

鼠尾悬吊法小鼠抑郁模型的评价及其对下丘脑-腺垂体-甲状腺轴的影响

吕子成¹ 赵富浩¹ 陈力侨¹ 王秋雨¹ 王铮¹ 刘孟琦¹ 林来祥²

¹天津医科大学基础医学院 300070; ²国家卫生健康委员会激素与发育重点实验室(天津医科大学),天津市代谢性疾病重点实验室,天津医科大学代谢病医院内分泌研究所 300070

通信作者:林来祥,Email:linlaixiang2005@126.com

【摘要】 目的 通过鼠尾悬吊法建立小鼠的抑郁模型并对其进行评价,研究该模型对下丘脑-腺垂体-甲状腺轴(HPT轴)的影响。**方法** 健康昆明小鼠30只,按照随机数字表法分为空白对照组、悬吊14 d组、悬吊28 d组,每组雌、雄各5只,28 d后采用强迫游泳实验研究小鼠行为学表现,留取甲状腺、垂体、下丘脑组织及股动脉血,采用ELISA法测定下丘脑5-羟色胺(5-HT)和去甲肾上腺素(NE)水平,采用紫外分光光度法测定下丘脑单胺氧化酶(MAO)活力,采用化学发光免疫分析法检测血清FT₃、FT₄,采用ELISA法检测血清促甲状腺激素(TSH)水平,HE染色观察甲状腺形态学变化,三色染色观察垂体形态学变化。**结果** 与空白对照组相比,悬吊14 d组和悬吊28 d组强迫游泳实验累计不动时间均增加($F=9.393, P<0.01$),下丘脑5-HT和NE水平、血清FT₄水平均降低($F=3.498, 5.773, 9.096, P$ 均 <0.05)。与空白对照组相比,悬吊28 d组下丘脑MAO活力升高($F=3.498, P<0.05$),甲状腺滤泡大小不均,滤泡上皮扁平。**结论** 鼠尾悬吊法建立小鼠的抑郁模型有效,此干预使小鼠HPT轴功能减低,但尚可可通过增加T₄向T₃的转化而代偿。

【关键词】 抑郁模型;下丘脑-腺垂体-甲状腺轴;小鼠

基金项目:天津医科大学大学生学术研究资助计划(TMUIROP2017-01);天津医科大学基础医学院大学生科研基金

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.01.003

Evaluation of a mouse depression model induced by tail-suspension and its effect on the function of hypothalamus-pituitary-thyroid axis Lyu Zicheng¹, Zhao Fuhao¹, Chen Liqiao¹, Wang Qiuyu¹, Wang Zheng¹, Liu Mengqi¹, Lin Laixiang². ¹Basic Medical School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; ²NHC Key Laboratory of Hormones and Development (Tianjin Medical University), Tianjin Key Laboratory of Metabolic Diseases, The Metabolic Diseases Hospital & Tianjin Institute of Endocrinology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Corresponding author: Lin Laixiang, Email:linlaixiang2005@126.com

【Abstract】 Objective To establish and evaluate a mouse model of depression induced by tail-suspension and to explore its effect on the function of hypothalamus-pituitary-thyroid axis(HPT axis). **Methods** Thirty healthy Kunming mice were randomly divided into three groups according to random number table method: control group, 14-day tail-suspended group and 28-day tail-suspended group, with 5 females and 5 males in each group. Twenty-eight days later, forced swimming test were applied to evaluate the depressive behavior of mice; then thyroid, pituitary, hypothalamus tissue and blood from femoral artery were harvested. The level of 5-hydroxytryptamine (5-HT) and norepinephrine (NE) in hypothalamus were detected by ELISA, the activity of monoamine oxidase(MAO) in hypothalamus was detected by ultraviolet spectrophotometry, serum FT₃ and FT₄ level were detected by chemiluminescence, and thyroid stimulating hormone (TSH) in serum was detected by ELISA. Morphological changes of the thyroid stained with HE and pituitary stained with Mallory were observed. **Results** Compared with control group, the total immobility time in the forced swimming test was significant longer($F=9.393, P<0.01$) in the forced swimming test, the levels of

hypothalamus 5-HT and NE as well as serum FT_4 were significant lower ($F=3.498, 5.773, 9.096$, all $P<0.05$) in 14-day tail-suspended group and 28-day tail-suspended group. Compared with control group, the activity of MAO in hypothalamus was significant higher in 28-day tail-suspended group ($F=3.498, P<0.05$). Moreover, the thyroid follicles were not uniform in size and the follicular epithelium was flat in 28-day tail-suspended group. **Conclusion** It is effective to establish a depressive mouse model induced by tail-suspension and the function of HPT axis in this model is inhibited, but can be compensated by conversion more T_4 to T_3 .

【Key words】 Depression model; Hypothalamus-pituitary-thyroid axis; Mice

Fund program: Tianjin Medical University Undergraduate Research Opportunities Program (TMUUR-OP2017-01); Tianjin Medical University Basic Medical College Undergraduate Research Fund

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.01.003

抑郁症是一种以心境低落为主要特征的显著而持久的心理障碍,其病因复杂且发病率逐年升高,目前全球约有 15% 的人或多或少地受到抑郁症的影响,预计至 2020 年,抑郁症将成为全球造成残疾的第二大疾病^[1-2]。研究表明,抑郁症的发生与慢性应激密切相关,慢性不可预知温和应激模型是目前应用最广泛的抑郁症动物模型,但此模型实际操作过程的工作量较大,持续时间较长^[3]。鼠尾悬吊法最早用于航天医学中骨质疏松模型的研究,后来发现,长期鼠尾悬吊作为一种持续的、中低水平的慢性应激,对免疫功能和中枢神经系统功能等都有影响^[4-6]。亦有研究表明该模型可诱导大鼠出现抑郁样行为^[7]。然而,目前相关的研究仍然较少。甲状腺激素在机体新陈代谢、生长发育和维持中枢神经系统正常的兴奋性等方面具有重要作用。大量临床研究表明,抑郁症与下丘脑-腺垂体-甲状腺轴(HPT轴)功能异常密切相关,多数学者认为,甲状腺功能减退症是抑郁症的重要危险因素,抑郁症患者亦常合并甲状腺功能减退症。然而,亦有研究表明,抑郁症患者可有轻度的甲状腺功能亢进症,且对于抑郁症和 HPT 轴功能异常之间的因果关系和具体的作用机制,目前尚存在较大争议^[8-11]。相关动物实验也进行的较少。本研究通过鼠尾悬吊法建立动物模型,根据动物行为学和下丘脑内单胺类神经递质水平,评价该抑郁症模型是否有效,并通过病理形态学和血清激素水平,探讨该模型对 HPT 轴功能的影响,为相关疾病的防治以及临床治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 健康昆明小鼠 30 只,购自中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心,许可证号 SCXK-(军)2012-0004,雌、雄各半,体重(26 ± 2)g,适应性喂养 3 d 后,按照随机数字表法分为空

白对照组、悬吊 14 d 组、悬吊 28 d 组,每组雌鼠、雄鼠各 5 只,12 h 光照、12 h 黑暗,自由饮食、饮水。按照文献所述方法建立动物模型^[12]。空白对照组正常饲养,悬吊 14 d 组正常饲养 14 d 后进行鼠尾悬吊,悬吊 28 d 组分组后立刻进行鼠尾悬吊。定期观察各组行为、反应能力,进食及皮毛光泽等方面的差异。

1.2 测定指标与方法

1.2.1 强迫游泳实验 按照文献^[13]所述方法,于实验 28 d 后,将各组小鼠放入水缸(2 000 ml 烧杯,高 20 cm,直径 14 cm,水深 10 cm)中,调节水温 $23^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$,每缸一只,置水中观察 6 min,记录各小鼠后 4 min 内累计不动时间。

1.2.2 下丘脑 5-羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NE)含量和单胺氧化酶(MAO)活力的测定 各组小鼠于实验开始 28 d 后处死,立刻在冰上打开颅骨,剥离下丘脑,于 -80°C 保存,称重,按重量(g):体积(ml) = 1:9 的比例加入生理盐水,冰水浴条件下制备 10% 的匀浆,2 500 r/min ($r=11$ cm)离心,取上清液,弃去取组织过少的样本,每组均保留 8 个样本。采用双缩脲法测定蛋白含量(试剂盒购自南京建成生物工程研究所),采用 ELISA 法测定 5-HT、NE 含量(试剂盒购自北京百奥思科生物医学技术有限公司),采用紫外分光光度法测定 MAO 活力(试剂盒购自南京建成生物工程研究所),并用蛋白含量校正 5-HT、NE 含量和 MAO 活力。

1.2.3 血清 FT_3 、 FT_4 、促甲状腺激素(TSH)浓度的测定 各组小鼠股动脉放血后,收集血液,静置 40 min,离心取上清液,弃去取血过少的样本,每组均保留 8 个样本,采用化学发光免疫分析法测定血清 FT_3 、 FT_4 浓度(试剂盒购自德国西门子公司),采用 ELISA 法测定血清 TSH 浓度(试剂盒购自北京百奥思科生物医学技术有限公司)。

1.2.4 甲状腺、垂体的形态学观察 各组小鼠处死

后迅速取出甲状腺、垂体、海马,固定后石蜡包埋,常规切片,采用 HE 染色后于光镜下观察甲状腺、海马,采用三色染色后于光镜下观察垂体^[14]。

1.3 统计学处理 采用 Excel 建立数据库,SPSS16.0 统计软件包进行数据统计与分析。正态分布的计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,两两比较采用 *LSD-t* 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般状态 悬吊 14 d 组和悬吊 28 d 组在干预初期易激惹,常出现尖叫,随着悬吊时间延长,出现精神萎靡、反应迟钝的表现,皮毛光泽差,进食量减少,体重增长减慢,实验结束后,模型组活动减少,常蜷缩成团。实验过程中悬吊 28 d 组 1 只雌性小鼠死亡。实验结束后,模型组小鼠体重均显著低于空白对照组,各组实验前、后体重见表 1。

2.2 强迫游泳实验 与空白对照组相比,悬吊 14 d 组和悬吊 28 d 组强迫游泳实验累计不动时间均显著延长($P < 0.01$),见表 2。

2.3 下丘脑 5-HT、NE 含量和 MAO 活力 与空白对照组相比,悬吊 14 d 组下丘脑内 5-HT 和 NE 含量显著降低(P 均 < 0.05),MAO 活力有增高趋势;悬吊 28 d 组下丘脑 5-HT 和 NE 含量显著降低(P 均 < 0.05),且 5-HT 降低幅度比悬吊 14 d 组更明显,MAO 活力显著增加($P < 0.05$),见表 3。

2.4 血清 FT₃、FT₄、TSH 水平 与空白对照组相比,悬吊 14 d 组和悬吊 28 d 组血清 FT₄ 水平显著降低($P < 0.01$),且悬吊 28 d 组降低幅度更大,空白对照组、悬吊 14 d 组、悬吊 28 d 组血清 TSH 浓度有依次升高趋势但无统计学意义,各组血清 FT₃ 水平无明显变化,见表 4。

2.5 甲状腺、垂体病理形态变化 正常甲状腺实质内为圆形或类圆形的甲状腺滤泡,滤泡壁由单层立方上皮围成,腔内含有红色胶状物,滤泡上皮细胞的形态可随机能状况而改变,呈立方形、矮柱状或高柱状,滤泡间为少量间质。与空白对照组相比,悬吊 14 d 组甲状腺没有明显变化,悬吊 28 d 组可见甲状腺滤泡明显大小不均、形状各异,大滤泡上皮细胞变扁平,见图 1(封 3)。各组垂体组织无明显变化。

3 讨论

研究表明,应激可以激活下丘脑-腺垂体-肾上腺轴,使得机体适应应激状态,但长期处于不可逃避的应激状态时,由于下丘脑-腺垂体-肾上腺轴的持续性兴奋,可严重影响身心健康,从而出现抑郁症状,这是目前比较公认的慢性应激引起抑郁症的机制之一。鼠尾悬吊法通过长期给予动物慢性的刺激,

表 1 空白对照组、悬吊 14 d 组、悬吊 28 d 组

实验前后体重比较($\bar{x} \pm s$)			
组别	例数	实验前体重(g)	实验后体重(g)
空白对照组	10	25.94 ± 0.60	39.34 ± 3.66
悬吊 14 d 组	10	25.93 ± 1.20	34.52 ± 2.72 ^a
悬吊 28 d 组	9	25.95 ± 0.69	30.78 ± 1.27 ^a
<i>F</i> 值		0.001	22.816
<i>P</i> 值		0.999	0.000

注:与空白对照组相比,^a $P < 0.01$

表 2 空白对照组、悬吊 14 d 组、悬吊 28 d 组

累计不动时间比较($\bar{x} \pm s$)		
组别	例数	累计不动时间(s)
空白对照组	10	140.9 ± 11.2
悬吊 14 d 组	10	162.9 ± 20.2 ^a
悬吊 28 d 组	9	169.3 ± 13.7 ^a
<i>F</i> 值		9.393
<i>P</i> 值		0.001

注:与空白对照组相比,^a $P < 0.01$

表 3 空白对照组、悬吊 14 d 组、悬吊 28 d 组下丘脑 5-HT、NE 含量和 MAO 活力比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NE(nmol/L)	5-HT(mg/L)	MAO 活力(U/mgprot)
空白对照组	8	7.60 ± 0.86	12.10 ± 4.79	4.53 ± 1.41
悬吊 14 d 组	8	6.44 ± 1.07 ^a	6.84 ± 2.75 ^a	5.91 ± 1.20
悬吊 28 d 组	8	6.47 ± 1.12 ^a	5.80 ± 3.40 ^a	6.46 ± 2.04 ^a
<i>F</i> 值		3.589	5.773	3.498
<i>P</i> 值		0.045	0.010	0.048

注:NE:去甲肾上腺素;5-HT:5-羟色胺;与空白对照组相比,^a $P < 0.05$

表 4 空白对照组、悬吊 14 d 组、悬吊 28 d 组血清甲状腺激素水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	FT ₃ (pmol/L)	FT ₄ (nmol/L)	TSH(mIU/L)
空白对照组	8	4.72 ± 0.56	30.20 ± 7.36	10.70 ± 4.03
悬吊 14 d 组	8	5.11 ± 0.80	21.40 ± 5.87 ^b	11.10 ± 3.54
悬吊 28 d 组	8	4.47 ± 0.85	18.20 ± 3.70 ^a	12.30 ± 5.78
<i>F</i> 值		1.568	9.096	0.408
<i>P</i> 值		0.232	0.001	0.670

注:TSH:促甲状腺激素;与空白对照组相比,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$

使之长期处于慢性应激状态,进而造成一系列神经-内分泌系统的病理生理变化和情感障碍,从而建立抑郁症动物模型。陈怡西等^[7]研究发现,悬吊 14 d 的大鼠可出现血清皮质酮和促肾上腺皮质激素水平升高,并出现空场实验运动减少等抑郁症样行为。本研究中,悬吊 14 d 组和悬吊 28 d 组出现了强迫游泳实验累计不动时间延长,一定程度上揭示了小鼠在无法逃避的持续刺激下产生了绝望情绪,也从动物行为学的角度证明了该模型的有效性^[3]。研究表明,各种原因引起的下丘脑单胺类神经递质如 5-HT、多巴胺、NE 的含量减少,与抑郁症的发生密切相关,慢性不可预知温和应激模型大鼠下丘脑 5-HT 含量明显减少,且经过有效的抗抑郁症治疗后,抑郁症大鼠下丘脑 5-HT 含量可以恢复^[15]。MAO 能够分解单胺类神经递质,抑制 MAO 的药物已经成为临床上应用的经典抗抑郁症药物^[16]。本研究中,悬吊 14 d 组和悬吊 28 d 组小鼠出现了不同程度的下丘脑 5-HT 和 NE 含量减少以及 MAO 活力增加,这可能是模型组小鼠抑郁样行为出现的原因之一。

悬吊 14 d 和悬吊 28 d 的小鼠,在动物行为学和下丘脑单胺类神经递质含量等方面,均出现了与经典的抑郁症动物模型相似的变化。鼠尾悬吊法建立抑郁模型简单有效,对抑郁症的机制和诊疗方式的进一步研究具有一定的意义。

甲状腺激素不仅对机体新陈代谢和生长发育具有重要的调节作用,亦是调节中枢神经系统兴奋性的重要物质,与情感、精神、记忆等功能密切相关。大量的研究表明,临床上抑郁症患者常合并甲状腺功能异常,较多报道显示抑郁症患者,尤其是女性和老年人,易存在血清 FT₃、FT₄ 水平降低和 TSH 水平升高^[8]。甲状腺功能的筛查可以作为抑郁症患者的常规评估,然而,也有部分研究者认为,抑郁症患者存在血清 FT₄ 水平升高和 TSH 水平降低,抗抑郁症治疗后血清 FT₄ 水平则有所下降^[9-10]。关于抑郁症对 HPT 轴功能影响的动物实验目前较少,且结论亦存在类似的争议。有研究认为,慢性不可预知温和应激抑郁模型使得大鼠血清 T₃ 和 T₄ 水平降低以及 TSH 水平升高^[17]。也有研究者用完全相同的模型得出了相反的结论,即抑郁症大鼠血清 T₃ 和 T₄ 水平升高以及 TSH 水平降低,且抗抑郁症治疗可使这些异常的指标不同程度地恢复正常^[18-19]。

本研究中采用鼠尾悬吊法建立抑郁症模型,悬吊 14 d 组出现了抑郁症样行为和下丘脑单胺类神经递质的减少,与此同时,小鼠的甲状腺功能也发生

了变化,表现为血清 FT₄ 水平降低和 TSH 水平升高,悬吊 28 d 组下丘脑单胺类神经递质和血清 FT₄、TSH 的变化则更加明显,同时,小鼠的甲状腺组织出现了光镜下可见的病理变化。悬吊 28 d 组的甲状腺滤泡大小不均匀,较大滤泡的上皮细胞变扁平,提示甲状腺功能减退,新生的较小的滤泡增多体现了在 TSH 作用下甲状腺功能的代偿。血清甲状腺激素水平受垂体 TSH 的调节,TSH 可促进甲状腺滤泡上皮细胞增生以及合成和释放甲状腺激素,甲状腺激素又可以作用于垂体,抑制细胞分泌 TSH。因而临床上甲状腺功能减退症患者除了血清甲状腺激素水平降低之外,还有 TSH 水平的升高。本研究中,悬吊 14 d 组和悬吊 28 d 组均出现了上述变化,与临床上伴有甲状腺功能减退症的抑郁症患者较为一致。而与空白对照组相比,悬吊 14 d 组和悬吊 28 d 组血清 FT₃ 水平并没有明显变化,可能是由于脱碘酶的活力增强,代偿性增加 T₄ 向 T₃ 转化的结果。

抑郁症与 HPT 轴功能紊乱之间的关系和相互作用机制十分复杂。研究表明,5-HT 可抑制 TSH 释放激素的分泌^[18]。抑郁模型小鼠下丘脑 5-HT 水平降低,可以通过增加 TSH 释放激素的分泌,引起 TSH 水平升高,该机制可能参与了抑郁症时甲状腺功能减退的代偿。值得关注的是,HPT 轴功能紊乱不仅是抑郁症的一种合并症,其本身亦参与了抑郁症的发生、发展。动物实验证明,注射 T₃ 能够提高大鼠 5-HT 水平,甲状腺功能减退症会造成 5-HT 的分泌减少,并且会通过改变中枢神经系统内 5-HT 受体的敏感性,抑制由 5-HT 介导的神经元之间的信号转导^[20]。因而,甲状腺功能减退症或许通过影响中枢神经系统内 5-HT 的含量和功能,促进抑郁症的发生、发展,形成一种恶性循环。本研究中,悬吊 14 d 组下丘脑内 MAO 活力仅出现增加趋势时,其 5-HT 水平已经出现了显著降低,提示可能存在独立于 MAO 活力变化的其他机制,造成 5-HT 的减少,或许与 T₄ 的减少有关。

综上所述,鼠尾悬吊法建立小鼠的抑郁模型有效,且该模型可造成 HPT 轴功能紊乱,表现为小鼠 HPT 轴功能降低,但尚可通过增加 T₄ 向 T₃ 的转化而代偿,其具体机制还有待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030 [J]. *PLoS Med*, 2006, 3(11): e442. DOI:10.1371/journal.pmed.0030442.

- [2] Levav I, Rutz W. The WHO World Health Report 2001 new understanding--new hope[J]. *Isr J Psychiatry Relat Sci*, 2002, 39 (1): 50-56.
- [3] 张磊阳, 贺敏, 李玥, 等. 抑郁症动物模型的研究进展[J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27 (9): 92-97. DOI: 10. 3969. j. issn. 1671-7856. 2017. 09. 018.
- [4] Wimalawansa SM, Wimalawansa SJ. Simulated weightlessness-induced attenuation of testosterone production may be responsible for bone loss[J]. *Endocrine*, 1999, 10 (3): 253-260. DOI: 10. 1007/BF02738624.
- [5] Wise KC, Manna SK, Yamauchi K, et al. Activation of nuclear transcription factor-kappaB in mouse brain induced by a simulated microgravity environment[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2005, 41 (3-4): 118-123. DOI: 10. 1290/0501006. 1.
- [6] Martinez EM, Yoshida MC, Candelario TL, et al. Spaceflight and simulated microgravity cause a significant reduction of key gene expression in early T-cell activation[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2015, 308 (6): R480-R488. DOI: 10. 1152/ajpregu. 00449. 2014.
- [7] 陈怡西, 王琼, 张永亮, 等. 模拟失重大鼠的抑郁样行为学表现[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20 (17): 141-145. DOI: 10. 13422/j. cnki. syfx. 2014170141.
- [8] 李广权, 周卫东, 贺勇, 等. 抑郁症患者甲状腺功能变化的研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2017, 38 (18): 2556-2558. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 18. 021.
- [9] 刘玉娇, 周洪海, 王承敏, 等. 甲状腺激素及抗体与抑郁症的相关性[J]. *神经疾病与精神卫生*, 2015, 15 (4): 368-371. DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-6574. 2015. 04. 013.
- [10] Demartini B, Masu A, Scarone S, et al. Prevalence of depression in patients affected by subclinical hypothyroidism[J]. *Panminerva Med*, 2010, 52 (4): 277-282.
- [11] Joffe RT, Sullivan TB. The significance of an isolated elevated TSH level in a depressed patient: a clinical commentary[J]. *Int J Psychiatry Med*, 2014, 48 (3): 167-173. DOI: 10. 2190/PM. 48. 3. b.
- [12] 陈杰, 马进, 丁兆平, 等. 一种模拟长期失重影响的大鼠尾部悬吊模型[J]. *空间科学学报*, 1993, 13 (2): 159-162.
- [13] 张辉, 王军锋, 邢博, 等. 不同实验条件对昆明和 BALB/C 小鼠强迫游泳实验的影响[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2011, 20 (4): 306-308. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1674-6554. 2011. 04. 006.
- [14] 赵岩. 高脂膳食及有氧运动对雄性大鼠 HPT 轴结构和功能的影响[D]. 北京体育大学, 2013.
- [15] Song J, Hou X, Hu X, et al. Not only serotonergic system, but also dopaminergic system involved in al biflorin against chronic unpredictable mild stress-induced depression-like behavior in rats[J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 242: 211-217. DOI: 10. 1016/j. cbi. 2015. 10. 001.
- [16] Shulman KI, Herrmann N, Walker SE. Current place of monoamine oxidase inhibitors in the treatment of depression[J]. *CNS Drugs*, 2013, 27 (10): 789-797. DOI: 10. 1007/s40263-013-0097-3.
- [17] Guo TY, Liu LJ, Xu LZ, et al. Alterations of the daily rhythms of HPT axis induced by chronic unpredicted mild stress in rats[J]. *Endocrine*, 2015, 48 (2): 637-643. DOI: 10. 1007/s12020-014-0314-y.
- [18] 佟海英, 乌吉斯古冷, 白亮凤, 等. 蒙药槟榔十三味丸对抑郁模型大鼠神经-内分泌-免疫功能的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20 (09): 194-198. DOI: 10. 13422/j. cnki. syfx. 2014090194.
- [19] 何贵平, 包祖晓, 周威, 等. 助阳舒心方对抑郁模型大鼠生物表征及血清甲状腺激素、睾酮的影响[J]. *中医药学报*, 2013, 41 (2): 18-20. DOI: 10. 19664/j. cnki. 1002-2392. 2013. 02. 007.
- [20] Dayan CM, Panicker V. Hypothyroidism and depression[J]. *Eur Thyroid J*, 2013, 2 (3): 168-179. DOI: 10. 1159/000353777.

(收稿日期: 2018-09-04)

(本文编辑: 刘欣)

(上接第 11 页)

- [14] Yao X, Zhang G, Guo Y, et al. Vitamin D receptor expression and potential role of vitamin D on cell proliferation and steroidogenesis in goat ovarian granulosa cells[J]. *Theriogenology*, 2017, 102: 162-173. DOI: 10. 1016/j. theriogenology. 2017. 08. 002.
- [15] Hong SH, Lee JE, An SM, et al. Effect of vitamin D₃ on biosynthesis of estrogen in porcine granulosa cells via modulation of steroidogenic enzymes[J]. *Toxicol Res*, 2017, 33 (1): 49-54. DOI: 10. 5487/TR. 2017. 33. 1. 049.
- [16] 中国医师协会内分泌代谢科医师分会. 多囊卵巢综合征诊治内分泌专家共识[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2018, 34 (1): 1-7. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1000-6699. 2018. 01. 001.
- [17] Bacopoulou F, Kolias E, Efthymiou V, et al. Vitamin D predictors in polycystic ovary syndrome: a meta-analysis[J]. *Eur J Clin Invest*, 2017, 47 (10): 746-755. DOI: 10. 1111/eci. 12800.
- [18] Pal L, Zhang H, Williams J, et al. Vitamin D status relates to reproductive outcome in women with polycystic ovary syndrome: secondary analysis of a multicenter randomized controlled trial[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101 (8): 3027-3035. DOI: 10. 1210/jc. 2015-4352.
- [19] 何淑莹, 中玉华, 尤昭玲. 多囊卵巢综合征 LH 及 FSH 的研究现状[J]. *中医药导报*, 2005, 11 (8): 82-84. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-951X. 2005. 08. 042.
- [20] Kozakowski J, Kapuścińska R, Zgliczyński W. Associations of vitamin D concentration with metabolic and hormonal indices in women with polycystic ovary syndrome presenting abdominal and gynoidal type of obesity[J]. *Ginekol Pol*, 2014, 85 (10): 765-770.
- [21] Irani M, Merhi Z. Role of vitamin D in ovarian physiology and its implication in reproduction: a systematic review[J]. *Fertil Steril*, 2014, 102 (2): 460-468. e3. DOI: 10. 1016/j. fertnstert. 2014. 04. 046.
- [22] Merhi Z, Doswell A, Krebs K, et al. Vitamin D alters genes involved in follicular development and steroidogenesis in human cumulus granulosa cells[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99 (6): E1137-E1145. DOI: 10. 1210/jc. 2013-4161.

(收稿日期: 2018-09-01)

(本文编辑: 饶颖)