

本文引用:黄艳霞,刘建忠,张雪荣. 九味楮实颗粒对SD雌鼠中枢性性早熟的体质量及性激素水平的影响[J]. 湖南中医药大学学报,2021,41(10):1528-1533.

九味楮实颗粒对SD雌鼠中枢性性早熟的体质量及性激素水平的影响

黄艳霞¹,刘建忠^{1,2*},张雪荣^{1,2}

(1.湖北中医药大学,湖北 武汉 430065;2.湖北中医药大学附属医院,湖北 武汉 430061)

〔摘要〕 **目的** 应用N-甲基-DL-天冬氨酸(NMA)构建SD雌性大鼠中枢性性早熟模型,并探讨九味楮实颗粒对雌性真性性早熟大鼠体质量及垂体分泌的卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、雌二醇(estradiol, E2)水平的影响。**方法** 选取48只26日龄SD雌鼠随机分对照组、模型组、西药组、中药高剂量组、中药中剂量组、中药低剂量组,每组8只。除对照组外,其余组均采用NMA方法建立性早熟动物模型,中药组、西药组分别予九味楮实颗粒、戈那瑞林干预,对照组和模型组给予等体积的生理盐水干预,每日观察阴道口开放情况,每间隔2d测一次体质量,计算各组大鼠脏器系数(子宫、卵巢及双侧乳腺),采用ELISA检测血清FSH、LH、E2水平。**结果** 与对照组比较,模型组大鼠阴道口开放时间提前($P<0.05$);大鼠在出生后26、29、32d体质量无明显变化($P>0.05$);子宫系数升高($P<0.05$);血清LH、FSH水平明显增加($P<0.05$)。与模型组比较,西药组、中药各剂量组大鼠阴道口开放时间明显延迟($P<0.05$);中药高剂量组大鼠在出生后35、38d体质量明显降低($P<0.05$);西药组、中药中剂量组大鼠子宫系数降低($P<0.05$);西药组、中药中剂量组大鼠卵巢系数及双侧乳腺系数无明显变化($P>0.05$);西药组、中药高剂量组、中剂量组的血清LH、FSH、E2水平明显降低($P<0.05$)。与中药低剂量组比较,中药高中剂量组的血清LH、FSH、E2水平明显降低($P<0.05$)。**结论** 九味楮实颗粒可抑制NMA诱发雌鼠性早熟的发生,同时能降低性早熟模型大鼠的血清LH、FSH、E2的水平,推测九味楮实颗粒可能通过调节下丘脑-垂体-性腺轴起到抑制性早熟的作用。

〔关键词〕 性早熟;九味楮实颗粒;N-甲基-DL-天冬氨酸;体质量;性激素;大鼠

〔中图分类号〕 R285.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.10.010

Effect of Jiuwei Chushi Granule on Body Mass and Sex Hormone Levels of Central Precocious Puberty in SD Female Rats

HUANG Yanxia¹, LIU Jianzhong^{1,2*}, ZHANG Xuerong^{1,2}

(1. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430065, China; 2. The Affiliated Hospital of Hubei

University of Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430061, China)

〔Abstract〕 Objective To construct a SD female rat model of central precocious puberty with N-methyl-DL-aspartate (NMA), and to explore the effect of Jiuwei Chushi Granule on the body mass and the levels of follicle-stimulating hormone (FSH),

〔收稿日期〕 2021-03-19

〔基金项目〕 中医基础理论研究所自主选题“院所协同创新”项目(YZ-1841)。

〔作者简介〕 黄艳霞,女,在读硕士研究生,研究方向:中医药防治小儿内分泌疾病。

〔通信作者〕 *刘建忠,男,教授,主任医师,博士研究生导师,E-mail:ljjzd@163.com。

luteinizing hormone (LH) and estradiol (E2) secreted by pituitary gland **Methods** 48 female SD rats at 26 days of age were randomly divided into control group, model group, western medicine group, high dose Chinese medicine group, medium dose Chinese medicine group and low dose Chinese medicine group, with 8 rats in each group. Except for the control group, the animal model of precocious puberty was established by NMA method in other groups. The Chinese medicine group and western medicine group were given Jiuwei Chushi Granule and gonadorelin intervention respectively. The control group and model group were given equal volume of normal saline intervention. The vaginal opening was observed daily, and the body weight was measured every two days. Organ coefficients (uterus, ovary and bilateral mammary gland) were calculated, and serum FSH, LH and E2 levels were detected by ELISA. **Results** Compared with the control group, the vaginal opening time of model group was earlier ($P<0.05$); uterine coefficient increased ($P<0.05$); serum LH and FSH levels were significantly increased ($P<0.05$); there was no significant change in body weight of rats on day 26, 29 and 32 after birth ($P>0.05$). Compared with model group, the opening time of vaginal opening in western medicine group and Chinese medicine groups was significantly delayed ($P<0.05$); the body weight of rats in high dose Chinese medicine group was significantly decreased at 35 and 38 days after birth ($P<0.05$); uterine coefficient of western medicine group and medium dose Chinese medicine group decreased ($P<0.05$); there were no significant changes in ovarian coefficient and bilateral mammary gland coefficient in western medicine group and medium dose Chinese medicine group ($P>0.05$); serum LH, FSH and E2 levels in western medicine group, high dose Chinese medicine group and medium dose Chinese medicine group were significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the low dose Chinese medicine group, the levels of LH, FSH and E2 in the high dose Chinese medicine group and medium dose Chinese medicine group were significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion** Jiuwei Chushi Granule can inhibit NMA induced precocious puberty in female rats and reduce the levels of serum LH, FSH, E2 in precocious rats. Jiuwei Chushi Granule may inhibit precocious puberty by regulating hypothalamus-pituitary-gonadal axis.

[**Keywords**] precocious puberty; Jiuwei Chushi Granule; N-methyl-DL-aspartate; body mass; sex hormone; rat

性早熟^[1]是指女孩在8岁之前、男孩在9岁之前出现性发育征象,是由 GnRH 神经元的过早激活引起的^[2],是小儿常见的内分泌疾病之一。根据下丘脑-垂体-性腺轴功能启动与否,又分为真性性早熟和假性性早熟,而真性性早熟以中枢性性早熟最常见^[1]。据报道全球性早熟发病率约为0.2%,女孩是男孩的5~10倍,性早熟已成为全球关注的热点问题,若性早熟患儿得不到及时正确治疗,会引起骨骺端提前闭合,致终身高矮小及一系列心理问题^[3]。目前,治疗性早熟常用的西药为促性腺激素释放激素类似物,但其价格昂贵,长期使用会给患儿家庭带来沉重经济负担,而诸多文献^[4-7]证明中医药治疗性早熟已取得良好效果。为了观察九味楮实颗粒对性早熟的干预作用及机制,本实验以 N-甲基-DL-天冬氨酸(NMA)构建雌性大鼠真性性早熟模型,采用中药高、中、低剂量分别进行干预,通过测定血清促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、卵泡刺激素

(follicle-stimulating hormone, FSH)、雌二醇(estradiol, E2)水平的变化探讨九味楮实颗粒的作用机制,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 主要药物

九味楮实颗粒为湖北省中医院儿科生长发育专科协定方,依照与九味楮实颗粒处方相同的原料及制备工艺方式提取,并将其浓缩为每毫升浸膏含1.98 g 生药剂型,中药饮片由湖北省中医院药剂科提供,药材来源于湖北辰美中药有限公司,按儿童临床用量 3.33 g/kg 将浸膏用蒸馏水混匀,根据等效剂量换算公式折算成大鼠剂量。NMA(批号:116H5840, Aladdin 公司);注射用戈那瑞林(规格100 μg/kg,批号:200108-2,马鞍山丰原制药有限公司)。

1.2 动物

大鼠由湖北省实验动物研究中心提供,生产许

可证号 SCXK(鄂)2015-0018。在湖北中医药大学动物实验中心 SPF 级动物房饲养,室温 20~26 °C,每日光照时间 06:00~18:00,湿度 60%~70%,喂养普通颗粒饲料(由湖北中医药大学实验动物中心提供),所有提供的食物和水均是无菌的,自由进食饮水,每两日更换一次垫料。实验动物的操作均符合湖北中医药大学实验动物伦理学管理条例。

1.3 主要仪器与试剂

FA2004C 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);TG16W 型微量高速离心机(巩义市予华仪器有限责任公司);GNP-9080 型隔水式恒温培养箱(北京六一仪器有限公司);DM1000 正置显微镜(徕卡显微系统有限公司);AMR-100 酶标分析仪(杭州奥盛仪器有限公司);APW-200 型酶标洗板机(杭州奥盛仪器有限公司);48T ELISA 试剂盒(江苏菲亚生物科技有限公司,批号:GR2020-10),其中包括 E2 试剂(江苏菲亚生物科技有限公司,货号:JYM0608Ra);FSH 试剂(江苏菲亚生物科技有限公司,货号:JYM0597Ra);LH 试剂(江苏菲亚生物科技有限公司,货号:JYM0623Ra);0.1% 吕氏碱性美兰染液(北京索莱宝科技有限公司);瑞氏-姬姆萨 A 染色液(湖南常德比克曼生物科技有限公司);磷酸盐缓冲液(pH 6.8)B 液(湖南常德比克曼生物科技有限公司)。

1.4 造模方法

自 26 日龄起至阴道口开放之日,对照组皮下注射生理盐水 0.2 mL/次,2 次/d;其余各组每日 14:00 和 16:00 皮下注射 NMA 40 mg/kg,每日观察各组大鼠阴道口开放情况,当大鼠阴道口开放后视为造模成功。

1.5 动物分组与处理

选出 5 d 内出生的雌仔鼠,分为 6 笼,每笼 8 只,由亲母喂养,22 日龄断奶,并与母鼠分笼。适应性喂养 4 d 后,选用 SPF 级体质量在(46.49±8.00) g 的 26 日龄 SD 雌鼠 48 只,完全随机分为 6 组:对照组、模型组、西药组、中药高剂量组、中药中剂量组、中药低剂量组,每组 8 只,对照组、模型组每日 09:00 予生理盐水灌胃 1 mL,西药组予戈那瑞林皮下注射 100 μg/kg,中药高、中、低剂量组分别予以九味楮实颗粒 6948、34.74、17.37 g/kg 灌胃,均为 1 次/d。对于阴道口已开放的大鼠,每日 08:00 进行阴道细胞涂片观察其性周期变化。阴道涂片(自制棉签法^[8])即用细的牙签制成的棉签放入生理盐水浸湿,并轻插入大鼠阴道内 0.5~1 cm,顺牙签缠绕方向旋转 1~2 圈后取出,由中心向

四周均匀涂于载玻片上,待载玻片自然干燥后,分别同时采用美兰及瑞氏^[9]两种染色方法,低倍光镜下观察其细胞形态以确定大鼠性周期各个阶段^[10]。当模型组大鼠出现第一个发情前期时停止给药,其他各组同时停止药物干预,且停止给药的动物数要与模型组的动物数相等。

1.6 标本采集与制备

当模型组大鼠出现第一个发情前期时当日称量体质量后处死,其他各组按 1:1 比例同时处死,用 0.3 mL/100 g 的 10% 水合氯醛麻醉后腹主动脉采血,取血清,−20 °C 冻存,留取标本(第 2 对乳腺、双侧卵巢和子宫),称量第 2 对乳腺、卵巢和子宫湿重。

1.7 指标测定

1.7.1 测量各组大鼠体质量 自造模之日起,每间隔 2 d 按照固定的时间点(上午 7 时)用 SOVO 索沃电子秤测量各组大鼠体质量,保留两位小数,直至实验结束。

1.7.2 计算各组大鼠脏器系数 对各组大鼠进行麻醉处理后,颈椎脱臼法处死,取大鼠卵巢、子宫、双侧乳腺组织,用电子天平称量卵巢、子宫、双侧乳腺湿重,根据脏器系数=脏器湿重(g)/体质量(g),计算脏器系数。

1.7.3 测量各组大鼠血清 LH、FSH、E2 的水平 取各组大鼠麻醉处死前腹主动脉采血 3 mL,利用离心机 3 000 r/min 处理 15 min 后分离上清液,在−20 °C 环境中保存待检。严格按照 ELISA 试剂盒说明书进行,包括标准品的稀释、加样、加酶及温育、洗涤、显色、终止反应、测吸光度(OD 值),按照步骤测量血清 LH、FSH、E2 的含量。

1.8 统计学分析

所有数据采用 SPSS 25.0 软件处理,数据以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义;采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件作图。

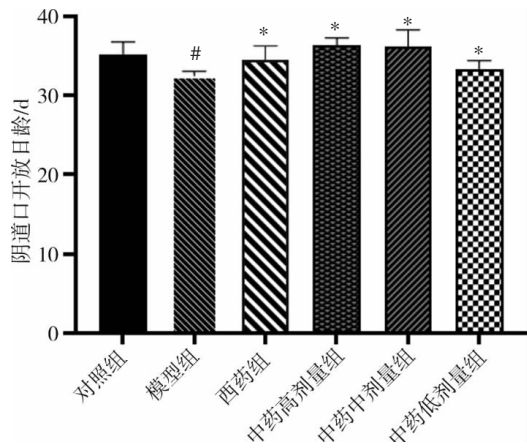
2 结果

2.1 各组大鼠阴道口开放情况

与对照组比较,模型组大鼠阴道口开放时间提前($P<0.05$);与模型组比较,中药各剂量组及西药组出现阴道口开放时间明显延迟($P<0.05$)。见图 1。

2.2 大鼠动情周期阴道细胞涂片染色情况

大鼠阴道细胞涂片采用碱性美兰染色法,如图 2 所示,动情间期(M1 期)以大量白细胞为主;动情前期(M2 期)以有核上皮细胞为主,有少量无核角化上皮细胞;动情期(M3 期)几乎全是片状的无核角质



注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,* $P<0.05$

图1 各组大鼠阴道口开放日龄情况

化细胞;动情后期(M4期)以白细胞、角化细胞、有核细胞3种细胞并见,以大量白细胞为主。大鼠阴道口开放当日阴道涂片结果为动情期,SD雌鼠动情周期平均为4~5d,动情期一般持续1~2d,连续出现有规律的动情周期。

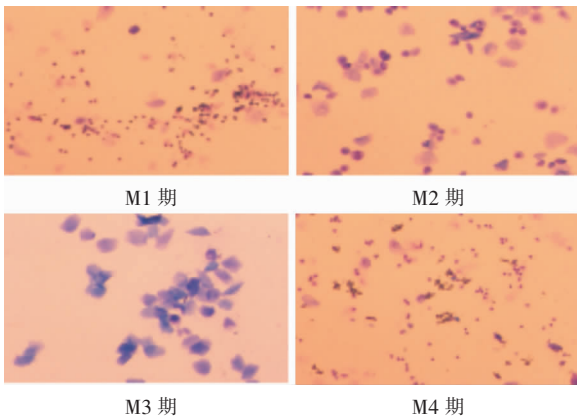


图2 大鼠动情周期阴道细胞涂片图($\times 10$)

2.3 各组大鼠不同日龄体质量的变化

与对照组比较,模型组大鼠在出生后26、29、32d体质量差异无统计学意义($P>0.05$);与模型组

比较,中药高剂量组大鼠体质量降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.4 各组大鼠不同脏器系数比较

与对照组比较,模型组大鼠子宫系数升高($P<0.05$);卵巢系数及双侧乳腺系数变化不明显($P>0.05$)。与模型组比较,西药组、中药中剂量组大鼠子宫系数降低($P<0.05$);西药组、中药各剂量组大鼠卵巢系数及双侧乳腺系数无显著差异($P>0.05$)。见表2。

2.5 各组大鼠性激素LH、FSH、E2水平比较

与对照组比较,模型组大鼠LH、FSH水平升高($P<0.05$),E2水平降低($P<0.05$)。与模型组比较,西药组及中药高、中剂量组大鼠LH、FSH、E2水平降低($P<0.05$);与中药低剂量组比较,中药高剂量组、中药中剂量组血清LH、FSH、E2降低($P<0.05$)。见表3。

3 讨论

中国古代医学典籍中并无性早熟这个病名,中医病名同现代病名一致。儿童性早熟是由先天及后天因素共同影响的结果^[1],小儿脏腑娇嫩,形体未充,肝常有余,肾常不足,其病机主要责之于肾阴阳失衡,肾阴不足,累及肝阴,相火偏旺。文献研究^[2]发现性早熟的证型大致可以分为肝肾阴虚、肝郁化火型、脾胃湿热型三大类,临床上常以阴虚火旺型为主症,以“滋阴补肾、清泻相火”为治法,其中性早熟的代表方中,以知柏地黄丸^[3]及丹栀逍遥丸^[4]最为常用。九味楮实方由“知柏地黄丸”合“柴胡疏肝散”加减化裁而来,具体成分为楮实子、醋柴胡、生地黄、知母、黄柏、郁金、荔枝核、猫爪草、白芍。方中以性寒之楮实子、甘苦之生地黄为君药,滋肾阴清肝;以苦甘寒之知母、苦寒之黄柏、苦微寒之醋柴胡、苦微寒之白芍为臣药,辅君滋阴降火,兼疏肝解郁;另以苦温

表1 各组大鼠不同日龄体质量的变化($n=8, \bar{x} \pm s$)

分组	体质量/g				
	26日龄	29日龄	32日龄	35日龄	38日龄
对照组	47.08±7.19	59.19±8.24	71.54±8.16	87.40±9.09	102.35±9.09
模型组	46.75±4.38	58.34±5.40	73.70±6.14	87.14±6.89	100.63±8.01
西药组	43.79±8.04	55.8±11.54	69.09±13.05	84.58±14.92	99.13±16.36
中药高剂量组	44.85±7.13	53.51±8.13	59.0±11.01	80.26±12.04*	93.51±14.21*
中药中剂量组	52.58±10.90	64.51±12.73	75.6±14.06	86.76±15.38	98.34±16.79
中药低剂量组	43.90±7.90	56.28±11.60	68.85±13.56	83.88±15.54	96.21±15.88

注:与模型组比较,* $P<0.05$

表 2 各组大鼠脏器系数比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	子宫系数/($\times 10^{-3}$)	卵巢系数/($\times 10^{-3}$)	双侧乳腺系数
对照组	1.45±0.63	0.61±0.27	3.44±1.23
模型组	2.74±0.68 [#]	0.62±0.20	3.94±1.11
西药组	1.54±0.46 [*]	1.01±0.35	3.67±1.20
中药高剂量组	2.0±0.85	0.99±0.46	3.60±1.05
中药中剂量组	1.48±0.45 [*]	0.80±0.26	4.09±1.41
中药低剂量组	1.81±0.85	0.76±0.29	3.66±0.86

注:与对照组比较,[#] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$

表 3 各组大鼠性激素水平比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	LH/(ng·mL ⁻¹)	E2/(pg·mL ⁻¹)	FSH/(ng·mL ⁻¹)
对照组	2.94±0.21	208.29±16.26	15.41±0.90
模型组	7.98±0.57 [#]	195.48±11.55 [#]	52.48±4.71 [#]
西药组	5.38±0.60 [*]	141.06±8.88 [*]	35.09±2.19 [*]
中药高剂量组	5.14±0.52 ^{*△}	153.19±15.97 ^{*△}	35.03±3.38 ^{*△}
中药中剂量组	6.25±0.68 ^{*△}	65.98±8.20 ^{*△}	35.91±3.35 ^{*△}
中药低剂量组	7.32±0.58	181.71±10.32	42.88±4.92

注:与对照组比较,[#] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$;与中药低剂量组比较,[△] $P<0.05$

之荔枝核,甘温之猫爪草,同归肝经,两者均可理气化痰散结,消乳核,共为佐药;以辛苦寒之郁金,芳香宣达,归肝胆心肺经,行气解郁,疏肝散结为使药,诸药合用攻补兼施,寒温得益,共奏滋阴降火、平调肝肾、疏肝解郁、消肿散结之效,标本同治。该方为湖北省中医院刘建忠主任医师带领的生长发育专科团队经过 5 年余的临床实践总结的经验方^[15],而九味楮实颗粒是在九味楮实方基础上经过加工工艺正在申请的一个院内制剂,两者组方相同。在前期临床研究^[16]中,我们发现运用九味楮实方配方颗粒口服治疗女童中枢性性早熟,可以改善患儿乳腺发育、阴道分泌物增多等临床症状,抑制患子宫、卵巢、卵泡发育,降低患儿血清 LH、FSH、E2 水平,临床疗效显著,本次实验研究以临床使用有效剂量作为九味楮实颗粒中剂量组。

NMA 属于中枢神经系统中重要的一种兴奋性神经递质,使出生后 26~29 日龄的雌鼠阴门提前开启,出现性周期,进入青春期^[17]。有研究^[18]发现,性早熟可能由于兴奋性氨基酸受体激动剂激活下丘脑 GnRH 神经元,促进 GnRH 分泌增加,从而发挥中枢作用。故本研究采用 NMA 构建大鼠真性性早熟模型。本研究发现,与对照组比较,模型组大鼠阴道口提前开放;与模型组比较,中药各组及西药组出现阴

道口开放时间明显延迟,且中药高、中剂量组较中药低剂量组阴道口开放时间延迟,表明九味楮实颗粒可抑制 EAA 受体激动剂 NMDA 诱导的雌性大鼠真性性早熟的发生。

引起性早熟的因素错综复杂,其中肥胖是导致性早熟的危险因素之一,有研究^[19]显示肥胖者体内脂肪组织可以分泌瘦素、脂联素等生物活性因子,可能通过影响维生素 D 和黄体生成素的水平参与特发性性早熟的发生,而瘦素可以调节脂肪存储量,通过下丘脑-垂体-性腺轴调节青春期启动和生殖功能,促进垂体分泌 LH 和 FSH,促进性腺分泌性激素,从而导致青春期提前发作。本研究结果表明,与对照组比较,各干预组大鼠在出生后 26、29、32 d 体质量差异无统计学意义 ($P>0.05$),后期还需进一步探究早熟大鼠的体质量与性早熟之间是否存在联系。

SD 大鼠未发育之前,HPG 未启动,体内的 LH、FSH、E2 含量均较低,当大鼠性腺功能启动时,垂体前叶分泌的 LH、FSH 大量增加,作用于性腺组织,增加 E2 的分泌,促进性腺的发育。黄体生成素是腺垂体嗜碱性粒细胞分泌的一种促性腺激素,一般由垂体分泌,可与卵泡刺激素协同作用于卵巢,促进排卵。临床研究^[20]证实儿童血清 LH 水平的显著升高是其下丘脑-垂体-性腺轴活动被激活的重要指标。本研究结果显示,与对照组比较,模型组各组大鼠 LH、FSH 水平上升 ($P<0.05$),与模型组比较,西药组、中药各组大鼠 LH、FSH、E2 水平均下降 ($P<0.05$),说明九味楮实颗粒可降低性早熟大鼠血清 LH、FSH、E2 的水平;与中药低剂量组比较,中药高剂量组、中药中剂量组血清 LH、FSH、E2 水平下降 ($P<0.05$),说明九味楮实颗粒在调节性早熟大鼠性激素 LH、FSH、E2 水平上存在量效关系。

乳腺发育主要受下丘脑-垂体神经内分泌系统调控,乳腺发育一般为雌激素刺激乳腺组织所致,在解剖上认为大鼠的第 2 对乳腺组织与人类乳腺较为接近^[21-22]。子宫、卵巢为 SD 雌鼠的性腺组织,卵巢为性激素分泌的器官来源,而子宫则是性激素作用的靶器官。本研究结果显示,与模型组比较,西药组、中药中剂量组子宫系数降低 ($P<0.05$),说明九味楮实颗粒中剂量在一定程度上可以抑制子宫提前发育;与

模型组比较,西药组、中药高中低剂量组卵巢系数及双侧乳腺系数无显著差异($P>0.05$),表明九味楮实颗粒对卵巢及双侧乳腺组织作用不显著,后期还需从乳腺病理切片及多次实验予以验证。

综合上述实验结果推测,九味楮实颗粒可能是通过抑制下丘脑-垂体-性腺轴的启动而起到抑制性早熟作用。后期实验研究可以从肝肾功能、基因分子表达方面进一步探索九味楮实颗粒治疗性早熟的具体作用机制,为进一步申请院内制剂及该药投入临床应用提供实验依据。

参考文献

- [1] 林 甦,杨文庆,俞 建.中医儿科临床诊疗指南·性早熟(修订)[J]. 中医儿科杂志,2016,12(3):1-5.
- [2] HU K L, SUN W Y, LI Y, et al. Study on the mechanism of sarsasapogenin in treating precocious puberty by regulating the HPG axis [J]. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2020(10): 1-10.
- [3] 吴 洁,朱丽萍,吴久玲,等.女性性早熟的诊治共识[J].中国妇幼健康研究,2018,29(2):135-138.
- [4] SUN W, HAN X H, WANG Y H, et al. Effectiveness of ZiYin Xiehuo granules and Zishen Qinggan granules on partial precocious puberty in girls: A multicenter, randomized, single-blind, controlled trial[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2018, 38(5): 740-745.
- [5] BAI G L, HU K L, HUAN Y, et al. The traditional Chinese medicine fuyou formula alleviates precocious puberty by inhibiting GPR54/GnRH in the hypothalamus [J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 11: 596525. DOI:10.3389/fphar.2020.596525.
- [6] YIN W P, LI S M, ZHANG K, et al. The therapeutic effect of Shugan Xiehuo Formula in the female rat model with central precocious puberty[J]. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2020(3):1-10.
- [7] YU C H, LIU P H, VAN Y H, et al. Traditional Chinese medicine for idiopathic precocious puberty: A hospital-based retrospective observational study [J]. Complementary Therapies in Medicine, 2014, 22(2): 258-265.
- [8] 秦 川,魏 泓.实验动物学[M].北京:人民卫生出版社,2015:164.
- [9] 肖小芹,汤婉婷,成绍武,等.小鼠阴道涂片技术及其染色方法的研究[J].湖南中医药大学学报,2018,38(4):376-378.
- [10] BYERS S L, WILES M V, DUNN S L, et al. Mouse estrous cycle identification tool and images [J]. PLoS One, 2012, 7(4): e35538. DOI:10.1371/journal.pone.0035538.
- [11] 邵 华,叶 进.中医辨治儿童性早熟摘要[J].江苏中医药,2020, 52(5):47-49.
- [12] 杨文庆,陈冬梅,林 甦.《性早熟中医临床诊疗指南修订》第1轮专家问卷调查方法和结果分析[J].中医儿科杂志,2017,13(3):77-82.
- [13] 岳宜寰,张 敏,吴婷婷,等.知柏地黄丸联合注射用醋酸亮丙瑞林微球治疗女童中枢性性早熟临床观察[J].临床合理用药杂志, 2020,13(35):15-17,20.
- [14] 曾玉珍.丹栀逍遥散加减治疗假性性早熟 68 例[J].江西中医学院学报,2013,25(6):37-39.
- [15] 刘建忠,黄梦雪,张雪荣,等.九味楮实方治疗阴虚火旺型女童性早熟 18 例临床观察[J].湖南中医杂志,2017,33(8):85-86.
- [16] 黄田田.九味楮实方治疗女童中枢性性早熟(阴虚火旺证)的临床研究[D].武汉:湖北中医药大学,2020.
- [17] TERASAWA E, FERNANDEZ D L. Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in Primates[J]. Endocrine Reviews, 2001, 22(1): 111-151.
- [18] 田占庄,赵 宏,陈伯英.滋阴泻火中药对性早熟模型大鼠促性腺激素释放激素及其受体 mRNA 表达的影响[J].中国中西医结合杂志,2003,23(9):695-698.
- [19] 李海花,季风华.女性儿童特发性性早熟的临床特点和相关性因素的研究[J].职业与健康,2017,33(10):1364-1368.
- [20] 金杰葛.血清性激素检测在诊断儿童性早熟中的应用价值[J].当代医药论丛,2020,18(9):187-188.
- [21] 王月影,王艳玲,李和平,等.动物乳腺发育的调控[J].畜牧与兽医, 2002,34(7):36-38.
- [22] 杨 玉,龚湘玲,卢庆红,等.环境内分泌干扰物与婴幼儿单纯乳房早发育的临床及转归的相关性研究[J].中国实用儿科杂志,2020, 35(5):379-382.

(本文编辑 苏 维)