

燥湿和胃方对脾胃湿热证大鼠 HPA 轴、炎症因子及免疫功能的影响

张娜娜¹, 崔瑾², 张振巍³ (1.开封市中医院, 河南 开封 475000; 2.河南应用技术职业学院, 河南 开封 475000; 3.中国人民解放军第一五五中心医院, 河南 开封 475003)

摘要: 目的 探讨燥湿和胃方对脾胃湿热证大鼠 HPA 轴、炎症因子及免疫功能的影响。方法 采用“环境因素+肥甘饮食+致炎因子”的方法复制脾胃湿热证动物模型。SPF 级 SD 大鼠, ♂, 随机分为 6 组, 即正常组, 模型组, 三九胃泰组, 燥湿和胃方高、中、低剂量组(4, 2, 1 g·kg⁻¹), 每组 10 只。采用放射免疫法检测促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)、促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)、皮质醇(cortisol, Cor)的含量; 采用免疫组化法检测大鼠胃黏膜组织中环氧合酶-2(cyclooxygenase, COX-2)表达水平; 采用 ELISA 法检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素 1 β (IL-1 β)、干扰素- γ (interferon-gamma, IFN- γ)、白介素 4(IL-4)含量。结果 与正常组相比, 模型组大鼠血清中 CRH、ACTH、Cor、TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 、IL-4、IFN- γ /IL-4 值明显升高($P<0.05$)。与模型组比较, 燥湿和胃方各剂量组均显著降低大鼠血清中上述指标的含量($P<0.05$)。与燥湿和胃方高剂量组相比, 低剂量组大鼠血清中 CRH、ACTH、Cor 含量明显较高($P<0.05$); 中剂量组大鼠血清 CRH、ACTH、Cor 含量稍高, 但差异没有统计学意义, IL-1 β 、IL-4 与其相当, 差异没有统计学意义, TNF- α 、COX-2 的改善程度明显较弱($P<0.05$), IFN- γ 、IFN- γ /IL-4 值均明显偏高($P<0.05$)。结论 燥湿和胃方能有效改善脾胃湿热模型大鼠的疾病活动状态, 该作用的发挥可能与调整 HPA 轴 CRH、ACTH、Cor 的含量有关, 可能通过降低 HPA 轴相关指标, 降低机体炎症反应, 改善免疫状态, 恢复免疫系统 Th1/Th2 的动态平衡。

关键词: 燥湿和胃方; 脾胃湿热证; 免疫功能; 炎症因子; HPA 轴

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2019)13-1633-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.13.007

引用本文: 张娜娜, 崔瑾, 张振巍. 燥湿和胃方对脾胃湿热证大鼠 HPA 轴、炎症因子及免疫功能的影响[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(13): 1633-1638.

Effect of Zaoshi Hewei Formula on HPA Axis, Inflammatory Factors and Immune Function in Rats with Dampness Heat Syndrome of Spleen and Stomach

ZHANG Nana¹, CUI Cui², ZHANG Zhenwei³ (1.Kaifeng City Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kaifeng 475000, China; 2.Henan Applied Technology Career Academy, Kaifeng 475000, China; 3.Chinese People's Liberation Army (PLA) First 55 Central Hospital, Kaifeng 475003, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effects of Zaoshi Hewei Formula on HPA axis, inflammatory factors and immune function in rats with dampness heat syndrome of spleen and stomach. **METHODS** The animal model of damp heat syndrome of spleen and stomach was replicated by “environmental factors + fat diet + inflammatory factors”. SPF SD male rats were randomly divided into 5 groups: normal group, model group, Zaoshi Hewei Formula high, middle and low dose groups(4, 2, 1 g·kg⁻¹). The content of adrenocorticotrophic hormone releasing hormone (corticotropin releasing hormone, CRH), corticotropin (adrenocorticotrophic hormone, ACTH) and cortisol(Cor) were detected by radioimmunoassay. Immunohistochemistry was used to detect cyclic oxygenase-2 (cyclooxygenase, COX-2) in rat gastric mucous membrane. The expression level of tumor necrosis factor- α (TNF- α), rat interleukin 1 β (IL-1 β), interferon- γ (interferon-gamma, IFN- γ) and rat interleukin 4 (IL-4) were detected by ELISA. **RESULTS** Compared with the normal group, the serum levels of CRH, ACTH, Cor, TNF- α , IL-1 β , IFN- γ , IL-4 and IFN- γ /IL-4 in the rat serum in the model group were significantly increased($P<0.05$). Compared with the model group, the above indexes in the serum of rats were significantly reduced by Zaoshi Hewei formula($P<0.05$). Compared with the high dose of Zaoshi Hewei Formula group, the content of CRH, ACTH and Cor in the low dose group was significantly higher($P<0.05$). The content of each index in the middle dose group was slightly higher than that of the high dose group, and there was no significant difference between the groups. The improvement of TNF- α and COX-2 was significantly lower than that of high dose group ($P<0.05$), but there was no significant difference of the IL-4 index between the middle dose group and high dose group, and the values of IFN- γ /IL-4 in the middle dose group were significantly higher than that of high dose group ($P<0.05$). **CONCLUSION** Zaoshi Hewei Formula can effectively improve the state of disease activity in rat model of dampness heat syndrome of spleen and stomach, which may be related to adjusting the content of CRH, ACTH and Cor of HPA axis by reducing the related indexes

作者简介: 张娜娜, 女, 主管中药师

Tel: (0371)23958752

E-mail: zhangnana0827@163.com

of HPA axis, reducing the inflammatory response of the body, improving the immune state and restoring the dynamic balance of Th1/ Th2 in the immune system.

KEYWORDS: Zaoshi Hewei Formula; splenogastric hypopyrexia syndrome; immune function; inflammatory factors; hypothalamus-pituitary-adrenal

脾胃湿热证是中医脾胃系统常见的病证,该病证发病的诱因与外部湿热环境、内部脾胃损伤、病原微生物感染等因素关系密切^[1]。在疾病的发展过程中,各种病理因素对机体产生刺激,该刺激会诱导下丘脑-垂体-肾上腺皮质(hypothalamus-pituitary-adrenal, HPA)轴产生应激变化,继而对神经-内分泌及炎症因子等产生调节作用,此时机体免疫系统的调节作用会增强机体识别和杀伤抗原性异物的能力^[2]。HPA 轴是维持机体中枢环境分泌网络的中枢,作为神经内分泌网络的枢纽,在应激反应中发挥调节作用,即当应激发生时,HPA 轴表现为亢奋状态,机体激素分泌增多,下丘脑释放出促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH),该激素主要促进垂体前叶合成和分泌促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)的作用,进而导致血浆中 ACTH、皮质醇(cortisol, Cor)的含量升高,同时机体的情绪、认知等行为学相应的发生改变,从而实现 HPA 轴的激活^[3]。HPA 轴的激活会进一步导致应激调控的情绪行为反应异常,引起 CRH 的异常增多,进而造成适应机制障碍,出现焦虑、抑郁等表现,该生理表现与脾胃湿热证临床症状相吻合^[4-5],因此,本研究以 HPA 轴为中心,考察其相关代谢因子的变化,为临床用药提供参考。

燥湿和胃方是临床经验方,临床治疗脾胃湿热证效果显著,为进一步探讨燥湿和胃方对脾胃湿热大鼠 HPA 轴、炎症因子及免疫系统的调节作用,深入探究其作用机制,扩大其临床应用范围,为院内特色制剂申报及新药研究提供基础数据,本研究结合其临床功能主治进行药理学研究。

1 仪器与材料

1.1 仪器

全自动生化分析仪(日本日立公司); Cyto-FLEX 型流式细胞分析仪(美国 Beckman Coulter); MULTISKAN FC 全自动酶标仪(赛默飞)。

1.2 药品与试剂

燥湿和胃方由鸡爪连(姜汁制)12 g、杏仁 10 g、厚朴(姜制)10 g、姜半夏 10 g、豆蔻 6 g、薏苡仁 15 g、陈皮 10 g、郁金 10 g、甘草 6 g 组成,各中

药饮片均购自张仲景大药房。取处方中药材合煎,首次加 15 倍量水浸泡 30 min,煎煮 1.5 h,第 2 次加水 10 倍量,煎煮 1 h,合并煎煮液后,减压浓缩至原药材量:煎煮体积=1:1,依据《中药药理研究方法学》人、大鼠剂量换算公式(按大鼠 200 g 体重质量计算),燥湿和胃方配制成相当于原药材 1 g·mL⁻¹,于 4℃ 冰箱保存备用。三九胃泰(华润三九制药有限公司,批号:1307007N;规格:每片 2.5 g),给药浓度为 2.5 g·kg⁻¹,给药剂量 0.1 mL·kg⁻¹。

CRH、ACTH、Cor 放免试剂盒均购自南京建成生物公司(批号分别为 20180317, 20180122, 20180314)。大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、大鼠白介素 1 β (IL-1 β)、大鼠干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)、大鼠白介素 4(IL-4)ELISA 试剂盒和环氧合酶-2(cyclooxygenase, COX-2)免疫组化试剂盒均购自北京雅安达生物技术有限公司(批号分别为 180227, 180322, 180407, 180318, 180314)。侵袭性大肠杆菌浓度 10⁹ cfu·mL⁻¹,由河南大学微生物教研室提供。

1.3 动物

SPF 级 SD 大鼠 70 只,♂,体质量(200±20)g,购自河南省动物实验中心,质量合格证号:0007568;实验动物许可证号:SCXK(豫)2002-0002。所有实验动物购买后均适应性喂养 1 周后开展实验。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

2.1.1 分组 将 60 只大鼠随机分为 6 组,每组 10 只,即正常组,模型组,三九胃泰组(阳性组),燥湿和胃方高、中、低剂量组。造模大鼠均于造模前禁食 12 h,自由饮水。生活环境为 20~28℃,相对湿度为 50%~70%。

2.1.2 造模 实验采用内外环境协同作用,参考文献方法建立脾胃湿热大鼠模型^[6]:采用高脂饲料喂养(80%基础饲料+20%猪油+8%蜂蜜),并隔日灌服 10 mL·kg⁻¹的白酒,连续 10 d;然后置于生活环境条件为(32±2)℃,相对湿度为 95%(在人工气候箱中模拟高温高湿环境)的人工环境模拟箱中,连续 8 d;在第 19 天开始灌胃大肠杆菌(0.1 mL·kg⁻¹),24 h 后再加强感染 1 次(0.05 mL·kg⁻¹)。移出置于

自然环境,自由饮水、饮食,连续 7 d 后处死动物并做相关检查。

2.1.3 给药 正常组以普通混合饲料喂养,并于每天早上 9 点投料,自由饮水。模型组大鼠移出置于自然环境后自由饮水、饮食。三九胃泰组给予三九胃泰每天 $0.1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃给药。

燥湿和胃方高、中、低剂量组给予高脂饲料喂养 10 d,置于人工环境模拟箱时灌服燥湿和胃方,高、中、低剂量组给药剂量分别为 $4, 2, 1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,每天 1 次,连续 8 d,在第 19 天开始灌胃大肠杆菌,给药剂量为 $0.1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,24 h 后再加强感染 1 次($0.05 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),移出置于自然环境 12 h 后,按照体重灌服不同剂量的燥湿和胃方,连续 7 d 后处死动物并做相关检查。

2.2 标本采集与处理

大鼠处死前禁食 12 h,采用 10%水合氯醛腹腔麻醉,剂量为 $0.036 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,腹主动脉取血加入到含有 EDTA 和抑肽酶的抗凝管中,混匀,分离血浆后(离心半径 10 cm, $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,离心 15 min), -20°C 冻存待测。解剖大鼠,取胃黏膜组织,按照试剂盒说明书操作。采用放射免疫法检测 CRH、ACTH、Cor 的含量。采用免疫组化法检测大鼠胃黏膜组织中 COX-2 表达水平。采用 ELISA 法检测 TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 、IL-4 含量。各检测指标的定量均严格按照各自试剂盒说明书操作。

2.3 统计学处理

采用 SPSS 17.0 数据处理软件进行数据分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示,首先对实验数据进行正态分布检验,服从正态分布且方差齐的数据采用单因素方差分析进行组间比较,方差不齐的数据采用 Dunnett's T3 法进行组间比较;不服从正态分布的数据采用非参数检验。所有组间比较均以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 模型大鼠行为学表现

在建立模型期间注意观察大鼠的行为学变化,依据 2002 年国家药品监督管理局《中药新药临床研究指导原则》中脾胃湿热证的辨证依据,出现食少纳呆、少饮、大便溏、肢体困重等均为脾胃湿热证的表现。造模结束后发现,模型组大鼠均符合脾胃湿热证的上述行为学变化,因此,判定模型复制成功。

3.2 各组大鼠血清 CRH、ACTH、Cor 含量比较

与正常组相比,模型组大鼠血清中 CRH、ACTH、Cor 含量明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,燥湿和胃方各剂量组均显著降低大鼠血清中 CRH、ACTH、Cor 含量($P < 0.05$);与三九胃泰组相比,燥湿和胃方低剂量组明显偏高($P < 0.05$),中低剂量组差异无统计学意义;与燥湿和胃方高剂量组相比,低剂量组大鼠血清中 CRH、ACTH、Cor 含量明显较高($P < 0.05$),中剂量组各指标含量稍高于高剂量组,组间比较差异没有显著性。结果见表 1。

表 1 各组大鼠血清中 CRH、ACTH、Cor 含量比较($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab. 1 Results of CRH, ACTH and Cor contents in serum of rats in each group($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	CRH/ $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$	ACTH/ $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$	Cor/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$
正常组	28.56 ± 4.48	22.96 ± 3.41	10.07 ± 3.22
模型组	$66.45 \pm 6.25^{1)}$	$38.65 \pm 4.05^{1)}$	$31.74 \pm 4.27^{1)}$
三九胃泰组	$33.26 \pm 3.15^{2)}$	$23.62 \pm 2.58^{2)}$	$14.22 \pm 3.14^{2)}$
燥湿和胃方高剂量组	$32.14 \pm 3.92^{1)2)}$	$25.62 \pm 3.18^{2)}$	$13.85 \pm 3.11^{2)}$
燥湿和胃方中剂量组	$36.88 \pm 4.17^{1)2)}$	$27.85 \pm 3.22^{1)2)}$	$16.39 \pm 4.21^{1)2)}$
燥湿和胃方低剂量组	$45.20 \pm 4.02^{1)2)3)4)5)}$	$32.35 \pm 4.78^{1)2)3)4)5)}$	$26.52 \pm 3.96^{1)2)3)4)5)}$

注:与正常组相比, $^1)P < 0.05$;与模型组相比, $^2)P < 0.05$;与三九胃泰组相比, $^3)P < 0.05$;与燥湿和胃方高剂量组相比, $^4)P < 0.05$;与燥湿和胃方中剂量组相比, $^5)P < 0.05$ 。

Note: Compared with control group, $^1)P < 0.05$; compared with model group, $^2)P < 0.05$; compared with Sanjiu Weitai group, $^3)P < 0.05$; compared with Zaoshi Hewei Formula high dose group, $^4)P < 0.05$; compared with Zaoshi Hewei Formula medium dose group, $^5)P < 0.05$ 。

3.3 各组大鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 及胃黏膜组织中 COX-2 表达水平比较

与正常组相比,模型组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 及胃黏膜组织中 COX-2 表达水平显著升高($P < 0.05$)。与三九胃泰组相比,燥湿和胃方中、低剂量组各指标水平明显偏高($P < 0.05$);高剂量组差异没有显著性。与模型组相比,燥湿和胃方各剂量组均显著降低大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 及胃黏膜组织中 COX-2 表达水平($P < 0.05$)。与燥湿和胃方高剂量组相比,燥湿和胃方中剂量组改善大鼠血清 IL-1 β 含量与其相当,差异没有显著性;而对 TNF- α 、COX-2 的改善程度明显弱于高剂量组($P < 0.05$)。结果见表 2。

3.4 各组大鼠血清中 IFN- γ 、IL-4 及 IFN- γ /IL-4 表达水平比较

与正常组相比,模型组大鼠血清 IFN- γ 、IL-4、

IFN- γ /IL-4 值明显升高($P<0.05$)。与模型组相比, 燥湿和胃方各剂量组大鼠血清 IFN- γ 、IL-4 及 IFN- γ /IL-4 值明显降低($P<0.05$)。与三九胃泰组相比, 燥湿和胃方高剂量组差异不显著, 与中、低剂量组的血清 IFN- γ 、IL-4 指标有明显差异($P<0.05$); 三九胃泰组的 IFN- γ /IL-4 值与 3 个剂量组差异不显著。与燥湿和胃方高剂量组相比, 中剂量组除 IL-4 指标差异没有显著性之外, IFN- γ 、IFN- γ /IL-4 值均明显偏高($P<0.05$)。结果见表 3。

表 2 各组大鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 及胃黏膜组织中 COX-2 表达水平比较($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab. 2 Determination results of TNF- α , IL-1 β contents in serum and COX-2 expression in mucosal tissue of rats in each group($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	TNF- α /pg·mL ⁻¹	IL-1 β /pg·mL ⁻¹	COX-2
正常组	12.85±2.64	23.44±4.61	0.21±0.03
模型组	186.52±23.74 ¹⁾	171.08±18.75 ¹⁾	0.63±0.02 ¹⁾
三九胃泰组	94.25±7.58 ¹⁾	78.67±9.21 ¹⁾	0.24±0.01
燥湿和胃方高剂量组	88.25±8.78 ¹⁾²⁾	83.59±5.98 ¹⁾²⁾	0.26±0.02 ¹⁾²⁾
燥湿和胃方中剂量组	100.38±8.66 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	90.87±6.77 ¹⁾²⁾³⁾	0.32±0.03 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾
燥湿和胃方低剂量组	135.36±10.47 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾	121.55±11.87 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾	0.49±0.02 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾

注: 与正常组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组相比, ²⁾ $P<0.05$; 与三九胃泰组相比, ³⁾ $P<0.05$; 与燥湿和胃方高剂量组相比, ⁴⁾ $P<0.05$; 与燥湿和胃方中剂量组相比, ⁵⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$; compared with Sanjiu Weitai group, ³⁾ $P<0.05$; compared with Zaoshi Hewei Formula high dose group, ⁴⁾ $P<0.05$; compared with Zaoshi Hewei Formula medium dose group, ⁵⁾ $P<0.05$ 。

表 3 各组大鼠血清中 IFN- γ 、IL-4 及 IFN- γ /IL-4 表达水平比较($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Tab. 3 Determination results of IFN- γ , IL-4 and IFN- γ /IL-4 contents in serum of rats in each group($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	IFN- γ /ng·L ⁻¹	IL-4/ng·L ⁻¹	IFN- γ /IL-4
正常组	883.21±86.64	65.25±8.47	13.26±1.21
模型组	2 677.85±124.31 ¹⁾	158.47±11.62 ¹⁾	17.11±1.66 ¹⁾
三九胃泰组	962.35±30.41 ²⁾	69.77±7.25 ²⁾	14.22±1.85 ²⁾
燥湿和胃方高剂量组	1 052.48±85.35 ¹⁾²⁾	78.26±6.02 ²⁾	13.82±1.51 ²⁾
燥湿和胃方中剂量组	1 305.29±78.59 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	87.84±9.44 ¹⁾²⁾³⁾	15.04±1.27 ¹⁾²⁾⁴⁾
燥湿和胃方低剂量组	1 747.86±62.11 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	111.02±10.74 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	15.98±1.62 ¹⁾²⁾⁴⁾

注: 与正常组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组相比, ²⁾ $P<0.05$; 与三九胃泰组相比, ³⁾ $P<0.05$; 与燥湿和胃方高剂量组相比, ⁴⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$; compared with Sanjiu Weitai group, ³⁾ $P<0.05$; compared with Zaoshi Hewei Formula high dose group, ⁴⁾ $P<0.05$ 。

4 讨论

脾胃湿热证属于湿热证范畴, 外界环境的湿热变化可造成脾胃功能失调, 脾喜燥而恶湿, 胃喜湿而恶燥, 脾胃的中医特征使得其易感受湿热之邪。脾胃湿热的内因多因“饮食失节, 甘肥过度”致使脾胃损伤, 导致脾胃升降失职, 促使脾胃虚弱, 运化不济, 导致湿热蕴积, 进而形成湿热证。中医认为, 酒味辛甘、燥烈, 白酒作为湿热邪气可加重脾胃湿热的发生^[7]。实验中为尽可能的模拟中医病机, 采用多因素复合作用, 使模型动物在临床症状上符合脾胃湿热证的特征, 其证候特点较单一因素模型更为突出, 因此, 模型采用“环境因素+肥甘饮食+致炎因子”的方法建立脾胃湿热证动物模型^[8]。燥湿和胃方为开封市中医医院临床经验方, 方中黄连苦寒坚阴, 以泻火解毒、清热燥湿; 厚朴、豆蔻、薏苡仁燥湿行气; 半夏燥湿除痞、降逆止呕共为方中臣药, 因湿性黏滞, 阻遏气机, 祛湿宜化气, 故方中配伍郁金、陈皮以燥湿化痰、行气解郁为用, 以助气行而化湿, 在方中共为佐药; 甘草调和诸药; 诸药合用, 寒温并用, 具有宣上、畅中、渗下、清热之效, 共奏燥湿行气、消痞和胃之功。现代药理学研究证实^[9], 黄连主要成分为生物碱类, 如小檗碱、药根碱等, 该类成分对消化性溃疡等胃肠慢性疾病有独特的治疗作用, 其总生物碱类成分可通过抑制胃黏膜细胞的凋亡, 影响组成型和诱导型一氧化氮合酶的表达, 降低血清中炎症因子的表达量, 对氧化应激反应/丝/苏氨酸蛋白激酶信号通路蛋白表达产生调控作用, 从而减轻胃部炎症反应的发生。半夏、厚朴、豆蔻、薏苡仁等药材可通过增加胃黏膜血流量, 调节胃酸和胃蛋白酶分泌, 抗脂质过氧化等作用发挥对胃黏膜的修复作用^[10]。三九胃泰是国家中药保护品种, 处方由三桠苦、九里香、白芍等药材组成, 具有消炎止痛、理气和胃等作用, 对各类慢性胃炎、功能性消化不良等上消化道疾病有明显治疗作用^[11], 因此本研究选取三九胃泰作为阳性对照药。

脾胃湿热证在临床表现以病势缠绵、病程较长为特点, 以炎性病变为主。促炎因子在病证变化中发挥重要作用, 炎症介质 TNF- α 作为参与免疫细胞活化的炎症趋化和激活因子, 在炎症的发生、发展中有重要作用, 生理状态下 TNF- α 可发挥抗感染、抗病毒、抗肿瘤作用; TNF- α 表达量

异常时可表现为细胞微血管通透性增加,导致细胞破坏,溶酶体渗出,炎症介质释放,进一步诱发和加重了炎症反应^[12]。IL-1 β 是单核巨噬细胞产生的细胞因子,具有多种生理学活性,特别在急性炎症期,该因子可诱导产生多种刺激因子(如内毒素、病毒等),产生炎症反应的瀑布效应,因此,TNF- α 和IL-1 β 为机体应激性促炎因子,其表达量的异常可提示机体受到外界刺激的程度^[13]。COX是前列腺素生物合成的限速酶,包括结构型COX-1和兼具环氧化酶、过氧化物酶活性的诱导型COX-2 2种同工酶,其中COX-1主要参与机体内环境的稳定,在细胞内恒定表达,参与正常的生理功能调节;COX-2是一种快速应答蛋白,在生理状态下低表达或不表达,在机体发生炎症反应时,参与炎症介质诱导而高度表达^[14-15]。

脾胃湿热证在发病过程中除了炎症介质的参与之外,免疫调节作用对临床症状的恢复发挥关键作用。T淋巴细胞亚群包括Th1和Th2亚型,此2个亚型的细胞因子相互协调,发挥机体免疫调节的动态平衡,维持机体内环境的稳定,Th1/Th2平衡作用对多种疾病的发生、发展、转归等各阶段均发挥重要作用^[16]。Th1型细胞主要分泌IFN- γ 、TNF- α 等促炎因子,介导细胞免疫应答和细胞毒作用;Th2型细胞主要分泌IL-4、IL-10等抗炎因子,介导体液免疫,产生抗炎反应,因此,临床上常采用该细胞因子来反应机体免疫状态的动态平衡关系。即Th1/Th2平衡向Th1转化时,提示机体免疫状态损伤;平衡向Th2转化时,提示机体处于免疫抑制状态。IFN- γ 、IL-4表达水平的上升,提示脾胃湿热大鼠的细胞免疫和体液免疫呈现亢进状态,即此时大鼠机体的炎症反应为主要表现,体现出中医“邪正剧烈抗争”的病理状态;IFN- γ /IL-4比值升高,提示机体的免疫状态出现紊乱,Th1/Th2动态平衡被打破并趋向于以Th1型为主^[17],机体炎症反应明显。

HPA轴是神经内分泌免疫调节网络中重要的反馈调节系统,CRH是诱导ACTH、 β -内啡肽和其他阿片黑色皮质素原源性肽从垂体前叶释放的生理调节因子,在多种应激源的刺激下,下丘脑室旁核释放的CRH表达量上升,则提示此时HPA轴出现应激性启动,发挥调节反应。给予药物刺激后,若血清中相关神经递质的表达量得到有效抑制,则提示药物刺激可抑制HPA轴的激活和活

性,进而发挥中枢调节作用^[18]。

研究显示,模型组大鼠血清中CRH、ACTH、Cor含量均明显上升,提示采用“环境因素+肥甘饮食+致炎因子”的湿热证造模方法可行,大鼠此时的HPA轴应答出现抑制状态,在外界因素和内在因素的双重刺激作用下,应激信号沿中枢神经到达下丘脑室旁核处,并诱导CRH相关基因表达,引起CRH分泌增加,含量异常增加的CRH经正中隆突神经纤维转运至垂体门脉系统,促使垂体合成,并释放ACTH;ACTH对肾上腺皮质产生刺激作用,从而合成Cor,而Cor的异常表达对CRH、ACTH的释放产生负反馈作用,促使三者构成反馈环路,作用于机体各组织对应激防御产生反应性调节。在给予模型大鼠不同剂量的燥湿和胃方后,HPA轴相关信号指标出现不同程度的下调,其中,燥湿和胃方中、高剂量组能通过降低CRH、ACTH、Cor含量来缓解HPA轴的抑制状态,高剂量组作用强度稍高于中剂量组,但差异没有统计学意义。从大鼠血清炎症介质的表达水平来看,燥湿和胃方各剂量组均能不同程度的改善模型大鼠血清TNF- α 、IL-1 β 及胃黏膜组织中COX-2表达水平,降低炎症介质的含量,缓解炎症反应;模型组大鼠炎症介质的异常升高与HPA轴的抑制状态相一致,提示HPA轴的紊乱导致各炎症介质的释放;其中,燥湿和胃方高剂量组作用效果更为明显。从大鼠免疫状态的角度来看,模型组大鼠由于其HPA轴的抑制状态,机体炎症反应明显,致使其免疫平衡被打破,即IFN- γ /IL-4值升高,提示大鼠机体免疫处于抑制状态,进一步印证了HPA轴抑制导致机体出现相应的应激反应状态。

综上,燥湿和胃方能有效改善脾胃湿热模型大鼠的疾病活动状态,该作用的发挥可能与调整HPA轴CRH、ACTH、Cor的含量有关,通过调整HPA轴相关指标,降低机体炎症反应,改善免疫状态,恢复免疫系统Th1/Th2的动态平衡。

REFERENCES

- [1] HUANG Q, WEI X, WANG H S, et al. Effect of Wang's lianpo decoction on IL-6 and NF- κ B expressions of stomach mucosa in rat with precancerous lesions of gastric cancer of spleen stomach damp-heat syndrome [J]. Shanxi J Tradit Chin Med(山西中医), 2016, 32(2): 55-57.
- [2] LOU L X, GENG B, DU J B, et al. Hydrogen sulphide-induced hypothermia attenuates stress-related ulceration in rats [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2008, 35(2):

- 223-228.
- [3] KANCZKOWSKI W, SUE M, ZACHAROWSKI K, et al. The role of adrenal gland microenvironment in the HPA axis function and dysfunction during *Sepsis* [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015(408): 241-248.
 - [4] CHEN M C, HSU W L, HWANG P A, et al. Low molecular weight fucoidan inhibits tumor angiogenesis through downregulation of HIF-1/VEGF signaling under hypoxia [J]. *Mar Drugs*, 2015, 13(7): 4436-4451.
 - [5] ROWLAND K J, YAO J J, WANG L D, et al. Up-regulation of hypoxia-inducible factor 1 alpha and hemodynamic responses following massive small bowel resection [J]. *J Pediatr Surg*, 2013, 48(6): 1330-1339.
 - [6] LU G H, LAO S X. Establishment and evaluation of animal models of spleen-stomach damp-heat syndrome [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med*(广州中医药大学学报), 2005, 22(3): 231-235.
 - [7] QU J, LIAN H H, LIU C, et al. A preliminary evaluation on the association of spleen-stomach damp-heat with experimental allergic rhinitis among mice [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Integr Tradit West Med*(中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志), 2017, 25(2): 81-84.
 - [8] 徐秋颖, 韩佩玉. 肠易激综合征脾胃湿热证大鼠模型建立 [J]. *亚太传统医药*, 2015, 11(6): 12-13.
 - [9] 田华, 闫平慧, 张锋利. 黄连素通过 ROS/ERK1/2 通路抗幽门螺旋杆菌相关性胃炎的实验研究 [J]. *中医药通报*, 2017, 16(6): 66-69, 60.
 - [10] LI N N, GUO H, LEI Y F. Study on the effect of Banxia Houpo Decoction on blood flow and lipid peroxidation injury in gastric *Mucosa* in rats with chronic atrophic gastritis [J]. *Mod J Integr Tradit Chin West Med*(现代中西医结合杂志), 2016, 25(20): 2170-2172, 2179.
 - [11] GAO S F. Analysis of the efficacy and safety of Sanjiu Weitai granules combined with rabeprazole sodium enteric-coated capsules in the treatment of chronic superficial gastritis [J]. *Clin Med*(临床医学), 2017, 37(8): 113-114.
 - [12] MALFERTHEINER P, MEGRAUD F, O'MORAIN C A, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection-the maastricht V/Florence consensus report [J]. *Gut*, 2017, 66(1): 6-30.
 - [13] ZHU R, LUO J, ZHU C L, et al. Correlation study of hp infection, COX-2 and p53 expression in the chronic atrophic gastritis with intestinal case groups classified by TCM syndrome [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*(南京中医药大学学报), 2014, 30(6): 520-523.
 - [14] AHUJA V, TANDON R K. Inflammatory bowel disease in the Asia-Pacific area: a comparison with developed countries and regional differences [J]. *J Dig Dis*, 2010, 11(3): 134-147.
 - [15] SUN C X, HUO Y L, GUO X J, et al. Repairing effect of huazhuo jiedu yukui formula on mucosal damage of rats with ulcerative colitis [J]. *China Pharm*(中国药房), 2017, 28(10): 1329-1332.
 - [16] LIANG J K, HU L, ZHENG X F, et al. Study of TH1/TH2 balance in peripheral blood of chronic gastritis patients with Pi-wei damp-heat syndrome [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*(中国中西医结合杂志), 2012, 32(3): 322-324, 328.
 - [17] REN X, WEN X M, HONG B, et al. Effects of Sanren decoction on Th1/Th2 cytokines in rats with spleen-stomach damp-heat syndrome [J]. *J South Med Univ*(南方医科大学学报), 2012, 32(2): 181-184.
 - [18] LI Y P. The experimental study of sanren decoction on the relevant index of hypothalamus-pituitary-adrenal axis of the spleen and stomach damp-heat syndrome in rats [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2010.

收稿日期: 2018-08-28

(本文责编: 曹粤锋)