doi:10.11751/ISSN.1002 - 1280.2021.1.9

郁金散对大肠湿热证大鼠 HPA 轴的影响机制

董嘉琪,姚万玲,文艳巧,张旺东,张亚辉,魏彦明*

(甘肃农业大学动物医学院,兰州 730070)

[收稿日期] 2020 - 07 - 14 [文献标识码]A [文章编号]1002 - 1280 (2021) 01 - 0052 - 09 [中图分类号]S859.79

[摘 要] 基于分子对接并辅以生物学验证探讨郁金散治疗大肠湿热证 HPA 轴损伤的机制。采用高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography,HPLC)检测郁金散的主要活性成份,用分子对接观察其活性成分与 HPA 轴相关激素、蛋白之间的结合力,通过网络药理学分析构建药物靶标网络,预测郁金散活性成分作用的主要靶标,并建立大肠湿热证大鼠模型,进行生物学验证。计算各组大鼠肾上腺指数,观察肾上腺组织变化特征,检测关键靶标及其下游激素的表达量。分子对接与网络分析可以推测 CRH 可能是调控 HPA 轴亢进的潜在蛋白,盐酸小檗碱、没食子酸、大黄素可能是郁金散调节 HPA 轴亢进的活性成分。生物学验证实验结果表明,与空白对照组相比,模型组和自愈组大鼠肾上腺指数及血清中 CRH、ACTH、CORT 的含量显著或极显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),模型组大鼠肾上腺出现一定的病理变化。经郁金散治疗后,以上各指标及病理变化均有所改善,其中以郁金散高剂量组治疗效果最佳,验证了分子对接的部分预测结果。研究证实郁金散可能是通过下调 CRH 的水平调节大肠湿热证大鼠 HPA 轴功能亢进,为进一步开展郁金散治疗 HPA 轴亢进的机制研究提供了新思路和新方法。

[关键词] 分子对接技术;大肠湿热证;郁金散;HPA 轴;作用机制

Mechanism of Yujin Powder on HPA Axis in Rats with Large Intestine Damp - heat Syndrome

DONG Jia - qi, YAO Wan - ling, WEN Yan - qiao, ZHANG Wang - dong, ZHANG Ya - hui, WEI Yan - ming*

(*College of veterinary medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou* 730070, *China*)

Corresponding author: WEI Yan - ming, E - mail: weiym@ gsau. edu. cn

Abstract: Study on mechanism of Yu Jin power(YJP) in treating hyperfunction of HPA axis with large intestine damp - heat syndrome that based on molecular docking and biological verification. The main active components of YJP were determined by High Performance Liquid Chromatography. We observed the binding force between the active components and HPA axis related hormones and proteins by molecular docking. Drug target network was

基金项目: 甘肃农业大学兽医学省级特色学科开发课题(GSAU - XKJS - 2018 - 069);国家肉牛/牦牛产业技术体系(CARS - 37)

作者简介: 董嘉琪,硕士,从事中兽医及中兽药研究。E - mail: 18893811442@163.com.

通讯作者: 魏彦明。E - mail: weiym@ gsau. edu. cn

constructed by network pharmacology analysis to predict the main target of active components of YJP, and the rat model of large intestine damp – heat syndrome was established for biological verification. The adrenal gland index of rats in each group was calculated, the change characteristics of its tissue were observed, and the expression levels of key targets and their downstream hormones were detected. Molecular docking and network analysis suggested that CRH may be a potential protein to regulated HPA axis, and berberine, gallic acid, emodin may be the active components of YJP. The results of biological verification experiment showed that compared with normal control group, the adrenal gland index and the contents of serum CRH, ACTH and CORT in Model group and Self – healing group were significantly or extremely significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Some pathological changes were observed in adrenal gland of model group. After treatment with YJP, all the above indexes and pathological changes were improved, and the high – dose Group of YJP had the best therapeutic effect. This study confirmed that YJP may regulate the HPA axis hyperfunction in rats with large intestinal damp – heat syndrome by reducing the level of CRH, which provides new ideas and new methods for further research on the mechanism of YJP in the treatment of HPA axis hyperactivity.

Key words: molecular docking technology; large intestine dampness – heat syndrome; Yujin Power; HPA axis; mechanism of action

大肠湿热证为兽医临床常见病证之一,主要由湿邪与热邪共同侵犯肠道以及病原微生物感染所致,以腹痛,泄泻,粪便黏腻色黄,体温升高,口渴喜饮,脉滑数,舌苔黄腻等为主要症状[1]。常见于现代医学中的急慢性肠炎、细菌性痢疾、阿米巴肠炎、溃疡性结肠炎、急性阑尾炎等疾病[2]和一些病毒感染性肠道疾病。随着畜禽养殖业的不断发展,与大肠湿热证相关的疾病日渐上升,给畜牧业经济效益带来严重损失。

大肠湿热证的发生会导致畜禽机体出现应激,破坏动物机体的动态平衡。下丘脑 – 垂体 – 肾上腺(HPA)轴是应激反应的神经内分泌网络之一,也是最重要的环节(图 1)。生理情况下,HPA 轴的负反馈调节处于动态平衡状态。当机体受到强烈刺激时,HPA 轴的动态平衡被扰乱,就会引起多种疾病的发生,如脾胃湿热证[3]、糖尿病[4]和中枢神经系统疾病如自闭症、抑郁症、帕金森和阿尔海默症等的发生均与 HPA 轴功能失调关系密切[5]。CRH(Corticotropin Releasing Hormone, CRH)是上游重要的神经激素和调节因子之一,被证明在 HPA 轴负反馈调节中起核心作用[6]。当机体遇到应激刺激时,会作用于神经系统的不同部位,最后将信息汇集于下丘脑 CRH 神经元,然后通过 CRH 引起垂体 – 肾上腺皮质系统反应。其最主要表现为 HPA 轴的强烈兴奋,PVN(Paraventricular nucleus, PVN)会大量分泌 CRH,从而引起 ACTH(Adrenocorticotropic hormone,ACTH)和 GC(Glucocorticoid,GC)分泌增多,最终导致其负反馈调节紊乱[7]。因此,过量的 CRH 形成会导致 HPA 轴功能亢进,同时影响下游激素的分泌[8]。在 HPA 轴中,CRHR1(Corticotropin – releasing factor receptor 1)和 CRHR2(Corticotropin – releasing factor receptor 2)已经被证明可以与 CRH 结合并控制其表达量[9]。并且 CRHR1 可能直接参与 HPA 轴中肾上腺 CORT(CROT, Corticosterone)释放的调节[10]。此外,GR 和 CBG 在 HPA 轴反馈调节中也起着重要作用[11-12]。因此,及时有效地控制 CRH 的产生或相关受体的表达,对大肠湿热证引起的 HPA 轴功能亢进具有调控作用。

郁金散是中(兽)医治疗胃肠湿热病证的经典方剂之一,由大黄、郁金、黄连、黄柏、黄芩、白芍、栀子和诃子组成,临床实践表明,郁金散对大肠湿热证具有较好的治疗效果。而关于郁金散对大肠湿热证机体 HPA 轴调控的研究尚未见报道。本研究

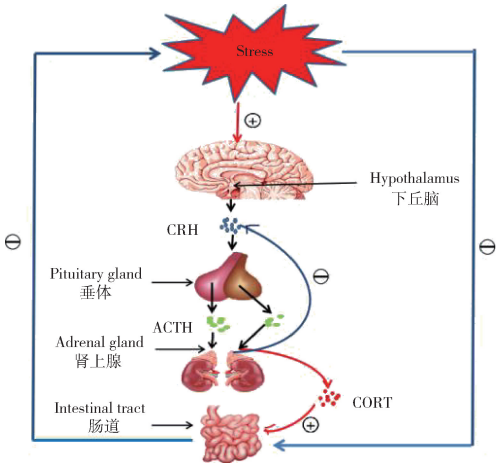


图 1　HPA 轴调控机制模式图

Fig 1　Model diagram of HPA axis regulation mechanism

通过分子对接和网络分析，建立了郁金散治疗大肠湿热证的网络药理学研究，该研究基于郁金散的活性成分和 5 个潜在靶点，包括 CRH、CRHR1、CRHR2、CBG 和 GR，并通过建立大肠湿热证大鼠模型，用郁金散来治疗以进行生物学验证，以揭示郁金散对大肠湿热证大鼠 HPA 轴调控的作用机制，为研发治疗大肠湿热证中兽药提供依据。

1　材料与方法

1.1　*动物与菌种*　7 周龄清洁级 Wistar 大鼠 60 只，体重 180 ~ 220 g，雌雄各半，购于兰州大学医学院实验动物中心，生产许可证号为：SCXK（甘）2013 - 0002。产毒性大肠杆菌 O101，菌号 CVCC231，由中国兽医药品监察所提供。

1.2　*药物与主要试剂*　大黄、郁金、黄芩、黄连、栀子、黄柏、白芍和诃子，购自甘肃西域阳光大药房，经甘肃农业大学中兽医学教研室鉴定。郁金散根据课题组前期实验建立的方法制备[13]。用 HPLC 法测定了郁金散中主要有效成分。

营养琼脂，批号 20140807，青岛高科园海博生物技术有限公司；甲醛、无水乙醇、二甲苯，购于津致远化学试剂有限公司；苏木精、伊红，购于北京化工厂；促肾上腺皮质激素释放激素（CRH）、促肾上腺皮质激素（ACTH）、皮质酮（CORT）ELSA 试剂盒，购于北京奇松生物技术有限公司。试剂均为国产分析纯，实验用水均为纯水。

1.3　*主要仪器*　DZ5 - WS 多管架自动平衡离心机，长沙湘仪离心机仪器有限公司；iMark 型酶标仪，美国 BIO - RAD 公司；KD - BM 组织包埋机，上海艾牧生物科技有限公司；RM2245 切片机，德国 Leica 公司；Olympus DP - 71 显微照相系统，日本 Olympus 公司。

1.4　*靶标蛋白和配体结构的准备*　从 Protein Data Bank 数据库（http：//www. resb. org）中检索所有候选受体的晶体结构，包括 CBG、CRH、CRHR1、CRHR2 和 GR 作为 HPA 轴功能亢进的潜在靶点。从 PubChem（https：//pubchem. ncbi. nlm. nih. gov/）上下载郁金散相关活性成份的 SDF 格式的化学结构文件，保存为 SDF 格式，然后在 ChemBio3D 模块用 MM FF94 力场对这些化合物的结构进行优化。然后将受体的三维结构导入 PyMOL（https：//pymol. en. softonic. com/download）中，删除靶蛋白分子结构中的水分子，并清除蛋白结构中相关配体。

1.5　*分子对接与网络模型构建*　将处理过的受体和郁金散活性成分分别导入 AutoDock 4.2（http：//mgltools. scripps. edu/downloads）进行半柔性对接模拟计算。对接时，用 Autogrid 程序自动生成打分用的格点文件（受体的格点盒子的大小以包括复合物中配体为标准），运用拉马克遗传算法（LGA），得到结合自由能，并将其与对接结果进行评价。然后根据分子对接计算结果，采用 cytoscape 3.6.1 软件构建郁金散调节 HPA 轴功能亢进的“有效成分 - 靶点”网络模型，通过将药物有效成分和靶点相连，绘制成一个宏观的互作网络，较为直观地确定药物有效成分作用的靶点。根据分子对接计算结果，把分子与受体导入 Cytoscape 3.6.1 网络分析软件，构建郁金散活性成分与靶点作用网络，预测郁金散的活性成分、潜在靶点等。

1.6　*动物分组及造模*　将 60 只 Wistar 大鼠随机分为正常对照组、模型组、自愈组和郁金散高、中、低剂量组，每组 10 只。正常对照组：自然环境下饲养，自由饮水并给予充足的普通饲料。按照实验室已建立的方法进行大肠湿热证模型复制[13 - 15]，郁金散各剂量治疗组和自愈组：自由饮用蜂蜜水和灌

服猪油,共 10 d;然后灌服白酒,置于高温高湿仓中,共 5 d;再连续 2 天腹腔注射产毒性的大肠杆菌溶液,然后在自然环境中饲养一天;正常对照组灌服和腹腔内注射等量的生理盐水。造模结束后,模型组大鼠处死取样,正常对照组和自愈组给予生理盐水;其余三组分别给予等量不同浓度的郁金散进行治疗,连续灌服 5 d,第 6 天处死剩余大鼠取样。

1.7　血清中 CRH、ACTH、CORT 检测　用酶联免疫(ELISA)法按试剂盒说明检测血清中 CRH、ACTH、CORT 的含量。

1.8　肾上腺指数测定　取出肾上腺,浸入生理盐水中洗净附着血液,用滤纸吸干表面的水分,迅速称重。其重量与体重量之比计算肾上腺指数($mg \cdot g^{-1}$)。

1.9　肾上腺组织病理切片制作与观察　将肾上腺置于4%中性甲醛溶液中固定,流水冲洗 24 h,梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切片,进行苏木精 - 伊红(Hematoxylin - eosin, H. E.)染色,然后用中性树胶封片。采用 OlympusDP - 71 显微镜进行观察并拍照。

1.10　统计学分析　采用 SPSS 23.0 统计软件对所有实验数据进行单因素方差分析(ANOVA),并以平均数 ± 标准差(Mean ± SD)表示,$P < 0.05$ 被认为有统计学意义。

2　结果与分析

2.1　郁金散活性成分测定　用 HPLC 法测定了郁金散中 7 种主要有效成分没食子酸、盐酸小檗碱、芍药苷、黄芩苷、栀子苷、姜黄素和大黄素的含量,分别为 1.624、2.541、2.783、21.633、17.349、0.149 和 0.104 $mg \cdot g^{-1}$。

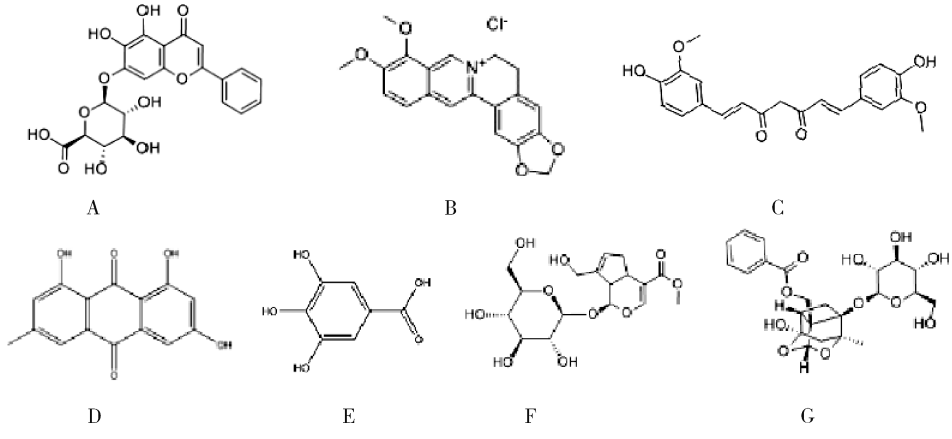


图 2　郁金散活性成分化学结构式;A:黄芩苷;B:盐酸小檗碱;C:姜黄素;D:大黄素;E:没食子酸;F:栀子苷;G:芍药苷

Fig 2　Chemical structure formula of active components in Yujin Powder; A: baicalin; B: berberine; C: curcumin; D: emodin; E: gallic acid; F: geniposide; G: paeoniflorin

2.2　分子对接与“药效分子 - 靶标”网络构建分析　从对接数据和网络分析上看,郁金散中既存在一个分子与多个靶点相互作用,同时也存在不同分子作用于同一个靶点的现象,显示了郁金散的多成分多靶点作用特点。GR 和 CRH 与郁金散活性成分对接实验的结合自由能较其他几种受体和配体对接的数据小,说明 GR 和 CRH 与郁金散活性成分受体结合能力较强,其他结合作用相对较弱;其中 GR 与大黄素的结合自由能最低,说明 GR 与大黄素结合能力最强。并且 CRH 与黄芩苷、盐酸小檗碱、姜黄素等 5 种成分存在相互作用。CBG、CRHR1 和 CRHR2 与盐酸小檗碱有较强的相互作用;CRH、CRHR2 和 GR 等与没食子酸、大黄素有较强的相互作用,所以可以推测 CRH 可能是调控 HPA 轴亢进的潜在靶点,盐酸小檗碱、没食子酸、大黄素可能是郁金散调节 HPA 轴亢进的活性成分。此外,栀子苷和芍药苷与这几种受体均无形成有效对接,故其对 HPA 轴的调控作用可能较弱或无作用。

表 1　郁金散活性成分与 HPA 轴相关受体对接数据

Tab 1　Docking data of active components of Yujin Powder and HPA axis related receptors

编号	受体	PDBID	配体	结合自由能（kcal · mol $^{-1}$）
A	CBG	2VDY	黄芩苷	-3.35
B			盐酸小檗碱	-5.55
C			没食子酸	-4.49
D	CRHR1	2L27	盐酸小檗碱	-5.41
E			姜黄素	-4.09
F			大黄素	-4.51
G	CRHR2	2JNC	盐酸小檗碱	-5.1
H			大黄素	-5.24
I			没食子酸	-4.88
J	CRH	1GO9	黄芩苷	-1.59
K			盐酸小檗碱	-6.01
M			姜黄素	-4.16
L			大黄素	-4.86
N			没食子酸	-3.75
O	GR	6DXK	姜黄素	-6.5
P			大黄素	-7.19
Q			没食子酸	-4.59

2.3　CRH 及下游激素的验证分析

2.3.1　肾上腺指数测定　如图所示，与正常对照组相比，模型组大鼠肾上腺指数极显著性升高（$P<0.01$），自愈组大鼠肾上腺指数显著性升高（$P<0.05$）。郁金散各剂量治疗组与自愈组相比，高剂量组中肾上腺指数显著性降低（$P<0.05$），中、低剂量组中肾上腺指数有降低趋势（$P>0.05$）。结果表明：大肠湿热证模型组大鼠肾上腺指数明显升高，各剂量郁金散均能降低大鼠的肾上腺指数，且高剂量组效果最好。

2.3.2　血清中 CRH、ACTH、CORT 含量的变化　如图所示，与正常对照组相比，模型组和自愈组中 CRH、ACTH、CORT 含量极显著性升高（$P<0.01$）。郁金散各剂量治疗组与自愈组相比，高、中剂量组中 CRH、ACTH 含量均极显著降低（$P<0.01$），低剂量组中 CRH、ACTH 含量也显著性降低（$P<0.05$）；而高剂量组中 CORT 含量均极显著降低（$P<0.01$），中剂量组中 CORT 含量也显著降低（$P<0.05$）。结果表明：大肠湿热证模型大鼠血清中 CRH、ACTH、CORT 的含量明显升高，各剂量郁金散均能降低模型大鼠血清中三者含量，且高剂量组效果最好。

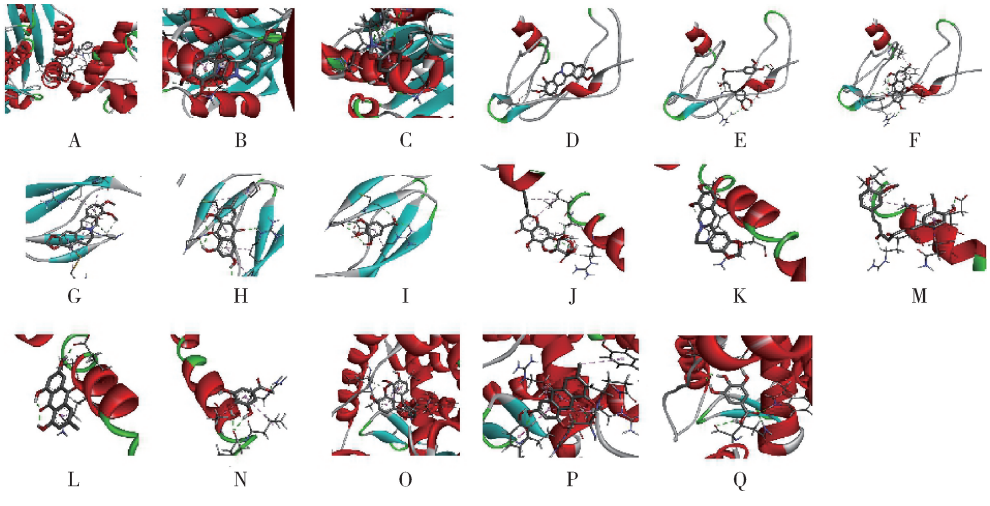


图 3　郁金散活性成分与 HPA 轴相关受体对接结果的三维示意图

Fig 3　Three dimensional diagram of docking results of active components of Yujin Powder with HPA axis related receptors

2.3.3　肾上腺组织病理学观察　肾上腺组织病理学观察结果显示，正常对照组球状带细胞为卵圆形或柱状，核为球形，染色深，含 1 ~ 2 个核仁，核/质比例大，胞质中含一些散在的嗜碱性物质。束状带细胞较球状带细胞大，呈多边形，可见有双核，核圆形，胞质可呈嗜酸性，也含有嗜碱性物质，胞质内可

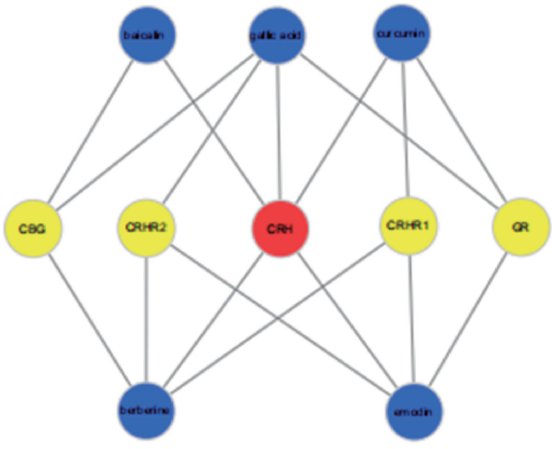
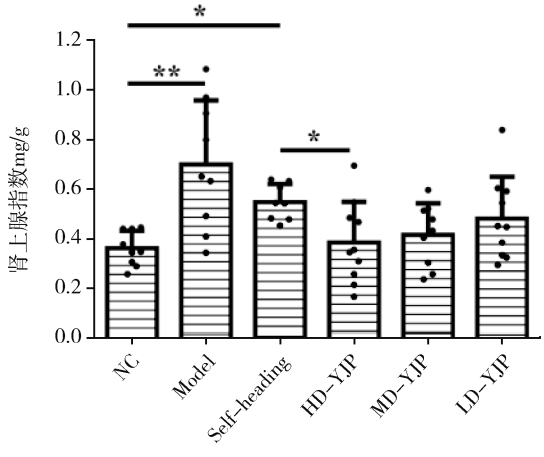


图 4　郁金散活性有效成分与靶点相互作用的网络

Fig 4　Interaction network between active components and targets of Yujin Powder



注：“ * ”表示差异显著（$P<0.05$）；“ * * ”表示差异极显著（$P<0.01$），以下同此。

Note：“ * ”is significantdifferenc（$P<0.05$）；“ ** ”is extremely significantdifference（$P<0.01$），the following is the same.

图 5　郁金散对大肠湿热证大鼠血清中肾上腺指数的影响（Mean ± SD，n = 10，mg · g^{-1}）

Fig 5　Effects of Yujin Powder on serum adrenal gland index in rat model of large intestine dampness – heat syndrome（Mean ± SD，n = 10，mg · g^{-1}）

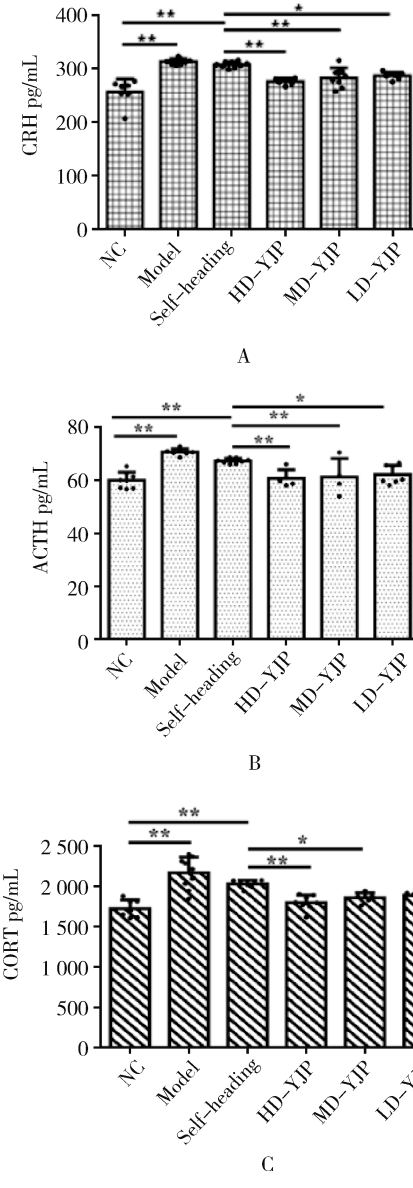


图 6　郁金散对大肠湿热证大鼠血清中 CRH、ACTH 和 CORT 的影响（Mean ± SD，n = 10，pg · mL^{-1}）

Fig 6　Effects of Yujin Powder on serum CRH，ACTH and CORT in rat model of large intestine dampness – heat syndrome（Mean ± SD，n = 10，pg · mL^{-1}）

见较丰富脂滴。网状带细胞排列成不规则的吻合索，索间窦清晰。网状带细胞有明细胞和暗细胞之分。明细胞较大，核也大，染色淡。暗细胞较小，胞质和胞核着色均较深。与对照组相比，模型组球状带中毛细血管扩张，含有较多红细胞，球状带细胞自身变化不明显；束状带细胞脂滴含量有所增多。网状带细胞出现较大面积的空泡化，并且网状隙内的血窦中红细胞较多，显示存在瘀血现象；经高剂量郁金散治疗后，各项指标均显示有所恢复（图 7）。

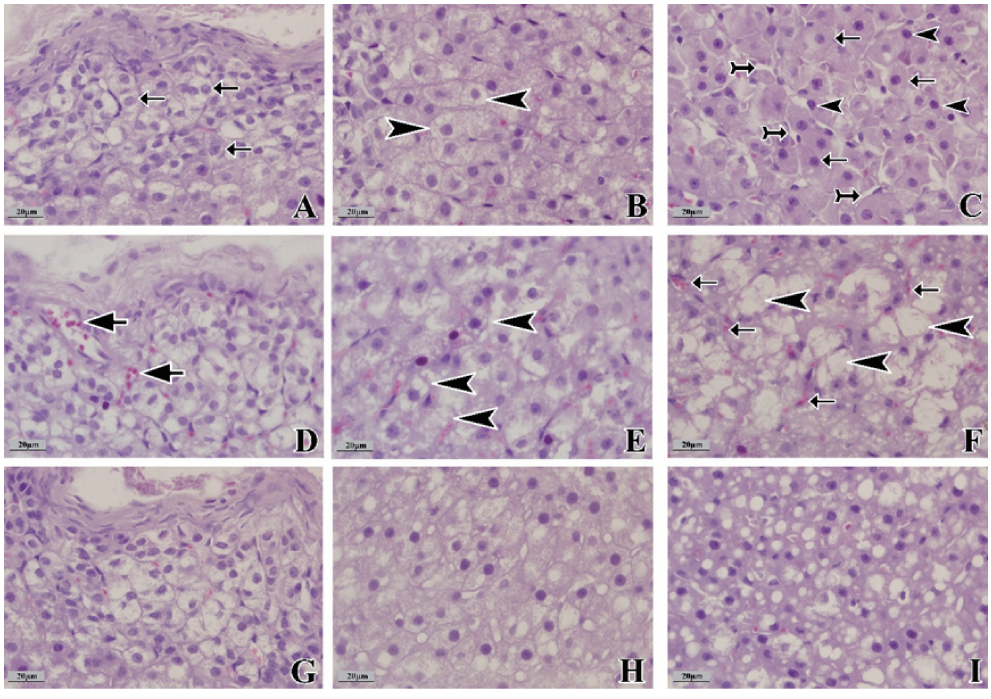


图 7　肾上腺组织切片观察(HE 染色)

Fig 7　Adrenal gland histological observation(He staining)

3　讨论与结论

成分－靶标的网络分析表明,郁金散中有效成分没食子酸、小檗碱和大黄素等能有效改善 HPA 轴亢进,并且 CRH 作为 HPA 轴上游激素在整个网络中处于重要地位,直接影响下游激素的分泌。通过动物实验对 CRH 及其下游激素进行验证结果表明,大肠湿热证模型组和自愈组血清中 CRH、ACTH、CORT 的含量及肾上腺指数均显著性升高,张鑫、武凯歌等[16-17]等研究表明脾胃湿热证大鼠血浆中 CRH、ACTH,血清中的 COR 含量及肾上腺指数显著升高,朱星[3]等研究表明脾胃湿热证大鼠血浆中 CRH、ACTH 的含量显著升高;这些研究结果均与本研究结果相符。肾上腺组织病理学结果显示,与正常对照组相比,模型组束状带和网状带结构不清,细胞排列不规则,细胞质呈空泡状,脂滴增多,经郁金散治疗后,均有所恢复。肾上腺皮质中束状带分泌糖皮质激素,肾上腺皮质束状带细胞损伤会导致糖皮质激素分泌的减少,进而使下丘脑和垂体前叶对 CRH 和 ACTH 的分泌增加,致使 HPA 轴功能亢进。CRH 在应激反应中发挥重要作用,并通过促肾上腺皮质激素释放激素受体(CRH－Rs)功能的改变引起一系列的生理和病理变化[18],主要是促进垂体前叶分泌和合成 ACTH,CRH 的分泌增多导致血清中 ACTH 升高[19];ACTH 是维持肾上腺正常形态和功能的重要激素[20],一旦肾上腺功能活动增强,便会出现质量增加及组织肥大,导致肾上腺指数升高。

现代药理学研究表明:没食子酸作为一种有机酸,是郁金散成分中含量最高的。它可以降低不可预知的慢性轻度应激引起的皮质酮 CORT 含量升高,改善慢性应激引起的 HPA 轴紊乱[21]。小檗碱作为黄连和黄柏的主要有效成分,对 2 型糖尿病大鼠引起的 HPA 轴功能亢进功能具有调节作用,主要表现在 CORT 和 ACTH 含量降低[22]。也有证据证明,小檗碱可以减少皮质酮诱导的抑郁模型小鼠血清中 CORT 的表达[23]。姜黄素作为方中郁金散的主要成分,它可以显著降低慢性应激模型大鼠血清中糖皮质激素的水平,恢复海马对 HPA 轴的抑

制作用[24]。黄芩苷作为黄芩中主要的活性黄酮成分,据报道,它在 HPA 轴功能异常导致的抑郁症中起着重要作用,黄芩苷可以减轻嗅球切除(OBX)抑郁或皮质酮诱导的抑郁模型大鼠血清皮质酮水平,改善 HPA 轴功能障碍[25,26]。近期的一项研究发现,黄芩苷主要通过参与 GR 信号通路来减少慢性皮质酮引起的 GR 磷酸化,使下丘脑 GR 核易位正常化,恢复 HPA 轴正常功能,减轻小鼠异常行为[27]。而大黄素作为大黄的主要成分,亦是郁金散方中含量最少的,参与了 HPA 轴的神经内分泌调节[28]。也有证据表明,栀子苷和芍药苷可以改善由于 HPA 轴亢进造成 CORT、CRH 含量升高和肾上腺指数增[29,30],但构建的网络中没有显示这种相互作用,可能栀子苷和芍药苷是通过间接方式来调节 HPA 轴功能亢进,其机理需要进一步研究。研究表明传统中兽药复方郁金散能够较好地调节大肠湿热证大鼠 HPA 轴功能,降低 CRH、ACTH、CORT 的表达,抑制大肠湿热证模型大鼠肾上腺肥大而抗应激。此外,郁金散中一些其他未被发现和测定的成分,也有可能起到调节 HPA 轴失衡的功效。

分子对接与网络分析推测 CRH 可能是调控 HPA 轴亢进的潜在蛋白,盐酸小檗碱、没食子酸、大黄素可能是郁金散调节 HPA 轴亢进的活性成分。大肠湿热证可引起机体 HPA 轴功能亢进,主要表现为血清中 CRH、ACTH 及 CORT 的含量升高,肾上腺指数增加,以及肾上腺皮质球状带、束状带和网状带细胞的损伤。经郁金散治疗后,指标得到恢复。说明传统中药复方郁金散对大肠湿热证模型大鼠 HPA 轴的动态平衡具有较好的调节作用,为研究大肠湿热证的发病机制及郁金散对大肠湿热证的治疗机制提供了依据。

参考文献:

[1] 邓铁涛. 中医诊断学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1984.
Deng T T. Diagnostics of traditional Chinese medicine[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1984. (in Chinese)

[2] 李 学. 中医大肠湿热证模型研制及葛根芩连汤对其影响的研究[D]; 第一军医大学, 2007.
Li X. Study on the model of Dampness - heat Syndrome of large intestine in traditional Chinese medicine and the effect of Gegenqinlian decoction[D]. Southern Medical University, 2007. (in Chinese)

[3] 朱 星, 武凯歌, 文小敏,等. 王氏连朴饮对脾胃湿热证大鼠 CRH、ACTH 的影响[J]. 时珍国医国药, 2011(09):101-102.
Zhu X, Wu K G, *et al*. Effect of Wang's Lianpuyin on CRH, ACTH in rats with spleen - stomach dampness - heat syndrome[J]. Li Shizhen Medicine and Materia Medica Research, 2011, 2011(09):101-102. (in Chinese)

[4] 高 珊, 李 瑞, 田环环, 等. HPA 轴与2 型糖尿病发病机制相关性的研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2015, 017(001):113-116.
Gao Sh, Li R, Tian H H, *et al*. Study On Pathogenesis Relationship Between Hypothalanus - pituitary - adrenal Axis and Type 2 Diabetes[J]. Journal of Hubei Vniversity of Traditional Chinese Medicine, 2015, 017(001):113-116. (in Chinese)

[5] 胡 旭, 王 涛, 金 锋. 阿尔茨海默病与肠道微生物[J]. 中国科学:生命科学, 2016, 46(10):1174-1191.
Hu X, Wang T, Jin F. Alzheimer's disease and Gut microbes[J]. Chinese science: Life Sciences, 2016, 46(10):1174-1191. (in Chinese)

[6] 路翠艳, 潘 芳. 应激反应中 HPA 轴的中枢调控和免疫调节[J]. 中国行为医学科学, 2003, 12(3):353-355.
Lu C Y, Pan F. Central regulation and immune regulation of HPA axis in stress response[J]. Chinese Behavioral Medicine Science, 2003, 03): 113-5. (in Chinese)

[7] 彭云菊. 母鼠妊娠前慢性不可预见性应激对子代血清 CRH、COR 和大脑多巴胺、5-羟色胺代谢的影响以及与行为的关系[D]. 汕头大学, 2011.
Peng Y J. The effect of maternal pregestational CUS on the serum CRH and COR, brain dopamine and 5-HT metabolisms and its correlation with the behavior of offspring rats[D]. Shantou University, 2011. (in Chinese)

[8] 王苹苹. 低氧诱导大鼠脑和垂体 CRH,CRHR1 和 CRHR2 基因表达模式[D]. 浙江大学, 2011.
Wang P P. Hypoxia induced CRH, CRHR1 and CRHR2 gene expression patterns in rat brain and pituitary[D]. Zhejiang University, 2011. (in Chinese)

[9] Müller, Marianne B, Preil J, *et al*. Expression of CRHR1 and CRHR2 in Mouse Pituitary and Adrenal Gland: Implications for HPA System Regulation[J]. Endocrinology, 2001, (9):9.

[10] 辛 宁. Ahi1 调控 GR 信号通路在抑郁行为中的机制研究[D]. 苏州大学,2016.
Xin N. Study on the mechanism of Ahi1 regulating GR signaling pathway in depressive behavior[D]. Soochow University,2016. (in Chinese)

[11] Pawluski J L, Brain U M, Underhill C M, *et al*. Prenatal SSRI exposure alters neonatal corticosteroid binding globulin, infant cortisol levels, and emerging HPA function[J]. Psychoneuroen-

docrinology, 2012, 37(7):0 - 0.

[12] 文艳巧. 郁金散对大肠湿热证模型大鼠胃肠激素和 HPA 轴的影响[D]. 甘肃农业大学, 2018.
WenYanqiao. Effects of Yujin Powder on Gastrointestinal Hormone and Hypothalamus - pituitary - adrenal Axis of Large Intestine Dampness - heat Syndrome Rat Model[D]. Gansu Agricultural University, 2018. (in Chinese)

[13] Yao W, Yang C, Wen Y, *et al*. Treatment effects and mechanisms of Yujin Powder on rat model of large intestine dampness - heat syndrome[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2017, 202(Complete):265 - 280.

[14] 张亚辉, 姚万玲, 文艳巧,等. 郁金散对大肠湿热证大鼠血清免疫球蛋白与抗氧化相关因子的调节作用[J]. 畜牧兽医学报, 2018, 49(09):247 - 256.
Zhang Y H, Yao W L, Wen Y Q, *et al*. Regulation of Yujin Powder on Serum Immunoglobulin and Antioxidant Related Factors of Large intestine dampness - heat syndrome [J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2018, 49(09):247 - 256. (in Chinese)

[15] 陈家旭. 中医诊断学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
Chen J X. Diagnostics of traditional Chinese medicine[M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2012. (in Chinese)

[16] 张 鑫, 文小敏, 洪 冰,等. 王氏连朴饮对脾胃湿热证大鼠肾上腺指数及血浆 CRH、ACTH、血清 Cor 的影响[J]. 中药材, 2012, 35(12):2010 - 2012.
Zhang X, Wen X M, Hong B, *et al*. Effect of Wang's Lianpuyin on adrenal index and plasma CRH, ACTH, serum Cor in rats with spleen - stomach dampness - heat syndrome[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2012, 35(12):2010 - 2012. (in Chinese)

[17] 武凯歌. 王氏连朴饮对脾胃湿热证大鼠 HPA 轴相关指标及白细胞介素影响的实验研究[D]. 南方医科大学, 2011.
Wu K G. The experimental study of Wang's Lianpuyin on the relevant indexes of hypothalamus - pituitary - adrenal axis and interleukins of the spleen and stomach damp - heat syndrome in rats [D]. Southern Medical University, 2011. (in Chinese)

[18] 李云鹏, 文小敏, 武凯歌,等. 三仁汤对脾胃湿热证大鼠行为学及下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴的影响[J]. 南方医科大学学报, 2010(1):126 - 128.
Li Y P, Wen X M, Wu K G, *et al*. Effect of Sanren Decoction on behavior and Hypothalamic - pituitary - adrenal Axis in rats with spleen - stomach dampness - heat syndrome [J]. Journal of Southern Medical University, 2010(1):126 - 128. (in Chinese)

[19] 王子梅. ACTH 激素分泌调节新进展[J]. 国外医学. 内分泌学分册, 1994(04):171 - 174.
Wang Z M. New Progress in Regulation of ACTH hormone secretion[J]. Foreign medicine. Volume of Endocrinology, 1994 (04): 171 - 174. (in Chinese)

[20] 叶 雷. 电针改善老龄大鼠术后认知功能障碍的海马应激免疫调控机制[D]. 浙江中医药大学, 2014.
Ye L. Immune Regulation Mechanism of Hippocampal stress in aged rats with Post - operative Cognitive impairment improved by Electroacupuncture[D]. Zhejiang University of traditional Chinese Medicine, 2014. (in Chinese)

[21] Chhillar R, Dhingra D. Antidepressant - like activity of gallic acid in mice subjected to unpredictable chronic mild stress[J]. Fundamental and Clinical Pharmacology, 2013, 27(4): 409 - 18.

[22] Mi J, He W D, Lv J W, *et al*. Effect of berberine on the HPA - axis pathway and skeletal muscle GLUT4 in type 2 diabetes mellitus rats[J]. Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy, 2019, 12: 1717 - 1725.

[23] Berberine up - regulates the BDNF expression in hippocampus and attenuates corticosterone - induced depressive - like behavior in mice[J]. Neuroscience Letters, 2016, 614:77 - 82.

[24] 安改红, 陈学伟, 王 静, 等. 姜黄素预处理对慢性心理应激大鼠中枢神经的保护作用[J]. 解放军预防医学杂志, 2013(01):28 - 31.
An G H, Chen X W, Wang J, *et al*. Protective effect of curcumin pretreatment on central nervous system in rats with chronic psychological stress[J]. Journal of Preventive Medicine of Chinese People's Liberation Army, 2013(01):28 - 31. (in Chinese)

[25] Lee S, Kim D H, Jung J W, *et al*. Schizandra chinensis and Scutellaria baicalensis counter stress behaviors in mice[J]. Phytotherapy research: PTR, 2007, 21(12):1187 - 92.

[26] YU H Y, ZENG M J, FU Q, *et al*. Baicalin treatment regulates hyperactivity of HPA axis and alters SIRT1 related inflammation in the hypothalamus in a model of depression[J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2017, 31(05):477 - 478.

[27] Zhang K, He M Y, Wang F, *et al*. Revealing Antidepressant Mechanisms of Baicalin in Hypothalamus Through Systems Approaches in Corticosterone - Induced Depressed Mice[J]. Frontiers in neuroscience, 2019, 13:834.

[28] Xiang Q, Xu W, Huang M Q, *et al*. Development of 11β - HSD1 inhibitors for metabolic syndrome[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2014, 23(18):2169 - 2173.

[29] 赵 霞, 蔡 莉, 李 荣,等. 五乙酰栀子苷对 CUMS 大鼠抑郁行为及其对 HPA 轴的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2017(8).
Zhao X, Cai L, Li R, *et al*. The effect of penta - acetyl geniposide on CUMS - induced depressive behaviors and HPA axis in rats[J]. Acta Universitatis Medicinal is Anhui, 2017(8). (in Chinese)

[30] 王成龙, 王林元, 王景霞,等. 芍药内酯苷及芍药苷对慢性束缚应激配合孤养肝郁模型大鼠行为学及下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴的影响[J]. 中华中医药杂志, 2017(07):299 - 303.
Wang Ch L, Wang L Y, Wang J X, *et al*. Effects of albiflorin, paeoniflorin on the behavior and hypothalamic - pituitary - adrenal axis in depressed rats modelized by chronic restraint stress stimulation combined with isolation[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2017(07):299 - 303. (in Chinese)

(编 辑:陈 希)