

补气益精生血中药对人红系细胞组蛋白修饰酶的影响

陈珏璇, 徐方蔚, 卢焯明

基金项目: 广东省中医药局科研项目(20211301); 广州市妇女儿童医疗中心内部基金(NKE-PRE-2019-007)

作者单位: 510120 广州, 广州市妇女儿童医疗中心

作者简介: 陈珏璇(1993—), 女, 医学硕士, 主治医师。研究方向: 中药、针灸结合治疗儿童疾病

通讯作者: 卢焯明, E-mail: 739835365@qq.com

【摘要】 目的 观察补气益精生血中药对人红系 K562 细胞株组蛋白修饰酶的影响。**方法** 运用补气益精生血、补气生血、益精生血的中药分别以高、低浓度对 K562 细胞株进行诱导, 并以丁酸钠作阳性对照。以实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)检测细胞 γ 珠蛋白基因 mRNA 水平, 采用酶标仪以比色法检测细胞组蛋白脱乙酰基酶(HDAC1、HDAC2), 组蛋白乙酰基转移酶(HAT)酶活性水平, PCR 方法检测 HDAC1、HDAC2、HAT 基因 mRNA 水平, Western Blot 方法检测 HDAC1、HDAC2、HAT 蛋白水平。**结果** 补气益精高剂量组、补气高剂量组、益精低剂量组中药及丁酸钠均显著提升了 γ 珠蛋白基因表达水平。补气益精高、低剂量组及益精高、低剂量组的细胞 HAT 酶活性水平均显著高于空白对照组, 而丁酸钠组的 HDAC1 酶活性水平则显著低于空白对照组。对于 HAT 基因的 mRNA 水平, 补气益精高、低剂量组, 益精高剂量组显著高于空白对照组。Western Blot 结果则只有补气益精高剂量组和益精高剂量组的 HAT 蛋白水平显著高于空白对照组。**结论** 补气益精生血中药可能通过上调 HAT 基因的表达进而促进红系细胞内 γ 珠蛋白基因启动子区组蛋白的乙酰化修饰, 其诱导 γ 珠蛋白基因表达治疗儿童 β 地中海贫血的分子机制可能与调节组蛋白修饰酶有关。

【关键词】 β 地中海贫血; 中医药疗法; γ 珠蛋白基因表达; 组蛋白修饰

doi:10.3969/j.issn.1674-3865.2023.05.008

【中图分类号】 R556 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3865(2023)05-0401-06

The impact of Buqi Yijing Shengxue Chinese herbal medicines on histone-modifying enzymes in human erythroid cells CHEN Juexuan, XU Fangwei, LU Zhuoming. Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou 510120, China

【Abstract】 Objective This study aims to investigate the impact of Buqi Yijing Shengxue Chinese herbal medicines, which are known for their generating blood by tonifying Qi and benefiting essence properties, on histone-modifying enzymes in the human erythroid K562 cell line. **Methods** K562 cells were induced with high and low concentrations of several groups of Chinese herbal medicines, including Buqi Yijing Shengxue drugs, Buqi Shengxue drugs and Yijing Shengxue drugs for blood generating, and sodium butyrate was used as a positive control. The mRNA levels of the γ -globin gene were assessed using real-time fluorescence quantitative PCR. Additionally, cellular HDAC1, HDAC2, and HAT enzyme activity levels were analyzed using an enzyme marker by colorimetric detection methods. The mRNA levels of HDAC1, HDAC2, and HAT genes were determined using the PCR method, while protein levels of these genes were determined via Western Blot. **Results** Treatment with Chinese herbal medicine and sodium butyrate significantly increased the expression levels of the γ -globin gene in high-dose Qi-tonifying and essence-benefiting group, high-dose Qi-tonifying group, and low-dose essence-benefiting group. Cellular HAT enzyme activity levels were notably higher in high and low-dose Qi-tonifying and essence-benefiting groups, as well as in high and low-dose essence-benefiting groups than in blank control group, while HDAC1 enzyme activity levels in the sodium butyrate group were markedly lower than those recorded in the blank control group. HAT mRNA levels

were notably higher in high and low-dose Qi-tonifying and essence-benefiting groups, as well as in high-dose essence-benefiting group than in blank control group. Western Blot outcomes demonstrated that only the HAT protein levels in the high-dose Qi-tonifying and essence-benefiting group and high-dose essence-benefiting group were considerably elevated compared to those in the blank control group. **Conclusion** The molecular mechanism of Buqi Yijing Shengxue Chinese herbal medicines in the induction of γ -globin in gene expression in the treatment of pediatric β -thalassemia may be related to the regulation of the histone-modifying enzyme, which may be mediated by up-regulating the expression of histone acetyltransferase *HAT* to enhance histone modification in erythroid cells.

【Keywords】 β -thalassemia; TCM therapy; γ -globin gene expression; Histone modification

地中海贫血在我国南方及多个热带亚热带国家高发,严重危害儿童健康^[1-2]。目前的婚检产检手段对于家族史不详的轻型地中海贫血未必能做出准确的筛查,如父母均为轻型地中海贫血,即有可能生出中间型或重型地中海贫血患儿。这部分患儿常常需要规律输血及除铁,这些均为治标手段,且存在较多不良反应,对于我国及发展中国家的患者和政府公共卫生支出也是巨大的负担^[2-3]。目前我国每年仍有相当数量的地中海贫血患儿不断降生,而现存的很多地中海贫血患儿也尚未能得到很有效的治疗,这既是当今医学的难题,也成为重要的社会问题。

对于 β 珠蛋白基因缺陷的 β 地中海贫血而言,诱导 γ 珠蛋白表达以代偿 β 珠蛋白功能是其重要的新型治疗手段,但目前各种诱导西药均有免疫抑制等明显副作用^[4-5]。我们既往发现健脾补气生血的中药黄芪、党参及补肾益精生血的中药龟板等可激活人类红系细胞株 γ 珠蛋白基因的表达^[6]。随后的临床研究显示上述中药组成的补气益精生血方药对儿童 β 地中海贫血有良好疗效且副作用小,能有效诱导患儿 γ 珠蛋白基因的表达、合成胎儿血红蛋白而发挥代偿正常血红蛋白的作用^[7-9],其诱导机制与激活 p38 丝裂原活化的蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)信号通路^[8-9]等有关。我们的前期体外研究还提示中药可通过 p38MAPK 通路增强 γ 珠蛋白基因启动子区组蛋白磷酸化乙酰化修饰,使相关区域染色质结构松散而基因易于转录^[10]。至于中药是否通过影响组蛋白酶从而提高修饰水平,目前尚未明了。本研究在既往基础上继续深入,观察本课题中药能否影响人红系细胞组蛋白修饰酶相关指标,包括组蛋白脱乙酰基酶(histone deacetylase, HDAC)中的 HDAC1、HDAC2,组蛋白乙酰基转移酶(histone acetyltransferase, HAT),以期进一步从表观遗传角度揭示中药治疗地中海贫血的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 目前永生化的红系细胞 K562

为研究珠蛋白基因表达及胎儿血红蛋白诱导的常用工具,本研究选用 K562 细胞株作为研究对象,由广州致邦生物科技有限公司提供[赛库生物(Cell-Cook),货号 CC1901]。

1.1.2 药物 黄芪、龟板、党参 1 : 1 : 1 水提物(补气益精生血中药),黄芪、党参 1 : 1 水提物(补气生血中药)以及龟板水提物(益精生血中药)分别按 2.5 g/L 及 10 g/L 的浓度委托广州中医药大学中西医结合基础研究中心以水提法进行制备。丁酸钠(Sigma 公司)。

1.1.3 试剂 Trizol 试剂(Thermo Fisher 公司);胎牛血清、RPMI 中性 1640 培养基(GIBCO 公司);PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 逆转录试剂盒、TB Green Premix Ex Taq II 荧光定量 PCR 试剂盒(TaKaRa 公司);EpiQuik™ m6A RNA Methylation Quantification Kit 试剂盒(EPI-GENTEK 公司);RIPA 裂解液、聚丙烯酰胺凝胶(碧云天公司);二喹啉甲酸蛋白定量试剂盒(美仑生物公司);IgG 二抗、HDAC1 一抗,HDAC2 一抗、HAT 一抗(Abcam 公司);超敏化学发光试剂盒(Millipore 公司)。

1.1.4 仪器 匀浆机(IKA 公司);-80 ℃ 冰箱(NBS 公司);高速低温离心机(科大创新公司);微量移液器(GILSON 公司);全自动实时荧光定量 PCR 仪(BIO-RAD 公司);酶标仪(PerkinElmer 公司);蛋白电泳仪(BIO-RAD 公司);显影仪成像分析系统(UVP 公司)。

1.2 研究方法

1.2.1 分组及加药 K562 细胞株取 8 等份,根据我们前期浓度梯度及时间梯度预实验得出的高、低诱导浓度与最佳诱导时间,按以下 8 组分别加药:(1)以 2.5 g/L 黄芪、龟板、党参 1 : 1 : 1 水提物诱导 96 h 的为补气益精低剂量组;(2)以 10 g/L 黄芪、龟板、党参 1 : 1 : 1 水提物诱导 96 h 的为补气益精高剂量组;(3)以 2.5 g/L 黄芪、党参 1 : 1 水提物诱导 96 h 的为补气低剂量组;(4)以 10 g/L 黄芪、党参 1 : 1 水提物诱导 96 h 的为补气高剂量组;

(5)以 2.5 g/L 龟板水提物诱导 96 h 的为益精低剂量组;(6)以 10 g/L 龟板水提物诱导 96 h 的为益精高剂量组;(7)以 500 μ mol/L 丁酸钠诱导 72 h 的为阳性对照组(丁酸钠组);(8)未加药处理的为空白对照组。

1.2.2 γ 珠蛋白基因表达水平检测 诱导结束后收集各组细胞。从 Genbank 查得 γ 珠蛋白基因序列,设计引物如下:Forward:5'-GGC AAC CTG TCC TCT GCC TC-3', Reverse:5'-GAA ATG GAT TGC CAA AAC GG-3'。以 Trizol 裂解 K562 细胞,加氯仿抽提总 RNA,利用 PrimeScript RT 逆转录酶逆转录合成 cDNA,以 cDNA 为模板,实时 PCR 扩增 γ 基因核酸。采用 TB Green 作为荧光素分子标志,实时读取荧光强度并自动描出各样本扩增曲线。根据 Ct 值、标准曲线以及以内参基因 GAPDH 核酸量矫正,算出每个样本 γ 基因的核酸拷贝数。实验重复 3 次。

1.2.3 HDAC1、HDAC2、HAT 活性检测 提取细胞总 RNA。制备缓冲液、抗体溶液、增强剂溶液及阳性对照品,制备标准曲线。按照说明书添加稀释液体、培养及进行酶反应。反应终止后在 450 nm 处读取吸光度。用专门公式计算 m6A 在总 RNA 中的含量。

1.2.4 HDAC1、HDAC2、HAT 基因 mRNA 水平检测 HDAC1 引物如下:Forward:5'-CGC TCC ATC CGT CCA GAT AAC ATG-3', Reverse:5'-GCC ACA GAA CCA CCA GTA GAC AAC-3'。HDAC2 引物如下:Forward:5'-CGA GCA TCA GAC AAG CGG ATA GC-3', Reverse:5'-AGC CAC ATT TCT TCG ACC TCC TTC-3'。HAT 引物如下:Forward:5'-GTC TGG AAT GCT GTG TGC TGG AG-3', Reverse:5'-GCC GCC GTG AGT CTT CTT GTA C-3'。其余方法同 1.2.2。

1.2.5 HDAC1、HDAC2、HAT 蛋白水平检测 裂解 K562 细胞,提取总蛋白,二喹啉甲酸蛋白浓度测定,十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,转聚偏二氟乙烯膜。封闭洗涤后,分别以 HDAC1、HDAC2、HAT 的一抗、二抗先后与蛋白孵育杂交,以 GAPDH 蛋白为内参照,使用超敏化学发光试剂盒曝光显影,通过显影仪分析系统分析每个样本目的蛋白条带与内参照条带的积分光密度值(integrated optical density,IOD)比值。

1.3 统计学方法 原始数据录入采用 SPSS 13.0 软件,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,各指标进行组间比较,均采用 ANOVA 单因素方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 γ 珠蛋白基因 mRNA 水平 经内参基因核酸量矫正的 γ 珠蛋白基因 mRNA 的相对拷贝数见表 1。单因素方差分析结果显示,各组间差异有统计学意义($P<0.001$)。其中补气益精高剂量组、补气高剂量组、益精低剂量组及丁酸钠组的 γ 珠蛋白基因 mRNA 水平均显著高于空白对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 各组 γ 珠蛋白基因 mRNA 水平($\bar{x}\pm s$)		
组别	<i>n</i>	γ 珠蛋白 mRNA 水平
空白对照组	3	1.000 $\pm$ 0.045
丁酸钠组	3	1.312 $\pm$ 0.021 ^a
补气益精低剂量组	3	1.208 $\pm$ 0.093
补气益精高剂量组	3	5.183 $\pm$ 0.039 ^b
补气低剂量组	3	1.057 $\pm$ 0.029
补气高剂量组	3	1.487 $\pm$ 0.054 ^a
益精低剂量组	3	5.904 $\pm$ 0.418 ^b
益精高剂量组	3	1.603 $\pm$ 0.183
<i>F</i>		6.696
<i>P</i>		<0.001

注:与空白对照组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$ 。

2.2 HDAC1、HDAC2、HAT 酶活性水平 各组 K562 细胞经酶标仪比色法测定的 HDAC1、HDAC2、HAT 酶活性水平见表 2。单因素方差分析结果显示,各组差异有统计学意义($P<0.001$)。各中药组的 HAT 酶活性水平均高于空白对照组,其中,补气益精高、低剂量组及益精高、低剂量组与空白对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。丁酸钠组 HDAC1 酶活性水平显著低于空白对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 HDAC1、HDAC2、HAT 基因 mRNA 水平 经内参基因核酸量矫正的 γ 珠蛋白基因 mRNA 的相对拷贝数见表 3。单因素方差分析结果显示,HAT 基因组间比较差异有统计学意义($P<0.001$),其中补气益精高、低剂量组,益精高剂量组以及丁酸钠组均显著高于空白对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.4 HDAC1、HDAC2、HAT 蛋白水平 各组 HDAC1、HDAC2 的 Western Blot 蛋白条带经内参照蛋白矫正的 IOD 比值比较差异无统计学意义($P>0.05$)。HAT 蛋白组间比较差异有统计学意义($P<0.001$),其中补气益精高剂量组和益精高剂量组显著高于空白对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。HAT 蛋白及内参蛋白条带见图 1。

表 2 各组 HDAC1、HDAC2、HAT 酶活性水平($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	HDAC1 酶	HDAC2 酶	HAT 酶
空白对照组	3	0.267±0.003	0.122±0.002	0.287±0.002
丁酸钠组	3	0.158±0.009 ^a	0.117±0.004	0.292±0.002
补气益精低剂量组	3	0.271±0.004	0.123±0.008	0.325±0.003 ^b
补气益精高剂量组	3	0.243±0.026	0.129±0.007	0.361±0.003 ^b
补气低剂量组	3	0.241±0.009	0.125±0.005	0.308±0.011
补气高剂量组	3	0.254±0.022	0.125±0.004	0.315±0.009
益精低剂量组	3	0.265±0.006	0.123±0.001	0.316±0.002 ^a
益精高剂量组	3	0.249±0.010	0.121±0.004	0.345±0.004 ^b
<i>F</i>		44.139	1.289	188.769
<i>P</i>		<0.001	0.214	<0.001

注:与空白对照组比较,^a*P*<0.05,^b*P*<0.01。

表 3 HDAC1、HDAC2、HAT 基因 mRNA 水平($\bar{x}\pm s$,copies)

组别	<i>n</i>	HDAC1 基因	HDAC2 基因	HAT 基因
空白对照组	3	1.007±0.140	1.000±0.036	1.005±0.120
丁酸钠组	3	0.992±0.053	0.822±0.250	1.210±0.125 ^a
补气益精低剂量组	3	1.137±0.015	0.991±0.037	1.657±0.079 ^b
补气益精高剂量组	3	1.086±0.044	0.931±0.040	1.858±0.047 ^b
补气低剂量组	3	1.087±0.334	0.988±0.088	0.955±0.065
补气高剂量组	3	1.150±0.382	1.088±1.100	1.140±0.026
益精低剂量组	3	0.795±0.061	1.125±0.046	1.166±0.032
益精高剂量组	3	0.957±0.034	1.081±0.039	1.566±0.218 ^b
<i>F</i>		1.131	2.591	28.427
<i>P</i>		0.465	0.195	<0.001

注:与空白对照组比较,^a*P*<0.05,^b*P*<0.001。

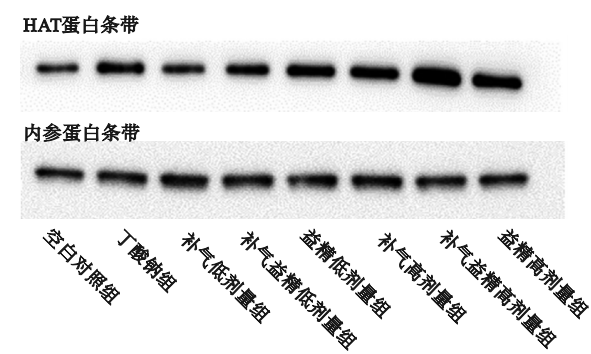


图 1 各组 Western Blot 蛋白条带图像

3 讨论

γ 珠蛋白基因诱导是 β 地中海贫血治疗手段的研究热点之一^[4-5]。即通过药物或手段诱导 γ 胎儿珠蛋白基因在儿童期重新高表达,γ 珠蛋白链与过剩的 α 链结合生成胎儿血红蛋白(α2γ2),一方面可在功能上弥补由于 β 珠蛋白合成障碍所导致的正常

成人血红蛋白的减少,另一方面结合过剩的 α 链可纠正珠蛋白链的不平衡,减少 α 四聚体对红细胞的损伤,减轻溶血及无效造血,从而改善贫血,减少并发症。现存为数不多的诱导西药均存在各种副作用,比如抑制免疫或抑制骨髓,或者价格昂贵、药效短暂等,可用于临床的还不多。近年我们把研究的目光转到了副作用较小的传统中医中药。

我们前期对儿童 β 地中海贫血的中医证候规律研究显示,儿童 β 地中海贫血的主要证候是脾虚气血不足及肝肾阴精亏虚^[11-12],继而我们拟定了健脾补气生血和补肾益精生血结合,即补气益精生血的核心治法,并结合课题组的系列体外实验结果^[6,13-14],制定了以黄芪、党参、龟板组成的补气益精生血复方进行了多项临床研究。结果表明补气益精生血治法方药能有效提升 β 地中海贫血患儿的总血红蛋白及胎儿血红蛋白水平,改善红细胞、平均血红蛋白含量等血液学指标及中医证候,也未发现有

抑制骨髓抑制或影响肝肾功能等副作用^[7-9,15-16]。其起效机制与诱导 γ 珠蛋白基因表达合成胎儿血红蛋白、激活 p38MAPK 信号通路以及调节相关红系转录因子等有关^[8-9,16]。至于其下游对珠蛋白基因的表达遗传调控,课题组研究显示单味龟板以及黄芪多糖均可通过 p38MAPK 信号通路提高 γ 珠蛋白基因启动子区组蛋白修饰水平^[10],而启动子区组蛋白修饰水平高则基因更容易表达,达到诱导 γ 珠蛋白基因表达的目的。但中药是否通过影响组蛋白修饰的相关催化酶从而增强组蛋白修饰,目前还未明确。

本实验结果显示,无论是中药还是阳性对照药丁酸钠,各用药组的 γ 珠蛋白基因 mRNA 水平均高于空白对照组,再次验证了本课题中药可诱导 γ 珠蛋白基因的表达。其中补气益精高剂量组和益精低剂量组诱导效果明显优于丁酸钠,而有部分中药组与空白对照组差异无统计学意义,可能与样本量较小及组内变异较大有关。

组蛋白的乙酰化磷酸化等活性修饰可令染色质结构松散,产生开放功能域,有利于基因转录。HDAC1、HDAC2 可抑制组蛋白的乙酰化,而 HAT 则会增强组蛋白的乙酰化。人类在新生儿期后 HDAC 逐渐使 γ 珠蛋白基因启动子区域的组蛋白去乙酰化,染色质结构致密,故 γ 珠蛋白基因不再表达,而使用丁酸钠等 HDAC 抑制剂则可恢复组蛋白乙酰化,从而促进 γ 珠蛋白基因的表达^[17-18]。我们原本猜想中药可能与丁酸钠有类似抑制 HDAC 的效果,但实际实验结果显示中药却是提升了 HAT 的酶活性。我们进一步观察了人红系细胞内各乙酰化修饰酶基因的 mRNA 水平及蛋白水平,发现多组中药对 HAT 的 mRNA 转录表达均有显著性上调作用。而最终翻译后的蛋白水平,只有补气益精高剂量组及益精高剂量组可显著提升 HAT 蛋白表达。尤其是补气益精高剂量组,在 HAT 的酶活性、mRNA 水平及蛋白水平三项指标上均有一致显著性的提升。这提示我们补气益精生血的中药可能通过上调 HAT 的表达进而促进红系细胞内 γ 珠蛋白基因启动子区组蛋白的乙酰化修饰,从而诱导 γ 珠蛋白基因的进一步表达。

p38MAPK 通路是外源信号从细胞表面传导到核内染色质的重要传递者,它介导胞内蛋白激酶的级联反应,影响核内基因转录,活化的 p38MAPK 可发生转位进入核内,将修饰信号逐级传递至 γ 珠蛋白基因启动子区域的组蛋白或相关转录因子,促进红系分化及诱导基因表达^[19-20]。目前除我们课题组外,中药对人红系细胞 p38MAPK-组蛋白修饰路

径影响的研究鲜见报道,下一步实验可设立以 p38MAPK 特异抑制预处理的对照组,再观察中药对组蛋白修饰酶的影响,验证 HAT 水平的提升及乙酰化的增强确实依赖于上游的 p38MAPK 的活化。我们的系列研究从表观遗传角度揭示中医药治疗 β 地中海贫血的分子机制,为开发地中海贫血的国家中药新药提供实验依据,课题对于我国地中海贫血高发区具有较大的实用价值、广泛的应用前景及重要的社会意义,对研究人类发育阶段特异性的珠蛋白表达转换及人类表观遗传调控也将提供一定科学参考价值。

参考文献

- [1] Xu A, Chen W, Xie W, et al. Hemoglobin variants in southern China: results obtained during the measurement of glycosylated hemoglobin in a large population[J]. Clin Chem Lab Med, 2020, 59(1): 227-232.
- [2] 中华医学会医学遗传学分会遗传病临床实践指南撰写组. β -地中海贫血的临床实践指南[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(3): 243-251.
- [3] Motta I, Bou-Fakhredin R, Taher AT, et al. Beta thalassemia: new therapeutic options beyond transfusion and iron chelation[J]. Drugs, 2020, 80(11): 1053-1063.
- [4] Andrieu-Soler C, Soler E. When basic science reaches into rational therapeutic design: from historical to novel leads for the treatment of β -globinopathies[J]. Curr Opin Hematol, 2020, 27(3): 141-148.
- [5] 卢焯明. β 地中海贫血的珠蛋白基因诱导疗法[J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(1): 237-240.
- [6] 郭志梅, 李海军, 钱新华. 龟板、黄芪、丹参和党参诱导 K562 细胞合成 γ 珠蛋白的实验研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2008, 16(3): 520-524.
- [7] 卢焯明, 钱新华, 张春红, 等. 补气益精生血方治疗儿童 β 地中海贫血随机对照研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(12): 9-13.
- [8] Lu Z, Qian X, Zhang C, et al. Radix Astragali stimulates p38 MARK phosphorylation in pediatric patients with β -thalassemia[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2016, 2016: 7468979.
- [9] 卢焯明, 钱新华, 张春红, 等. 补气益精生血中药对 β 地贫患儿 p38MAPK 信号通路的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(3): 439-444.
- [10] Qian X, Chen J, Zhao D, et al. Plastrum testudinis induces γ -globin gene expression through epigenetic histone modifications within the γ -globin gene promoter via activation of the p38 MAPK signaling pathway[J]. Int J Mol Med, 2013, 31(6): 1418-1428.
- [11] 卢焯明, 钱新华. 以聚类分析法研究儿童中间型 β 地中海贫血的中医证候分布规律[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(3): 607-611.
- [12] 卢焯明, 张春红, 陈致雯, 等. 小儿重型 β 地中海贫血的中医证候分布规律[J]. 中医儿科杂志, 2013, 9(2): 22-26.
- [13] 杨敏, 赵丹华, 钱新华. 黄芪不同提取物对 K562 细胞向红系分化的诱导作用研究[J]. 解放军医学杂志, 2008, 33(3): 293-295.

基于阴阳学说探讨注意缺陷多动障碍发病机制

李亚群, 宋宇尘, 韩新民, 袁海霞

基金资助:国家自然科学基金项目(81873342,82004416);江苏省高等学校自然科学基金面上项目(20KJB360001);南京中医药大学自然科学基金青年项目(NZY82004416);江苏省中医院优秀青年博士培养计划(2023QB0135);王靖全国名老中医药传承工作室

作者单位:225300 江苏 泰州,泰州市中医院儿科(李亚群);210023 南京,南京中医药大学儿科教研室(李亚群,宋宇尘,韩新民);210029 南京,南京中医药大学附属医院儿科(韩新民,袁海霞)

作者简介:李亚群(1986—),男,医学博士,副主任中医师。研究方向:儿童精神神经系统疾病的研究

通讯作者:袁海霞,E-mail:yuanhx.cn@hotmail.com

【摘要】 注意缺陷多动障碍是起病于儿童期的心身疾病,现代中医学者认为阴阳失衡是其基本病机,随着时代的变化,儿童饮食、情志等致病因素均发生了极大改变,阴阳在不断变化过程中,其病机从低基线水平阴阳失衡(阴不足致阳偏亢)发展为现今高基线水平阴阳失衡(阳偏亢耗伤阴液),临床证型从肝肾阴虚证为主要证型发展为以心肝火旺、痰火内扰为主要证型,治病必求于本,当首先清泻心肝之实热以达阴阳平衡,国内外实验研究采用系统生物学方法证实单胺类神经递质多巴胺和去甲肾上腺素合成、释放、清除之间、多巴胺 D1 样受体与 D2 样受体、促炎因子与抗炎因子之间相互拮抗、相互影响、相互调节的关系与中医阴阳平衡理论密切相关,目前正在研究多巴胺突触囊泡循环中促囊泡循环因子与抑制囊泡循环因子的关系,以期为注意缺陷多动障碍中医药治疗提供新的靶点及方向。

【关键词】 注意缺陷多动障碍; 阴阳理论; 发病机制; 预后

doi:10.3969/j.issn.1674-3865.2023.05.009

【中图分类号】 R749.94 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3865(2023)05-0406-04

Exploring the pathogenesis of attention deficit hyperactivity disorder based on the theory of yin and yang

LI Yaqun, SONG Yuchen, HAN Xinmin, YUAN Haixia. Taizhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Taizhou 225300, China

【Abstract】 Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) is a common psychosomatic disease in childhood. Modern Chinese medicine believes that imbalance between yin and yang is its basic pathogenesis. With the changes of the times, children's diet, emotions and other pathogenic factors have undergone great changes, and yin and yang are constantly changing. In the process, its pathogenesis has developed from a low baseline level of yin and yang imbalance to the current high baseline level of yin and yang imbalance, from yin deficiency resulting in substantial yin deficiency and yang hyperactivity to current yang hyperactivity

[14] Yang M, Qian XH, Zhao DH, et al. Effects of Astragalus polysaccharide on the erythroid lineage and microarray analysis in K562 cells[J]. J Ethnopharmacol, 2010, 127(2): 242-250.

[15] 卢焯明, 钱新华, 陈致雯, 等. 黄芪及其复方中药治疗小兒β地中海贫血的前瞻性临床研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2012, 14(5): 344-349.

[16] 卢焯明, 张春红, 杜广亮, 等. 补气益精生血法治疗β地中海贫血 11 例及对 BCL11A 影响[J]. 福建中医药, 2016, 47(2): 1-4.

[17] Lee WS, McColl B, Maksimovic J, et al. Epigenetic interplay at the β-globin locus [J]. Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech, 2017, 1860(4): 393-404.

[18] Majchrzak-Celińska A, Warych A, Szoszkiewicz M. Novel approaches to epigenetic therapies: from drug combinations to epigenetic editing[J]. Genes (Basel), 2021, 12(2): 208.

[19] Maik-Rachline G, Lifshits L, Seger R. Nuclear P38: roles in physiological and pathological processes and regulation of nuclear translocation[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(17): 6102.

[20] Pace BS, Liu L, Li B, et al. Cell signaling pathways involved in drug-mediated fetal hemoglobin induction: Strategies to treat sickle cell disease[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2015, 240(8): 1050-1064.

(收稿日期: 2023-08-09)
(本文编辑: 刘颖; 外审专家: 刘芳)