

补骨脂盐炙前后对肾阳虚大鼠肝肾功能及水通道蛋白表达的影响

梁灿璨, 吴诗华, 魏羽, 江宇勤, 王德建, 余凌英*

成都中医药大学药学院 中药材标准化教育部重点实验室, 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137

摘要: 目的 观察补骨脂盐炙前后对肾阳虚大鼠肝肾功能及口腔唾液腺水通道蛋白 5 (AQP5)、结肠 AQP4、肾脏 AQP2 基因表达的影响, 分析阐明盐炙缓和补骨脂毒副作用的机制。方法 采用 sc 氢化可的松的方法复制大鼠肾阳虚模型, 以化学试剂法测定大鼠血清中总蛋白 (TP)、白蛋白 (Alb)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、丙氨酸转氨酶 (ALT)、血肌酐 (Scr) 和尿素氮 (BUN) 的量, 荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法测定口腔唾液腺 AQP5、结肠 AQP4、肾脏 AQP2 mRNA 的表达。结果 与模型组比较, 补骨脂生品和盐炙品组大鼠血清中的 ALT、AST 量显著升高, Alb 量显著降低 ($P < 0.05$); 补骨脂盐炙品组 ALT、AST 水平低于生品组; 各给药组 BUN 及 Scr 水平显著高于模型组 ($P < 0.05$)。qRT-PCR 结果显示, 与对照组比较, 模型组大鼠 AQP2、AQP4 mRNA 表达明显降低 ($P < 0.05$), AQP5 的 mRNA 表达明显增加 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 补骨脂生品组大鼠 AQP4 mRNA 表达显著升高 ($P < 0.05$), AQP5 mRNA 表达显著降低 ($P < 0.05$); 与补骨脂生品组比较, 补骨脂盐炙品组 AQP2、AQP5 mRNA 表达明显升高 ($P < 0.05$), AQP4 mRNA 表达明显降低 ($P < 0.05$)。结论 补骨脂盐炙后可缓解药物对肾阳虚大鼠肝肾功能的副作用; 同时缓解生品的燥性, 盐炙对药物燥性的缓解作用可能与其对体内 AQP 的基因表达调控有关。

关键词: 补骨脂; 盐炙; 肾阳虚; 水通道蛋白; 燥性

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)22-4713-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.22.019

Effect of raw and salt-processed of psoralen on function of liver and kidney and expression of aquaporins in kidney-yang deficiency model rats

LIANG Can-can, WU Shi-hua, WEI Yu, JIANG Yu-qin, WANG De-jian, YU Ling-ying

Key Laboratory of Standardization of Chinese herbal medicine, Ministry of Education, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Systematic Research and Development of Traditional Chinese Medicine Resources of Ministry of State Construction of National Key Laboratory Breeding Base, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To observe the effect of raw and salt-processed of psoralen on the function of liver and kidney and the expression of aquaporins 5 (AQP5), AQP4, and AQP2 in the kidney-yang deficiency model rats. **Methods** Used hydrocortisone made deficiency of kidney-YANG model rats, total protein (TP), albumin (Alb) and aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), serum creatinine (Scr), and urea nitrogen (BUN) content in serum of rats were determined by chemical reagent method. The expression of AQP5, AQP4, and AQP2 were detected by qRT-PCR. **Results** The levels of ALT and AST in the raw and salt-processed of psoralen groups increased significantly, and Alb decreased significantly compared with model group ($P < 0.05$); The levels of ALT and AST in the salt-processed of psoralen group were lower than that in the raw psoralen group; the levels of BUN and Scr in the treated group were significantly higher than that in the model group ($P < 0.05$). The expression of mRNA for AQP2 and AQP4 of model group was decreased significantly ($P < 0.05$) compared with control group, and expression of AQP5 mRNA increased significantly ($P < 0.05$). The expression of AQP4 mRNA in raw psoralen group was significantly higher than that in model group ($P < 0.05$), and AQP5 mRNA was significantly lower than that in model group ($P < 0.05$). Moreover, the expression of AQP2 and AQP5 mRNA of salt-processed of psoralen group was significantly higher than that of the raw psoralen group ($P < 0.05$), and AQP4 mRNA

收稿日期: 2017-06-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81303228); 四川省教育厅课题 (13zb0306); 国家自然科学基金子课题 (J1310034-32); 四川省教育厅青年基金项目 (08ZB076)

作者简介: 梁灿璨 (1993—), 女, 在读研究生, 研究方向为中药炮制学原理。E-mail: 408907875@qq.com

*通信作者 余凌英 (1973—), 女, 副教授, 研究生导师, 研究方向为中药炮制学原理。E-mail: yuly26@163.com

expression was significantly lower than that of salt-processed of psoralen group ($P < 0.05$). **Conclusion** Salt-processed of psoralen can reduce the side effects of drugs on liver and kidney function in kidney-yang deficiency model rats, it can also alleviate the dryness of raw psoralen. The relief of dryness by salt-processed of psoralen may be related to the regulation of the gene expression of aquaporins *in vivo*.

Key words: *Psoralea corylifolia* L.; stir frying with salt water; kidney-yang deficiency; aquaporins; dryness nature

盐炙润燥是我国传统的炮制理论, 盐炙既能发挥引药入肾、增强补肾疗效, 还能降低药物的燥性, 起到良好的增效减毒作用^[1]。燥性作为中药的性能之一, 既属于中药发挥治疗作用的性质之一, 也是药物产生副作用的因素之一^[2]。补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 自有“性本大燥毒”的理论说法, 临床多用盐炙品^[3-4]。本课题组在国家“十一五支撑计划”支持下, 对补骨脂炮制工艺、药理作用、化学成分及谱效关联等多方面进行了研究, 提出补骨脂燥毒是其燥性发挥补肾助阳、温脾止泻等功能的延伸, 而盐炙能缓和补骨脂燥性。故本实验拟通过研究补骨脂盐炙前后对肾阳虚大鼠肝肾功能及口腔唾液腺水通道蛋白 5 (aquaporins 5, AQP5)、结肠 AQP4、肾脏 AQP2 基因表达的影响, 分析盐炙缓和补骨脂毒副作用的机制, 阐明补骨脂盐炙的科学内涵。

1 材料

1.1 动物

清洁级 SD 大鼠, 雄性, 体质量 220~250 g, 由四川达硕动物实验中心提供, 实验动物许可证号为 SCXK (川) 2015-30。

1.2 仪器

Varioskan 2008004 Thermo electron corporation 酶标定量测定仪 (美国 Thermo Fisher 公司); Bio-Rad 梯度 PCR 仪、Nanovve Plus 超微量分光光度计、CFX96 Bio-Rad 实时荧光定量 PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司); MP FastPrep-24 匀浆机 (美国 MP Biomedicals 公司); Neofuge 15R 台式高速冷冻离心机 (力康生物医疗科技控股有限公司)。

1.3 药材与试剂

补骨脂生品药材购自四川新荷花中药饮片股份有限公司, 批号 D1403107, 药材经成都中医药大学卢先明教授鉴定为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实。

金匱肾气丸 (北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂, 批号 14033828); 氢化可的松 (国药集团容生制药有限公司, 批号 13082552); 丙氨酸转

氨酶 (ALT, 批号 20160330)、天冬氨酸转氨酶 (AST, 批号 20160401)、总蛋白 (TP, 批号 20160317)、白蛋白 (Alb, 批号 20160407)、血尿素氮 (BUN, 批号 2016040611)、血肌酐 (Scr, 批号 20150407) 检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所; 逆转录试剂盒、SuperReal 荧光定量 PCR 试剂盒 (天根生化科技公司)。

2 方法

2.1 药液的制备

2.1.1 补骨脂盐炙品 采用本实验室所筛选出的最佳工艺条件制备^[5]。取补骨脂药材生品 500 g, 加食盐 250 mL (10 g 食盐/250 mL 水), 室温闷润 24 h, 在 150 °C 锅中以 40 次/min 的频率翻炒 10 min, 即得补骨脂盐炙品, 备用。

2.1.2 药材提取液 取补骨脂生品、盐炙品各 100 g, 分别加入 10、8 倍量 70% 乙醇提取 2 次后, 残渣加 10、8 倍量水再提取 2 次。将前 2 次的醇提液合并回收乙醇后, 再与水提液合并, 助溶剂加入适量聚山梨酯-80, 旋蒸浓缩至 0.1 g/mL (原药材/提取液) 备用。采用 HPLC 法^[6]测得生品提取液中补骨脂素质量分数为 5.21 mg/g, 异补骨脂素质量分数为 3.70 mg/g; 盐炙品提取液中补骨脂素质量分数为 5.76 mg/g, 异补骨脂素质量分数为 4.25 mg/g。

2.1.3 阳性药物 取金匱肾气丸研碎, 粉末加蒸馏水制成质量浓度为 0.35 g/mL 的混悬液, 备用。

2.2 造模及给药

取雄性 SD 大鼠 50 只, 随机分为对照组、模型组、阳性对照组、补骨脂生品组、补骨脂盐炙品组, 每组 10 只。除对照组外, 其余 4 组每天上午均 sc 氢化可的松造模^[7], 剂量为 20 mg/kg。造模同时, 各组大鼠每天下午 ig 相应的药物或生理盐水, 其中对照组和模型组 ig 10 mL/kg 生理盐水; 根据课题组前期研究结果确定给药组大鼠单次给药剂量^[8], 补骨脂生品组 ig 7 g/kg 补骨脂生品提取液, 补骨脂盐炙品组 ig 7 g/kg 补骨脂盐炙品提取液; 阳性对照组 ig 3.5 g/kg 金匱肾气丸混悬液。造模及给药期间观察各组动物相应体质量及体征变化, 发现模型组大

鼠在第 8 天时均出现肾阳虚的系列症状,包括体重降低、尿量增加、蜷缩萎顿、毛发萎黄无光泽等,提示造模成功。于第 9 天起停止造模,仅 ig 相应药物,连续给药 7 d,在末次给药结束时,对各组动物禁食不禁水 12 h 后 ip 10%的水合氯醛麻醉,股动脉取血,以 3 000 r/min 离心 10 min,取血清。同时以灭菌灭酶的解剖器材取口腔唾液腺、结肠、肾脏组织,于冰块上仔细剔除黏膜,用灭菌铝箔包好后置于液氮中,冻透后再转入 -70°C 保存。

2.3 大鼠肝肾功能指标测定

分别按照试剂盒说明书处理血清,测定大鼠血清中 TP、Alb、AST、ALT、Scr 和 BUN 的量。AST 及 ALT 检测采用微板法,酶标仪测定各孔吸光度(A)值,查标准曲线后,求得相应的 AST 及 ALT 活力单位。Alb 测定采用溴甲酚绿比色法,BUN 测定采用脲酶法,蛋白定量采用考马斯亮蓝法,Scr 测定采用肌氨酸氧化酶法。

2.4 qRT-PCR 法测定口腔唾液腺 AQP5、结肠 AQP4、肾脏 AQP2 mRNA 的表达

取冻存的口腔唾液腺、结肠、肾脏组织样本,采用 Trizol 试剂提取组织总 RNA,无酶水稀释, -70°C 保存备用。对总 RNA 进行逆转录合成第一链 cDNA。按照试剂盒说明书配制样品进行 qRT-PCR 反应,并上机检测。RN-ACTB、AQP2、AQP4、AQP5 引物由 Primer Premier 引物设计软件设计筛选,上海生工生物工程技术有限公司进行设计合成,并采用 ultrapage 方法纯化。其中 RN-ACTB 为内参。引物序列为 RN-ACTB 上游:5'-TGTCACCAACTGGGACGATA-3',下游:5'-GGG-GTGTGTAAGGTCTCAAA-3';AQP2 上游:5'-TTC-CTTCGAGCTGCCTTCTA-3',下游:5'-TTGTGGA-GAGCATTGACAGC-3';AQP4 上游:5'-CGGTCA-CAGCAGAGTTCCT-3',下游:5'-CCAAAGCAGA-GGGAGATGAG-3'。AQP5 上游:5'-CCACCCTCA-

TCTTCGTCTTC-3',下游:5'-ACCACTCACAGG-TCCAGAG-3'。

qRT-PCR 反应采用 20 μL 反应体系,反应程序为:预变性 95°C 、15 min;变性 95°C 、10 s;优选最佳退火温度,AQP2 为 60°C 、AQP4 为 62°C 、AQP5 为 58°C ,反应 30 s;末段延伸 72°C 、30 s,循环 40 次,充分延伸后,进行荧光采集。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计分析。评分及相关指标水平采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 补骨脂生品和盐炙品对肾阳虚模型大鼠肝、肾功能的影响

与模型组比较,补骨脂生品和盐炙品组大鼠血清中的 ALT、AST 显著升高 ($P < 0.05$),Alb 显著降低 ($P < 0.05$)。补骨脂盐炙品组大鼠血清中 ALT、AST 水平低于生品组,Alb 水平高于生品组,无统计学差异。提示补骨脂对大鼠肝功能有一定的损伤,盐炙后可能有所缓解。与对照组相比,模型组大鼠的 Scr 水平显著降低 ($P < 0.05$),BUN 水平没有明显变化;补骨脂生品和盐炙品组 BUN 及 Scr 水平与模型组比较显著上升,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果见表 1、2。

3.2 补骨脂生品和盐炙品对肾阳虚模型大鼠 AQP2、AQP4、AQP5 mRNA 表达的影响

与对照组比较,模型组大鼠 AQP2、AQP4 mRNA 表达显著降低 ($P < 0.05$),AQP5 mRNA 表达量显著增加 ($P < 0.05$);与模型组比较,补骨脂生品组大鼠 AQP4 mRNA 表达量显著增加 ($P < 0.05$),AQP5 mRNA 表达显著量降低 ($P < 0.05$);与补骨脂生品组比较,盐炙品组大鼠 AQP2、AQP5 mRNA 表达量显著上升 ($P < 0.05$),AQP4 mRNA 表达显著量降低 ($P < 0.05$)。结果见表 3。

表 1 补骨脂生品和盐炙品对肾阳虚模型大鼠肝功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of raw and salt-processed of psoralen on liver function in kidney-yang deficiency model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	TP/(g·L ⁻¹)	Alb/(g·L ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)
对照	—	44.78 $\pm$ 1.46	27.86 $\pm$ 0.87	33.30 $\pm$ 8.74	88.75 $\pm$ 16.43
模型	—	46.83 $\pm$ 1.07	22.96 $\pm$ 1.49*	39.74 $\pm$ 10.08	86.82 $\pm$ 10.62
金匱肾气丸	3.5	46.02 $\pm$ 1.02	26.31 $\pm$ 7.67	33.81 $\pm$ 4.31	85.35 $\pm$ 16.74
补骨脂生品	7.0	46.24 $\pm$ 0.61	18.99 $\pm$ 3.59* [#]	50.59 $\pm$ 19.20* [#]	101.68 $\pm$ 19.17* [#]
补骨脂盐炙品	7.0	47.39 $\pm$ 0.48	21.63 $\pm$ 0.68* [#]	44.95 $\pm$ 11.79* [#]	97.69 $\pm$ 26.11* [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$, 表 2 同

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group, same as Table 2

表 2 补骨脂生品和盐炙品对肾阳虚模型大鼠肾功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 2 Effects of raw and salt-processed psoralen on kidney function in kidney-yang deficiency model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	Scr/(μmol·L ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	42.72 ± 3.05	5.45 ± 0.24
模型	—	31.17 ± 0.46*	5.02 ± 0.54
金匱肾气丸	3.5	41.27 ± 12.25	4.60 ± 0.46
补骨脂生品	7.0	43.91 ± 17.61 [#]	6.60 ± 1.35 ^{*#}
补骨脂盐炙品	7.0	43.31 ± 17.03 [#]	5.66 ± 0.54 [#]

表 3 补骨脂生品和盐炙品对肾阳虚模型大鼠 AQP2、AQP4、AQP5 mRNA 表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 3 Effects of raw and salt-processed products on the expression of mRNA for AQP2, AQP4, and AQP5 in kidney-yang deficiency model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	mRNA 相对表达量		
		AQP2	AQP4	AQP5
对照	—	0.514 1 ± 0.049 2	0.056 0 ± 0.004 9	0.155 1 ± 0.053 9
模型	—	0.473 4 ± 0.034 9*	0.034 9 ± 0.001 9*	0.162 6 ± 0.025 4*
金匱肾气丸	3.5	0.211 9 ± 0.013 4*	0.021 7 ± 0.003 9*	0.205 7 ± 0.062 4*
补骨脂生品	7.0	0.256 5 ± 0.015 5*	0.084 4 ± 0.015 2 ^{*#}	0.038 1 ± 0.006 1 ^{*#}
补骨脂盐炙品	7.0	0.538 5 ± 0.159 5 ^{▲#}	0.057 3 ± 0.008 6 ^{▲#}	0.123 9 ± 0.007 4 ^{▲#}

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与补骨脂生品组比较: [▲] $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [▲] $P < 0.05$ vs raw psoralen group

4 讨论

本实验根据补骨脂温肾助阳、温脾止泻的功效,采用 sc 氢化可的松方法复制肾阳虚大鼠模型,模拟临床用药的病理状态进行研究,更符合临床用药实际^[7,9-10]。中医藏象学说囊括了精气、阴阳、五行等多个传统中医理论,补骨脂补肝肾作用也对应着中医理论的脏腑功能。而补骨脂在现代临床应用中,出现了一些肝、肾毒性不良反应的报道^[11-12]。其中补骨脂的肝毒性已经被一些实验研究证实,另有部分体外实验也对补骨脂酚对人肾近曲小管上皮细胞的毒性作用进行了研究^[13-16]。药物在体内的吸收、分布、代谢、排泄过程均与肝脏、肾脏具有密切关系,检测与肝脏代谢功能有关的各项指标可反映肝肾功能基本状况。其中 ALT 和 AST 检测主要反映肝实质损伤;TP 检查是主要考察肝功能代谢,反映肝脏的储备能力;Alb 的降低则常见于肝功能的严重损伤;Scr 是含氮有机物的最终代谢产物,BUN 则是蛋白质代谢的终末产物,这 2 类小分子物质可用作肾小球滤过功能的诊断和过筛指标。只有肾脏已经损伤严重时 Scr 开始明显上升,血 BUN 的浓度才迅速升高,因此本实验结果中 Scr 及血 BUN 的值有轻微变动,无明显上升,且组间比较无统计学差异。

传统中医理论认为“过燥伤阴”,即药物辛燥之

性可能产生副作用;临床应用中发现大剂量或长期应用补骨脂进行治疗后,某些患者可能出现口干咽燥,口舌生疮等伤阴症状^[17-18]。补骨脂性本大燥毒,燥性能伤阴,常引起口干咽燥。前期实验结果显示补骨脂生品高剂量组大鼠在给药一段时间后出现饮水量增加、唾液量明显减少、小便少且黄、大便干结等表现,而补骨脂盐炙品组与生品低剂量组大鼠则无明显表现,提示补骨脂生品高剂量(7 g/kg)可能使大鼠出现伤阴症状^[8,19]。对补骨脂盐炙后缓和燥性的主要物质基础及其药理作用进行研究,发现服用补骨脂生品剂量过高或时间过长,可增加模型大鼠肝、肾脏器的质量,使胸腺退化,亦可增加血清中环磷酸腺苷/环磷酸鸟苷(cAMP/cGMP)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、Na⁺-K⁺-ATP 酶等燥性伤阴指标的量,而盐炙后可明显缓解上述指标的异常,提示补骨脂盐炙后可缓和生品的燥毒之性^[8,19-20]。

伤阴引起的口干咽燥等燥性症状与机体津液输布有关,故本实验研究吸收、排谢、分泌部位 AQP 的 mRNA 表达的变化,分析盐炙缓和燥性的调控机制,结果提示盐炙品可通过调节相应部位 AQP 的表达来缓和补骨脂生品的燥性。AQP2 位于肾脏集合管的管腔侧细胞膜上和胞膜下囊泡,与水分的吸收及便秘、腹泻的发生有密切关系^[21-22]。对于肾阳

虚模型大鼠,其肾虚状态影响了集合管上皮细胞内含 AQP2 的囊泡穿核质膜的过程,使得进入细胞膜中的 AQP2 减少,集合管重吸收的水分减少,动物出现多尿症状^[23-24]。本研究中,补骨脂盐炙品组与生品组比较,大鼠 AQP2 mRNA 的表达量更趋近于对照组,提示盐炙后补骨脂燥性伤阴的副作用可能得到了一定的缓解。结肠功能失调后对水的重吸收功能下降是产生腹泻的原因之一,肾阳虚大鼠则因脾肾阳虚,运化失调出现腹泻等症状^[25]。结肠是水分吸收的主要部位,其对水的吸收作用与 AQPs 表达密切相关,AQP4 在结肠主要表达于近端结肠的吸收细胞,研究发现剔除 AQP4 基因的小鼠,其结肠对水分的吸收功能下降,粪便中水分明显增多,提示 AQP4 对肠道内水的重吸收有一定的调节作用^[26-27]。本研究中模型组大鼠结肠 AQP4 mRNA 表达下调,使结肠对水的重吸收减少,大便含水量增加,是肾阳虚大鼠腹泻的原因之一。补骨脂盐炙品组大鼠 AQP4 mRNA 表达明显低于生品组,提示盐炙后可能缓解药物燥性。口腔内主要体现伤阴后口干咽燥的生理现象,其中 AQP5 对唾液分泌有重要影响。AQP5 表达于大鼠颌下腺等分泌小管上,参与泪液及唾液的分泌,与水转运及腺体分泌功能密切相关,其表达下降时唾液分泌量随之下降^[28-29]。本研究中补骨脂生品组大鼠 AQP5 mRNA 的表达量与对照组比较显著降低,而补骨脂盐炙品组大鼠 AQP5 mRNA 的表达量较生品组显著增加,提示补骨脂盐炙后可相应缓解燥性。

盐炙润燥是中药炮制的重要理论之一,补骨脂、益智仁等都是其中的代表药物,但仅补骨脂的药性中提到“燥毒”,因此以补骨脂为代表药物研究盐炙润燥炮制理论有重要意义。本研究在补骨脂补肾助阳、温脾止泻的药效基础上,提出盐炙具有增效减毒、缓和燥性的科学假设,针对肾阳虚模型大鼠,研究补骨脂盐炙前后的治疗作用及其在治疗过程中对模型大鼠是否产生副作用,以及盐炙增效减毒的机制。通过系统研究以揭示补骨脂盐炙科学内涵,有助于全面认识盐炙理论,为补骨脂的临床应用提供更为科学丰富的理论依据。

参考文献

- [1] 居明秋,金玲. 中药盐炙的历史沿革 [J]. 基层中药杂志,1995,9(4): 4.
- [2] 吕文海,冯宝麟. 从中药盐制沿革看盐制的作用及原意 [J]. 中国中药杂志,1990,15(1): 23.

- [3] 雷载权,张廷模主编. 中华临床中药学 (上卷) [M]. 北京: 人民卫生出版社,1998.
- [4] 中国药典 [S]. 一部,2015.
- [5] 林辉,胡昌江,李兴迎,等. 正交试验法优选补骨脂的盐炙工艺 [J]. 中国药业,2008,17(7): 35-36.
- [6] 夏亚楠. 补骨脂盐炙缓和燥毒之性的物质基础研究 [D]. 成都: 成都中医药大学,2016.
- [7] 卢文丽,方肇勤. 阳虚证动物模型的造模方法与评析 [J]. 上海中医药大学学报,2004,18(4): 44-48.
- [8] 夏亚楠,余凌英,王德健,等. 补骨脂盐炙对肾阳虚、脾虚模型动物燥性影响研究 [J]. 亚太传统医药,2016,12(4): 5-8.
- [9] 肖静,何立群,高建东,等. 腺嘌呤与氢化可的松大鼠肾阳虚模型造模方法比较 [J]. 中国比较医学杂志,2008,18(3): 77-80.
- [10] 杜江,李楠,王和鸣,等. 肾虚模型造模方法及相关指标 [J]. 中国组织工程研究与临床康复,2010,14(50): 9433-9436.
- [11] Nam S W, Baek J T, Lee D S, et al. A case of acute cholestatic hepatitis associated with the seeds of *Psoralea corylifolia* [J]. *Clin Toxicol*, 2005, 43(6): 589-591.
- [12] Cheung W I, Tse M L, Ngan T, et al. Liver injury associated with the use of *Fructus Psoraleae* (Bol-gol-zhee or Bu-gu-zhi) and its related proprietary medicine [J]. *Clin Toxicol*, 2009, 47(7): 683-685.
- [13] 江芳,周昕睿,王旗,等. 补骨脂酚及其与补骨脂素合用对 HK-2 细胞的毒性及其机制 [J]. 中国药理学与毒理学杂志,2010,24(1): 50-58.
- [14] 邓平香,徐敏. 补骨脂单味应用和复方应用对大鼠肝脏毒性的比较 [J]. 广西中医药,2005,28(2): 49-50.
- [15] 谭沛,赵超,周昆,等. 补骨脂灌胃 30 天对大鼠肝毒性的实验研究 [J]. 新疆中医药,2010,28(2): 11-13.
- [16] 周昆,代志,柳占彪,等. 壮骨关节丸中肝毒性药材的筛选研究 [J]. 中国药物警戒,2009,6(11): 641-648.
- [17] 屈凯,严慧芳. 阴虚证的现代研究概况 [J]. 长春中医药大学学报,2007,23(5): 103-104.
- [18] 胡昌江,帅小翠,余凌英,等. 补骨脂盐炙前后对正常小鼠和氢化可的松致阴虚模型小鼠燥毒的影响 [J]. 成都中医药大学学报,2010,33(3): 66-68.
- [19] 夏亚楠,余凌英,王德健,等. 补骨脂不同炮制品对肾阳虚、脾虚大鼠的影响研究 [J]. 亚太传统医药,2016,12(9): 5-7.
- [20] 陈志敏,胡昌江,熊瑞,等. “二神丸”中补骨脂、肉豆蔻炮制前后对脾肾阳虚泄泻大鼠血清代谢组学的影响 [J]. 中国中药杂志,2015,40(7): 1400-1403.
- [21] Wang Y, Li H J, Yu Z X, et al. Mutation analysis of AVPR2 and AQP2 gene in Chinese patients with congenital nephrogenic diabetes insipidus [J]. *Chem Res*

- Chin Univ*, 2008, 24(3): 312-315.
- [22] Sasaki S, Yui N, Noda Y. *et al.* Actin directly interacts with different membrane channel proteins and influences channel activities: AQP2 as a model [J]. *BBA Biomembranes*, 2014, 1838(2): 514-520.
- [23] 范莉莉, 张丹丹, 段新鹏, 等. 水通道蛋白 AQP2 翻译后修饰及表达调控 [J]. *生理科学进展*, 2015, 46(3): 237-240.
- [24] 徐文峰, 何泽云, 唐 群, 等. 猪苓汤对阿霉素肾病大鼠肾脏 AQP2 表达的影响 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2013, 14(9): 759-763.
- [25] Lu H, Sun S Q. A correlative study between AQP4 expression and the manifestation of DWI after the acute ischemic brain edema in rats [J]. *Nat Med J China*, 2003, 116(7): 1063-1069.
- [26] Lu H, Lei X Y, Hu H. Relationship between AQP4 expression and structural damage to the blood-brain barrier at early stages of traumatic brain injury in rats [J]. *Nat Med J China*, 2013, 126(22): 4316-4321.
- [27] 汪 泳, 张方信, 令晓玲, 等. 大鼠结肠中水通道蛋白 4 的表达与分布 [J]. *第四军医大学学报*, 2004, 25(2): 142-143.
- [28] Wu H Y, Chen L H, Zhang X, *et al.* Aqp5 is a new transcriptional target of Dot1a and a regulator of Aqp2 [J]. *PLoS One*, 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0053342.
- [29] 秦 源, 林崇泽, 孙 晗, 等. 益气养阴祛瘀方对干燥综合征颌下腺细胞 AQP5 及 M3R 表达的影响 [J]. *中国中医急症*, 2017, 26(1): 5-8.