

麦芽总生物碱上调多巴胺 D2 受体抑制垂体瘤细胞泌乳素表达和分泌

龚晓云^{1,2}, 陶佳晗^{1,2}, 陈永刚^{1,2*}, 邹吉利², 安靖², 孟军华², 王雄², 吴金虎²

1. 湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430065

2. 武汉大学附属同仁医院(武汉市第三医院)药学部, 湖北 武汉 430060

摘要: 目的 研究多巴胺 D2 受体(D2R)在麦芽总生物碱调控泌乳素(PRL)分泌过程中的作用。方法 大鼠垂体瘤 MMQ、GH3 细胞分为对照组、溴隐亭(5 μg/mL)组、麦芽总生物碱(4.4、8.8、35.2、70.4 μg/mL)组、氟哌啶醇(10、20、40 μg/mL)组、麦芽总生物碱与氟哌啶醇联合给药组。采用 CCK-8 法检测细胞活力; Western blotting 检测 PRL、D2R 蛋白表达; ELISA 法检测细胞上清 PRL 水平; qRT-PCR 法检测 PRL、D2R mRNA 表达。结果 与对照组相比, 麦芽总生物碱(35.2、70.4 μg/mL)可显著下调 MMQ 细胞 PRL 蛋白及 mRNA 表达、上清 PRL 水平($P < 0.05$), 显著上调 MMQ 细胞 D2R 蛋白及 mRNA 水平($P < 0.05$); 氟哌啶醇可显著减弱麦芽总生物碱对 MMQ 细胞 PRL 蛋白及 mRNA 表达、上清 PRL 水平的下调($P < 0.05$), 并显著减弱麦芽总生物碱对 MMQ 细胞 D2R 蛋白及 mRNA 表达的上调($P < 0.05$); 麦芽总生物碱对 GH3 细胞 PRL 表达、上清 PRL 水平无显著影响。结论 麦芽总生物碱通过上调 D2R 表达, 从而抑制 MMQ 细胞 PRL 的表达和分泌。

关键词: 麦芽总生物碱; 泌乳素; 多巴胺 D2 受体; MMQ 细胞; GH3 细胞

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)21-5509-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.21.015

Maltol total alkaloid inhibits expression and secretion of prolactin by upregulating dopamine D2 receptor

GONG Xiao-yun^{1,2}, TAO Jia-han^{1,2}, CHEN Yong-gang^{1,2}, ZOU Ji-li², AN Jing², MENG Jun-hua², WANG Xiong², WU Jin-hu²

1. College of Pharmacy, Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

2. Department of Pharmacy, Wuhan University Tongren Hospital (The Third Hospital of Wuhan), Wuhan 430060, China

Abstract: Objective To study the role of dopamine D2 receptor (D2R) on the regulation of prolactin (PRL) secretion by malt total alkaloids. **Methods** MMQ and GH3 cells of pituitary adenoma were divided into control group, bromocriptine (5 μg/mL), malt total alkaloids (4.4, 8.8, 35.2, 70.4 μg/mL), haloperidol (10, 20, 40 μg/mL), and combined administration group of total malt alkaloids and haloperidol. Cell viability was detected by CCK-8; The expressions of PRL and D2R were detected by western blotting; The level of PRL was detected by ELISA; The level of PRL and D2R mRNA were detected by qRT-PCR. **Results** Compared with control group, malt alkaloids (35.2, 70.4 μg/mL) significantly reduced the expression levels of PRL protein and mRNA, and the level of PRL in the supernatant of MMQ cells ($P < 0.05$). Malt alkaloids (35.2, 70.4 μg/mL) significantly increased the expression levels of D2R protein and mRNA in MMQ cells. Haloperidol significantly inhibited the downregulation of malt alkaloids on the expression levels of PRL protein and mRNA, and the expression level of PRL in supernatant of MMQ cells ($P < 0.05$). Haloperidol significantly inhibited the upregulation of malt alkaloids on the levels of D2R protein and mRNA ($P < 0.05$). The level of PRL in GH3 cells had no change by malt alkaloids. **Conclusion** Malt alkaloids could inhibit the expression and secretion of PRL in MMQ cell by upregulating D2R.

Key words: malt total alkaloid; prolactin; D2R; MMQ cell; GH3 cell

垂体肿瘤、甲状腺功能减退、肝肾严重疾病、抗精神病药物的服用可引起高泌乳素血症(hyperprolactinemia, HPRL)。HPRL 是以泌乳素(prolactin, PRL)升高(PRL>25 ng/mL)、闭经、溢乳、无排卵、不孕等为特征,常见的下丘脑-垂体-卵巢轴功能失调疾病^[1]。目前临床常用多巴胺 D2

收稿日期: 2020-06-21

基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目(2018CFB530); 武汉市卫生计生委科研项目(WZ17A06); 武汉市卫生计生委科研项目(WZ18Z03)

作者简介: 龚晓云, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为药物新制剂、新剂型及新技术。Tel: 15090926232 E-mail: 270169595@qq.com

*通信作者 陈永刚, 男, 博士, 副主任药师, 研究方向为药物新制剂、新剂型及新技术。Tel: 19947567687 E-mail: cyg508@163.com

受体 (dopamine receptor D2, D2R) 激动剂类药物如甲磺酸溴隐亭、卡麦角林等治疗 HPRL, 虽然疗效显著, 但其价格昂贵、胃肠道不良反应明显, 较大剂量可致眩晕、头痛、瞌睡等, 严重影响患者的依从性。

中药制剂逐渐被开发用于治疗 HPRL, 如芍药甘草汤可有效缓解 HPRL 相关症状^[2], 抑乳调经颗粒可有效降低 HPRL 患者血清 PRL 水平^[3]。大剂量麦芽 (≥ 60 g) 具有回乳作用^[4], 由于其疗效确切、不良反应少、患者耐受性较好, 近年来被广泛用于 HPRL 的治疗。课题组前期研究显示, 麦芽水提取物及其复方均可显著降低 HPRL 模型大鼠 PRL 水平, 有效缓解病理性溢乳; 麦芽水提取物可显著上调 D2R 表达水平^[5-6]。在麦芽的不同化学成分包括总多糖、总黄酮、总多酚、总生物碱中, 麦芽总生物碱能直接作用于大鼠脑垂体泌乳素细胞, 降低细胞阳性反应, 下调细胞 PRL mRNA 表达, 减少 PRL 分泌, 表明麦芽总生物碱是麦芽回乳作用的药效物质基础^[7-9]。

本研究以大量表达 D2R 的大鼠垂体瘤 MMQ 细胞^[10]、缺乏 D2R 表达的大鼠垂体腺瘤 GH3 细胞^[11]为研究对象, 加入 D2R 拮抗剂后考察麦芽总生物碱对两种细胞 PRL 表达的影响, 以此探索 D2R 在麦芽生物碱调节 PRL 过程中的作用。

1 材料与仪器

1.1 细胞

MMQ、GH3 细胞均购自北京北纳创联生物技术研究院。

1.2 药物与试剂

生麦芽购自安徽亳州, 经武汉大学附属同仁医院药学部陈永刚副主任药师鉴定为大麦 *Hordeum vulgare* L. 的成熟果实; 麦芽总生物碱根据课题组前期建立的提取纯化方法^[12], 由实验室自制, 质量分数为 62.5%; 溴隐亭 (批号 35549)、氟哌啶醇 (批号 23139) 购自美国 Med Chem Express 公司; 胎牛血清 (批号 42F1294K)、DMEM 高糖培养基 (批号 8119365) 购自美国 Gibco 公司; CCK-8 试剂盒 (批号 69112500) 购自 Biosharp 生物公司; 大鼠 PRL ELISA 试剂盒 (批号 XPXE2DZMA3) 购自武汉伊莱瑞特科技股份有限公司; Total RNA Kit (批号 00R6934010000L30S029) 购自美国 Omega 公司; Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit (批号 00692424)、DNase I (RNase-free) Kit (批号

00832244) 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 大鼠 PRL 抗体 (批号 69f1344) 购自美国 Affinity 公司; 大鼠 D2R 抗体 (批号 00076236) 购自武汉三鹰生物技术有限公司; PRL、D2R、GAPDH 引物购自上海生工生物工程股份有限公司。

1.3 主要仪器

311 型二氧化碳培养箱 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); IX53 荧光倒置显微镜 (Olympus 公司); JP-K600 型化学发光图像分析系统 (上海嘉鹏科技有限公司); DYC2-24DN 型电泳仪 (北京六一仪器厂); Mx3000P 型荧光定量 PCR 仪 (美国安捷伦科技有限公司)。

2 方法

2.1 细胞培养

MMQ 细胞悬浮生长于含 15% 胎牛血清的 DMEM 培养基中, 于 37 °C、5% CO₂、100% 湿度培养箱中培养, 每 2~3 天传代 1 次; GH3 细胞半贴壁生长于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中, 于 37 °C、5% CO₂、100% 湿度培养箱中培养, 每 1~2 天传代 1 次。

2.2 CCK-8 法检测细胞活力

取处于对数生长期的 MMQ、GH3 细胞悬液, 分别以 5×10^3 /孔接种于 96 孔板, 于培养箱培养 12 h。加入不同浓度的麦芽总生物碱 (4.4、8.8、35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$), MMQ 细胞孵育 72 h、GH3 细胞孵育 48 h。每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 孵育 2 h, 用酶标仪测定 450 nm 波长处的吸光度 (A) 值, 并计算细胞活力。

2.3 Western blotting 法检测细胞中 PRL、D2R 蛋白表达

分别取处于对数生长期的 MMQ、GH3 细胞悬液, 以 1×10^5 /孔接种于 6 孔板, 于培养箱中培养 24 h。分为对照组、溴隐亭 (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组、麦芽总生物碱 (4.4、8.8、35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组。对照组加入培养基, 其余各组按设定剂量加入等体积药物。MMQ 细胞孵育 72 h、GH3 细胞孵育 48 h, 收集细胞悬液, 提取细胞总蛋白。

取处于对数生长期的 MMQ 细胞悬液, 接种于 6 孔板, 于培养箱中培养 24 h。对照组加入培养基; 溴隐亭 (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组、氟哌啶醇 (10、20、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组、麦芽总生物碱 (35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组按设定剂量加入等体积药物; 溴隐亭与氟哌啶醇联合给药组同时加入溴隐亭与氟哌啶醇; 麦芽总生物碱与氟哌

啶醇联合给药组同时加入麦芽总生物碱与氟哌啶醇。孵育 72 h 后收集细胞悬液，提取细胞总蛋白。

BCA 试剂盒测定细胞总蛋白浓度，蛋白样品经 SDS-PAGE 分离后，转移至 PVDF 膜。于 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h，加入一抗 (PRL、D2R、GADPH)，4 °C 孵育过夜。TBST 溶液洗涤 3 次，加入二抗室温孵育 30 min，TBST 溶液洗涤 3 次，加入 ECL 发光试剂，采用 JP-K600 型化学发光图像分析系统拍照并分析。

2.4 ELISA 法检测细胞上清 PRL 水平

分别取处于对数生长期的 MMQ、GH3 细胞悬液，以 1×10^5 接种于 6 孔板，使用不含血清的培养基培养 24 h 后，分为对照组、溴隐亭 (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组、麦芽总生物碱 (4.4、8.8、35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组。对照组加入培养基，其余各组按设定剂量加入等体积药物，MMQ 细胞孵育 72 h、GH3 细胞孵育 48 h，收集细胞悬液，离心取上清液。

取处于对数生长期的 MMQ 细胞悬液，接种于 6 孔板，于培养箱中培养 24 h。对照组加入培养基；溴隐亭 (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组、氟哌啶醇 (40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组、麦芽总生物碱 (35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组按设定剂量加入等体积药物；麦芽总生物碱与氟哌啶醇联合给药组同时加入麦芽总生物碱与氟哌啶醇。孵育 72 h 后

收集细胞悬液，离心取上清液。

按照 ELISA 试剂盒说明书测定上清液中的 PRL 水平。

2.5 qRT-PCR 法检测细胞 PRL、D2R mRNA 表达

分别取处于对数生长期的 MMQ、GH3 细胞悬液，接种于 6 孔板，于培养箱中培养 24 h。分为对照组、溴隐亭 (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组、麦芽总生物碱 (4.4、8.8、35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组。对照组加入培养基，其余各组按设定剂量加入等体积药物。MMQ 细胞孵育 72 h、GH3 细胞孵育 48 h，收集细胞。

取处于对数生长期的 MMQ 细胞悬液，接种于 6 孔板，于培养箱中培养 24 h。对照组加入培养基；溴隐亭 (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组、氟哌啶醇 (40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组、麦芽总生物碱 (35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组按设定剂量加入等体积药物；麦芽总生物碱与氟哌啶醇联合给药组同时加入麦芽总生物碱与氟哌啶醇。孵育 72 h 后收集细胞。

用 Trizol 法提取细胞总 RNA，测定 260 nm 和 280 nm 处的 A 值， A_{260}/A_{280} 比值 > 1.8 即为 RNA 提取成功。按照逆转录反应试剂盒说明进行逆转录反应，合成 cDNA，再以 cDNA 为模板进行 PCR 反应，引物序列见表 1。计算样本所得 $\Delta\Delta C_t$ 值，以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值进行各样本之间的比较。

表 1 PCR 引物序列及产物长度

Table 1 PCR primer sequence and expected fragment sizes

基因	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')	产物长度/bp
PRL	GGTTTGGTCACAACCTCCCATCCC	TGGACAATTTGGCACCTCAGGAAC	141
D2R	CAGTGAACAGGCGGAGAATGGATG	GTGGTGGGATGGATCAGGGAGAG	149
GAPDH	GACATGCCGCCTGGAGAAAC	AGCCCAGGATGCCCTTTAGT	121

2.6 数据分析

运用 SPSS 19.0 软件 One-Way ANOVA 法进行统计学分析，采用 Image J 对蛋白条带进行灰度分析。

3 结果

3.1 麦芽总生物碱对 MMQ、GH3 细胞活力的影响

为了排除细胞死亡引起的 PRL 水平降低，采用 CCK-8 法测定麦芽总生物碱 (4.4、8.8、35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 对 MMQ、GH3 细胞活力的影响。结果如图 1 所示，麦芽总生物碱对 MMQ、GH3 细胞活力无显著影响。

3.2 麦芽总生物碱对 MMQ、GH3 细胞上清 PRL 水平的影响

如图 2 所示，MMQ 细胞上清中，与对照组比较，溴隐亭组和麦芽总生物碱 (35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组 PRL 水平显著降低 ($P < 0.05$)，麦芽总生物碱 (4.4、8.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组 PRL 水平无显著变化。GH3 细胞上清

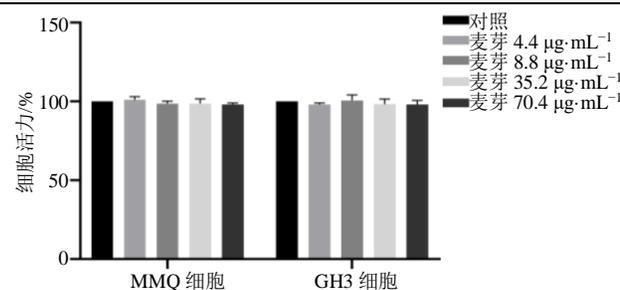


图 1 麦芽总生物碱对 MMQ、GH3 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Effect of malt alkaloids on activity of MMQ and GH3 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

中，与对照组比较，各组 PRL 水平均无显著变化。

3.3 麦芽总生物碱对 MMQ、GH3 细胞 PRL mRNA 表达的影响

如图 3 所示，MMQ 细胞中，与对照组比较，溴隐亭组和麦芽总生物碱 (35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组 PRL

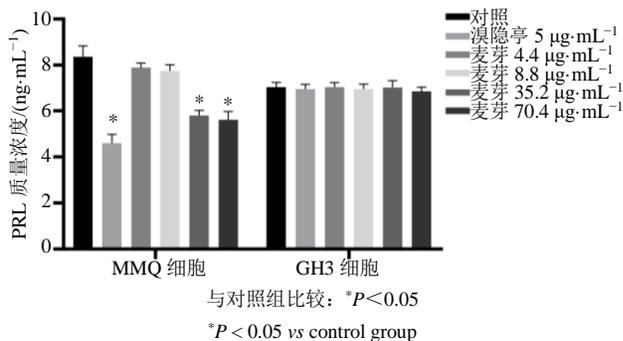


图 2 麦芽总生物碱对 MMQ、GH3 细胞上清 PRL 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Effect of malt alkaloids on level of PRL in supernatants of MMQ and GH3 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

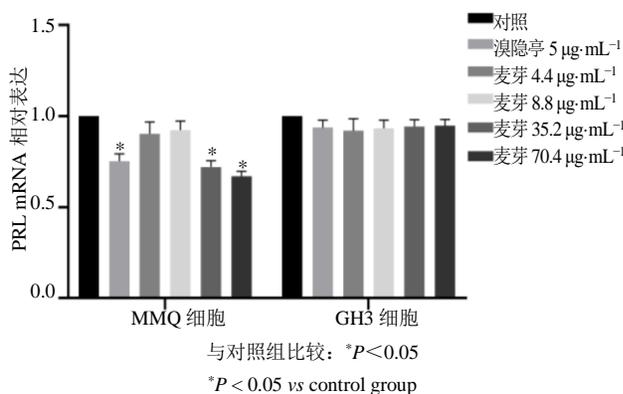


图 3 麦芽总生物碱对 MMQ、GH3 细胞 PRL mRNA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effect of malt alkaloids on level of PRL mRNA in MMQ and GH3 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

mRNA 表达显著降低 ($P < 0.05$)。GH3 细胞中, 与对照组比较, 各组 PRL mRNA 表达均无明显变化。

3.4 麦芽总生物碱对 MMQ、GH3 细胞 PRL 蛋白表达的影响

如图 4-A 所示, MMQ 细胞中, 与对照组比较, 溴隐亭组和麦芽总生物碱 (35.2、70.4 μg/mL) 组 PRL 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$)。如图 4-B 所示, GH3 细胞中, 与对照组比较, 各组 PRL 蛋白表达均无明显变化。

3.5 D2R 介导麦芽总生物碱抑制的 PRL 表达

3.5.1 氟哌啶醇对 MMQ 细胞 PRL 蛋白表达的影响

如图 5-A 所示, 与对照组相比, 氟哌啶醇 (10、20、40 μg/mL) 均不会影响 PRL 表达。如图 5-B 所示, 氟哌啶醇 (20、40 μg/mL) 可显著减弱溴隐亭对 MMQ 细胞 PRL 蛋白表达的抑制作用 ($P < 0.05$); 氟哌啶醇 (40 μg/mL) 与溴隐亭联合应用时, MMQ 细胞 PRL 蛋白表达与对照组无显著差异。如图 6 所示, 氟哌啶

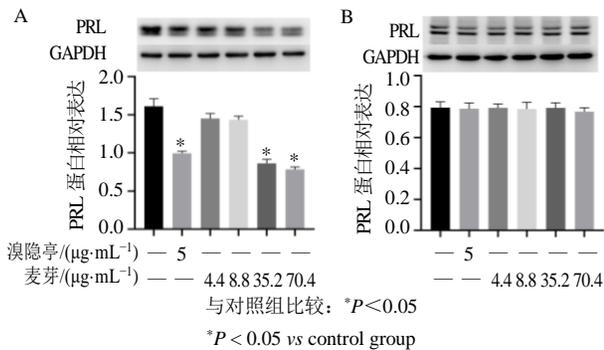


图 4 麦芽总生物碱对 MMQ (A)、GH3 细胞 (B) PRL 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of malt alkaloids on expression of PRL in MMQ (A) and GH3 (B) cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

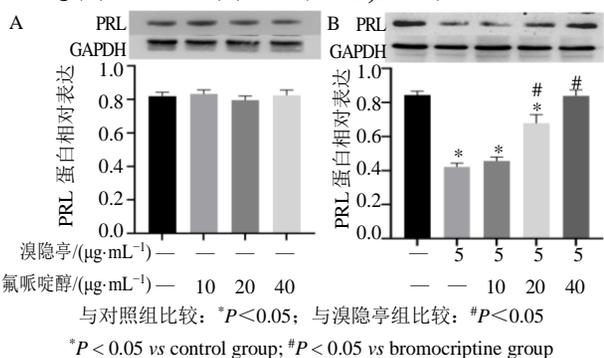


图 5 氟哌啶醇对 MMQ 细胞 PRL 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effect of haloperidol on expression of PRL in MMQ cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

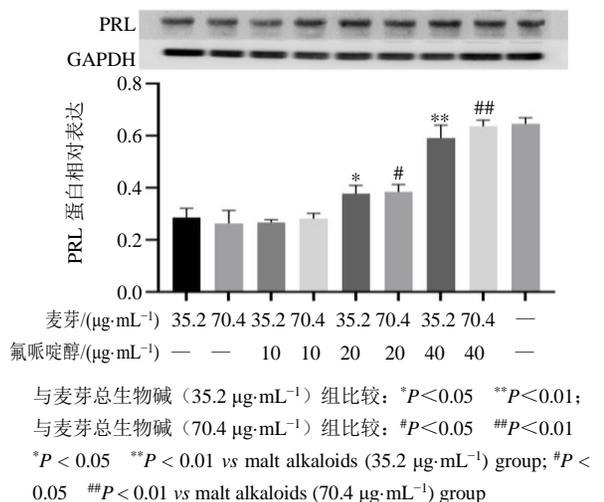


图 6 麦芽总生物碱与氟哌啶醇共同作用对 MMQ 细胞 PRL 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Effects of malt alkaloids and haloperidol on PRL expression in MMQ cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

醇 (20、40 μg/mL) 能够减弱麦芽总生物碱对 MMQ 细胞 PRL 蛋白表达的抑制作用 ($P < 0.05, 0.01$), 呈剂量相关性。因此, 后续实验选择氟哌啶醇 (40 μg/mL)。

3.5.2 氟哌啶醇对 MMQ 细胞上清 PRL 水平的影响 如图 7 所示, 与对照组比较, 溴隐亭组和麦芽总生物碱 (35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组细胞上清 PRL 水平显著降低 ($P < 0.05$); 氟哌啶醇可显著减弱麦芽总生物碱对 PRL 分泌的抑制作用 ($P < 0.05$)。

3.5.3 氟哌啶醇对 MMQ 细胞 PRL、D2R mRNA 表达的影响 如图 8 所示, 与对照组相比, 溴隐亭组和麦芽总生物碱 (35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组 PRL mRNA 水平显著降低, D2R mRNA 水平显著升高 ($P < 0.05$); 氟哌啶醇可显著减弱麦芽总生物碱对 PRL mRNA 的下调以及 D2R mRNA 的上调作用 ($P < 0.05$)。

3.5.4 氟哌啶醇对 MMQ 细胞 PRL、D2R 蛋白表达的影响 如图 9 所示, 与对照组相比, 溴隐亭组和麦芽总生物碱 (35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 组 PRL 蛋白表达显著降低, D2R 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$); 氟哌啶醇可显著减弱麦芽总生物碱对 PRL 蛋白表达的下调以及 D2R 蛋白表达的上调作用 ($P < 0.05$)。

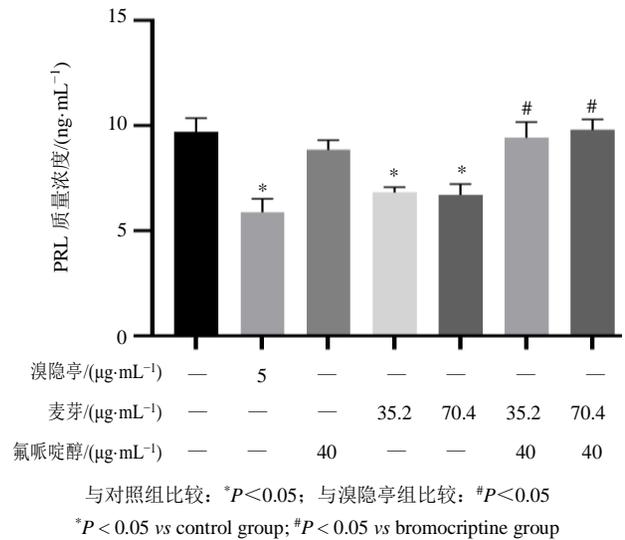


图 7 麦芽总生物碱与氟哌啶醇共同作用对 MMQ 细胞上清 PRL 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 7 Effect of malt alkaloids and haloperidol on PRL secretion of MMQ cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

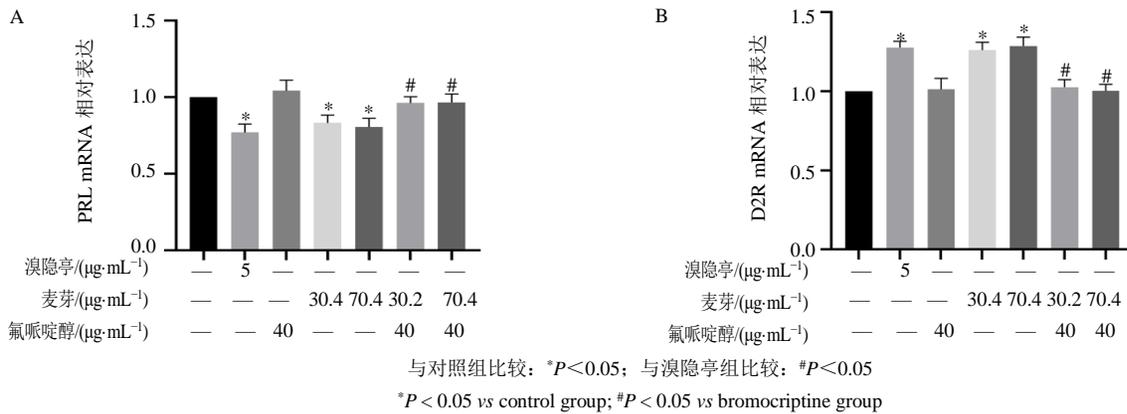


图 8 麦芽总生物碱与氟哌啶醇共同作用对 MMQ 细胞 PRL (A)、D2R (B) mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 8 Effect of malt alkaloids and haloperidol on mRNA levels of PRL (A) and D2R (B) in MMQ cell ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

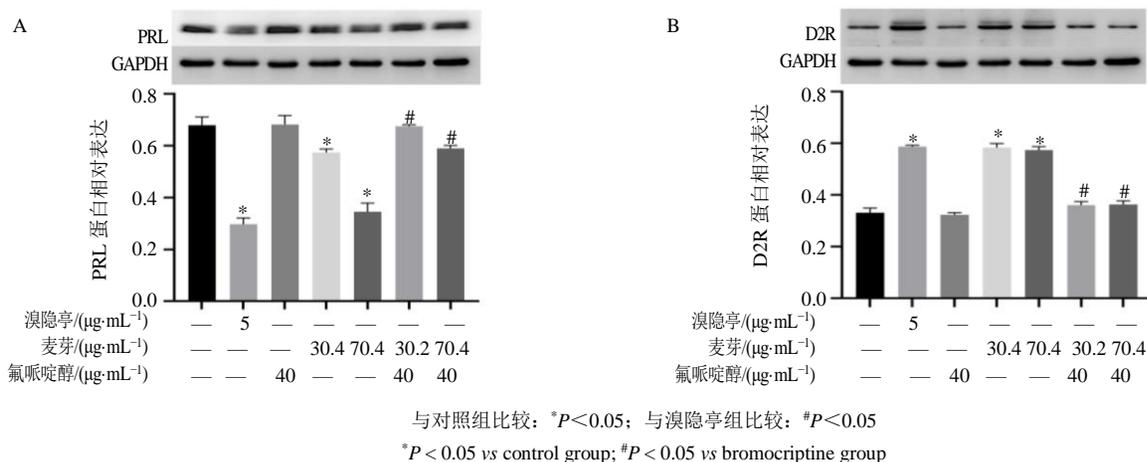


图 9 麦芽总生物碱与氟哌啶醇共同作用对 MMQ 细胞 PRL (A)、D2R (B) 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 9 Effect of malt alkaloids and haloperidol on expressions of PRL (A) and D2R (B) in MMQ cell ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

PRL 由垂体前叶泌乳素细胞分泌, 主要通过下丘脑释放的 PRL 释放因子 (PRF) 和 PRL 抑制因子 (PIF) 维持水平。神经递质多巴胺 (dopamine, DA) 介导 PRL 的抑制与释放^[13], DA 是目前最主要且作用最强的 PRL 抑制因子之一^[14-16]。服用抗精神病药物是导致 HPRL 的一个主要原因^[17], 这类药物多为 D2R 阻断剂, 通过干扰 DA 合成代谢、阻碍 DA 与受体结合等方式引起 HPRL^[18]。而目前临床上治疗 HPRL 的常用药物如溴隐亭、卡麦角林等, 均为 D2R 激动剂, 作用于垂体泌乳细胞膜上的 D2R, 使 PRL 分泌减少^[18-19]。麦芽具有回乳作用^[4], 课题组前期实验表明, 麦芽水提物与麦芽总生物碱均具有与 D2R 激动剂类似的效果, 可显著降低 HPRL 模型大鼠 PRL 水平, 下调 PRL mRNA 表达^[7-9]。麦芽水提物还能够显著上调 HPRL 模型大鼠 D2R 表达^[5-6]。指示麦芽可能通过 D2R 发挥回乳作用。

MMQ 细胞能够分泌 PRL, 并大量表达 D2R^[10], GH3 细胞缺乏 D2R 表达^[11]。根据课题组前期实验结果和文献检索, 本研究中采用 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 溴隐亭和 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 氟哌啶醇^[10]。D2R 激动剂溴隐亭能够促进 D2R 表达^[3], 而氟哌啶醇是一种 D2R 拮抗剂, 单独使用不会引起 D2R 表达的变化, 但能阻断 D2R 激动剂对 D2R 的激动作用^[2]。麦芽总生物碱 (35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 能够显著降低 MMQ 细胞 PRL 分泌、蛋白及 mRNA 表达, 同时显著上调 D2R 表达, 与溴隐亭作用一致; 氟哌啶醇可减弱麦芽总生物碱 (35.2、70.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 对 MMQ 细胞 PRL 表达的下调和 D2R 表达的上调作用。但在缺乏 D2R 表达的 GH3 细胞中, 溴隐亭和麦芽总生物碱对 PRL 蛋白、mRNA 表达均无显著影响。指示在麦芽总生物碱对 MMQ 细胞 PRL 表达的抑制作用中, D2R 发挥了关键作用。

许多中药制剂调控 PRL 表达时会影响 D2R 表达, 芍药甘草汤能够有效降低 PRL 分泌, 同时增强 D2R 表达^[4]; 抑乳调经颗粒可以通过 D2R 的介导, 进而下调 PRL 表达^[20]。加味当归芍药散作用于 D2R, 通过 D2R 的介导, 经 cAMP-PKA 信号通路调控 PRL 分泌^[21]。本研究结果与上述报道一致, 麦芽总生物碱可抑制 MMQ 细胞 PRL 的表达与分泌, 同时上调 D2R 表达, 表明麦芽总生物碱对 PRL 的调节作用与 D2R 密切相关, D2R 介导了麦芽总生物碱对 PRL 的抑制作用。

研究表明, 许多因子都可以直接或间接地调节

PRL 分泌, 除多巴胺转运体 (DAT)、PRL 外的其他性激素也参与了 HPRL 的病理过程^[9]。除了通过 D2R 来发挥抗 HPRL 作用, 芍药甘草汤还能促进 DAT 表达^[21], 抑乳调经颗粒可通过调控 Bax/Bcl-2 表达从而抑制 PRL 分泌和泌乳素瘤细胞增殖^[17]。因此, 麦芽总生物碱调控 PRL 的具体机制以及其他的靶点仍需进一步探索。

综上所述, 麦芽总生物碱通过调节 D2R 表达, 进而影响 PRL 的合成与分泌。课题组后续将深入研究麦芽总生物碱调控 PRL 的具体作用机制。

参考文献

- [1] 杨静, 崔俊芳, 兰丽珍. 高泌乳素血症的研究进展 [J]. 华西医学, 2018, 33(5): 509-512.
- [2] Wang D, Wong H K, Zhang L, *et al.* Not only dopamine D2 receptors involved in Peony-Glycyrrhiza Decoction, an herbal preparation against antipsychotic-associated hyperprolactinemia [J]. *Prog Neuro-Psychoph*, 2012, 39(2): 332-338.
- [3] 魏媛怡. 抑乳调经颗粒治疗高泌乳素血症体外作用机制的研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2015.
- [4] 胡瑶, 张卫华. 国医大师郭诚杰教授临床应用麦芽经验探析 [J]. 浙江中医药大学学报, 2017, 41(4): 289-291.
- [5] 朱梦军, 肖晖, 王雄, 等. 麦芽提取物对高泌乳素血症大鼠脑垂体泌乳素表达及乳腺组织形态学的影响 [J]. 医药导报, 2015, 34(8): 1036-1039.
- [6] 陈永刚, 李丽姣, 郭皓, 等. 回乳抑增优化方对乳腺增生症伴高泌乳素血症模型大鼠的治疗作用 [J]. 医药导报, 2017, 36(1): 37-40.
- [7] 李丽姣. 麦芽治疗高泌乳素血症有效部位筛选及其作用机制研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2017.
- [8] 胡敦全, 陈永刚, 吴金虎, 等. 生麦芽生物碱对高泌乳素血症模型大鼠激素水平的影响 [J]. 广东药学院学报, 2012, 28(5): 545-548.
- [9] 王莉, 王艳明, 陈永刚, 等. 麦芽有效部位对高泌乳素血症模型大鼠激素水平及脑垂体 PRL mRNA 表达的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(10): 1027-1031.
- [10] Gao Z C, Cai L, Lu J L, *et al.* Expression of stem cell markers and dopamine D2 receptors in human and rat prolactinomas. [J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 1827-1833.
- [11] Wang X, Ma L, Zhang E J, *et al.* Water extract of fructus Hordei Germinatus shows antihyperprolactinemia activity via dopamine D2 receptor. [J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2014, 2014: 579054.
- [12] 李丽姣, 陈永刚, 张柯达, 等. 麦芽生物碱物质提取工艺优化及不同产地含量比较 [J]. 广东药学院学报, 2016, 32(5): 572-576.

- [13] 雷 鸣, 苏映军, 王 钠, 等. 泌乳素及其受体的研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(10): 1979-1983.
- [14] 王友伟, 马驰原. 多巴胺受体激动剂治疗泌乳素瘤的机制及研究进展 [J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2013, 12(3): 286-288.
- [15] Huan C, Cui G H, Ren Z M. The characteristics of acromegalic patients with hyperprolactinemia and the differences with hyperprolactinemia patients [J]. *Pak J Pharm Sci*, 2015, 28 (2 Suppl): 713-718.
- [16] 王丽华, 李华芳. 氨碘必利致高泌乳素血症的临床特征和相关机制 [J]. 精神医学杂志, 2015, 28(4): 307-310.
- [17] 孔伶俐, 许良智. 高泌乳素血症的病因学 [J]. 实用妇产科杂志, 2016, 32(7): 481-483.
- [18] Calarge C A, Ellingrod V L, Acion L, *et al.* Variants of the dopamine D2 receptor gene and risperidone-induced hyperprolactinemia in children and adolescents [J]. *Pharmacogenet Genom*, 2009, 19(5): 373-382.
- [19] 王慧玉, 陈丽红. 溴隐亭不同给药时机对高泌乳素血症妇女促性腺激素诱导排卵的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(1): 3-4.
- [20] 魏媛怡, 王丽莉, 王 娴, 等. 抑乳调经颗粒含药血清对大鼠垂体瘤MMQ细胞体外生长的影响 [J]. 中药材, 2015, 38(5): 1046-1048.
- [21] 刘 琛, 赖珊珊. 基于 DA 受体 cAMP-PKA 信号通路探讨加味当归芍药散治疗 HPRL 大鼠的机制 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2019, 29(1): 10-15.