

• 实验研究 •

逍遥丸含药血清对人卵巢颗粒细胞内分泌功能的影响

杨宏敏¹ 宋翠淼² 周楠¹ 陆君¹ 路帅¹马惠荣¹ 段彦苍¹ 徐华洲² 杜惠兰^{1*}

(1. 河北医科大学中西医结合学院, 河北省石家庄市新石南路 326 号, 050091;

2. 河北医科大学基础课教学部)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30772818)

* 通讯作者: duhuilan@163.com, (0311)86265087

[摘要] 目的 探讨逍遥丸对卵巢颗粒细胞内分泌功能影响可能的分子机制。方法 12 只 Wistar 大鼠随机分为逍遥丸低、中、高剂量组(每日灌服逍遥丸混悬液 1 ml/100 g、2 ml/100 g、3 ml/100 g)和对照组(每日灌服生理盐水 2 ml/100 g), 连续 4 天, 于末次灌胃后 1 h 大鼠股动脉采血制备低、中、高剂量逍遥丸大鼠含药血清及正常大鼠血清。收集行体外受精-胚胎移植患者卵泡液, 提取颗粒细胞原代细胞培养 24 h, 以低、中、高剂量逍遥丸大鼠含药血清以及正常大鼠血清分别与体外培养的人卵巢颗粒细胞共同孵育 48 h, 分为逍遥丸低、中、高剂量组以及对照组。采用放射免疫方法测定培养液中雌二醇(E_2)、孕酮(P)、环磷酸腺苷(cAMP)的水平, 采用蛋白印迹法和实时定量荧光 PCR 法分别检测促卵泡素受体(FSHR)蛋白和 FSHR mRNA、P450 芳香化酶 mRNA、过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (PPAR γ)mRNA 在卵巢颗粒细胞的表达。结果 与对照组比较, 逍遥丸中、高剂量组培养液中 E_2 、cAMP 水平明显升高, 逍遥丸低、中、高剂量组 FSHR 蛋白表达明显升高, 逍遥丸高剂量组 FSHR、P450 芳香化酶 mRNA 表达明显升高, 逍遥丸中剂量组 PPAR γ mRNA 表达明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与逍遥丸低剂量组比较, 逍遥丸高剂量组 E_2 、cAMP、FSHR 蛋白及 mRNA 水平明显升高($P < 0.01$)。结论 逍遥丸可能通过增加卵巢颗粒细胞 FSHR 蛋白及其 mRNA 的表达, 使 FSH 更好发挥促进卵泡发育、排卵的作用, 并通过调节 FSHR、cAMP、P450 芳香化酶、 E_2 水平促进卵巢颗粒细胞的内分泌功能。

[关键词] 逍遥丸; 颗粒细胞; 内分泌; 卵泡刺激素受体; 卵巢功能失调

Effect of Xiaoyao Pill Containing Serum on the Endocrine Function of Human Ovarian Granulosa Cells

YANG Hongmin, SONG Cuimiao, ZHOU Nan, LU Jun, LU Shuai, MA Huirong, DUAN Yancang, XU Huazhou, DU Huilan (Hebei Medical University, Hebei Province 050091)

ABSTRACT Objective To research the possible molecular mechanism of Xiaoyao Pill (Free Wanderer Pill) containing serum on the endocrine function of ovarian granulosa cells. **Methods** Twelve Wistar rats were randomized into Xiaoyao Pill low-dose, middle-dose and high-dose groups (1 ml/100 g, 2 ml/100 g and 3 ml/100 g Xiaoyao Pill suspension was gavaged to each rat daily) and control group (each rat was gavaged with 2 ml/100 g normal saline daily). The administration lasted for 4 days. Xiaoyao Pill low-dose, middle-dose and high-dose rat containing serum and normal rat serum was prepared by collecting blood from the femoral artery 1h after the last administration. The follicular fluid of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) patients was collected to extract granule cells and culture primary cells for 24 hours. Xiaoyao Pill low-dose, middle-dose and high-dose rat containing serum and normal rat serum was incubated with cultured human ovarian granulosa cells together for 48 hours respectively and divided into Xiaoyao Pill low-dose, middle-dose and high-dose groups and control group. The levels of estradiol (E_2), progesterone (P) and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) in culture solution were detected with radioimmunoassay. The Western blot and Real-time PCR were used to detect the expressions of follicle stimulating hormone receptor (FSHR) protein, FSHR mRNA, P450 aromatase mRNA and peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ) mRNA in ovarian granulosa cells. **Results** Comparing with the control group, the levels of E_2 and cAMP in Xiaoyao Pill middle-dose and high-dose groups were significantly increased, the FSHR protein expression in Xiaoyao Pill low-dose, middle-dose and high-dose groups was significantly increased, the expressions of FSHR mRNA and P450 aromatase mRNA in Xiaoyao Pill high-dose group were significantly increased and the PPAR γ mRNA expression in Xiaoyao Pill middle-dose group was significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Comparing with Xiaoyao Pill low-dose group, the levels of E_2 , cAMP, FSHR protein and FSHR mRNA were significantly increased in Xiaoyao Pill high-dose group ($P < 0.01$). **Conclusion** Xiaoyao Pill

can make FSH promote follicular development and ovulation by increasing the expressions of FSHR protein and FSHR mRNA in ovarian granulosa cells and promote the endocrine function of ovarian granulosa cells by regulating the levels of FSHR, cAMP, P450 aromatase and E_2 .

Keywords Xiaoyao Pill (Free Wanderer Pill); granulosa cells; endocrine; follicle stimulating hormone receptor; ovarian function

卵巢功能失调可引起排卵障碍及生殖内分泌紊乱而发生功能失调性子宫出血、闭经、不孕症等多种妇科疾病。现代医学采用激素类药物治疗上述疾病取得了显著疗效,但其局限性和副作用限制了其临床应用^[1-2]。中医学认为,肝主藏血,主疏泄,肝为血脏,血海蓄溢受肝所司,是女性生殖调节的枢纽。临床上运用疏肝法治疗不孕症、月经不调等卵巢功能障碍性疾病疗效显著^[3-5]。在卵泡的发育、排卵、性激素的合成过程中,卵泡刺激素(FSH)通过与其受体(FSHR)结合发挥重要作用。FSH 通过颗粒细胞环磷酸腺苷(cAMP)-蛋白激酶 A(PKA)信号转导通路诱导雌激素生成^[6],而卵巢局部的雌激素对维持卵泡发育、成熟卵子的质量发挥重要的作用^[7-8]。本实验通过观察逍遥丸含药血清对体外培养的人卵巢颗粒细胞 FSHR、cAMP、P450 芳香化酶、雌二醇(E_2)、孕酮(P)等的影响,探讨逍遥丸促进卵泡发育、改善卵巢颗粒细胞内分泌功能的可能分子机制。

1 材料与方法

1.1 药物和试剂

逍遥丸由柴胡、当归、白芍、茯苓、白术、甘草、生姜、薄荷组成(河南宛西制药有限公司,批号:20081010)。RPMI 1640 培养基(美国 Gibco 公司),逆转录酶(M-MLV)、核糖核酸酶抑制剂(RNasin)、随机引物、琼脂糖、Taq DNA 聚合酶、dNTP(美国 Promega 公司),HRP 标记二抗(北京博奥森生物技术有限公司),RNA 提取试剂 Trizol Reagent(invitrogen 公司),FSHR 抗体(美国 Santa Cruz 公司), E_2 、P 放免试剂盒(批号分别为:RG60905, RG50905, 天津九鼎医学生物工程有限公司),cAMP 放免试剂盒(北京普尔伟业生物技术有限公司,批号:20090525)。

1.2 实验动物

健康 Wistar 雌性大鼠 12 只,6 周龄,体重 160~170 g,清洁级,由河北医科大学实验动物中心提供,动物合格证号:810164。

1.3 大鼠含药血清的制备

将 24 丸(每 8 丸相当于生药 3 g)逍遥丸溶于

100 ml 蒸馏水中制成混悬液,每毫升混悬液含生药 0.09 g,放置于 4℃ 冰箱中密闭保存。根据大鼠体重按随机数字表法分为 4 组,每组 3 只。逍遥丸低、中、高剂量组大鼠每日灌服逍遥丸混悬液 1 ml/100 g、2 ml/100 g、3 ml/100 g,对照组大鼠每日灌服生理盐水 2 ml/100 g,各组大鼠均每日灌胃 2 次,连续 4 天。于末次灌胃后 1 h 大鼠股动脉采血,室温静置 2 h,离心(3000 r/min, 10 min),取上清,56℃ 水浴 30 min 灭活补体,0.22 μm 无菌滤器过滤除菌、分装,制备低、中、高剂量逍遥丸大鼠含药血清及正常大鼠血清, -20℃ 保存备用。

1.4 卵巢颗粒细胞的采集

收集 2009 年 6 月至 2009 年 11 月在河北医科大学第二医院生殖医学科就诊行体外受精-胚胎移植(IVF-ET)或卵细胞浆内单精子注射(ICSI)的不孕症患者 28 例,年龄 23~37 岁,平均(26.46 ± 4.79)岁,基础体温呈双相型,血清催乳素在正常范围,受试前 3 个月内未服用激素类药物,患者均知情同意。

所有患者均采用 GnRH-α/Gonal-F/HMG/HCG 长周期降调节方案超促排卵,于前一个月经周期黄体中期开始皮下注射达菲林(GnRH-α, Beaufour Ipsen, 批号: V003) 0.05~0.1 mg,降调节达到血 FSH<5 mIU/ml、黄体生成素(LH)<5 mIU/ml、 E_2 <50 pg/ml 后,于月经第 3~7 天开始每日注射果纳芬(Gonal-F, Merck Serono, 批号: V16B2209)以刺激卵泡发育。用药期间监测卵泡发育情况、血清 E_2 和 LH 水平,根据患者卵泡发育情况及时调整药物剂量,促排卵后期可酌情改用人绝经期促性腺激素(HMG)2~3 天,当两侧卵巢至少有 3 个卵泡直径≥18 mm 时停药,肌肉注射人绒毛促性腺激素(HCG, Merck Serono, 批号: V14B8209) 10 000 IU, 34~36 h 后在阴道 B 超检测下阴道后穹窿穿刺取卵,收集卵泡液。

1.5 卵巢颗粒细胞的分离、培养、分组及给药

将含有颗粒细胞的卵泡液,离心,弃上清液,沉淀颗粒细胞,用 DMEM 培养基洗涤后,经 Percoll 密度梯度离心(1500 r/min, 15 min),分离除去红细

胞。加入 0.25% 的胰蛋白酶, 37℃ 消化 5~10 min, 加入含有 1640 培养液和 10% 胎牛血清终止消化。PBS 冲洗, 离心。经台盼蓝染色显示细胞存活率为 85%~90%。用含有 1640 培养液和 10% 胎牛血清将颗粒细胞浓度调整为 2×10^5 /ml 的单细胞悬液, 将其放入 24 孔的培养板, 每板 1 ml, 在 5% 的 CO₂、37℃ 孵育箱中培养 24 h 贴壁, 更换新鲜培养基。以低剂量、中剂量、高剂量逍遥丸大鼠含药血清、正常大鼠血清分别与培养的卵巢颗粒细胞共同孵育 48 h (以上操作至少重复 3 次, 每次每种浓度重复 3 个培养皿), 分为逍遥丸低、中、高剂量组和对照组。收集颗粒细胞, 取上清液(培养液), -20℃ 保存待测。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 卵巢颗粒细胞培养液中 E₂、P、cAMP 的测定 采用放射免疫法, 严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.6.2 卵巢颗粒细胞 FSHR 蛋白的测定 采用蛋白印迹法。取大约 500~600 mg 颗粒细胞, 加 1 ml 提取液匀浆, 4℃, 离心(12 000 r/min, 5 min), 取上清, 加入等体积 2×SDS 上样缓冲液, 100℃ 中煮沸 5 min。进行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 每孔上样等量总蛋白。采用水浴式电印迹法将蛋白转移至膜上, 室温振荡。封闭膜 2 h 后, 加入 1:250(封闭液稀释)的第一抗体稀释液, 室温缓慢摇动 2 h, 用 PBS-Tween 洗膜 3 次后, 加入 1:5 000(封闭液稀释)的 HRP 标记的第二抗体稀释液, 室温振荡 1 h, PBS-Tween 充分洗膜, 将其浸入 DAB 显色液中, 室温充分显色, 用蒸馏水洗膜, 将膜转入 PBS 中观察、照相。采用 Quantity One 软件分析数据, 获得各组电泳条带的平均光密度值, 以 FSHR 与 Actin 的灰度比值表示 FSHR 的相对表达含量。

1.6.3 卵巢颗粒细胞 FSHR、P450 芳香化酶、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ) mRNA 的测定 采用实时定量荧光 PCR 法, 目的基因引物由上海生工生物工程公司合成。将培养的颗粒细胞 50 mg 参考说明书采用 Trizol 一步法提取总 RNA。1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定 RNA 完整性, 紫外分光光度计检测 RNA 浓度和纯度。以总 RNA 为此模板, 以 Oligo(dT)16 为引物, 按照 M-MLV 说明书反转录合成 cDNA, -20℃ 保存。PCR 热循环参数: 96℃ 4 min, 然后三步反应, 即 94℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 30 s, 进行 40 个循环, 于每个循环的第三步收集荧光信号。扩增完毕后, 进入结果分析界面, 以甘油

醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参照基因, 与对照组相比, 得到目的基因表达的相对定量值(RQ 值)。

1.7 统计学方法

应用 SPSS 13.0 统计软件进行统计处理, 计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较用单因素方差分析, 均数间两两比较用 SNK 法 Q 检验。

2 结果

2.1 各组人卵巢颗粒细胞培养液中 E₂、P、cAMP 水平的比较

表 1 示, 与对照组比较, 逍遥丸低、中、高剂量组培养液中 E₂ 水平明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 逍遥丸中、高剂量组 cAMP 明显增加($P < 0.01$)。与逍遥丸低剂量组比较, 逍遥丸中、高剂量组培养液中 E₂ 水平明显升高($P < 0.01$); 逍遥丸高剂量组 cAMP 亦明显增加($P < 0.01$)。各组 P 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 各组人卵巢颗粒细胞培养液中 E₂、P、cAMP 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	E ₂ (pg/ml)	P (ng/ml)	cAMP (pmol/ml)
对照组	5	34.27±6.94	5.32±1.78	1.70±1.29
逍遥丸低剂量组	5	46.25±10.05*	4.01±2.18	2.97±1.06
逍遥丸中剂量组	5	75.43±9.56**△	4.88±2.02	3.62±0.72**
逍遥丸高剂量组	5	90.64±12.22**△	7.52±2.46	5.06±0.92**△

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与逍遥丸低剂量组比较, △ $P < 0.01$

2.2 各组人卵巢颗粒细胞 FSHR 蛋白表达比较

表 2 示, 与对照组比较, 逍遥丸低、中、高剂量组卵巢颗粒细胞 FSHR 蛋白表达明显升高($P < 0.01$)。与逍遥丸低剂量组比较, 逍遥丸中、高剂量组卵巢颗粒细胞 FSHR 蛋白表达明显升高($P < 0.01$)。

表 2 各组人卵巢颗粒细胞 FSHR 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	FSHR/Actin
对照组	3	0.88±0.11
逍遥丸低剂量组	3	0.98±0.12*
逍遥丸中剂量组	3	1.11±0.13*△
逍遥丸高剂量组	3	1.19±0.25*△

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$; 与逍遥丸低剂量组比较, △ $P < 0.01$

2.3 各组人卵巢颗粒细胞 FSHR、P450 芳香化酶及 PPAR γ mRNA 表达比较

表 3 示, 与对照组比较, 逍遥丸高剂量组卵巢颗粒细胞 FSHR、P450 芳香化酶 mRNA 表达明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 逍遥丸中剂量组 PPAR γ mRNA 表达明显降低($P < 0.01$)。与逍遥丸低剂量

组比较,逍遥丸高剂量组 FSHR mRNA 表达明显升高($P<0.01$)。

表 3 各组人卵巢颗粒细胞 FSHR、P450 芳香化酶、PPAR γ mRNA 表达比较(RQ 值, $\bar{x}\pm s$)

组别	样本数	FSHR mRNA	P450 芳香化酶 mRNA	PPAR γ mRNA
对照组	3	1.01 $\pm$ 0.22	0.08 $\pm$ 0.02	8.67 $\pm$ 1.90
逍遥丸低剂量组	3	0.69 $\pm$ 0.25	0.50 $\pm$ 0.15	5.87 $\pm$ 2.30
逍遥丸中剂量组	3	1.77 $\pm$ 0.91	0.52 $\pm$ 0.15	3.55 $\pm$ 1.25**
逍遥丸高剂量组	3	3.06 $\pm$ 1.09** Δ	0.56 $\pm$ 0.16*	5.25 $\pm$ 1.97

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与逍遥丸低剂量组比较, $\Delta P<0.01$

3 讨论

逍遥丸是在《太平惠民和剂局方》逍遥散的基础上应用现代工艺生产的新型中药制剂。方中柴胡为君药,疏肝理气,使肝经、冲任气血调畅。当归、白芍皆入肝经,均能补血,共为臣药,两药合用养血调经,调补冲任,与君药同用,既养肝体助肝用,又防柴胡劫肝阴。白术、茯苓健脾益气,助脾生化气血以养肝阴而使肝气疏达,以增当归、白芍养血之功,共为佐药。薄荷疏散透达肝经之郁滞,生姜降逆和中,且能辛散达郁,亦为佐药。甘草调和诸药为使药。诸药合用,疏肝解郁、养血活血,佐以健脾,使气血调匀、冲任二脉调畅,达到改善卵巢功能的效果。

FSH 是卵巢功能重要的调节激素,参与卵泡发育、排卵、黄体的生成以及甾体激素的合成^[9],FSH 必须与分布于卵巢颗粒细胞的 FSHR 结合才能发挥其生理功能。FSH 通过颗粒细胞 cAMP-PKA 信号转导通路,活化 P450 芳香化酶系统,诱导雌激素的生成。FSHR 与 FSH 结合后可顺序激活刺激性 G 蛋白以及腺苷酸环化酶(AC),后者使 ATP 转化为第二信使 cAMP,进而激活 PKA,使 cAMP 反应元件结合蛋白(CREB)磷酸化,磷酸化的 CREB 与 P450 芳香化酶启动子 II 的 cAMP 的反应元件结合,刺激 P450 芳香化酶的转录^[10-11]。P450 芳香化酶将卵巢颗粒细胞产生的睾酮转化为 E_2 进入血液和卵泡液中,P450 芳香化酶的表达水平与活性直接决定了卵巢组织中雌激素的水平^[12],而 PPAR γ 对卵巢颗粒细胞的芳香化酶活性和 P450 芳香化酶 mRNA 的水平有抑制作用^[13]。雌激素协同 FSH 促进卵泡的生长和发育,并在决定优势卵泡形成、延缓卵泡的闭锁的过程中发挥了决定性作用^[8]。雌激素是卵母细胞自分泌、旁分泌的调节因素,直接影响成熟卵子的质量^[7]。

本研究结果显示,逍遥丸含药血清可上调卵巢颗粒细胞 FSHR 及其 mRNA 表达,提高颗粒细胞对 FSH 的敏感性,使 FSH 更好发挥促进卵泡发育、排卵的作用。逍遥丸高剂量组使卵巢颗粒细胞培养液中 cAMP、 E_2 水平升高,并上调颗粒细胞 P450 芳香化酶 mRNA 的表达,逍遥丸中剂量组抑制颗粒细胞 PPAR γ mRNA 的表达。推测逍遥丸可能通过增加颗粒细胞 FSHR 及其 mRNA 的表达,使 FSH 与其受体结合后经 cAMP-PKA 信号转导通路,激活 AC,使 cAMP 含量升高,进而激活 PKA,从而调节下游靶基因 P450 芳香化酶转录,并通过降低 P450 芳香化酶的抑制物 PPAR γ mRNA 在颗粒细胞的表达,使 P450 芳香化酶更好地发挥作用。更多活化的 P450 芳香化酶将睾酮转化为 E_2 使培养液中 E_2 升高。据报道逍遥口服液有温和的雌激素样作用^[14],而卵巢局部更多的雌激素有助于卵泡生长和发育,延缓卵泡的闭锁,并对成熟卵子的质量发挥重要作用。

综上所述,逍遥丸一方面可能通过增加卵巢颗粒细胞 FSHR 及其 mRNA 的表达,使 FSH 更好发挥促进卵泡发育、排卵的作用,另一方面可能通过调节卵巢颗粒细胞 FSH/cAMP-PKA 通路中已明确的主要效应分子 FSHR、cAMP、P450 芳香化酶,促进了卵巢颗粒细胞的内分泌功能。这为临床应用逍遥丸治疗卵巢功能障碍性疾病提供了实验依据。

参考文献

- [1]任建枝,沙爱国,李萍,等.预防 OHSS 行全胚冷冻的临床研究[J].中国优生与遗传杂志,2012,20(9):99-101.
- [2]张丽珠.正确掌握促排卵适应证[J].中国实用妇科与产科杂志,1996,11(5):258-259.
- [3]韩延华,刘淑君,王春梅.韩百灵治疗肝郁不孕学术经验概要[J].辽宁中医杂志,2006,33(8):928-929.
- [4]殷燕云.夏桂成教授治疗月经病经验[J].四川中医,2004,22(12):3-4.
- [5]杨景海,万平,周敏兰.疏肝活血通经汤治疗气滞血瘀型闭经 69 例[J].光明中医,2001,16(3):48-49.
- [6]陈悦群,黄荷凤.颗粒细胞增殖分化中卵泡刺激素的 cAMP-PKA 通路[J].国际生殖健康/计划生育杂志,2011,30(1):65-67.
- [7]李美芝,王蔼明,乔杰,等.妇科内分泌学[M].北京:人民军医出版,2001:5-16,69-70,141,270.
- [8]Oktay K, Briggs D, Gosden RG. Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor gene expression in isolated human ovarian follicles[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1997,82(11):3748-3751.

(下转第 1866 页)

病。甘草功效补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药,甘遂功效泄水逐饮、消肿散结,结合甘草、甘遂功效及治疗疾病情况可见两者同用治疗疾病的范围与甘遂“泄水逐饮”以及甘草“祛痰、解毒”的功效相符合。

甘草、甘遂临床同用时具体用药剂量及配伍比例方面,甘草用药剂量文献记载大部分在《中国药典》规定的用药范围之内,且以6g和10g的使用频率较高,高于《中国药典》范围高限也有出现,但使用较少;甘遂用药剂量大部分大于《中国药典》给出的用药范围的高限,且以5g的使用频率最高,在《中国药典》规定范围内入药的剂量也有部分文献,且以1g应用最多。临床上甘草、甘遂同用时多以“生甘草”、“醋甘遂”的形式入药,以1:1的比例配伍使用最多,入药剂型和给药途径方面多以“汤剂”、“内服”使用,但同时也存在“外用”等其他给药途径。

实验研究发现,甘草中的甘草酸与甘遂中醇溶性甾萜类物质形成复合物,该复合物易溶于50%乙醇中,即在甘草与甘遂乙醇浸出液中,甘草酸增加了甘遂毒性成分甾萜类物质的溶出率,使共浸液的毒性成分增加而出现毒性^[7];另有研究者通过肿瘤病毒抗原表达的体外实验系统表明,甘遂在适当的比例和剂量配伍条件下是可以和甘草进行配伍使用的,而且在配伍后,其毒性并未增加,反而明显降低^[8]。可以看出,甘草、甘遂同用有效的前提是两者适当的配伍比例以及剂量,也就是说两者临床同用是“有效”还是“有毒”是基于一定的前提应用条件的。这些条件是否与我们上述文献特征分析所得结果相符,这一点还有待研究证实。至于两者同用相互之间化学成分作用后是否能明确提高临床疗效,目前尚未检索到相关报道,提示我们在今后的研究

中在基于临床两者可同用的研究基础上,需从化学成分方面探讨一下两者同用的物质基础情况。

值得注意的是,本研究甘草、甘遂同用情况仅是从检索到的文献中得出的结论,至于临床上甘草、甘遂反药组合是否能安全、有效、合理的应用,还要经过进一步的临床试验研究来证实。

致谢:感谢北京中医药大学2009级七年制A班的高群、于春月、马瑞鸿、赵彬竹、沈志明、闫凯、王晨、赵珈艺、付黎韵、李宁飞同学在数据录入过程中给予的帮助。

参考文献

- [1]刘佳,钟赣生,王茜,等.2010年版《中国药典》一部中含十八反十九畏药对的成方制剂收录情况及临床应用分析[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(4):213-217.
- [2]王茜,钟赣生,刘佳,等.《药典临床用药须知·中药卷》(2005年版)中含反药药对成方制剂收载情况与分析[J].北京中医药大学学报,2011,34(1):27-30.
- [3]王茜,钟赣生,刘佳,等.《国家基本药物中成药制剂品种目录》(2004年版)中含反药配伍成方制剂的收载情况及其配伍规律研究[J].中华中医药杂志,2011,26(5):1082-1086.
- [4]王茜,钟赣生,刘佳,等.卫生部药品标准中药成方制剂中含反药药对成方制剂收载情况与分析[J].科技导报,2011,29(2):59-64.
- [5]国家药典委员会.中华人民共和国药典·一部[M].北京:中国医药科技出版社,2010:81.
- [6]杨梓懿.中药调剂与养护学[M].北京:中国中医药出版社,2005:235-247.
- [7]陈希琛.甘草反甘遂及其分子复合物[J].中成药研究,1984(5):41.
- [8]吕岫华,王颖,陈静,等.大戟甘遂芫花俱战草的实验研究[J].中华中医药杂志,2009(增刊):5-7.

(收稿日期:2013-04-22;修回日期:2013-08-16)

[编辑:崔京艳]

(上接第1853页)

- [9]Wells D, Sherlock JK, Handyside AH, et al. Detailed chromosomal and molecular genetic analysis of single cells by whole genome amplification and comparative genomic hybridisation[J]. Nucleic Acids Res, 1999, 27(4):1214-1218.
- [10]Gonzalez-Robayna IJ, Falender AE, Ochsner S, et al. Follicle-Stimulating hormone (FSH) stimulates phosphorylation and activation of protein kinase B (PKB/Akt) and serum and glucocorticoid-induced kinase (Sgk): evidence for A kinase-independent signaling by FSH in granulosa cells[J]. Mol Endocrinol, 2000, 14(8):1283-1300.
- [11]靳玉甫,覃爱平.卵巢颗粒细胞P450芳香化酶研究进展[J].广西医科大学学报,2008,25(6):972-974.
- [12]Simpson ER, Clyne C, Rubin G, et al. Aromatase-a brief overview[J]. Annu Rev Physiol, 2002, 64: 93-127.
- [13]李明,母义明,汪保安,等. PPARC和RXR激动剂抑制人卵巢颗粒细胞芳香化酶活性和其mRNA的水平[J].中华内分泌代谢杂志,2003,19(6):471-474.
- [14]李飞.方剂学[M].北京:人民卫生出版社,2002:453.

(收稿日期:2013-03-01;修回日期:2013-08-16)

[编辑:邓媛]