

· 论著 ·

# 基于RNA干扰技术的多巴胺D2受体低表达的高催乳素MMQ细胞模型构建

张志洋 徐志卿 刘丽娜 薄奇静 王传跃

100088 首都医科大学附属北京安定医院 国家精神心理疾病临床医学研究中心 精神疾病诊断与治疗北京市重点实验室 北京脑重大疾病研究院精神分裂症研究所(张志洋、薄奇静、王传跃);100069 首都医科大学神经生物学系 神经再生修复研究北京市重点实验室(徐志卿、刘丽娜);100069 北京,首都医科大学人脑保护高精尖创新中心(张志洋、徐志卿、刘丽娜、薄奇静、王传跃)

通信作者:王传跃, Email: wang.cy@163.net

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2022.07.002

**【摘要】** 目的 利用RNA干扰技术建立多巴胺D2受体(D2R)低表达的高催乳素大鼠垂体瘤MMQ细胞模型。方法 设计3对可沉默D2R基因表达的小干扰RNA(siRNA)序列,转染MMQ细胞,建立包括siRNA1组、siRNA2组、siRNA3组、阴性对照(siNT)组和空白对照(CTRL)组的5组细胞模型,采用Western blot法检测各组MMQ细胞D2R蛋白表达。选择干扰高表达细胞株,加入溴隐亭 $1\ \mu\text{mol/L}$ 进行干扰,采用酶联免疫吸附测定(ELISA)法、Western blot法及实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)法分别观察干扰后MMQ细胞催乳素的分泌、催乳素蛋白相对表达量及催乳素mRNA水平。结果 5组D2R蛋白相对表达量比较,差异有统计学意义( $F=19.936, P<0.01$ );其中siRNA1组、siRNA3组D2R蛋白相对表达量 $[(0.23\pm 0.12)、(0.57\pm 0.24)]$ 与siNT组 $(0.81\pm 0.24)$ 、CTRL组 $(0.94\pm 0.21)$ 比较,差异均有统计学意义(均 $P<0.01$ );siRNA1组、siRNA3组对MMQ细胞的D2R蛋白表达抑制率分别为74%和35%。干扰后,siRNA组、CTRL组、siNT组MMQ细胞催乳素分泌、催乳素蛋白相对表达量、催乳素mRNA水平比较,差异均有统计学意义( $F=10.898, 7.485, 7.898, \text{均} P<0.05$ );siRNA组催乳素分泌高于siNT组、CTRL组 $[(2.91\pm 0.12)\text{ng/ml}$ 比 $(2.14\pm 0.15)、(2.09\pm 0.44)\text{ng/ml}]$ ;siRNA组催乳素蛋白相对表达量高于siNT组、CTRL组 $[(0.99\pm 0.67)$ 比 $(0.85\pm 0.13)、(0.82\pm 0.12)]$ ;siRNA组催乳素mRNA水平高于siNT组、CTRL组 $[(1.00\pm 0.07)$ 比 $(0.69\pm 0.09)、(0.73\pm 0.14)]$ ,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$ )。结论 基于RNA干扰技术构建的D2R低表达的高催乳素MMQ细胞模型为目标药物治疗高催乳素血症的靶点研究提供了可靠的细胞模型。

**【关键词】** 高催乳素血症; RNA干扰; 受体,多巴胺D2; MMQ细胞

基金项目:国家自然科学基金项目(81901355);北京市自然科学基金项目(7192081)

## Establishment of D2R down regulated MMQ cells model for hyperprolactinemia using RNA interference technigue

Zhang Zhiyang, Xu Zhiqing, Liu Lina, Bo Qijing, Wang Chuanyue

The National Clinical Research Center for Mental Disorders & Beijing Key Laboratory of Mental Disorders & Beijing Institute for Brain Disorders Center of Schizophrenia, Beijing Anding Hospital, Capital Medical University, Beijing 100088, China(Zhang ZY, Bo QJ, Wang CY); Beijing Key Laboratory of Neural Regeneration and Repair, Department of Neurobiology, Capital Medical University, Beijing 100069, China(Xu ZQ, Liu LN); Advanced Innovation Center for Human Brain Protection, Capital Medical University, Beijing 100069, China(Zhang ZY, Xu ZQ, Liu LN, Bo QJ, Wang CY)

Corresponding author: Wang Chuanyue, Email: wang.cy@163.net

**【Abstract】 Objective** To construct dopamine D2 receptor (D2R) gene low expression model in rat MMQ cells by RNA interference (RNAi) technique. **Methods** Three fragments of small interfering RNA (siRNA) were designed, which could induce decrease in D2R mRNA expression, then the plasmid was constructed to transfect the MMQ cells, and siRNA1, siRNA2, siRNA3, nontarget siRNA (siNT), normal control (CTRL) groups

were established. The expression of D2R protein was detected by Western blot. High interference expression cell line was chosen, and then adding bromocriptine (1  $\mu$ mol/L). Secretion of prolactin, relative expression of prolactin and prolactin mRNA level in MMQ cells after interference were observed by ELISA, Western blot, qRT-PCR. **Results** The relative expression levels of D2R protein was significantly different among the 5 groups ( $F=19.936$ ,  $P < 0.001$ ). Among them, the relative expression levels of D2R protein in MMQ cells of siRNA1 and siRNA3 groups [(0.23  $\pm$  0.12), (0.57  $\pm$  0.24)] were significantly different from those of siNT group (0.81  $\pm$  0.24) and CTRL group (0.94  $\pm$  0.21) (all  $P < 0.05$ ). siRNA1 and siRNA3 groups inhibited the repression of D2R protein in MMQ cells by 74% and 35%, respectively. After interference, there were statistically significant differences in secretion of prolactin, relative expression of prolactin and prolactin mRNA level of MMQ cells among the siRNA group, CTRL group and siNT group ( $F=10.898$ , 7.485, 7.898, all  $P < 0.05$ ). The secretion of prolactin of siRNA group was higher than that of siNT group and CTRL group [(2.91  $\pm$  0.12) ng/ml vs (2.14  $\pm$  0.15) ng/ml, (2.09  $\pm$  0.44) ng/ml]. The relative expression of prolactin protein of siRNA group was higher than that of siNT group and CTRL group [(0.99  $\pm$  0.67) vs (0.85  $\pm$  0.13), (0.82  $\pm$  0.12)]. The prolactin mRNA level of siRNA group was higher than that of siNT group and CTRL group [(1.00  $\pm$  0.07) vs (0.69  $\pm$  0.09), (0.73  $\pm$  0.14)]. All the differences were statistically significant (all  $P < 0.05$ ). **Conclusions** The constructed hyperprolactin in MMQ cell model with low D2R expression by RNAi provides a reliable cell model for the target study of target drugs in the treatment of hyperprolactinemia.

**【Key words】** Hyperprolactinemia; RNA interference; Receptors, dopamine D2; MMQ cells

**Fund programs:** National Natural Science Foundation of China (81901355); General Project of Beijing Natural Science Foundation (7192081)

高催乳素血症是抗精神病药物常见的不良反应,发生率高达42%~66%<sup>[1]</sup>。高催乳素血症短期可导致女性生理周期紊乱和男性功能障碍,长期会引起骨密度降低、不育并增加心血管疾病发生的危险性,严重影响患者的服药依从性,进而影响疾病的疗效和预后<sup>[2]</sup>。MMQ细胞源自大鼠垂体瘤,分泌催乳素,其细胞膜上的多巴胺D2受体(D2R)可对多巴胺及多巴胺类药物产生反应<sup>[3]</sup>。溴隐亭等多巴胺受体激动剂可通过激动MMQ细胞上的D2R,起到抑制其细胞内催乳素分泌的作用。同时,临床上多种中药方剂(如芍药甘草汤、抑乳调经颗粒、“天葵一号方”等)及中药单体(如甘草苷、芍药苷、甘草酸等)具有治疗高催乳素血症的疗效<sup>[4-7]</sup>。然而,为证明中药方剂或单体通过作用于D2R发挥其作用,目前大多数研究多通过在MMQ细胞模型中加入D2R拮抗剂(如氟哌啶醇)间接证明。本研究利用RNA干扰(RNAi)技术构建D2R表达下调的高催乳素MMQ细胞模型,为进一步研究治疗高催乳素血症候选药物的疗效及作用靶点提供更直接、稳定的细胞模型。

## 材料与方法

### 一、研究材料

MMQ细胞株购于中国医学科学院基础医学细胞中心。其他研究材料包括F12培养基(美国Corning公司);胎牛血清、马血清(美国hyclone公司);二甲基亚砜、溴隐亭、小鼠抗大鼠D2R单克隆抗体(美国Sigma公司);Lipofectamine 2000转染试剂(Invitrogen公司);山羊抗小鼠IgG二抗,辣根过氧化物酶(HRP)标记(中杉金桥公司);预染蛋白Marker

(上海生工);聚偏二氟乙烯膜(Millipore公司);兔抗大鼠催乳素多克隆抗体(Abcom公司);超纯RNA提取试剂盒(CWbio.Co.Ltd)。

### 二、方法

1. 细胞培养: MMQ细胞放置于含10%的马血清(HB)、5%胎牛血清(FBS)加链霉素、青霉素的F12培养基中培养,保持培养箱的温度为37 $^{\circ}$ C, CO<sub>2</sub>浓度为5%,空气湿度为95%,细胞呈悬浮生长,取对数期细胞进行实验。

2. D2R靶向小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)的合成: 针对大鼠源D2R基因特异的siRNA序列设计及化学合成,由上海吉凯公司完成。共设计3对siRNA序列,见表1。

3. 质粒提取并转染: 提取质粒后,在培养板中接种MMQ细胞,每孔加入细胞悬液400  $\mu$ l; 50  $\mu$ l无血清的F12培养基加入1  $\mu$ l siRNA,混匀;将siRNA加入稀释后的Lipofectamine 2000试剂中,室温放置30 min,形成siRNA/Lipofectamine 2000复合物;将该复合物加入含有细胞和F12培养基的培养板中,轻柔摇匀;细胞在CO<sub>2</sub>培养箱中37 $^{\circ}$ C孵育48 h,进行转染后的其他检测步骤。

4. MMQ细胞D2R的基因沉默实验: 将制备好的D2R靶向siRNA1、siRNA2、siRNA3及空的靶基因分别转染至MMQ细胞,细胞未经任何处理的为空白对照(CTRL)组,通过Western blot法检测上述5组中D2R蛋白水平的变化,并确定siRNA对MMQ细胞D2R基因表达的抑制率。

5. D2R基因沉默对MMQ细胞催乳素分泌和基因表达的影响: 分别将干扰效果最强的siRNA分子

及 siNT 转染进入 MMQ 细胞; 转染 48 h 后, 溴隐亭 1 μmol/L 分别加入 siRNA 组、阴性对照 (siNT) 组、CTRL 组; 24 h 后, 收集细胞培养基并分离细胞, 分别采用 ELISA 法、定量逆转录多聚酶链反应 (qRT-PCR) 法及 Western blot 法检测上述不同组中催乳素的含量、催乳素的 mRNA 表达及催乳素蛋白表达, 实验流程见图 1。

6. ELISA 法检测: 用包被液稀释包被抗原至 5 μg/ml, 酶标板中各孔加入 50 μl, 室温过夜包被; 弃包被液, 洗涤液洗板 3 次, 每次 3 min; 每孔加封闭液 250 μl, 37℃ 封闭 2 h; 洗涤, 同上; 缓冲液稀释被检样本, 每孔 100 μl, 37℃ 孵育 1.5 h; 洗涤, 同上; 每孔加入稀释的二抗 50 μl, 37℃ 孵育 1 h; 洗涤, 同上; 每孔加入底物溶液 50 μl, 置室温避光显色 10 min; 每孔加入 50 μl 终止液终止反应; 使用酶标仪读取 450 nm 的吸光值以确定催乳素含量。重复 3 次实验, 计算平均值。

7. Western blot 法检测: 收集细胞并提取总蛋白, 使用二喹啉甲酸蛋白检测试剂盒测量蛋白浓度; 每组取 50 μg 蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜, 封闭液 (5% 脱脂奶粉加入膜再生液) 封闭 1 h, 加入第 1 抗体 (D2R、催乳素) 在 4℃ 孵育过夜, 用膜再生液洗涤 3 次, 然后加入第 2 抗体 (1:5000), 室温下孵育 1 h; 膜用电化学发光液孵育 5 min 后进行曝光、显影、定影, 使用相同方法孵育 β-actin 内参蛋白; 扫描胶片, 应用凝胶图像分析系统进行扫描和分析。

8. qRT-PCR 法检测: 用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA; 取 5 μl RNA 进行电泳, 检测 RNA 的完整性; 用 DNase I 试剂盒消化残留的 DNA; 用第一链合成

试剂盒对 RNA 进行反转录; 用 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪, 采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法进行数据的相对定量分析, 配置 PCR 反应体系: UltraSYBR Mixture (2×) 10 μl, 上游引物 (10 μmol/L) 0.4 μl, 下游引物 (10 μmol/L) 0.4 μl, 模板 2 μl, 灭菌蒸馏水 7.2 μl。PCR 反应条件为 95℃ 10 min, (95℃ 15 s, 60℃ 60 s) × 45 个循环。

9. 统计学方法: 分别采用 SPSS 17.0 和 Prism 7 软件进行统计学分析和作图。计数资料采用频数、百分率 (%) 表示。采用 Shapiro-Wilk 检验法对计量资料进行正态性检验, 符合正态分布的计量资料采用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 差异有统计学意义后, 两两比较前先采用 Levene 法进行方差齐性检验, 满足方差齐性时采用 LSD-t 检验, 方差不齐时采用 Dunnett T3 检验。双侧检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

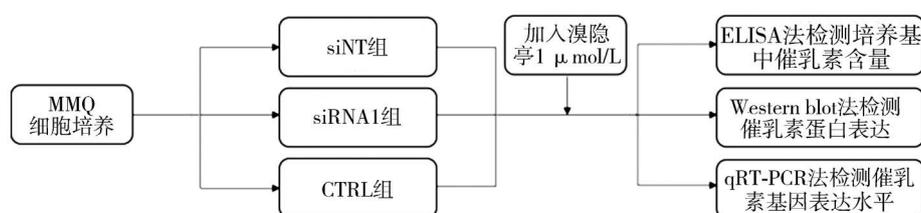
1. siRNA 沉默 D2R 基因的效果: MMQ 细胞 D2R 蛋白及 β-actin 内参蛋白的电泳结果见图 2。5 组间 D2R 蛋白相对表达量比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 其中, siRNA1 组、siRNA3 组 D2R 蛋白相对表达量分别与 CTRL 组、siNT 组比较, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.01$ ), 见表 2。因 siRNA1 抑制 D2R 蛋白表达的作用最强, 故选择 siRNA1 作为干扰高表达细胞株进行后续实验。

2. ELISA 法检测 D2R 基因沉默后 MMQ 细胞催乳素的分泌: 经溴隐亭处理后, siRNA 组、CTRL 组、siNT 组 MMQ 细胞催乳素的分泌比较, 差异有统计学意义 ( $F=10.898, P=0.010$ )。siRNA 组的催乳素分泌量 ( $2.91 \pm 0.12$ ) ng/ml 与 siNT 组 ( $2.14 \pm 0.15$ ) ng/ml 和

表 1 MMQ 细胞 D2R 基因特异 siRNA 序列及 siNT 序列

编号	正义链	反义链
siRNA1	5' -caGCAGGATTCACGTGACAT-3'	5' -ATG-TCACAGTGAATCCTGCTG-3'
siRNA2	5' -caGGATTCACGTG-GACATCTT-3'	5' -AAGATGTCACAGTGAATCCTG-3'
siRNA3	5' -aaCCTGTGTGCCATCAGCATT-3'	5' -AATGCTGATGGCACACAGGTT-3'
siNT	5' -UUAAGUAGCUUGCCUUGAtt-3'	5' -UCAAGGCCAAGCUACUUAAtt-3'

注: D2R 多巴胺 D2 受体; siRNA 小干扰 RNA; siNT 阴性对照

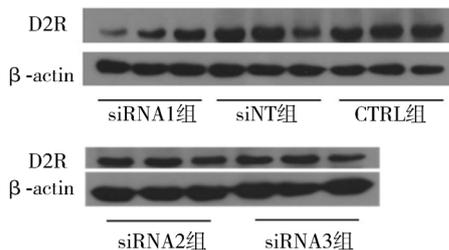


注: siNT 阴性对照; siRNA 小干扰 RNA; CTRL 空白对照; ELISA 酶联免疫吸附剂; qRT-PCR 定量逆转录多聚酶链反应

图 1 实验流程图

CTRL组(2.09 ± 0.44) ng/ml 比较, 分别增加 36% 和 39%, 差异有统计学意义( $P=0.028$ 、 $0.004$ )。

3. Western blot 法检测 D2R 基因沉默后 MMQ 细胞催乳素蛋白的表达: MMQ 细胞催乳素蛋白及  $\beta$ -actin 的电泳结果见图 3。经溴隐亭处理后, siRNA 组、CTRL 组、siNT 组催乳素蛋白表达水平比较, 差异有统计学意义( $F=7.485$ ,  $P=0.023$ ); 其中, siRNA 组催乳素蛋白相对表达量( $0.99 \pm 0.67$ ) 高于 siNT 组( $0.85 \pm 0.13$ ) 和 CTRL 组( $0.82 \pm 0.12$ ), 差异有统计学意义( $P=0.023$ 、 $0.011$ )。



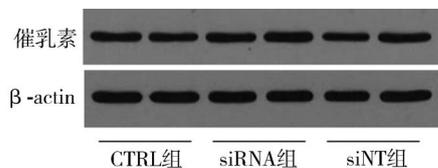
注: siRNA 小干扰 RNA; D2R 多巴胺 D2 受体; siNT 阴性对照; CTRL 空白对照

图 2 Western blot 法检测 siRNA 干扰后 MMQ 细胞 D2R 蛋白的表达

表 2 siRNA 干扰后 MMQ 细胞 D2R 蛋白的表达相对值及蛋白抑制率比较

组别	样本量	D2R 蛋白相对表达量( $\bar{x} \pm s$ )	蛋白抑制率(%)
CTRL 组	9	0.94 ± 0.21	-
siNT 组	9	0.81 ± 0.24	14
siRNA1 组	9	0.23 ± 0.12 <sup>ab</sup>	74
siRNA2 组	9	0.68 ± 0.19	22
siRNA3 组	9	0.57 ± 0.24 <sup>ab</sup>	35
F 值		19.936	-
P 值		<0.001	-

注: 5 组每次实验加样均为 3 个, 重复做 3 次, 故样本量均为 9; siRNA 小干扰 RNA; D2R 多巴胺 D2 受体; CTRL 空白对照; siNT 阴性对照; <sup>a</sup> 与 CTRL 组比较,  $P < 0.01$ ; <sup>b</sup> 与 siNT 组比较,  $P < 0.01$ ; - 无数据



注: D2R 多巴胺 D2 受体; CTRL 空白对照; siRNA 小干扰 RNA; siNT 阴性对照

图 3 Western blot 法检测 D2R 基因沉默对 MMQ 细胞催乳素蛋白表达的影响

4. qRT-PCR 法检测 D2R 基因沉默后 MMQ 细胞催乳素 mRNA 水平的变化: 经溴隐亭处理后, siRNA 组、CTRL 组、siNT 组 MMQ 细胞催乳素 mRNA

的转录水平比较, 差异有统计学意义( $F=7.898$ ,  $P=0.021$ )。siRNA 组 MMQ 细胞催乳素 mRNA 的转录水平( $1.00 \pm 0.07$ ) 高于 siNT 组( $0.69 \pm 0.09$ )、CTRL 组( $0.73 \pm 0.14$ ), 差异有统计学意义( $P=0.011$ 、 $0.019$ )。

### 讨 论

催乳素的主要作用是促进乳腺生长发育、刺激并维持泌乳, 它的合成和分泌受多种因素影响<sup>[8]</sup>。特定的生理状态、药物以及多种病理状态均可诱发高催乳素血症。催乳素和中枢、外周的多种生理功能密切相关, 它的分泌也受到多种内外源性的物质影响<sup>[9]</sup>。之前的动物实验显示, 甘丙肽作为催乳素分泌刺激因子, 可能通过作用于多巴胺能神经元, 影响多巴胺对结节漏斗部内分泌功能, 间接调节催乳素的分泌<sup>[10]</sup>。然而, 作为最主要的催乳素抑制因子的多巴胺, 是通过作用于垂体催乳素细胞上的 D2R 抑制催乳素的分泌<sup>[11]</sup>。当多巴胺和 D2R 结合后, 抑制腺苷酸环化酶的活性, 减少环磷酸腺苷(cAMP)的生成, 抑制活化的蛋白激酶 A(PKA), 从而抑制催乳素基因的表达<sup>[12]</sup>。

氟哌啶醇、利培酮等多种抗精神病药物通过拮抗垂体泌乳素细胞上的 D2R, 解除了多巴胺对垂体泌乳素细胞的抑制作用, 增加了催乳素的释放<sup>[13]</sup>。而 D2R 激动剂如溴隐亭、培高利特、卡麦角林等通过激动垂体泌乳素上的 D2R 而抑制催乳素的分泌<sup>[14]</sup>。本研究结果显示, 与未沉默 D2R 的 MMQ 细胞相比, 再次加入溴隐亭后, 通过 RNAi 技术沉默了 D2R 的 MMQ 细胞, 催乳素分泌、蛋白水平表达及 mRNA 水平明显增高, 这说明 D2R 沉默后, 溴隐亭抑制 MMQ 细胞催乳素分泌的作用减弱了。另外, 较多中药方剂调节催乳素分泌的机制都和 D2R 相关。Wei 等<sup>[6]</sup>的研究表明, 抑乳调经颗粒对高泌乳素血症有明显的抑制作用, 其作用机制可能与 D2R 的激动有关, 而 D2R 和第 2 信使 PKA 和 cAMP 有关。Wang 等<sup>[15]</sup>的研究显示, 芍药甘草汤治疗高催乳素血症的机制涉及 D2R 及多巴胺转运蛋白。而查阅文献发现, 敲减 D2R 的细胞模型报道较少。为提高 D2R 基因沉默的成功率, 本研究设计了 3 条 siRNA 进行比较, 结果提示 siRNA1 组的 D2R 蛋白水平低于 siRNA2 组和 siRNA3 组, siRNA1 组对 D2R 蛋白抑制率高达 74%, 说明 siRNA1 对 MMQ 细胞感染率最高, 对 D2R 基因沉默效果最有效。另外, 沉默后作用于 D2R 的溴隐亭效果减弱, 表明本研究构建的细胞模型高效和稳定, 能够为治疗高催乳素血症的药物靶点研究提供支持。

RNAi 是生物体内普遍存在的一种双链 RNA 介导的、由特定酶参与的特异性转录后基因沉默现象,

该技术因具有特异性强、沉默效率高、操作简单等优点, 现已作为重要的研究工具广泛应用于基因治疗、药物开发、信号转导通路等生命科学领域<sup>[16]</sup>。荣翠平等<sup>[17]</sup>通过RNAi技术建立催产素受体基因沉默的细胞模型, 为研究催产素受体下游相关信号通路提供了技术基础。解笑宸等<sup>[18]</sup>应用RNAi技术, 成功构建了第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因表达降低的施万细胞模型, 为研究该基因相关的创伤骨科、脊柱外科等疾病提供实验基础。本研究通过RNAi技术成功构建的细胞模型, 能够为研究候选药物治疗高催乳素血症的分子机制及信号通路提供实验材料, 也为后期的动物沉默模型确立实验基础。

本研究存在的不足之处: 首先, 本研究纳入的样本量偏少; 其次, 缺乏在细胞模型中进行分子机制、信号通路等研究, 这同时也为下一步研究指明了方向。

综上所述, 本研究构建了D2R低表达的高催乳素MMQ细胞模型, 为将来应用细胞模型研究目标药物治疗高催乳素血症的靶点奠定了良好的基础。

**利益冲突** 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

**作者贡献声明** 实验构思与设计为徐志卿、王传跃, 研究实施、资料收集为刘丽娜、张志洋, 论文撰写为张志洋, 论文修订为薄奇静

## 参 考 文 献

- [1] Grigg J, Worsley R, Thew C, et al. Antipsychotic-induced hyperprolactinemia: synthesis of world-wide guidelines and integrated recommendations for assessment, management and future research[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2017, 234(22): 3279-3297. DOI: 10.1007/s00213-017-4730-6.
- [2] 刘峥荣, 郑伟, 陈蕊, 等. 治疗抗精神病药物所致高催乳素血症的研究进展[J]. *神经疾病与精神卫生*, 2017, 17(4): 296-298. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2017.04.017.  
Liu ZR, Zheng W, Chen R, et al. Progress on treatment of hyperprolactinemia induced by antipsychotics[J]. *Journal of Neuroscience and Mental Health*, 2017, 17(4): 296-298.
- [3] Judd AM, Login IS, Kovacs K, et al. Characterization of the MMQ cell, a prolactin-secreting clonal cell line that is responsive to dopamine[J]. *Endocrinology*, 1988, 123(5): 2341-2350. DOI: 10.1210/endo-123-5-2341.
- [4] 张士巧, 赵幸福, 乔云栓, 等. “天癸一号方”对女性精神分裂症患者服药依从性的影响[J]. *神经疾病与精神卫生*, 2018, 18(12): 874-879. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2018.12.009.  
Zhang SQ, Zhao XF, Qiao YS, et al. Effects of "Tiangui No.1" on the treatment compliance in female patients with schizophrenia[J]. *Journal of Neuroscience and Mental Health*, 2018, 18(12): 874-879.
- [5] Wei Y, La L, Wang L, et al. Paeoniflorin and liquiritin, two major constituents in Chinese herbal formulas used to treat hyperprolactinemia-associated disorders, inhibits prolactin secretion in prolactinoma cells by different mechanisms[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 204: 36-44. DOI: 10.1016/j.jep.2017.03.054.
- [6] Wei Y, Wang X, Yu Z, et al. Efficacy and mechanism of action of yiru tiaojing granule against hyperprolactinemia in vitro and in vivo[J]. *Planta Med*, 2015, 81(14): 1255-1262. DOI: 10.1055/s-0035-1546208.
- [7] Yuan HN, Wang CY, Sze CW, et al. A randomized, crossover comparison of herbal medicine and bromocriptine against risperidone-induced hyperprolactinemia in patients with schizophrenia[J]. *J Clin Psychopharmacol*, 2008, 28(3): 264-370. DOI: 10.1097/JCP.0b013e318172473e.
- [8] Samperi I, Lithgow K, Karavitaki N. Hyperprolactinaemia[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(12): 2203. DOI: 10.3390/jcm8122203.
- [9] Milano W, D'acunto CW, Rosa MD, et al. Recent clinical aspects of hyperprolactinemia induced by antipsychotics[J]. *Rev Recent Clin Trials*, 2011, 6(1): 52-63. DOI: 10.2174/157488711793980138.
- [10] 张志洋, 王永军, 张梁, 等. 药源性高催乳素血症模型大鼠下丘脑甘丙肽的表达及作用[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2014, 23(4): 293-296. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-6554.2014.04.002.  
Zhang ZY, Wang YJ, Zhang L, et al. Expression and role of galanin in the hypothalamus of rat with the drug-induced hyperprolactinemia[J]. *Chin J Behav Med & Brain Sci*, 2014, 23(4): 293-296.
- [11] Madhusoodanan S, Parida S, Jimenez C. Hyperprolactinemia associated with psychotropics-a review[J]. *Hum Psychopharmacol*, 2010, 25(4): 281-297. DOI: 10.1002/hup.1116.
- [12] Diamond SE, Chiono M, Gutierrez-Hartmann A. Reconstitution of the protein kinase A response of the rat prolactin promoter: differential effects of distinct Pit-1 isoforms and functional interaction with Oct-1[J]. *Mol Endocrinol*, 1999, 13(2): 228-238. DOI: 10.1210/mend.13.2.0227.
- [13] Besnard I, Auclair V, Callery G, et al. Antipsychotic-drug-induced hyperprolactinemia: neuropathology, clinical features and guidance[J]. *Encephale*, 2014, 40(1): 86-94. DOI: 10.1016/j.encep.2012.03.002.
- [14] Romijn JA. Hyperprolactinemia and prolactinoma[J]. *Handb Clin Neurol*, 2014, 124: 185-195. DOI: 10.1016/b978-0-444-59602-4.00013-7.
- [15] Wang D, Wong HK, Zhang L, et al. Not only dopamine D2 receptors involved in Peony-Glycyrrhiza Decoction, an herbal preparation against antipsychotic-associated hyperprolactinemia[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2012, 39(2): 332-338. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2012.07.005.
- [16] Fire A, Xu S, Montgomery MK, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Nature*, 1998, 391(6669): 806-811. DOI: 10.1038/35888.
- [17] 荣翠平, 刘晓茜, 孙逸, 等. 催产素受体基因沉默的大鼠子宫平滑肌原代细胞模型的构建及鉴定[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2020, 29(6): 534-538. DOI: 10.16705/j.cnki.1004-1850.2020.06.008.  
Rong CP, Liu XQ, Sun Y, et al. Establishment and identification of an in vitro model with oxytocin receptor gene knockdown in primary smooth muscle cells from rats uterus[J]. *Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2020, 29(6): 534-538.
- [18] 解笑宸, 于斐, 姚粤峰, 等. 慢病毒介导PTEN基因表达降低的RSC96施万细胞系模型建立[J]. *中华骨与关节外科杂志*, 2021, 14(1): 54-60. DOI: 10.3969/j.issn.2095-9958.2021.01.11.  
Xie XC, Yu F, Yao YF, et al. Establishment of RSC96 Schwann cell line model with lentivirus-mediated PTEN gene knockdown[J]. *Chin J Bone Joint Surg*, 2021, 14(1): 54-60.

(收稿日期: 2022-03-23)

(本文编辑: 赵金鑫)