.73 ± 11.15	-0.04 ± 13.95	31.67 ± 2.71 ¹⁾
15.63	-1.09 ± 9.16	13.38 ± 9.01	48.52 ± 5.27 ¹⁾
31.25	6.16 ± 3.78	25.98 ± 6.9	62.35 ± 5.41 ¹⁾
62.5	14.24 ± 2.79	31.37 ± 4.41	70.01 ± 5.55 ¹⁾
125	25.97 ± 9.43	49.05 ± 6.87	83.09 ± 4.42 ¹⁾
250	45.04 ± 20.77	86.7 ± 5.08	97.12 ± 1.63 ¹⁾

注: 72 h 各浓度间两两比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

表 4 不同时间 L-OHP 对 HCT116/L-OHP 耐药性的确定 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

时间 /h	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹		耐药指数
	HCT116	HCT116/L-OHP	
24	96.09 ± 8.30 ¹⁾	203.20 ± 8.71 ²⁾	2.11
48	9.39 ± 0.38	85.81 ± 2.76	9.17
72	6.67 ± 0.78	20.46 ± 0.81	3.07

注: HCT116 组内各时间段 IC₅₀ 浓度间两两比较¹⁾ $P < 0.05$; HCT116/L-OHP 组内各时间段 IC₅₀ 浓度间两两比较²⁾ $P < 0.05$ 。

3.3 奥沙利铂联用肠胃清药物血清对 HCT116/L-OHP 增殖的影响 MTT 法结果显示 48 h 不同浓度

L-OHP 联用 6% 肠胃清药物血清后各浓度间两两比较 *P* 值均 < 0.05 (表 5)。*L*-OHP 联用肠胃清药物血清后均能不同程度的逆转 HCT116/*L*-OHP 对 *L*-OHP 的耐药,从而增强细胞敏感性,48 h IC_{50} 为 $(35.2 \pm 2.8) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,逆转指数为 2.44 倍。

表 5 *L*-OHP 联用肠胃清药物血清前后作用于 HCT116/*L*-OHP 48 h 的抑制率 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

<i>L</i> -OHP 质量 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	抑制率/%	
	<i>L</i> -OHP	<i>L</i> -OHP + 6% CWQ
7.81	-0.04 ± 13.95	$4.78 \pm 0.82^{1)}$
15.63	13.38 ± 9.01	$22.02 \pm 7.30^{1)}$
31.25	25.98 ± 6.9	$55.40 \pm 4.27^{1)}$
62.5	31.37 ± 4.41	$74.80 \pm 3.65^{1)}$
125	49.05 ± 6.87	$89.82 \pm 6.19^{1)}$
250	86.7 ± 5.08	$95.47 \pm 1.61^{1)}$

注:与同浓度 *L*-OHP 组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.4 奥沙利铂联用肠胃清对 HCT116/*L*-OHP 凋亡的影响 Annexin V-FITC 染色,流式细胞仪分析表明,选取 48 h $1/3 IC_{50}$ 的 *L*-OHP,联用 6% 肠胃清药物血清前后作用于 HCT116/*L*-OHP,结果显示联用前后细胞凋亡率分别为 $(8.6 \pm 0.31)\%$ 和 $(23.73 \pm 2.36)\%$,空白组凋亡率为 $(6.31 \pm 1.14)\%$ 与奥沙利铂组比较 $P < 0.05$,余均 $P < 0.001$,说明联用肠胃清药物血清后能有效提高细胞凋亡率,促进细胞凋亡。

3.5 奥沙利铂联用肠胃清前后对 HCT116/*L*-OHP 周期的影响 流式细胞仪分析表明,*L*-OHP 联用肠胃清药物血清前后细胞周期分别停滞在 G_1, G_2 期(以 G_1 为主)及 G_1 期。方差分析提示 G_1, G_2, S 期各组间比较 $P < 0.001$,组间差异显著,进一步予 G_1, G_2 期各部分内各组间两两比较均 $P < 0.001$, S 期组间除奥沙利铂组与奥沙利铂联用肠胃清组比较 $P = 0.021$ 外,余均 $P < 0.001$,说明肠胃清能提高细胞在 G_1, S 期的分布率,见表 6。

4 讨论

奥沙利铂(*L*-OHP)是近年来被推荐的 II, III 期结肠直肠癌的一线治疗药物,是继顺铂、卡铂后推出的第 3 代铂类抗癌药,它的特点是对顺铂、卡铂的耐药株均有显著的抑制作用^[8],但肿瘤细胞对 *L*-OHP 也会有原发或获得性耐药^[9],从而限制了该药的进一步运用,成为含铂化疗方案的重要障碍。

表 6 48 h *L*-OHP 联用肠胃清药物血清前后作用于 HCT116/*L*-OHP 的细胞周期分布 ($\bar{x} \pm s, n=3$) %

组别	细胞周期		
	G_1 期	G_2 期	S 期
对照	37.77 ± 0.61	22.26 ± 0.87	41.38 ± 1.20
<i>L</i> -OHP	$43.78 \pm 1.68^{1)}$	$43.24 \pm 1.12^{1)}$	$14.81 \pm 0.85^{1,2)}$
联用 6% CWQ	$50.53 \pm 0.80^{1)}$	$34.77 \pm 0.75^{1)}$	$17.46 \pm 1.08^{1)}$

注:与对照组比较, $P < 0.001$,与奥沙利铂联用肠胃清组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

大肠癌在中医学中属“积聚”、“肠风”、“下痢”、“脏毒”等范畴,其发病多涉及两方面因素:一为内因,乃正气不足;一为外因,乃毒邪损伤肠络,痰瘀凝聚肠道所致,健脾化湿、解毒活血是治疗大肠癌的基本方法^[10]。范忠泽教授对病理确诊的术后复发或未能手术的晚期大肠癌患者,在化疗方案的基础(大肠癌采用以铂类为基础的化疗方案)上,加用具有健脾化湿解毒作用的中药复方肠胃清治疗,研究结果提示,与单纯化疗组对比,中药复方加化疗组生存质量明显提高,中位生存期明显延长^[11]。

本实验选用课题组前期成功构建的人结肠癌耐药奥沙利铂细胞株 HCT116/*L*-OHP,经验证耐药性能稳定,具有耐药细胞的基本生物学特性。通过体外细胞培养的方式,探讨肠胃清药物血清协同奥沙利铂对 HCT116/*L*-OHP 细胞增殖及凋亡的影响。结果发现肠胃清药物血清能有效地逆转人结肠癌耐药奥沙利铂细胞株 HCT116/*L*-OHP 对奥沙利铂的耐药,诱导 HCT116/*L*-OHP 凋亡,改变细胞周期分布,为中药复方肠胃清治疗结肠癌提供了良好的理论基础及实验依据,但本实验结果仅限于细胞增殖及凋亡的初步研究,其耐药分子机制有待于进一步探讨,以冀为中医药防治肿瘤、逆转肿瘤铂类耐药的临床应用开辟新的思路。

[参考文献]

- [1] 孔帅,李乐平,靖昌庆. 消化道恶性肿瘤多药耐药机制的研究进展[J]. 中国现代普通外科进展, 2009, 8: 706.
- [2] 孙绮文,孙珏,陈惠娟,等. 肠胃清口服液根除幽门螺杆菌的疗效观察和实验研究[J]. 上海中医药大学学报, 2001, 15(3): 22.
- [3] 许建华,范忠泽,孙珏,等. 肠胃清口服液抑制结肠癌细胞 Ls-174T 侵袭转移的体外研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2005, 13(6): 357.

安神定志灵对自发性高血压大鼠脑中多巴胺受体 D3, D4, D5 基因表达的影响

章新辉¹, 韩新民^{1*}, 徐建亚¹, 倪新强¹, 何凤²

(1. 南京中医药大学第一临床医学院, 南京 210029;

2. 南京正科制药有限公司, 南京 210038)

【摘要】 目的:研究安神定志灵对注意缺陷多动障碍(attention deficit hyperactivity disorder, ADHD)动物模型大鼠脑边缘系统多巴胺受体 D3(dopamine receptor-3, DRD3)、D4(dopamine receptor-4, DRD4)及 D5(dopamine Receptor-5, DRD5)和前额叶皮质 DRD4 基因表达的影响,探讨该药治疗 ADHD 可能的作用机制。**方法:**30 只自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR)随机分为 5 组(安神定志灵高、中、低剂量组,利他林组,模型组),6 只同龄 Wistar 大鼠作为正常对照组。安神定志灵高、中、低剂量组分别给予生药剂量 34.1, 17.1, 8.5 g·kg⁻¹, 利他林组予 2.1 mg·kg⁻¹, 模型组和正常对照组予 10 mL·kg⁻¹生理盐水,各用药组每次均以每天相应剂量的 1/2 ig, 2 次/d, 连续给药 1 月后进行实验处理,迅速分离脑组织,采用 RT-PCR 检测各组大鼠脑边缘系统 DRD3, DRD4 及 DRD5 和前额叶皮质 DRD4 基因表达水平。参照基因表达谱芯片分析,当目的基因表达 ≥ 2, 认为该基因表达增高;若 ≤ 0.5 认为基因表达降低。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠不论是脑边缘系统中 DRD3, DRD4 和 DRD5 基因表达还是前额叶皮质中 DRD4 基因表达均降低。与模型组相比,利他林组脑边缘系统中 DRD3, DRD4 及 DRD5 基因的表达和前额叶皮质中 DRD4 基因的表达均回调;安神定志灵低剂量组回调脑边缘系统中 DRD3, DRD4, DRD5 的表达和前额叶皮质中 DRD4 的表达,中剂量组仅发现前额叶皮质中 DRD4 的表达增加,高剂量组上调脑边缘系统中 DRD3 的表达的同时显著下调前额叶皮质中 DRD4 的表达。**结论:**DRD3, DRD4 及 DRD5 与 ADHD 的发生存在一定的关联性,不同剂量的安神定志灵在调控中脑-皮质-边缘系统多巴胺通路的功能中发挥不同的作用,提示临床给药剂量需结合临床症状和体征等。

【关键词】 安神定志灵; 注意缺陷多动障碍; 多巴胺受体 D3; 多巴胺受体 D4; 多巴胺受体 D5

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2013)10-0186-05

【doi】 10.11653/syjf2013100186

【网络出版地址】 <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130308.1039.003.html>

【网络出版时间】 2013-03-08 10:39

【收稿日期】 20121224(001)

【基金项目】 教育部高等学校博士学科点专项科研基金(200803150003);国家自然科学基金项目(81273801)

【第一作者】 章新辉, 硕士研究生, 从事小儿精神神经系统疾病研究, Tel: 13952048476, E-mail: zhangxinhui163@163.com

【通讯作者】 * 韩新民, 教授, 主任医师, 博士生导师, 从事小儿精神神经系统疾病研究, Tel: 15195996828, E-mail: hxm1nj@163.com

[4] 张勇, 许建华, 孙珏, 等. 健脾解毒方联合 FOLFOX4 方案治疗晚期结直肠癌临床研究[J]. 环球中医药, 2010, 3(2):117.

[5] 金旻逸, 丁越, 张彤, 等. 肠胃清颗粒提取工艺研究[J]. 亚太传统医药, 2011, 7(2):20.

[6] 张军平, 张伯礼, 山本清高. 中药药物血清的制作方法探讨[J]. 天津中医药, 2004, 21(4):274.

[7] 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.

[8] Samimi G, Manorek G, Castel R, et al. cDNA microarray-based identification of genes and pathways

associated with oxaliplatin resistance [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2005, 55(1):1.

[9] Tang H, Liu Y J, Liu M, et al. Establishment and gene analysis of an oxaliplatin-resistant colon cancer cell line THC8307/L-OHP [J]. Anticancer Drugs, 2007, 18(6):633.

[10] 刘静, 张军, 朱琦. 中医药治疗大肠癌辨证用药分析[J]. 辽宁中医杂志, 2006, 33(9):1166.

[11] 许建华, 范忠泽, 孙珏, 等. 肠胃清治疗晚期胃肠癌及对外周血 MDR1 mRNA 的影响[J]. 上海中医药杂志, 2007, 41(5):40.

【责任编辑】 聂淑琴