

四君子汤复方多糖肠道免疫调节作用及其机制研究进展

高蓓蓓, 彭 颖, 李晓波*

上海交通大学药学院, 上海 200240

摘 要: 四君子汤复方多糖是四君子汤中含量最多的成分, 具有肠道免疫调节作用。研究证实其在小肠派式结、肠系膜淋巴结、小肠上皮细胞及肠上皮内淋巴细胞等部位均能产生免疫应答, 但作用机制不明。目前主要认为四君子汤复方多糖可以通过调节肠道菌群和多胺信号通路等发挥肠道免疫作用。总结近年四君子汤复方多糖对肠道免疫调节作用及其机制的相关研究进展, 为深入探究四君子汤复方多糖的免疫作用机制及其临床的合理应用提供参考。

关键词: 四君子汤复方多糖; 肠道免疫; 派式结; 肠系膜淋巴结; 肠上皮细胞; 肠上皮内淋巴细胞; 肠道菌群

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)02-0462-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.02.030

Research progress on intestinal immunoregulation and mechanism of Sijunzi Decoction polysaccharide

GAO Bei-bei, PENG Ying, LI Xiao-bo

School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

Abstract: Sijunzi Decoction polysaccharide (SJZDP) is the active component contributing to the function of intestinal immunoregulation, which is the highest content in Sijunzi Decoction. SJZDP can activate immunological response in peyer's patch, mesenteric lymph nodes, intestinal epithelial cells and intestinal intraepithelial lymphocytes, but the mechanism is unknown. The reported mechanisms of SJZDP's intestinal immunoregulation activity are related to its regulation of intestinal flora and polyamine signaling pathway. This review is to give a comprehensive summary of information regarding the intestinal immunoregulation of SJZDP and mechanism to help us take the action for reasonable clinical utilization and further researches.

Key words: Sijunzi Decoction polysaccharide; intestinal immunoregulation; peyer's patch; mesenteric lymph nodes; intestinal epithelial cells; intestinal intraepithelial lymphocytes; intestinal flora

四君子汤出自宋代《太平惠民和剂局方》^[1], 由人参、白术、茯苓、炙甘草组成, 具有益气健脾的功效, 是治疗脾胃气虚的基本方, 临床常用于脾虚证的治疗。脾虚证是中医临床常见证候。中医认为脾为后天之本, 气血生化之源, 与机体的免疫功能 and 营养状况密切相关^[2]。“脾为之卫”理论与肠道免疫具有一致性, 其中卫气抵御外邪与现代医学免疫系统的免疫防御相一致。卫气由脾胃运化的水谷精微所滋养, 脾对卫气的充盈及其功能的维持具有重要作用, 所以有“脾为之卫”之说。卫气循行于皮肤、黏膜等体表, 类似肌表屏障。就消化道而言, 与现代医学中肠道黏膜免疫理论相吻合^[3]。脾虚证

的病机和临床表现与肠道黏膜免疫受损的某些病症, 如溃疡性结肠炎、炎症性肠病等有相似之处, 由此可见脾虚证与肠道免疫关系密切^[4]。

研究证实, 四君子汤具有免疫调节作用, 对细胞免疫、体液免疫、神经内分泌系统有广泛的作用^[5], 其可恢复脾虚大鼠肠黏膜功能^[6-8]、修复溃疡性结肠炎所致的肠黏膜屏障受损等^[9-10]。四君子汤中含量最多的成分群为多糖, 作为四君子汤的主要水溶性成分, 其多糖成分的免疫调节活性是目前的研究热点。近年来大量研究表明四君子汤复方多糖(Sijunzi Decoction polysaccharide, SJZDP)具有肠道免疫调节作用。研究表明^[11-17], 四君子汤复方多糖对免疫

收稿日期: 2017-06-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目: 四君子汤多糖的肠道菌群介导免疫作用发挥机制及物质基础研究(81473318)

作者简介: 高蓓蓓, 研究生, 研究方向为生药学。Tel: (021)34204805 E-mail: beibeigao@sjtu.edu.cn

*通信作者 李晓波 Tel: (021)34204806 Fax: (021)34204804 E-mail: xbli@sjtu.edu.cn

系统损伤具有不同程度的恢复作用,对免疫损伤模型的免疫器官/组织(如脾脏、肠道组织等)、免疫器官/组织中免疫细胞的细胞水平(如 CD3⁺、CD19⁺、IgA⁺ 细胞等)、免疫细胞分泌的细胞因子[如白细胞介素(IL-2)、分泌型免疫球蛋白 A (sIgA) 等]均具有一定改善作用。但是,由于多糖的强极性和高相对分子质量导致其脂溶性差、不易通过生物膜、难于被机体吸收,多糖分离纯化以及结构研究难度较大,故其作用机制始终未能明确。据报道口服四君子汤复方多糖对免疫功能的影响强于注射给药^[18],但是多糖的口服生物利用度低,提示了四君子汤复方多糖可能通过激活肠道局部免疫从而影响系统免疫^[19]。本文系统整理了四君子汤复方多糖对肠道免疫调节作用及其机制的相关研究,为深入探究四君子汤复方多糖的免疫作用机制及其临床的合理应用提供参考。

1 四君子汤复方多糖化学结构及含量研究

目前对四君子汤复方多糖化学结构及含量的研究,主要集中于其总糖及总糖经纯化后组分的糖含量分析及单糖组成分析,而对于均一多糖的单糖连接点形式及糖苷键类型的研究报道较少。由于不同文献报道的四君子汤复方总糖制备工艺不同,糖含量的测定结果也不同,如刘玉红^[20]采用热水提取、4 倍乙醇沉淀获得四君子汤复方总糖,得率为 8.08%;蒽酮硫酸法测得总糖的质量分数为 61.44%,由总糖的质量分数折合成四君子汤复方中多糖的质量分数为 4.97%。周帅飞等^[21]采用超声提取,4 倍乙醇沉淀,

Sevag-酶法脱蛋白获得四君子汤复方总糖,得率为 16.16%;苯酚硫酸法测得总糖的质量分数为 80.27%,折合成四君子汤复方中多糖的质量分数为 12.97%。Liu 等^[22]对四君子汤复方总糖进行了单糖组成分析,主要含有葡萄糖和半乳糖以及少量的阿拉伯糖、鼠李糖、木糖、甘露糖和果糖(表 1)。Wang 等^[23]将四君子汤复方总糖经 DEAE-52 纤维素柱纯化,获得 3 个主要 NaCl 梯度洗脱组分(S-1、S-2、S-3),结果显示洗脱组分随着 NaCl 浓度升高糖含量减少、糖醛酸含量及蛋白含量升高,且 3 个主要组分的单糖组成有较大差异,但均为葡萄糖含量最高(表 1)。祝晨蓀等^[24]从四君子汤复方总糖中纯化得到 2 个均一多糖 SJZPS-Vb-1、SJZPS-Vb-2,均由葡萄糖、半乳糖和甘露糖组成,但单糖物质的量比不同;总糖含量测定发现 SJZPS-Vb-2 的糖含量高于 SJZPS-Vb-1; SJZPS-Vb-1 糖醛酸 11.3%,而 SJZPS-Vb-2 只检测到极少量的糖醛酸,说明二者都是弱酸性多糖(表 1)。甲基化分析结果表明 SJZPS-Vb-1 及 SJZPS-Vb-2 的组成单糖中,末端、C-4、C-6 及 C-4 或 C-6 位分支的甘露糖残基数目基本相当,而半乳糖的连接位点则有较大差别。SJZPS-Vb-1 中末端、C-3 或 6 位分支的半乳糖残基数目相当,且占较大比例,而 C-1、4 位连接的半乳糖残基则为痕量。SJZPS-Vb-2 中 C-1、4 位连接的半乳糖残基占较大比例,而 C-1、6 位连接的半乳糖残基则为痕量。四君子汤复方多糖化学结构鉴定有待更多深入的研究。

表 1 四君子汤复方多糖的化学成分研究
Table 1 Components and properties of SJZDP

样品来源		多糖/%	糖醛酸/%	蛋白质/%	相对分子质量	单糖组成及物质的量比
四君子汤复方总糖 ^[22]		51.8	—	34.0	—	Glc : Gal : Ara : Rha : Xyl : Man : Fru=44.61 : 33.96 : 10.85 : 5.26 : 4.84 : 0.46 : 0.02
四君子汤复方	S-1	99.0	0.5	0.2	—	Ara : Man : Glc : Gal=0.8 : 4.4 : 93.1 : 1.6
总糖经DEAE纯化 ^[23]	S-2	87.5	1.7	3.4	—	Rha : Ara : Man : Glc : Gal=1.4 : 5.3 : 1.6 : 83.5 : 8.1
	S-3	67.5	10.0	11.2	—	Rha : Ara : Xyl : Man : Glc : Gal=7.3 : 10.1 : 2.6 : 5.2 : 55.6 : 19.1
四君子汤复方	SJZPS-Vb-1	76.4	11.3	6.3	38 000	Glc : Gal : Man=1 : 0.46 : 2.15
总糖经DEAE及 Sephadex G-200 纯化 ^[24]	SJZPS-Vb-2	97.1	0.9	1.4	26 000	Glc : Gal : Man=1 : 1.41 : 4.18

“—” 未报道

“—”unreported

2 四君子汤复方多糖对肠道免疫的调节作用

四君子汤多糖活性的研究多以复方总糖为研究对象, 仅有少量对四君子汤复方总糖分离纯化后进行肠道免疫活性研究的报道。祝晨蓀等^[24]以环磷酸腺苷致免疫抑制小鼠溶血素生成反应的影响为药效评价指标, 筛选出四君子汤复方多糖免疫活性部位, 从该部位分离得到 2 个均一多糖 SJZPS-Vb-1 和 SJZPS-Vb-2, 但未对均一多糖活性进行研究。邓娇等^[25]和涂小华等^[26-27]研究四君子汤多糖对 IEC-6 细胞迁移过程的影响, 所采用的研究对象为四君子汤复方总糖经 DEAE-cellulose52 纤维素柱分离纯化的水洗脱部位多糖及该部位经葡聚糖凝胶纯化后的均一多糖, 表明四君子汤多糖经不同纯化步骤后, 糖

含量和纯度得到提高, 药效活性随之增强。

肠道免疫是肠道除消化吸收功能外的另一主要功能, 肠道免疫占全身免疫功能的 70%, 在免疫防御中起重要作用^[28]。肠道免疫系统按解剖和功能可分为诱导部位和效应部位^[29]。肠道免疫的诱导部位主要在肠上皮细胞 (iEC)、派氏结 (PP)、肠系膜淋巴结 (MLN); 效应部位主要在上皮内基底膜上的肠上皮内淋巴细胞 (IEL) 和固有层的淋巴细胞 (LPL)。近年来各学者对四君子汤复方多糖肠道免疫调节作用的实验研究发现, 四君子汤复方多糖在肠道免疫的诱导部位及效应部位均能产生免疫应答, 推测四君子汤复方多糖经口服到达肠腔后, 激活了肠道免疫的诱导部位和效应部位, 发挥肠道免疫作用 (图 1)。

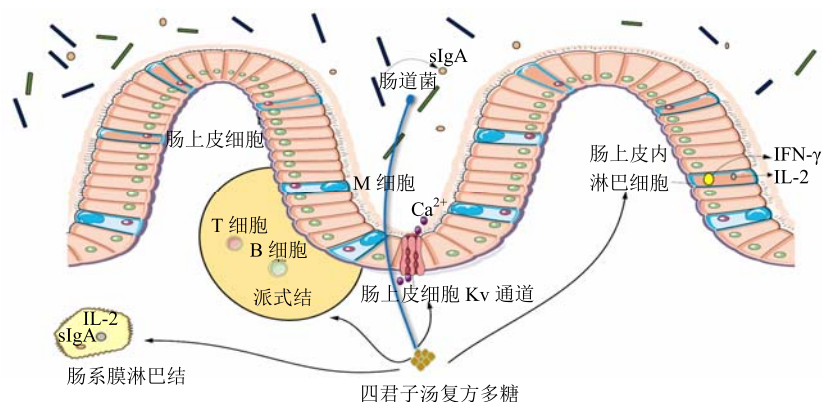


图 1 四君子汤复方多糖对肠道免疫调节作用的相关机制

Fig. 1 Intestinal immunoregulation and mechanism of SJZDP

2.1 调节肠道免疫系统诱导部位

四君子汤复方多糖可以作用于肠道免疫诱导部位, 恢复肠道免疫受损小鼠 PP 和 MLN 中淋巴细胞亚群的比例以及细胞因子分泌水平, 促进小肠上皮细胞的增殖和迁移。

2.1.1 作用于 PP PP 沿小肠纵向分布, 是诱导肠特异性免疫的主要场所, 其肠腔表面由滤泡相关上皮覆盖, 中心区域富含 B 细胞, 常含有生发中心, 滤泡中间分布有 T 细胞, PP 中淋巴细胞大多数是 B 细胞^[30]。PP 数量和形态的变化可以反映肠道免疫功能的状态。四君子汤复方总糖可以恢复肠道免疫受损小鼠的 PP 个数、PP 内淋巴细胞的数量和亚群的比例至正常水平。刘良等^[12]发现环磷酸腺苷诱导肠黏膜相关淋巴组织损伤的小鼠在 ig 给予四君子汤总糖后, PP 数量基本恢复至正常水平, 细胞凋亡特异性染色表明给药 7 d 后 PP 的细胞凋亡有一定程度的减轻。张大鹏等^[13]研究发现四君子汤总多糖是通过

提高 Bcl-2 蛋白的表达进而对抗环磷酸腺苷导致的 PP 淋巴细胞凋亡。张大鹏等^[14]、杨瑛等^[15]发现 ig 四君子汤复方总糖可以明显对抗环磷酸腺苷所致的免疫抑制小鼠 PP 中 CD3⁺细胞比例上升和 CD19⁺细胞比例下降。潘华新等^[16]研究表明四君子汤复方总糖能提高化疗荷瘤小鼠 PP 中 B 淋巴细胞的比例和活化水平, 改善化疗所致的肠道黏膜免疫损伤。上述研究表明四君子汤复方总糖经口服给药可以作用于肠道免疫诱导部位的 PP, 具有一定程度改善肠黏膜免疫功能的作用。

2.1.2 作用于 MLN MLN 作为肠黏膜免疫的重要诱导部位, MLNs 淋巴细胞中 IL-2 和 sIgA 的分泌水平从一定程度上反映出肠黏膜免疫的功能^[31]。四君子汤复方总糖能够改善免疫抑制小鼠肠道免疫功能障碍, 恢复肠道免疫受损小鼠 MLN 内淋巴细胞亚群的正常比例以及促进 IL-2 和 sIgA 的分泌。潘华新等^[16]和王丽红等^[17]研究了四君子汤复方总

糖对化疗所致荷瘤小鼠肠黏膜的保护作用,发现四君子汤复方总糖能促进 MLN 分泌 IL-2,增加肠道 sIgA 的分泌量,降低化疗荷瘤小鼠 MLNs 中 CD4⁺/CD8⁺ 的值,改善化疗对荷瘤小鼠所致的肠道免疫损伤。杨瑛等^[15]也发现 ig 四君子汤复方总糖可以明显对抗环磷酰胺所致的免疫抑制小鼠 MLN 中 CD3⁺ 细胞比例上升和 CD19⁺ 细胞比例下降。

2.1.3 作用于肠上皮细胞 小肠上皮细胞除具有消化吸收、交换营养作用外,还具有摄取和释放 sIgA、提呈抗原、分泌细胞因子等调节肠黏膜免疫应答的作用^[4]。小肠上皮细胞在国际上已广泛用于胃肠黏膜损伤修复的研究^[32]。四君子汤复方总糖具有促进小肠上皮细胞增殖及迁移的作用,有利于胃肠黏膜损伤修复。Liu 等^[22]研究发现,四君子汤复方总糖可以促进受损肠上皮细胞的再生和重建。韩凌等^[33]采用体外细胞迁移模型,观察四君子汤复方总糖、复方中各单味药多糖对 IEC-6 细胞迁移的影响,发现四君子汤复方总糖对促进 IEC-6 细胞迁移的效果优于复方中各单味药多糖。韩凌等^[34]采用拆方的研究思路发现四君子汤中各单味药多糖对小肠上皮细胞的增殖作用存在差异,茯苓多糖具有明显的促进细胞增殖的作用,甘草多糖与党参多糖作用不显著,而白术多糖则对细胞增殖具有明显的抑制作用,当采用每两味多糖组合时,所有两组多糖作用强度远不如四君子汤总多糖,提示了四君子汤复方总糖的作用可能是各单味药多糖综合作用的结果,中药复方用药具有一定的合理性。

2.2 调节肠道免疫系统效应部位

iIEL 是肠道免疫的效应部位,是人体内最大的淋巴细胞群,人类的 iIEL 90% 以上为 T 细胞,不到 6% 为 sIgA⁺ B 细胞以及少量的 NK 细胞^[35]。小肠上 iIEL 具有分泌细胞因子等多种功能,在受到相应刺激时可被激活,在肠道免疫中起着重要的作用。四君子汤复方总糖及经纯化后的多糖部位可以提高免疫抑制小鼠及脾虚小鼠 iIEL 细胞因子的表达。张大鹏等^[11]研究发现四君子汤复方总糖和四君子汤去蛋白总糖可升高环磷酰胺免疫抑制小鼠 iIEL 中 γ 干扰素 (IFN- γ) 和 IL-2 浓度,增加 CD69⁺ 细胞比例,提高环磷酰胺抑制的小鼠肠上皮间淋巴细胞的免疫功能。Wang 等^[23]研究表明,四君子汤复方总糖经 DEAE-52 分离后的 0.3 mol/L NaCl 洗脱部位多糖 S-3 可显著升高脾虚大鼠 iIEL 中 CD4⁺/CD8⁺ 值。CD69⁺ 是 T 细胞活化时最早表达的分子之一; IL-2

主要由活化的 T 细胞产生,以自分泌与旁分泌方式作用于局部的靶细胞,是参与免疫应答的重要细胞因子,具有明显的免疫效应; IFN- γ 主要由活化的 T 细胞产生,其主要作用是一种免疫调节分子,促进 T 细胞和 B 细胞的分化; CD4⁺ 和 CD8⁺ 比值的大小反映了机体免疫功能的强弱。这些研究提示了 iIEL 可能是四君子汤多糖成分发挥肠道黏膜免疫调节功能的主要作用靶点之一。

3 四君子汤复方多糖肠道免疫作用机制研究

许多学者通过不同的研究思路试图阐明四君子汤复方多糖发挥免疫作用的机制。但由于受多糖不易被机体吸收等限制,尚不能明确其作用机制。目前主要认为四君子汤多糖可以通过调节肠道菌群和多胺信号通路等发挥肠道免疫作用。这些研究思路对深入探究四君子汤复方多糖肠道免疫作用机制有重要意义。

3.1 调节肠道菌群

肠道菌群与机体免疫之间的关系极为密切。正常的肠道免疫屏障能对来自黏膜表面的各种抗原作出正确反映^[36]。一旦肠道菌群和肠道免疫平衡被打破,肠道免疫就失去对正常菌群某些抗原的耐受,诱发疾病的产生^[2]。双歧杆菌/大肠杆菌 (B/E) 可反映肠道细菌的定植抗力,即肠道正常菌群提供的对致病菌和潜在致病菌在肠道中定植和增殖的抵抗性^[37],也反映肠道菌群的平衡状态。由此可见,肠道微生态平衡是肠道免疫发挥正常功能的基础。四君子汤复方总糖可以恢复肠道菌群的失调。吴秀等^[19]研究发现,脾虚小鼠肠道 B/E 值降低,双歧杆菌、乳酸杆菌、脆弱拟杆菌及大肠杆菌数量升高,经四君子汤复方总糖治疗后,菌落数及 B/E 值趋于恢复正常,且高剂量 2g/kg 作用趋势更明显,有剂量依赖关系。唐华羽等^[38]研究证明四君子汤复方总糖能纠正脾虚小鼠肠道菌群的失调。此外,有文献表明肠道 sIgA 的分泌也受肠道菌群的影响^[39],肠道菌群不仅影响分泌型浆细胞 IgA⁺ 的发育及功能,且 sIgA 的产生还必须有肠道共生菌的刺激。sIgA 在防止病原微生物及其毒素产物通过黏膜进入机体等方面起着重要作用,其含量的变化直接反映着机体黏膜的局部免疫状态^[40]。吴秀等^[19]和唐华羽等^[38]研究结果均显示四君子汤复方总糖可以使脾虚小鼠 sIgA 分泌水平的降低恢复到正常水平。以上研究提示四君子汤复方多糖免疫作用的机制可能与多糖对肠道菌群的调节有关。

3.2 调节小肠上皮细胞多胺调控信号通路

上皮细胞迁移是胃肠黏膜损伤修复的关键环节之一,多胺调控信号是上皮细胞迁移的重要调控途径。小肠上皮细胞电压门控钾通道(Kv通道)的激活必须有多胺参与,增加细胞内多胺则激活Kv通道,导致细胞膜超极化,增强了 Ca^{2+} 内流驱动力而提高细胞内 Ca^{2+} 水平,后者增加了RhoA蛋白活性,使Rho激酶激活,增加肌球蛋白轻链磷酸化,从而刺激应力纤维形成和细胞迁移^[31]。涂小华等^[26]研究发现四君子汤多糖可通过提高细胞多胺含量、激活钾通道、增加细胞膜电位超极化,从而提高 Ca^{2+} 内流驱动力以促进小肠上皮细胞迁移。另一项研究^[27]发现四君子汤复方多糖可通过促进 Ca^{2+} 内流和提高钙库释放 Ca^{2+} 2种途径,提高细胞内游离钙离子水平而促进小肠上皮细胞迁移。这两项研究表明四君子汤多糖促进小肠上皮细胞迁移与其作用于多胺调控信号通路有关,而钙离子调控是该通路的关键指标,也是四君子汤多糖发挥肠道免疫药理作用的重要靶点。

3.3 其他作用机制

中药的药效作用是通过多途径、多靶点整体协同发挥的。采用基因芯片技术、中药代谢组学技术从整体药效作用上找到了四君子汤多糖可以调节的相关功能基因以及所影响的相关代谢途径。韩凌等^[41]将与小肠上皮细胞的细胞周期、细胞激素、细胞能量代谢、受体、信号传导、转录因子和管家基因等2048条cDNA以及对照基因cDNA制成基因芯片,检测小肠上皮细胞经四君子汤复方多糖作用后的基因表达谱的变化。结果表明,四君子汤复方多糖引起的小肠上皮细胞株IEC-6表达谱下调的基因共68个,上调基因共55个,其中主要涉及细胞增殖分化、细胞间黏附、细胞发育以及参与免疫应答基因。许家珍等^[42]采用LC-MS技术采集血清中内源性物质数据,用偏最小二乘判别分析(PLS-DA)方法对实验数据进行分析,共筛选出5种内源性标记物,鉴定为花生四烯酰基甘氨酸、花生四烯酰基丝氨酸、十四酰基肉碱、3-羟基棕榈酰基肉碱、D-2-氨基辛酸。这些内源性标记物在四君子汤多糖组小鼠体内较脾虚模型组均有不同程度地恢复,均涉及激素调控、神经递质的合成与降解等,但其代谢通路有待进一步研究。

4 结语与展望

现有研究证明四君子汤复方多糖具有肠道免疫

活性,激活了肠道免疫诱导部位与效应部位的免疫应答。但目前的研究尚不能从分子水平上阐明肠道免疫应答的作用机制以及肠道免疫与系统免疫间相互作用的机制。近年来随着对信号通路研究的深入,基因芯片技术、代谢组学等技术的发展,对四君子汤复方多糖免疫作用机制的研究从局部到整体水平进行了探索,确定了其肠道免疫作用的部分靶点、相关的免疫应答基因以及所影响的体内代谢通路,为四君子汤复方多糖免疫作用机制的深入研究打下了基础。

对四君子汤复方多糖的进一步研究可从以下几个方面入手:(1)进一步探究四君子汤复方多糖发挥肠道免疫活性物质基础是由复方煎煮过程产生的还是单味药材中的多糖发挥作用。(2)高效、大量地分离富集均一多糖目前仍具有挑战性,均一多糖结构复杂、得率低,未见对于均一多糖富集工艺考察的报道,对均一多糖开展体内活性研究有一定的限制。(3)结合新的研究方法和技术探讨免疫、肠道菌群、多糖代谢物的相互作用,对口服四君子汤复方多糖的免疫调节机制进行多元综合探究,可以更好地为临床应用提供参考。

参考文献

- [1] 刘景源整理. 太平惠民和剂局方 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1985.
- [2] 彭颖, 李晓波. 脾虚证与肠道微生态 [J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(34): 3287-3291.
- [3] 刘杰民, 蔺晓源, 王敏, 等. 基于肠道黏膜免疫的“脾为之卫”理论探讨 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2013, 19(4): 460.
- [4] 韩凌. 四君子汤总多糖对大鼠小肠上皮细胞株IEC-6细胞功能的影响 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2002.
- [5] 纪云飞, 王瑞君, 李晓波. 复方四君子汤的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(5): 837-843.
- [6] 成映霞, 段永强, 梁玉杰, 等. 四君子汤对脾气虚大鼠小肠黏膜SDH, LDH活性和细胞因子免疫应答平衡的影响 [J]. 中药材, 2015, 38(9): 1929-1932.
- [7] 黄丽花, 王素军, 钟运鸣, 等. 四君子汤对脾虚大鼠空肠黏膜的修复及对葡萄糖吸收的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(3): 94-97.
- [8] 张博. 脾虚大鼠肠黏膜屏障功能变化及四君子汤对其影响的实验研究 [D]. 大连: 辽宁中医药大学, 2014.
- [9] 黄婧渝, 农辉, 裴美, 等. 四君子汤对溃疡性结肠炎小鼠模型肠黏膜屏障的作用机制 [J]. 世界华人消化杂志, 2015, 23(27): 4326-4334.
- [10] Yu W, Lu B, Zhang H, et al. Effects of the Sijunzi decoction on the immunological function in rats with

- dextran sulfate-induced ulcerative colitis [J]. *Biomed Rep*, 2016, 5(1): 83-86.
- [11] 张大鹏, 周 联, 张志敏, 等. 四君子汤复方总多糖对小鼠肠上皮间淋巴细胞的免疫调节作用 [J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(3): 204-206.
- [12] 刘 良, 周 华, 王培训, 等. 四君子汤复方总多糖对小鼠肠道黏膜相关淋巴组织的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2001, 17(4): 204-206.
- [13] 张大鹏, 周 联, 张志敏, 等. 四君子汤复方总多糖对肠黏膜 Peyer's 结细胞凋亡的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(6): 529-532.
- [14] 张大鹏, 周 联, 张志敏, 等. 四君子汤总多糖对免疫抑制小鼠肠道 sIgA 的影响及其机制研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(1): 11-14.
- [15] 杨 瑛, 王 青, 周 联, 等. 小鼠 PP, MLN 和 ILN 中 CD3⁺, CD19⁺ 细胞组成差异及四君子汤总多糖对其影响 [J]. 现代免疫学, 2008(5): 390-393.
- [16] 潘华新, 王丽虹, 罗 霞, 等. 四君子汤总多糖对化疗荷瘤小鼠脾脏和派氏结及肠系膜淋巴细胞的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(4): 438-440.
- [17] 王丽虹, 罗 霞, 潘华新, 等. 四君子汤总多糖对化疗荷瘤小鼠肠黏膜和整体免疫损伤的保护作用 [J]. 广州中医药大学学报, 2012, 29(6): 669-672.
- [18] 周 华, 刘 良, 王培训, 等. 四君子汤复方总多糖口服和注射给药对免疫功能影响的对比研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2001, 12(3): 206-209.
- [19] 吴 秀, 周 联, 罗 霞, 等. 四君子汤多糖对脾虚小鼠肠道菌群及免疫功能的影响 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(2): 12-14.
- [20] 刘玉红. 四君子汤中多糖的提取和含量测定 [J]. 亚太传统医药, 2009, 5(2): 43-44.
- [21] 周帅飞, 刘玉红. 四君子汤复方多糖超声提取及脱蛋白工艺优化 [J]. 山东中医杂志, 2015(2): 134-136.
- [22] Liu L, Han L, Wong D Y L, et al. Effects of Si-Jun-Zi decoction polysaccharides on cell migration and gene expression in wounded rat intestinal epithelial cells [J]. *Brit J Nutr*, 2005, 93(1): 21-29.
- [23] Wang R, Peng Y, Meng H, et al. Protective effect of polysaccharides fractions from Sijunzi decoction in reserpine-induced spleen deficiency rats [J]. *RSC Adv*, 2016, 6(6): 60657-60665.
- [24] 祝晨蓁, 桂蜀华, 王培训, 等. 四君子汤免疫活性部位多糖 SJZPS-Vb-1~2 的分离纯化及理化性质研究 [J]. 中药材, 2003, 26(10): 751-753.
- [25] 邓 娇, 李茹柳, 蔡佳仲, 等. 四君子汤多糖分离纯化对 IEC-6 细胞迁移药效活性的影响 [J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2016, 18(4): 600-606.
- [26] 涂小华, 李茹柳, 邓 娇, 等. 四君子汤多糖对 IEC-6 细胞迁移, 钾通道蛋白及膜电位的影响 [J]. 中药材, 2016, 39(4): 856-862.
- [27] 涂小华, 李茹柳, 邓 娇, 等. 四君子汤多糖对小肠上皮细胞迁移多胺信号通路钙离子调控的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(5): 1665-1673.
- [28] 颜美秋, 陈素红, 吕圭源. 石斛“厚肠胃”相关功效药理学研究及应用进展 [J]. 中草药, 2016, 47(21): 3918-3924.
- [29] 范 骏. 肠道黏膜免疫 [J]. 国际免疫学杂志, 2006, 29(2): 111-115.
- [30] Newberry R D, Lorenz R G. Organizing a mucosal defense [J]. *Immunol Rev*, 2005, 206(1): 6-21.
- [31] Knop E, Knop N, Claus P. Local production of secretory IgA in the eye-associated lymphoid tissue (EALT) of the normal human ocular surface [J]. *Invest Ophthalmol Visual Sci*, 2008, 49(6): 2322-2329.
- [32] 汪建英. 肠上皮快速复原过程中的细胞信号传递: 多胺和 K⁺ 通道的影响 [J]. 生理学报, 2003, 55(4): 365-372.
- [33] 韩 凌, 王培训, 危建安, 等. 四君子汤总多糖及单味药多糖对大鼠小肠上皮细胞株 IEC-6 细胞迁移作用的比较研究 [J]. 浙江中医杂志, 2006, 41(9): 523-525.
- [34] 韩 凌, 王培训, 韩 冰. 四君子汤总多糖及各单味药多糖对大鼠小肠上皮细胞株 IEC-6 细胞增殖的影响 [J]. 中国药物与临床, 2005, 5(7): 496-499.
- [35] 徐凯进, 李兰娟. 肠道正常菌群与肠道免疫 [J]. 国外医学: 流行病学, 传染病学分册, 2005, 32(3): 181-183.
- [36] 王友湘, 陈庆森. 益生菌和肠道黏膜免疫关系的研究进展 [J]. 食品科学, 2007, 28(8): 537-542.
- [37] 沈定树, 陈素云. 肠道微生态与定植抗力 [J]. 中国微生态学杂志, 2012, 24(12): 1150-1152.
- [38] 唐华羽, 李玉芝, 李长德, 等. 四君子汤总多糖对小鼠肠道菌群及免疫功能的影响 [J]. 陕西中医, 2016, 37(12): 1688-1691.
- [39] Ivanov I I, Honda K. Intestinal commensal microbes as immune modulators [J]. *Cell Host Microbe*, 2012, 12(4): 496-508.
- [40] 王旭霞, 王景杰, 朱少君, 等. 肠道 SIgA 含量的变化与溃疡性结肠炎相关性的分析研究 [J]. 西南国防医药, 2007, 17(6): 698-700.
- [41] 韩 凌, 王培训, 危建安, 等. 四君子汤总多糖对大鼠小肠上皮细胞 IEC-6 基因表达谱影响的研究 [J]. 中药材, 2008, 31(12): 1875-1878.
- [42] 许家珍, 周帅飞, 贾 伟, 等. 四君子汤复方多糖对脾虚小鼠血清代谢组学的影响 [J]. 山东中医杂志, 2016(10): 905-908.