

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.21.005

葛根素对正常产后小鼠泌乳作用的影响 *

杨亚洁¹ 热依拉·吐尔逊² 刘红双¹ 张 烯¹ 廖 艳^{1Δ}

(1 北京中医药大学中医学院 北京 102448; 2 新疆医科大学附属中医医院 新疆 乌鲁木齐 830002)

摘要 目的:探究葛根素对产后正常小鼠泌乳作用的影响及其机制,并初步探究葛根素对产后正常小鼠的安全性。**方法:**将雌、雄 KM 小鼠以 3:1 比例合笼配种,得到孕鼠饲养至分娩。分娩后的小鼠随机分为正常对照组、葛根素低剂量(18 mg·kg⁻¹)、高剂量组(72 mg·kg⁻¹),每组 8 只。从产后第 3 d 起,每天灌胃一次,共 10 d。观察小鼠每日泌乳量变化,ELISA 法检测血清中催乳素(PRL)、孕酮(P4)、雌二醇(E₂)含量,HE 染色观察乳腺、肝、肾、子宫、卵巢组织病理学形态,Western Blot 法检测乳腺组织中催乳素受体(PRLR)、酪氨酸激酶 2(JAK2)和信号传导与激活因子 5a(STAT5a)的表达。**结果:**与正常对照组相比,从给药的第 6 天起,葛根素低剂量组的泌乳量显著升高($P<0.05$);葛根素低、高剂量组均可见乳腺小叶内腺泡明显变大,分泌物明显增多,且低剂量组更为明显;葛根素低、高剂量组血清 PRL 水平明显升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$);葛根素低剂量组 PRLR 的蛋白表达明显增加($P<0.01$),而葛根素高剂量组 PRLR、JAK2 的蛋白表达明显降低($P<0.01$)。葛根素低剂量组 PRLR、JAK2、STAT5a 的蛋白表达明显高于葛根素高剂量组($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。**结论:**葛根素低剂量对产后正常小鼠有一定促进泌乳作用,高剂量时对泌乳作用不明显。葛根素低、高剂量均未对产后正常小鼠的肝、肾、卵巢和子宫产生明显的病理学改变。

关键词:葛根素;产后泌乳;催乳素;酪氨酸激酶 2/信号传导及转录激活因子 5 信号通路(JAK2/STAT5)

中图分类号:R-33;R243;R714.256 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)21-4026-06

Effects of Puerarin on Lactation in Postpartum Mice*

YANG Ya-jie¹, Reyla·Tursen², LIU Hong-shuang¹, ZHANG Xi¹, LIAO Yan^{1Δ}

(1 School of Traditional Chinese Medicine of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing, 102448, China;

2 Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830002, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effect and mechanism of puerarin on lactation in postpartum normal mice, and to preliminarily explore the safety of puerarin on postpartum normal mice. **Methods:** Female and male KM mice were bred together in a 3:1 ratio, and the pregnant mice were bred until delivery. Mice after delivery were randomly divided into normal group, low-dose puerarin(18 mg·kg⁻¹), and high-dose group (72 mg·kg⁻¹), with 8 mice in each group. From the 3rd day postpartum onwards, gavage was given once a day for a total of 10 days. The changes of daily milk production of mice were observed, the contents of prolactin (PRL), progesterone (P4) and estradiol (E₂) in serum were detected by ELISA, and the histopathological morphology of breast, liver, kidney, uterus and ovary was observed by HE staining. Western Blot method was used to detect the expression of PRLR and tyrosine kinase 2 (JAK2) in breast tissue. **Results:** Compared with the normal group, from the 6th day of intervention, the milk production in the low-dose puerarin group was significantly increased ($P<0.05$); both the low-dose and high-dose puerarin groups showed significant changes in the acini in the mammary lobules. The secretion increased significantly, especially in the low-dose group; the serum PRL level in the low-dose and high-dose groups of puerarin was significantly increased ($P<0.01$ or $P<0.05$); the protein expression of PRLR in the low-dose group of puerarin was significantly increased ($P<0.01$ or $P<0.05$), while the protein expressions of PRLR and JAK2 in the high-dose puerarin group were significantly decreased ($P<0.01$). The expressions of PRLR, JAK2 and STAT5a in the low-dose puerarin group were significantly higher than those in the high-dose puerarin group ($P<0.01$ or $P<0.05$). **Conclusion:** The low dose of puerarin has a certain effect on promoting lactation in postpartum mice, while the high dose has no obvious effect on lactation. The low and high doses of puerarin did not produce obvious pathological changes in the liver, kidney, ovary and uterus of postpartum normal mice.

Key words: Puerarin; Postpartum lactation; Prolactin; JAK2/STAT5

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R243; R714.256 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)21-4026-06

* 基金项目:国家自然科学基金项目(82174474);北京中医药大学校级科研纵向发展基金项目(2019-2XF2JJ-121)

作者简介:杨亚洁,女,硕士,研究方向:中医营养学,E-mail:yangyajie9511@163.com

Δ 通讯作者:廖艳,女,副教授,博士研究生导师,研究方向:中医营养学和毒理学研究,E-mail:liaoayanaa@sohu.com

(收稿日期:2022-12-25 接受日期:2023-01-21)

前言

母乳是婴儿最理想的天然食物,对婴幼儿体格生长、中枢神经系统发育和认知发展等意义重大^[1],并且母乳喂养有利于母婴双方的身心健康发展^[2]。《母乳喂养促进行动计划(2021-2025年)》提出到2025年母婴家庭成员母乳喂养率达到80%以上^[2]。但是我国母乳喂养情况并不乐观,调查数据显示,我国住院期间纯母乳喂养率为23%~46%^[3],其中剖宫产、产后抑郁、营养不足等导致的产妇乳汁不足是母乳喂养率低下的的重要原因。

葛根素(Puerarin)作为药食同源类中药葛根的主要活性成分,是一种植物雌激素^[4]。此外,葛根作为一种传统泰药,在泰国《葛根处方》《研究10种泰国草药的基础知识》中均记载了葛根有丰胸、抗皱纹、治疗闭经等雌激素相关功效及促进泌乳作用^[5],但相关实验依据不多^[6],值得深入研究。本实验拟首先考察葛根素对产后正常小鼠泌乳量的影响,然后从泌乳相关激素和JAK2/STAT5信号通路两个层面探讨其促进泌乳的机制,拟为合理应用葛根及葛根素促进产后泌乳提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 SPF级健康KM种雌性小鼠27只,雄性小鼠9只,7~8周龄,体重 34 ± 4.26 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,许可证SCXK(京)2016-0002。饲养环境相对恒温(25℃)、恒湿(75%),常规喂养,自由饮食水。本实验已经北京市中医研究所实验动物管理委员会批准(编号为BUCM-4-2019103101-4031)。

采用阴道涂片法^[7]观察小鼠的动情周期,将处于动情期的雌、雄小鼠以3:1比例合笼饲养,在合笼后第二天上午9:00取出雌鼠,观察雌鼠阴道口是否出现雄鼠交配后的精液凝固形成的乳白色、浅黄色阴栓,若出现即视为交配成功,并将其单笼饲养至分娩。

1.1.2 主要试剂和仪器 葛根素、水合氯醛,组织固定液购自上海源叶生物科技公司(S30646, S24149, R20486),PRL酶联免疫试剂盒购自碧云天生物公司(L190830505),E₂、P₄酶联免疫试剂盒购自上海酶联生物公司(ML001972, ML057778),PRLR、STAT5a抗体购自北京BIOS公司(bs-6445R、bsm-52237R),JAK2抗体,BCA蛋白定量检测试剂盒购自武汉Servicebio生物公司(GB11325、G2026-1000T)。

双稳定时电泳仪电源、脱色摇床购自北京市六一仪器厂(DYY-6C, WD-9405A);全自动酶标仪购自美国伯乐公司(i-Mark20675);台式低温高速离心机购自德国Eppendorf公司(AG22331);恒温烘箱购自德国Binder公司(DIN-12880);超低温冰箱购自赛默飞世尔仪器有限公司(ULTS1490);恒温水浴锅上海博讯实业有限公司(SSW-420-2S);化学发光成像系统购自美国伯乐公司(Che miDoc Touch)。

1.2 实验方法

1.2.1 给药与分组 《保健食品检验与评价技术规范》促进泌乳功能检验方法中规定小鼠给药剂量应为人推荐量的10倍量^[8],根据葛根素片在临床中的推荐剂量为50 mg/人/次,以及

葛根素片中葛根素含量^[9],采用动物体表面积换算法^[10],得到小鼠给药剂量约为 $18\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。本实验以 $18\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量作为葛根素低剂量组(PUE Low group), $72\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量为高剂量组(PUE High group)。

记分娩当日为第0天,为减少分娩对母鼠的疼痛和刺激,于母鼠分娩后第3天,根据随机数表法分为葛根素低剂量组、葛根素高剂量组、正常组,每组8只,分别给予 $18\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $72\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 葛根素溶液及等量的生理盐水,每天早上9:00灌服1次,连续10天,在产后第13 d处死母鼠,取血液和乳腺组织检测备用。

1.2.2 单次泌乳量数据收集 实验期间,因母鼠的泌乳量无法直接测量,传统通过仔鼠的窝重变化间接体现。从给药日开始,每天早上9:00全窝仔鼠称重,记为W1;将母鼠与仔鼠隔离5 h称重,记为W2;轻压仔鼠腹部以排除尿液,然后仔鼠与母鼠合笼授乳1 h后,第三次仔鼠称重,记为W3。母鼠每小时泌乳量用所带全窝仔鼠哺乳1 h前后的体重差(W3-W2),再加上全窝仔鼠平均1 h的基础代谢量((W1-W2)/5)来计算。即每小时泌乳量 = $W3 - W2 + (W1 - W2) / 5$ ^[11]。

1.2.3 苏木素-伊红(HE)染色法观察乳腺组织及肝肾子宫卵巢病理 采用脊椎脱臼法处死母鼠,剥离母鼠第3对乳房,摘取肝脏、肾脏、子宫、卵巢置于组织固定液中。对固定的小鼠组织进行常规石蜡包埋切片、苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察组织病理形态变化。

1.2.4 ELISA法测定PRL、P₄、E₂含量 将母鼠血清从-80℃冰箱取出,稀释5倍后,根据试剂盒说明书严格操作,测定母鼠血清PRL、P₄、E₂含量。

1.2.5 Western Blot法检测PRLR、JAK2、STAT5a表达 将小鼠乳腺组织置于冰上,加入裂解液后使用超声破碎仪研磨,转速 $12000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,离心15 min,取上清液。将提取小鼠乳腺组织总蛋白,BCA试剂盒进行蛋白定量。配置SDS-PAGE凝胶、上样,电泳、电转,转膜后用5%的脱脂奶粉封闭1 h,加入稀释好的一抗,4℃静置过夜,TBST洗膜3次,加二抗37℃恒温箱孵育2 h,TBST洗膜3次后,将ECL超敏发光液滴在PVDF膜上,用凝胶成像仪曝光拍照,分析蛋白条带。

1.3 统计学分析

采用SPSS20.2统计软件处理。若各组计量资料均正态,多组比较采用单因素方差分析,以($\bar{x}\pm s$)表示,两两比较采用LSD法。若非正态,采用秩和检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。采用Image Pro Plus 6.0软件分析免疫组化图像,采用Image J软件分析Western Blot蛋白条带。采用GraphPad Prism 8.2制作柱状图。

2 结果

2.1 对单小时泌乳量的影响

与正常对照组相比,在实验的第6天起,葛根素低剂量组单小时泌乳量明显高于正常对照组($P<0.05$)。而仅在实验的第6天,葛根素高剂量组的泌乳量高于正常对照组($P<0.05$)。葛根素低、高剂量组之间泌乳量差别无统计学意义。在实验周期内,各组泌乳量随泌乳天数增加均呈下降趋势。见表1。

表 1 葛根素对产后正常小鼠单小时泌乳量的影响($\bar{x} \pm s$, n=8)

Table 1 Effect of Puerarin on Single Hour Lactation of Postpartum Normal Mice ($\bar{x} \pm s$, n=8)

Days	n	Normal Group(g)	PUE Low Group(g)	PUE High Group(g)
1	8	1.62±0.35	1.68±0.29	1.65±0.29
2	8	1.38±0.49	1.42±0.23	1.30±0.15
3	8	1.27±0.37	1.37±0.31	1.37±0.29
4	8	1.03±0.23	1.20±0.29	1.22±0.29
5	8	0.97±0.22	1.25±0.30	1.20±0.28
6	8	0.83±0.17	1.18±0.32*	1.16±0.24*
7	8	0.95±0.22	1.23±0.19*	1.18±0.17
8	8	0.83±0.17	1.15±0.19*	0.97±0.22
9	8	0.80±0.22	1.10±0.18*	0.92±0.21
10	8	0.73±0.14	1.03±0.22*	0.90±0.25

Note: Compared with the normal group, * $P<0.05$.

2.2 对乳腺组织及肝肾子宫卵巢病理形态的影响

正常组乳腺组织腺腔规则,腺腔内可见分泌物,腺腔内及乳腺上皮细胞胞质内均可见大量圆形脂滴空泡。与正常组相比,葛根素低、高剂量组乳腺小叶面积明显变大,小叶间结缔组织和脂肪组织有所减少,小叶内腺泡大量增生,腺腔分泌物较多,脂滴明显减少。葛根素低剂量组与高剂量组相比,小叶间结缔组织较薄,腺泡腔内分泌物较多,脂滴空泡较少。

各组肝脏组织结构未见异常,肝细胞形态规则,无明显变性、坏死,无炎症细胞浸润及纤维组织增生;各组肾脏组织形态未见异常,肾小球形态正常,肾小管排列规则整齐,无水肿、变形和坏死等病理改变。各组产后正常小鼠卵巢组织结构清晰,发育正常,无炎症细胞浸润、无坏死和变形。各组产后正常小鼠子宫组织均有明显的滋养细胞,未见明显的脱膜细胞和淤血,无水肿和炎性细胞浸润。见图 1.1、1.2、1.3、1.4、1.5。

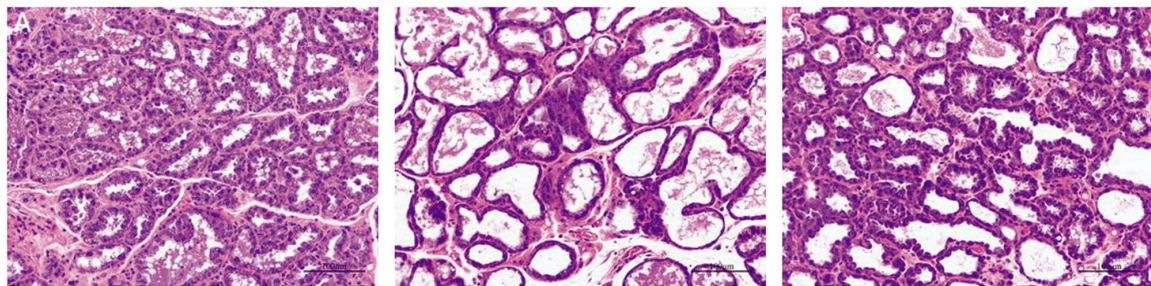


图 1.1 葛根素对产后小鼠乳腺组织的影响(HE, × 200)

Fig.1.1 Effect of Puerarin on Postpartum Mouse Breast Tissue (HE, × 200)

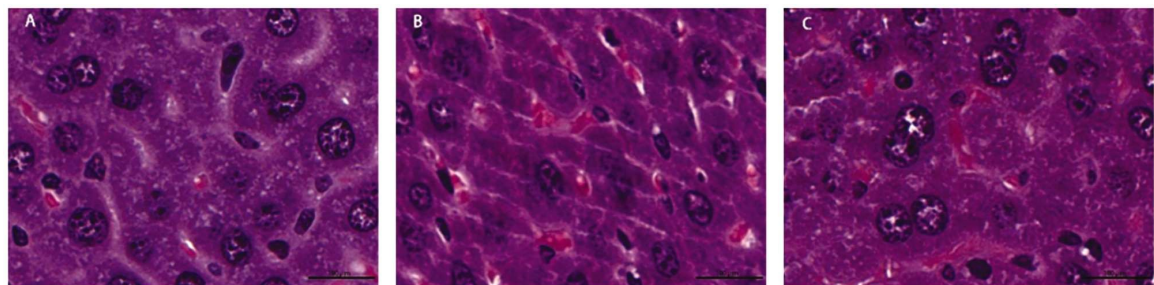


图 1.2 葛根素对产后小鼠肝脏外观、病理形态的影响(HE, × 200)

Fig.1.2 Effect of Puerarin on the Appearance and Pathological Morphology of the Liver in Postpartum Mice (HE, × 200)

2.3 对血清 PRL、P4、E₂ 含量的影响

与正常对照组相比,葛根素低、高剂量组血清中 PRL 含量均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且葛根素高剂量组上升更为显著。各组间血清中 P4、E₂ 含量差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 2。

2.4 Western Blot 法检测乳腺中 PRLR、JAK2、STAT5a 的表达

与正常对照组相比,葛根素低剂量组乳腺组织中 PRLR 的蛋白表达明显升高,高剂量组中 PRLR、JAK2 的蛋白表达明显降低($P<0.01$)。葛根素低剂量组 PRLR、JAK2、STAT5a 的蛋白表达明显高于葛根素高剂量组($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。见图 3。

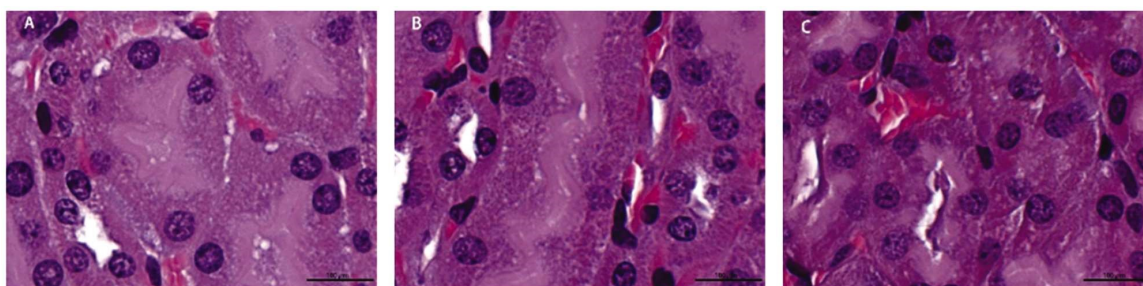


图 1.3 葛根素对产后小鼠肾脏外观、病理形态的影响(HE, × 200)

Fig.1.3 Effect of Puerarin on the Appearance and Pathological Morphology of Kidney in Postpartum Mice (HE, × 200)

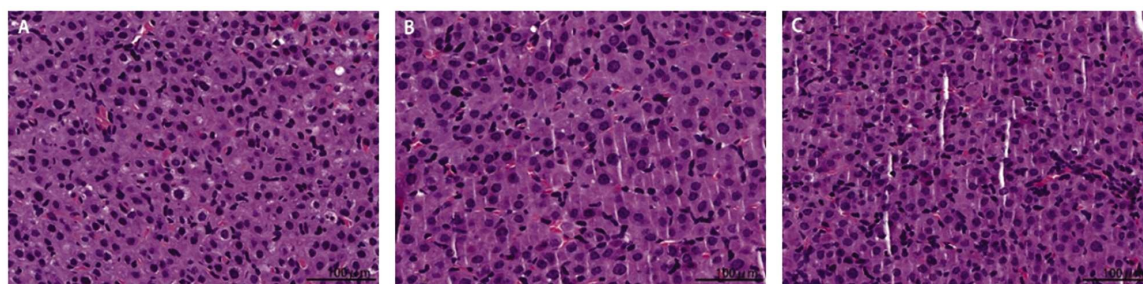


图 1.4 葛根素对产后小鼠卵巢病理形态的影响(HE, 200)

Fig.1.4 Effect of Puerarin on the Pathological Morphology of Ovaries in Postpartum Mice (HE, X200)

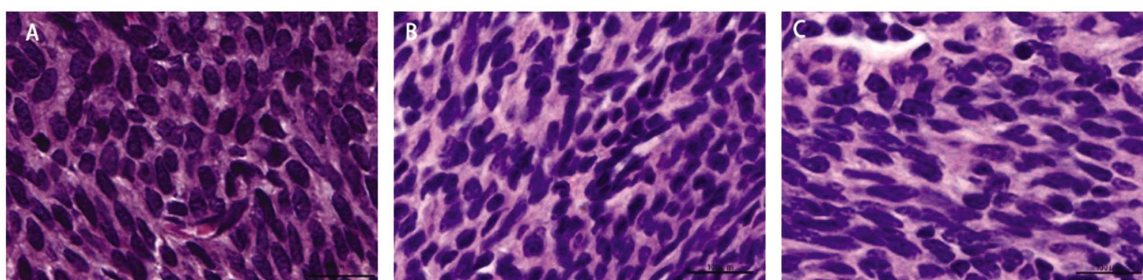
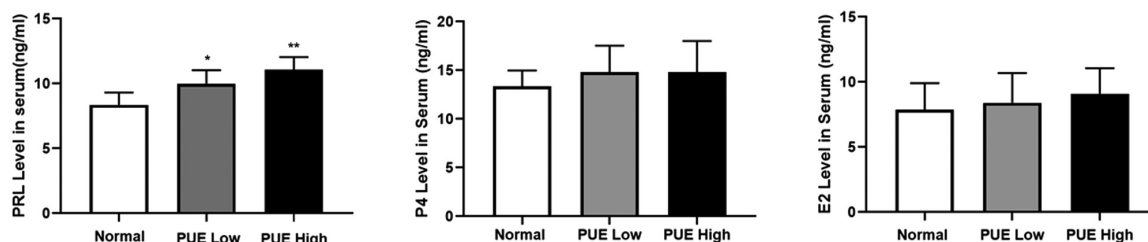


图 1.5 葛根素对产后小鼠子宫病理形态的影响(HE, 200)

Fig.1.5 Effect of Puerarin on the Pathological Morphology of Uterus in Postpartum Mice (HE, 200)

Note: A. Normal group; B. PUE Low group; C. PUE High group. Scale=100 μm

图 2 产后小鼠血清 PRL、P4、E₂ 的含量Fig.2 Content of serum PRL, P4, E₂ in postpartum miceNote: Compared with the normal group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

3 讨论

近年来国内外学者对葛根提取物及其活性成分葛根素,在促进乳腺发育方面进行了较为深入的研究。研究发现,葛根提取物能够使未成熟大鼠乳腺重量明显增加,促进乳腺发育^[12]。葛根素能够提高性未成熟小鼠的体重和乳腺质量,增加乳腺导管数目,并且 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组相比 $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组能更好地促进青春期雌性小鼠乳腺的发育^[6]。虽然上述研究均支持葛根素对正常哺乳动物有促进乳腺发育作用,但目前葛根素对产后正常小鼠的泌乳作用仍不清楚。

本研究结果显示,与正常对照组相比,葛根素低剂量组的泌乳量从给药的第 6 天起显著升高,且乳腺小叶内腺泡明显变大,分泌物明显增多,表明低剂量葛根素($18\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)能够发挥一定促进泌乳作用。但是葛根素高剂量($72\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)仅在第 6 天泌乳量高于正常对照组,且其乳腺组织发育明显不如高剂量组,表明该剂量促进泌乳作用不明显。

众多研究证明,植物雌激素在体内具有双向调节作用,给予中等剂量的植物雌激素产生一定的雌激素活性,高剂量时能够产生雌激素强效应,而剂量过高时产生抗雌激素效应^[13]。在槲皮素促进泌乳的研究中发现,泌乳量与给药剂量并非线性相

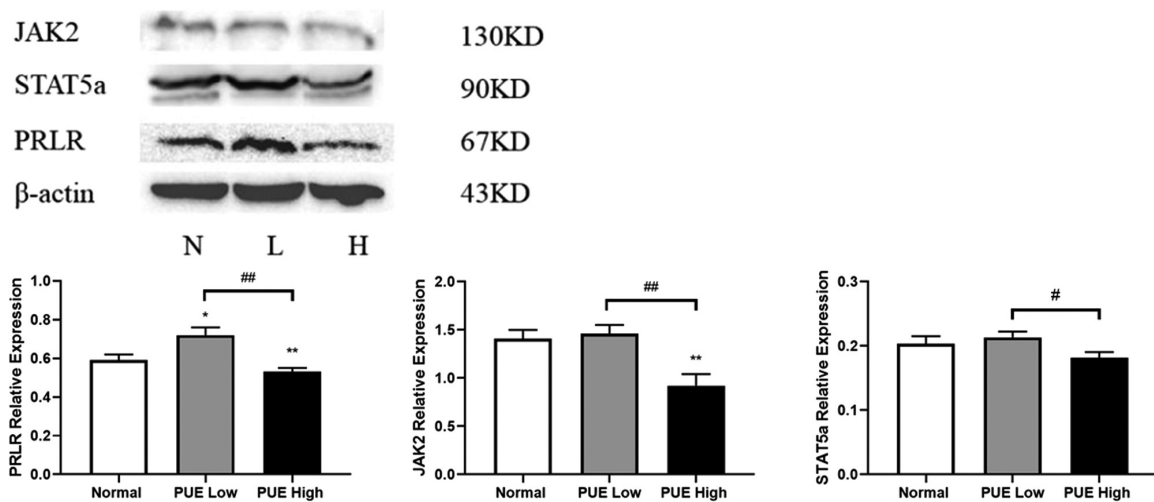


图3 葛根素对产后正常小鼠乳腺组织中 PRLR、JAK2、STAT5a 的影响

Fig.3 Effect of Puerarin on PRLR, JAK2, and STAT5a in Postpartum Normal Mouse Breast Tissue

Note: N represents the normal group, L represents the PUE Low group, and H represents the PUE High group; Compared with the normal group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; Comparison between the two groups of puerarin, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

关关系,而是表现出泌乳量随着给药剂量的增加先升高后降低的趋势^[11]。并且在大豆异黄酮对哺乳母猪影响的实验中,大豆异黄酮剂量过大时,泌乳量下降^[14]。葛根素与槲皮素、大豆异黄酮都属于植物雌激素,本实验结果也出现葛根素低剂量组促进泌乳作用明显好于高剂量组,其剂量趋势与大豆异黄酮一致,这也符合雌激素在体内的双向调节规律。

哺乳动物泌乳的生理过程主要依赖于脑垂体分泌催乳素(Prolactin, PRL)进行负反馈调节。除垂体外, PRL 在子宫、乳腺、淋巴等多种组织器官中广泛分布^[15],经过血液运输到相应的靶器官或靶细胞,而低 PRL 是导致产后缺乳的重要原因^[16]。孕酮(P4)主要负责乳腺上皮细胞增殖,延伸导管侧分支和促进腺泡的发育^[17],低剂量的雌二醇(E₂)能够刺激垂体分泌 PRL,与 PRL 共同作用诱导发动泌乳^[18]。本研究结果显示,与正常对照组相比,葛根素低、高剂量组血清中 PRL 含量均有升高,表明葛根素促进泌乳作用可能与刺激 PRL 分泌有关。不过,葛根素低、高剂量组血清中 P4 和 E₂ 含量较正常对照组略高,差异无统计学意义。

PRL 发挥生物学效应需要与催乳素受体(PRLR)结合。进一步检测乳腺中 PRLR 蛋白的表达, Western Blot 法发现葛根素高剂量组的表达量明显低于正常对照组和葛根素低剂量组,原因可能是 PRLR 剂-效关系的钟形曲线现象^[19]。PRL 分子表面有两个受体结合位点,一定浓度范围内, PRL 分子表面有两个受体结合位点,一分子 PRL 与膜表面两个分子 PRLR 结合二聚体发挥生物学作用。若 PRL 浓度过高,致 PRL 数量多余靶细胞膜表面 PRLR 数量,而 PRL 的第一个结合位点与 PRLR 亲和力较强,倾向于形成一分子 PRL 一分子 PRLR 复合物(PRL1-PRLR1), PRL1-PRLR1 无法启动下游信号传导,因此出现高浓度 PRL 的生物效应反而下降的现象^[19,20]。故可能由于高剂量的葛根素导致 PRL 浓度过高,抑制了 PRL 与膜表面 PRLR 的正常结合,导致 JAK2 激酶的激活受到抑制, STAT5 的磷酸化减少,磷酸化后减少进入细胞核内的 STAT5 量减少,从而与 DNA 结合靶向调控相关基因蛋白的表达减少,从而葛根素高剂量组 JAK2、STAT5a 表达降低。

在中医古代文献中,没有明确记载葛根有促进泌乳方面的功效,但葛根归脾胃经,其味甘辛,能够升脾胃之清阳。产后缺乳的最常见的三种病机:气血虚弱,肝郁气滞,痰湿壅阻。脾胃输布功能失常,乳汁生化乏源或乳络受阻,以致产后乳少或产后乳汁不行。因此,葛根通过发挥升清阳以助脾运化之功,可改善或治疗产后缺乳。《本草纲目拾遗》明确载有葛根对脾胃的描述,云"西国米(珠儿粉 竹米)……葛根做粉食……健脾运胃功最捷", "珠儿粉……云系外洋人采葛根……运脾开胃"。郝艳方^[21]等研究认为从脾胃生理功能和气血的关系出发,产后缺乳治宜从脾胃论治。在张继东治疗产后缺乳经验中,葛根是一味常用的中药,方药通过宣肺解表,通调肺气,以使得乳络通畅,升脾胃清阳,促进乳汁的生化^[22]。有学者研究发现葛根提取物对奶牛泌乳不足有明显改善作用^[23],这可能与葛根发挥以脾胃为中心功效密切相关。

葛根素对大鼠、犬及斑马鱼^[24]的毒性实验显示,葛根素对动物血液指标、心电图、肝肾组织病理均无明显影响^[25]。通过对正常怀孕小鼠予葛根素灌胃(150 mg·kg⁻¹)发现,葛根素对母鼠生殖系统及子代小鼠生长发育均无明显不良影响^[26]。本研究中葛根素低、高剂量对产后哺乳期的小鼠肝、肾、生殖器官病理形态也无明显病理学改变。

综上,本研究发现葛根素低剂量时(18 mg·kg⁻¹)有一定的促进产后小鼠泌乳作用,增加血清中 PRL 含量和乳腺组织中 PRLR 蛋白表达,但对泌乳激素 P4、E₂ 和 JAK2/STAT5 信号通路影响均不明显;葛根素高剂量(72 mg·kg⁻¹)时促进泌乳作用不明显,可能是与 PRL 浓度过高导致乳腺组织中 PRLR、JAK2/STAT5 通路的蛋白表达受到抑制有关;葛根素对哺乳期小鼠肝、肾、卵巢和子宫均未发现产生明显病理学改变,对子代小鼠是否有远期不良影响,尚有待进一步研究。

参考文献(References)

- [1] J. S. Grassley, B. S. Spencer, D. Bryson. The development and psychometric testing of the Supportive Needs of Adolescents Breastfeeding Scale [J]. Journal of Advanced Nursing, 2013, 69(3): 708-716

- [2] Lönnerdal B. Bioactive Proteins in Human Milk: Health, Nutrition, and Implications for Infant Formulas [J]. The Journal of pediatrics, 2016, 173: S4-S9
- [3] 江欣, 江会. 母婴同室新生儿在院期间添加配方奶与其出生后 6 月龄喂养方式的关联性研究[J]. 中国儿童保健杂志, 2021, 29(12): 4
- [4] O. Ojo, A. Ojo, C. Nwonuma, et al. Puerarin: A Review on the Pharmacological Activity, Chemical Properties and Pharmacokinetics of Main Isoflavonoid[J]. The Natural Products Journal, 2022, (1): 12
- [5] 苏提达. 泰国与中国主要葛根品种的对比研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017
- [6] 巴音吉日嘎拉. 葛根素对小白鼠乳房发育的影响及其作用机理的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2008
- [7] 闫丽, 温和, 唐桂毅, 等. 大鼠阴道细胞涂片不同染色方法在动情周期判定中的价值 [J]. 中文科技资料目录 - 中草药, 2020, 043(001): 72-76
- [8] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[S]. 2003
- [9] 赖琚, 廖正根, 梁新丽, 等. 复合吸收促进剂 - 葛根素片药物动力学与生物利用度研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, (7): 5
- [10] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 4
- [11] L. Man, W. Na, Y. Bei, et al. Quercetin improves postpartum hypogalactia in milk deficient mice via stimulating prolactin production in pituitary gland[J]. Phytotherapy Research, 2018, 32(8): 1511-1520
- [12] 薛晓鸥, 金焕, 牛建昭, 等. 葛根提取物对未成熟大鼠乳腺, 子宫发育影响的研究[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(6): 3
- [13] A. Aresta, P. Cotugno, C. Zambonin. Solid-phase microextraction and on-fiber derivatization for assessment of mammalian and vegetable milks with emphasis on the content of major phytoestrogens[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 6398
- [14] 王志龙, 武洪志, 王芳芳, 等. 大豆异黄酮和黄芪多糖对哺乳母猪生产性能、血清生化和免疫指标以及乳成分的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(12): 3970-3976
- [15] P. Kirsch, J. Kunadia, S. Shah, et al. Metabolic effects of prolactin and the role of dopamine agonists: A review [J]. Frontiers in endocrinology, 2022, 13: 1002320
- [16] P. D. Hill, J. C. Aldag, H. Demirtas, et al. Association of Serum Prolactin and Oxytocin With Milk Production in Mothers of Preterm and Term Infants [J]. Biological Research for Nursing, 2009, 10(4): 340
- [17] K. Anastasia, M. Aupperlee, S. Z. Haslam. Progesterone Receptor Isoforms and Proliferation in the Rat Mammary Gland during Development[J]. Endocrinology, 2007, (6): 6
- [18] J. J. Tong, I. M. Thompson, X. Zhao, et al. Effect of 17 β -estradiol on milk production, hormone secretion, and mammary gland gene expression in dairy cows [J]. Journal of Dairy Science, 2018, 101(3): 2588-2601
- [19] M. Carvalho-Freitas, E. C. Rodrigues-Costa, A. G. Nasello, et al. In vitro macrophage activity: biphasic effect of prolactin and indirect evidence of dopaminergic modulation [J]. Neuroimmunomodulation, 2008, 15(2): 131-139
- [20] 谭敦勇, 彭湘萍. 催乳素受体研究[J]. 生理科学进展, 2012, 43(1): 7
- [21] 郝艳方, 王春晖, 沈静, 等. 从脾胃论治产后缺乳 [J]. 中医杂志, 2020, 61(02): 163-165+176
- [22] 梁粟, 张继东. 张继东运用宣肺解表法治疗产后缺乳经验[J]. 光明中医, 2020, 35(07): 1059-1061
- [23] 高靖, 高腾云, 王淑梅, 等. 葛根提取物对不孕奶牛人工诱导泌乳效果的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2012, 40(09): 19-23
- [24] 温晓雪, 郭秋平, 陈贵英, 等. 葛根素对斑马鱼的肝毒性研究[C]// 葛根素对斑马鱼的肝毒性研究. 中华中医药学会中药实验药理分会 2014 年学术年会, 中华中医药学会中药实验药理分会, 中国山西太原, 2014: 99-100
- [25] 冯云, 郑艳丽, 王海琳, 等. 葛根素对 U14 宫颈癌小鼠血液流变学、脾淋巴细胞增殖及细胞毒性影响[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(23): 4427-4431
- [26] 周玲, 王玉洁, 俞超芹, 等. 葛根素对性成熟期雌性小鼠生殖系统及其胚胎 -- 胎仔发育的影响[J]. 中国妇幼保健, 2019, (4): 4