

四君子汤对无水乙醇诱导的小鼠急性胃肠黏膜损伤的保护作用

饶廷彩¹, 李 静¹, 童 话¹, 余 晓², 王璐璐², 章笑甜², 刘 骅³, 张骏艳^{1*}

1. 安徽医科大学 基础医学院 药理学教研室, 安徽 合肥 230032

2. 安徽医科大学 药学院, 安徽 合肥 230032

3. 安徽省食品药品检验研究院, 安徽 合肥 230051

摘要: 目的 研究四君子汤对乙醇诱导的小鼠急性胃肠黏膜损伤的保护作用。方法 将60只小鼠随机分为6组:对照组、模型组、奥美拉唑(阳性药, 4 mg·kg⁻¹)组和四君子汤低、中、高剂量(4、6、8 g·kg⁻¹)组, 每组10只, 连续ig给药14 d后, 在造模前全部小鼠禁食禁水24 h, 末次给药1 h后, 除对照组外, 其余各组小鼠每只ig无水乙醇10 mL·kg⁻¹诱发急性胃肠黏膜损伤。造模1 h后, 脱颈椎处死小鼠后开腹, 取出胃及十二指肠, 观察胃黏膜的损伤情况并拍照, 分析小鼠胃黏膜损伤分数、治疗指数; HE染色观察胃及十二指肠黏膜病理组织学变化; 试剂盒法检测血清丙二醛(MDA)、总超氧化物歧化酶(SOD)水平; Western blotting法检测胃肠组织白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-10(IL-10)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)蛋白表达水平。结果 胃黏膜损伤评价结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠胃黏膜有明显出血带; 与模型组比较, 各用药组小鼠胃黏膜损伤有不同程度的改善, 损伤分数均显著降低($P < 0.05, 0.001$), 四君子汤高剂量组治疗效果最好, 治疗指数达到72.54%, 与阳性药奥美拉唑治疗效果相当。HE染色结果显示, 模型组小鼠胃及十二指肠腺体排列紊乱, 黏膜上皮细胞大量坏死、脱落, 四君子汤发挥明显改善作用。与模型组比较, 四君子汤中、高剂量组以及奥美拉唑组小鼠血清中MDA水平显著下降($P < 0.001$)、SOD活性显著升高($P < 0.05, 0.001$), 胃及十二指肠组织IL-1 β 、TNF- α 蛋白表达显著下降($P < 0.05, 0.01, 0.001$), IL-10蛋白表达显著增加($P < 0.01$)。结论 四君子汤可能通过抑制炎症和抗氧化应激反应对乙醇诱导的小鼠急性胃肠黏膜损伤发挥保护作用。

关键词: 四君子汤; 急性胃肠黏膜损伤; 无水乙醇; 炎症; 氧化应激

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 03-0538-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.03.009

Protective effect of Sijunzi Decoction on anhydrous ethanol-induced acute gastrointestinal mucosal injury in mice

RAO Tingcai¹, LI Jing¹, TONG Hua¹, YU Xiao², WANG Lulu², ZHANG Xiaotian², LIU Hua³, ZHANG Junyan¹

1. Department of Pharmacology, School of Basic Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

2. Department of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

3. Anhui Institute for Food and Drug Control, Hefei 230051, China

Abstract: Objective To study the protective effect of Sijunzi Decoction on acute gastrointestinal mucosal injury induced by ethanol in mice. **Methods** Sixty Kunming mice were randomly divided into control group, model group, omeprazole (positive drug, 4 mg·kg⁻¹) group, Sijunzi Decoction low, medium, high dose group (4, 6, and 8 g·kg⁻¹), with 10 mice in each group. After 14 days of continuous ig administration, all mice were fasting and water abstention for 24 h before modeling. After 1 h of last administration, except the control group, other mice in each group were given anhydrous ethanol of 10 mL·kg⁻¹ ig to induce acute gastrointestinal mucosal injury. One hour after the model was made, the mice were killed by cervical spondylosis, and then the stomach and duodenum were taken out. The injury of gastric mucosa was observed and photographed, and the injury score and treatment index of gastric mucosa were analyzed. HE staining was used to observe the histopathological changes of gastric and duodenal mucosa. The serum levels of malondialdehyde (MDA) and total superoxide dismutase (SOD) were detected by the kit method. Detection of interleukin-1 β (IL-1 β), Interleukin-10 (IL-10) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) protein expression level in gastrointestinal tissue by Western blotting. **Results** The evaluation results of gastric mucosal injury showed that, compared with control group, the mice in

收稿日期: 2022-11-04

基金项目: 安徽省高校自然科学基金项目(KJ2019A0226); 2020年安徽省大学生创新创业训练计划项目(S202010366003)

第一作者: 饶廷彩, 女, 硕士研究生, 研究方向为心血管和胃肠道药理学。E-mail: 2351894608@qq.com

*通信作者: 张骏艳, 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为心血管和胃肠道药理学。E-mail: zjy404.student@sina.com

the model group had obvious bleeding bands in the gastric mucosa. Compared with the model group, the gastric mucosal injury of mice in each drug group was improved to different degrees, and the injury score was significantly reduced ($P < 0.05, 0.001$), and the high dose group had the best treatment effect with a treatment index of 72.54%, which was comparable to the treatment effect of the positive drug omeprazole. HE staining results show that, the arrangement of gastric and duodenal glands in the model group of mice was disordered, and the mucosal epithelial cells were necrotic and detached in large numbers. Sijunzi Decoction could improve the anhydrous ethanol-induced gastrointestinal mucosal injury in mice. Compared with model group, the level of MDA in serum of mice in the middle and high dose groups of Sijunzi Decoction and omeprazole groups decreased significantly ($P < 0.001$), the activity of SOD increased significantly ($P < 0.05, 0.001$), and the protein expression level of IL-1 β and TNF- α in gastric and duodenal tissues decreased significantly ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), and the expression of IL-10 protein increased significantly ($P < 0.01$). **Conclusion** Sijunzi Decoction has protective effect on ethanol-induced acute gastrointestinal mucosal injury in mice by inhibiting inflammatory response and anti-oxidative stress response.

Key words: Sijunzi Decoction; acute gastrointestinal mucosal injury; absolute ethyl alcohol; inflammation; oxidative stress

胃肠道黏膜是保护机体免受损伤的一道屏障,将细菌、毒素、药物刺激等侵袭因素阻挡在外,在正常生理或病理条件下,均起着重要的作用。当黏膜屏障被破坏时,其对细菌、毒素等的阻挡功能丧失,人体就会发生胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡、肠道感染等胃肠道疾病甚至诱发机体其他脏器发生病变^[1]。胃肠道黏膜屏障一旦被破坏,机体自身存在的保护和修复机制被快速启动,其修复过程包括细胞迁移、增殖、分化等,使机体氧化应激和炎症水平等发生一定的变化^[2]。因此,临床上可以通过检测相关指标来确定患者病情,有助于胃肠道疾病的诊断和治疗^[3]。

四君子汤,出自宋代《太平惠民和剂局方》,4味药材(人参、白术、茯苓、炙甘草)按照原方比例1:1:1:1经水煎煮、浓缩得到四君子汤药汁^[4-5]。其中君药人参补脾胃之气,臣药白术燥湿健脾,佐药茯苓健脾利水渗湿,使药炙甘草调和药材、中和益气^[6]。四味中草药相辅相成,不偏不盛,主治脾胃气虚,可以不同程度的改善脾胃气虚患者的胃肠道功能紊乱症状。临床上四君子汤治疗消化系统之脾胃气虚多见于胃肠道功能障碍、肠易激综合征、结肠炎、消化性溃疡、消化道出血、胃肠道肿瘤等。有研究表明,四君子汤合煎剂和分煎剂中主要化学成分存在差异,且在检出的共有峰中含煎剂的提取率大于分煎剂。可能是合煎过程中各种药材成分存在化学反应,利于成分间的增溶作用^[7]。因此本研究采用将4味药材合煎制备四君子汤水煎液用于实验研究。本研究中由党参代替人参,党参中主要药用成分为党参炔苷,功效侧重于补中益气、生津补血,有研究认为胃肠黏膜损伤是脾胃气虚的重要病理改变之一^[8]。在现代快节奏的生活中,大多数人由于生活和工作带来的巨大压力经常饮食不规律或应

酬饮酒等导致脾胃受损、脾气不足,日积月累诱发种种症状^[9]。因此,本研究采用无水乙醇诱发小鼠急性胃肠黏膜损伤模型,评估四君子汤对小鼠急性胃肠黏膜损伤的保护作用,为四君子汤在临床上的应用提供更完备的证据。

1 材料

1.1 动物

60只清洁级雄性昆明种小鼠,体质量(25±5)g,购自北京维生河实验动物科技有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(京)2016-0011。饲养于安徽医科大学动物实验中心,饲养期间和预给药期间小鼠均自由摄食和饮水。本研究得到安徽医科大学实验动物伦理委员会授权批准(批准编号LLSC20200248),小鼠在实验动物中心受到人道主义关怀。

1.2 中药材及主要试剂

党参、白术、茯苓购自甘肃省岷县和泰中药材有限公司;甘草购自甘肃省渭源县会川世鸿中药材农民专业合作社,经安徽省食品药品检验研究院副主任药师刘骅鉴定均符合《中国药典》2020年版标准;奥美拉唑肠溶胶囊(批号220798)购自湖南迪诺制药有限公司;白细胞介素-10(IL-10,货号bs-0698R)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α ,货号bs-0078R)抗体购自北京博奥森生物科技有限公司;IL-1 β (货号12242S)抗体购自Cell Signaling Technology; β -actin(批号19C10511)、辣根酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L)(批号206370407)和辣根酶标记山羊抗兔IgG(H+L)(批号202700408)购自北京中杉金桥生物技术有限公司;丙二醛(MDA)测定试剂盒(货号A003-1-2)和总超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒(货号A001-3)购自南京建成生物工程研究所。

1.3 四君子汤水煎液制备^[7]及奥美拉唑的配制

将党参(80 g)、白术(80 g)、茯苓(80 g)、炙甘草(80 g)剪碎后放入砂锅中,加入1 000 mL纯水将药材淹没,煎煮至剩余500 mL药液,滤出药渣重复煎煮1次,合并2次的滤液使用旋转蒸发仪浓缩至100 mL。阳性药奥美拉唑胶囊内容物用生理盐水溶解配制,现配现用。

2 方法

2.1 实验分组及动物造模

将60只小鼠随机分为6组:对照组、模型组、奥美拉唑(阳性药,4 mg·kg⁻¹)组和四君子汤低、中、高剂量(4、6、8 g·kg⁻¹)组^[10],每组10只,饲养及造模过程中无死亡。各组小鼠在适应性喂养1周后开始按分组ig给药,对照组ig生理盐水。连续ig 14 d后,在造模前全部小鼠禁食禁水24 h,末次给药1 h后,除对照组外,其余各组小鼠每只ig无水乙醇10 mL·kg⁻¹诱发急性胃肠黏膜损伤^[11]。

2.2 小鼠胃黏膜损伤评价

造模1 h后,脱颈椎处死小鼠后开腹,取出胃及十二指肠。胃部沿胃大弯剪开,用生理盐水洗净胃内容物,充分展开胃黏膜,观察胃黏膜的损伤情况并拍照。计算胃黏膜损伤指数,根据已报道的计分方法^[12]稍加修改:测量胃黏膜出血长度,大于1 mm者,每1 mm计1分;长和宽均大于1 mm者,按长×宽面积计分;点状出血(长和宽均小于1 mm)者每一个点计0.5分。以损伤指数计算四君子汤的治疗指数^[13],评估四君子汤对急性胃黏膜损伤的保护作用。

治疗指数=(模型组损伤指数-用药组损伤指数)/模型组损伤指数

2.3 小鼠胃肠道病理组织学检测

各组小鼠取胃部同一部位组织,用4%多聚甲醛固定,脱水、透明、石蜡包埋后切片,行苏木精-伊红(HE)染色,最后于光学显微镜下观察各组小鼠胃组织病理组织学改变。小鼠十二指肠组织处理同胃组织。

2.4 小鼠血清中氧化应激反应指标检测

各组小鼠在处死前用气体短暂吸入麻醉后迅速摘眼球取血,血液于冰上静置30 min后离心(4 000 r·min⁻¹、10 min),离心后吸取上清,以硫代巴比妥酸(TBA)法检测MDA水平;WST-1法检测总SOD活性。

2.5 小鼠胃及十二指肠组织中炎症相关蛋白表达的测定

将胃或十二指肠组织置于裂解液中充分裂解、

提取蛋白质,蛋白变性前采用BCA蛋白测定试剂盒检测蛋白质浓度,然后以100 °C变性10 min,冷却保存。蛋白印迹(Western blotting)法检测蛋白表达:根据蛋白相对分子质量选择合适的分离胶进行凝胶电泳,开始以75 V电压电泳,待marker完全分开后调节电压至120 V继续电泳;电泳结束后以电流200 mA将蛋白转移到PVDF膜上,根据相对分子质量调节转膜时间;转膜结束后将PVDF膜于5%牛奶中封闭1 h后孵育对应一抗过夜(一抗与稀释液比例为1:1 000);第2天取出PVDF膜,用TBST液洗3次,每次10 min;然后室温孵育相对应二抗1 h(二抗与稀释液比例为1:5 000),TBST液洗3次,每次10 min;显影保存图像,用Image J软件计算蛋白灰度值,并进行统计学分析。

2.6 统计学分析

采用SPSS 20.0软件进行统计学分析,所有数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析(One-Way-Anova)进行统计,两组间比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 四君子汤对小鼠乙醇诱导胃黏膜损伤的影响及治疗指数

将小鼠的胃沿胃大弯剪开,用生理盐水洗净胃内容物,充分展开胃壁,见图1。对照组小鼠胃黏膜表面光滑,未见充血、糜烂等损伤现象;模型组小鼠胃黏膜肉眼可见明显出血带,损伤面积大且程度严重;与模型组比较,四君子汤低剂量组可见出血带,但与模型组比较有所改善,中、高剂量组及奥美拉唑组可见部分出血点,以上各用药组与模型组比较,小鼠胃黏膜损伤均有所改善。

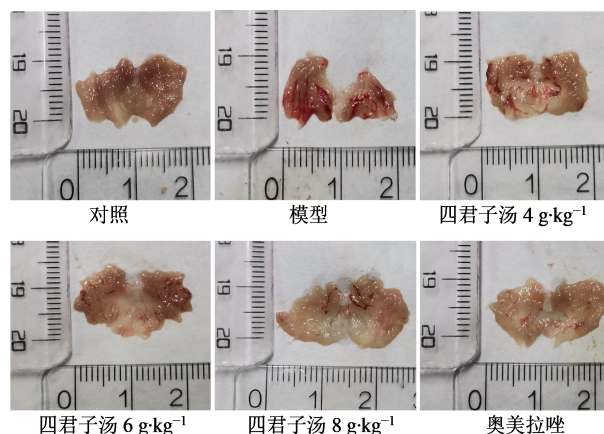


图1 四君子汤对无水乙醇诱导的小鼠胃肠黏膜损伤病理变化的影响

Fig. 1 Effect of Sijunzi Decoction on pathological changes of gastrointestinal mucosal injury induced by anhydrous alcohol in mice

小鼠胃黏膜损伤指数统计见表1。对照组小鼠胃黏膜未见损伤;模型组损伤较严重,损伤指数为 46.438 ± 13.141 ;与模型组比较,各用药组小鼠胃黏膜损伤有不同程度的改善,损伤指数均显著降低($P < 0.05, 0.001$),四君子汤低、中剂量组治疗指数分别为28.40%、53.97%,而高剂量组治疗效果最好,达到72.54%,与阳性药奥美拉唑治疗效果相当。结果表明,四君子汤对小鼠急性胃黏膜损伤的保护作用呈剂量相关性。

3.2 四君子汤对小鼠胃及十二指肠病理组织形态学的影响

小鼠完整胃壁结构共有4层,黏膜层、黏膜下层、肌层和浆膜层;十二指肠依次是黏膜层、黏膜下层、肌层和外膜。如图2所示,对照组胃及十二指肠黏膜结构完整,腺体排列规则,轮廓清晰,未见细胞脱落、坏死等损伤现象。与对照组比较,模型组小鼠胃及十二指肠腺体排列紊乱,黏膜上皮细胞大量坏死、脱落,出现炎症细胞浸润(图中箭头所指)。

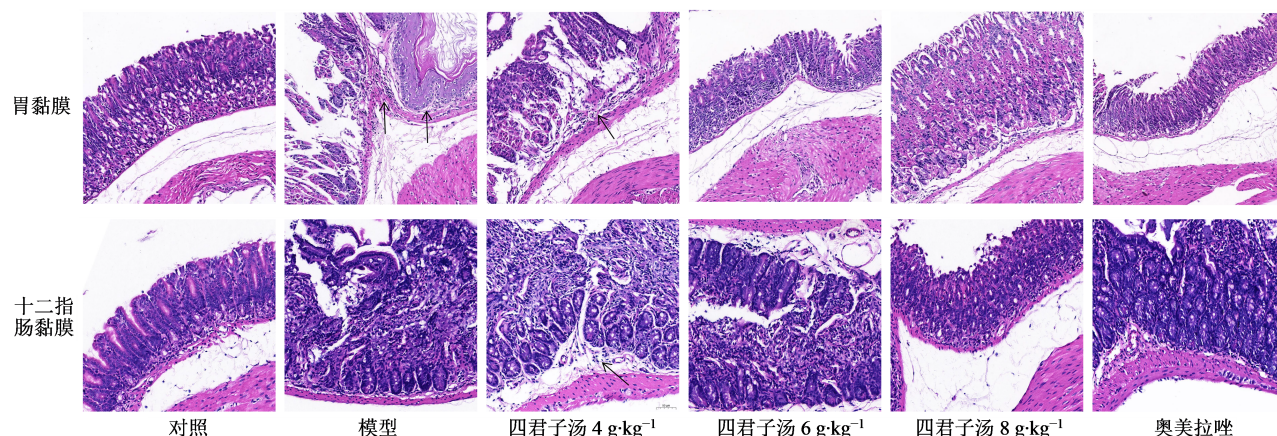


图2 四君子汤对小鼠胃($\times 150$)及十二指肠($\times 200$)病理组织形态学的影响

Fig. 2 Effect of Sijunzi Decoction on histopathology of stomach ($\times 150$) and duodenum ($\times 200$) of mice

3.3 四君子汤对乙醇诱导的急性胃肠黏膜损伤小鼠血清中氧化应激指标的影响

结果如表2所示,与对照组比较,模型组小鼠血清中MDA水平显著上升($P < 0.001$),SOD活性显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,四君子汤低剂量组无明显统计学差异,而中、高剂量组以及奥美拉唑组小鼠血清中MDA水平显著下降($P < 0.001$),SOD活性显著升高($P < 0.05, 0.001$)。结果表明,四君子汤可以降低小鼠急性胃肠黏膜损伤引起的氧化应激水平。

3.4 四君子汤对乙醇诱导的急性胃肠黏膜损伤小鼠的胃肠组织炎症相关蛋白表达的影响

与对照组比较,模型组小鼠胃及十二指肠组织

表1 小鼠胃黏膜损伤指数及四君子汤治疗指数($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Gastric mucosa injury fraction and therapeutic index of Sijunzi Decoction in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	损伤指数	治疗指数/%
对照	—	0	—
模型	—	$46.438 \pm 13.141^{***}$	—
四君子汤	4	$33.250 \pm 10.278^{\#}$	28.40
	6	$21.375 \pm 9.273^{###}$	53.97
	8	$12.750 \pm 3.882^{###}$	72.54
奥美拉唑	0.004	$11.500 \pm 8.332^{###}$	71.74

与对照组比较:*** $P < 0.001$;与模型组比较: $^{\#}P < 0.05$ $^{###}P < 0.001$

*** $P < 0.001$ vs control group; $^{\#}P < 0.05$ $^{###}P < 0.001$ vs model group

与模型组比较,四君子汤低剂量组小鼠胃及十二指肠黏膜损伤情况均有所改善,中、高剂量组以及奥美拉唑组黏膜损伤显著改善,腺体排列规则有序,炎症细胞浸润减少。结果表明,四君子汤可以逆转无水乙醇诱导的小鼠胃肠黏膜损伤引起的病理组织形态学改变。

表2 各组小鼠血清中氧化应激指标含量变化($\bar{x} \pm s, n=9$)

Table 2 Changes of serum oxidative stress indexes of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)
对照	—	11.85 ± 1.26	22.22 ± 1.40
模型	—	$16.65 \pm 1.46^{***}$	$20.64 \pm 0.26^{**}$
四君子汤	4	14.68 ± 2.82	20.58 ± 0.49
	6	$12.53 \pm 1.63^{###}$	$21.06 \pm 0.42^{\#}$
	8	$11.54 \pm 1.79^{###}$	$21.90 \pm 0.55^{###}$
奥美拉唑	0.004	$11.22 \pm 1.52^{###}$	$21.78 \pm 0.60^{###}$

与对照组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$;与模型组比较: $^{\#}P < 0.05$ $^{###}P < 0.001$

** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; $^{\#}P < 0.05$ $^{###}P < 0.001$ vs model group

中的炎症因子IL-1 β 、TNF- α 蛋白表达显著增加($P<0.01, 0.001$), IL-10蛋白表达显著降低($P<0.01$); 与模型组比较, 四君子汤中、高剂量组和奥美拉唑组胃及十二指肠组织IL-1 β 、TNF- α 蛋白表达显著下降($P<0.05, 0.01, 0.001$), IL-10蛋白表达显著增加($P<0.01$)。结果表明, 在无水乙醇诱发的小鼠胃肠黏膜损伤过程中, 炎症因子IL-1 β 和TNF- α 表达增多, 而抗炎因子IL-10的表达则降低, 共同参与胃肠道炎症的发生发展过程。四君子汤可以降低IL-1 β 和TNF- α 的表达, 升高IL-10的表达水平, 从而减轻胃肠道炎症反应, 起到胃肠道保护作用。结果见图3、表3。

4 讨论

本研究旨在探讨四君子汤对小鼠急性胃肠黏膜损伤的影响, 结果表明, 四君子汤对乙醇诱发的小鼠急性胃肠黏膜损伤有保护作用。胃肠黏膜损伤可以由诸多因素引起, 如酒精摄入、幽门螺旋杆菌感染、药物损伤、应激性因素等^[14-15]。现代社会的人们由于过大的精神压力、不洁的饮食和大量饮酒

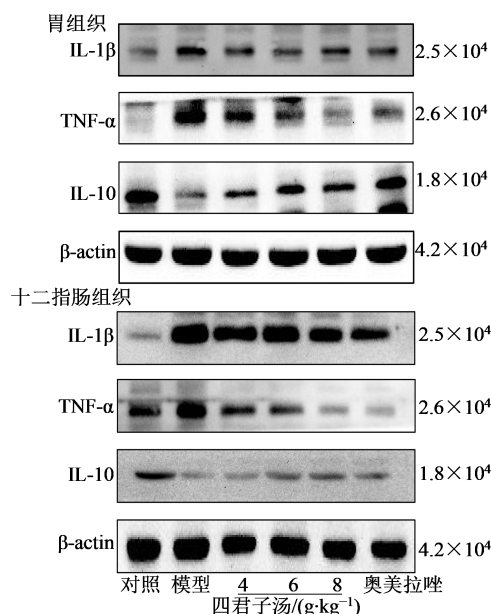


图3 各组小鼠胃及十二指肠组织中炎症相关因子蛋白的表达

Fig. 3 Expression of protein content of inflammation-related factors in stomach and duodenum of mice in each group

表3 各组小鼠胃及十二指肠组织中炎症相关因子的蛋白表达($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Protein expression of inflammation-related factors in gastric and duodenum tissues of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	胃组织			十二指肠组织		
		IL-1 β / β -actin	TNF- α / β -actin	IL-10/ β -actin	IL-1 β / β -actin	TNF- α / β -actin	IL-10/ β -actin
对照	—	0.31 $\pm$ 0.03	0.55 $\pm$ 0.22	1.04 $\pm$ 0.07	0.23 $\pm$ 0.02	0.45 $\pm$ 0.10	0.72 $\pm$ 0.06
模型	—	0.83 $\pm$ 0.06***	1.18 $\pm$ 0.03**	0.65 $\pm$ 0.06**	0.89 $\pm$ 0.07***	0.91 $\pm$ 0.08**	0.45 $\pm$ 0.04**
四君子汤	4	0.64 $\pm$ 0.07 [#]	1.04 $\pm$ 0.09	0.78 $\pm$ 0.19	0.83 $\pm$ 0.05	0.82 $\pm$ 0.03	0.45 $\pm$ 0.01
	6	0.50 $\pm$ 0.08 ^{##}	0.84 $\pm$ 0.06 ^{##}	0.83 $\pm$ 0.14	0.67 $\pm$ 0.09 [#]	0.66 $\pm$ 0.06 [#]	0.63 $\pm$ 0.07 [#]
	8	0.48 $\pm$ 0.09 ^{##}	0.57 $\pm$ 0.11 ^{###}	0.97 $\pm$ 0.11 [#]	0.60 $\pm$ 0.07 ^{##}	0.28 $\pm$ 0.07 ^{###}	0.65 $\pm$ 0.03 ^{##}
奥美拉唑	0.004	0.56 $\pm$ 0.03 ^{##}	0.74 $\pm$ 0.21 [#]	0.80 $\pm$ 0.02 [#]	0.57 $\pm$ 0.09 ^{##}	0.26 $\pm$ 0.06 ^{###}	0.66 $\pm$ 0.09 [#]

与对照组比较: ** $P<0.01$ *** $P<0.001$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ ^{###} $P<0.001$

^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$ vs control group; [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ ^{###} $P<0.001$ vs model group

等耗伤脾胃之气, 致使较大比例人群处于脾胃气虚型亚健康状态。无水乙醇是被广泛应用于动物实验中引起胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡等胃肠道疾病的外部侵袭因素^[16-18], 对应临床上由于工作应酬、压力宣泄等原因喝酒致胃肠道出血病症。通过ig给予小鼠大剂量无水乙醇, 使其产生典型的乙醇性胃肠黏膜损伤症状, 主要特征为胃肠黏膜出血性病变、大量炎症细胞浸润、上皮细胞坏死脱落等^[19]。无水乙醇对小鼠胃肠黏膜的损伤分为直接损伤和间接损伤, 直接损伤是直接引起胃肠黏膜内皮血管紊乱, 而间接损伤是通过募集组织中的白细胞, 升高各种促炎因子水平刺激炎症的发生发展^[20]。

MDA和SOD是一对反映机体氧化应激水平的指标。MDA含量是反映机体抗氧化潜在能力的重要参数, 能间接反映组织或细胞过氧化损伤的程度; SOD是一种抗氧化剂, 在组织或细胞损伤中起保护作用^[21]。实验结果显示, 无水乙醇能显著提高小鼠血清中MDA含量, 降低SOD活性, 证实无水乙醇能诱发小鼠胃肠黏膜氧化应激损伤。而四君子汤及奥美拉唑各用药组与模型组比较, MDA含量降低, SOD活性升高, 证明四君子汤可以部分通过抗氧化应激反应保护小鼠胃肠黏膜免受损伤。

本研究结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠胃黏膜有大量出血性病变, 胃及十二指肠黏膜HE

染色显示细胞腺体排列紊乱无序、上皮细胞坏死脱落、间质有大量炎症细胞浸润,反映了无水乙醇对小鼠胃肠黏膜的直接损伤作用。实验结果显示胃及十二指肠组织中促炎因子IL-1 β 和TNF- α 蛋白表达升高,而IL-10是一种抗炎因子,其蛋白表达与IL-1 β 和TNF- α 则相反,证实了无水乙醇诱发胃肠黏膜损伤的间接作用。而四君子汤及奥美拉唑各用药组在一定程度上改善了小鼠胃肠黏膜出血症状、减少上皮细胞坏死脱落及间质炎症细胞浸润、降低促炎因子IL-1 β 和TNF- α 的蛋白表达、提高抗炎因子IL-10的蛋白表达,提示四君子汤可以部分通过抑制炎症反应对小鼠胃肠黏膜损伤起保护作用。

早在20世纪70年代,就有研究者关注到四君子汤对胃肠道(包括调节胃肠道运动、促进胃肠道营养物质的消化吸收等)的影响^[22]。近年来,国内外对于中医药领域的研究越来越重视,四君子汤作为调理胃肠道功能和防治消化系统各类疾病的经典方剂,自然备受关注。四君子汤治疗胃肠道损伤的机制逐渐清晰明朗,主要包括促进胃肠黏膜上皮细胞迁移与增殖^[23]、抗氧化应激反应^[24]、抑制炎症反应^[25-26]、抑制细胞凋亡^[27]、改善胃肠道菌群分布等^[28]。本实验研究通过无水乙醇诱导小鼠急性胃肠道损伤模拟临床上由于过度饮酒引起胃肠道出血症状,进一步验证四君子汤通过抑制胃肠道炎症反应和提高抗氧化应激水平来改善无水乙醇诱导的急性胃肠黏膜损伤,为四君子汤在临床上的使用提供更完备的证据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Harpaz N, Polydorides A D. Upper gastrointestinal manifestations of inflammatory bowel disease [J]. Surg Pathol Clin, 2020, 13(3): 413-430.
- [2] Liu J M, Wang J D, Shi Y L, et al. Short chain fatty acid acetate protects against ethanol-induced acute gastric mucosal lesion in mice [J]. Biol Pharm Bull, 2017, 40(9): 1439-1446.
- [3] 邱书瑾, 鱼涛. 四君子汤联合大承气汤灌肠干预重症胃肠道功能障碍及血清学指标分析 [J]. 山西医药杂志, 2018, 47(22): 2698-2701.
- [4] Qiu S J, Yu T. Intervention of Sijunzi Decoction combined with Dachengqi Decoction enema on severe gastrointestinal dysfunction and serological index analysis [J]. Shanxi Med J, 2018, 47(22): 2698-2701.
- [5] 涂小华, 杨光勇, 杨欣, 等. 四君子汤含药血清对IEC-6细胞增殖及RhoA、p21、Cdk2表达的影响 [J]. 中成药, 2022, 44(7): 2125-2131.
- [6] Tu X H, Yang G Y, Yang X, et al. Effects of Sijunzi Decoction-medicated serum on IEC-6 cell proliferation and RhoA, p21 and Cdk2 expressions [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(7): 2125-2131.
- [7] 李朵璐, 张待娣, 杨盟, 等. 四君子汤提取物对人乳腺癌MDA-MB-468细胞生长的抑制作用 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 1037-1043.
- [8] Li D L, Zhang D D, Yang M, et al. Inhibition of Sijunzi Decoction extract on human breast cancer cells MDA-MB-468 [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(4): 1037-1043.
- [9] 刘琳, 李岩. 四君子汤对胃肠道药理作用的研究进展 [J]. 医学综述, 2019, 25(5): 990-994.
- [10] Liu L, Li Y. Research progress in pharmacological effects of decoction of four mild drugs on gastrointestinal tract [J]. Med Recapitul, 2019, 25(5): 990-994.
- [11] 吴林菁, 钱海兵, 王祥培, 等. 四君子汤合煎和分煎提取物的指纹图谱比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12): 94-97.
- [12] Wu L J, Qian H B, Wang X P, et al. Fingerprint comparison of extracts of Sijunzi Tang made by decocting single and together [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2012, 18(12): 94-97.
- [13] 曹小玉, 杨智梅, 彭成. 四君子颗粒抗脾虚动物胃肠细胞损伤的研究 [J]. 成都中医药大学学报, 2000, 23(3): 32-33, 64.
- [14] Cao X Y, Yang Z M, Peng C. The function of resistance gastro-intestinal cellular damage of "si- Jun-zi" Granula to splenic Asthenia animal model [J]. J Chengdu Univ Tradit Chin Med, 2000, 23(3): 32-33, 64.
- [15] 张婷, 孙贵香, 肖丹, 等. 四君子汤治疗脾胃气虚证的研究进展 [J]. 江西中医药大学学报, 2020, 32(1): 114-118.
- [16] Zhang T, Sun G X, Xiao D, et al. Research progress of Sijunzi Decoction in treating syndrom of qi deficiency syndrom of spleen and stomach [J]. J Jiangxi Univ Tradit Chin Med, 2020, 32(1): 114-118.
- [17] 黄立权, 张志荣, 江荣林, 等. 四君子汤对气虚型急性胃肠功能损伤小鼠小肠Cajal间质细胞及黏膜上皮跨膜蛋白claudin-2、occludin表达的影响 [J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(6): 685-688.
- [18] Huang L Q, Zhang Z R, Jiang R L, et al. Effects of Sijunzi Decoction on the intestinal mucosal interstitial cells of Cajal and transmembrane proteins claudin-2 and occluding expression in acute gastrointestinal impairment mouse of qi-deficiency [J]. J Hunan Univ Chin Med, 2020, 40(6): 685-688.
- [19] 朱丽娜, 刘贤武, 徐芳, 等. 五种不同基源石斛对小鼠胃肠黏膜损伤的保护作用及机制研究 [J]. 中药与临床,

- 2012, 3(1): 7-10.
- Zhu L N, Liu X W, Xu F, et al. The protective effect of five different species of *Hera Dendmbii* on gastric mucosal injury in mice and its mechanism [J]. Pharm Clin Chin Mater Med, 2012, 3(1): 7-10.
- [12] Ren S C, Wei Y, Wang R L, et al. Rutaecarpine ameliorates ethanol-induced gastric mucosal injury in mice by modulating genes related to inflammation, oxidative stress and apoptosis [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 600295.
- [13] 宋厚盼, 陈小娟, 曾梅艳, 等. 基于Raf/MEK/ERK信号通路探讨黄芪建中汤治疗大鼠脾胃虚寒型十二指肠溃疡的作用机制 [J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(8): 1093-1100.
- Song H P, Chen X J, Zeng M Y, et al. Experimental study on the effect of Huangqi Jianzhong Decoction on duodenal ulcer in rats by inhibiting raf/MEK/ERK signaling pathway [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2021, 32(8): 1093-1100.
- [14] Yang Y, Yin B, LV L, et al. Gastroprotective effect of aucubin against ethanol-induced gastric mucosal injury in mice [J]. Life Sci, 2017, 189: 44-51.
- [15] Karaboğa İ, Ovalı M A, Yılmaz A, et al. Gastroprotective effect of apricot kernel oil in ethanol-induced gastric mucosal injury in rats [J]. Biotech Histochem, 2018, 93 (8): 601-607.
- [16] Chang Y, Tian Y, Zhou D, et al. Gentiopicroside ameliorates ethanol-induced gastritis via regulating MMP-10 and pERK1/2 signaling [J]. Int Immunopharmacol, 2021, 90: 107213.
- [17] Beiranvand M, Bahramikia S. Ameliorating and protective effects mesalazine on ethanol-induced gastric ulcers in experimental rats [J]. Eur J Pharmacol, 2020, 888: 173573.
- [18] Paliwal P, Kumar A S, Tripathi H, et al. Pharmacological application of Barium containing bioactive glass in gastro-duodenal ulcers [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2018, 92: 424-434.
- [19] Gazzieri D, Trevisani M, Springer J, et al. Substance P released by TRPV1-expressing neurons produces reactive oxygen species that mediate ethanol-induced gastric injury [J]. Free Radic Biol Med, 2007, 43(4): 581-589.
- [20] Rao S A, Arfah S, Muhammad S, et al. Oxyresveratrol ameliorates ethanol-induced gastric ulcer via downregulation of IL-6, TNF- α , NF- κ B, and COX-2 levels, and upregulation of TFF-2 levels [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 110: 554-560.
- [21] Zhao Y L, Zhou C M, Guo X Q, et al. Exposed to mercury-induced oxidative stress, changes of intestinal microflora, and association between them in mice [J]. Biol Trace Elem Res, 2021, 199(5): 1900-1907.
- [22] 王建华. 四君子汤对动物离体小肠运动的影响(一) [J]. 新中医, 1978, 10(5): 53-55.
- Wang J H. Effect of Sijunzi Decoction on isolated small intestine movement of animals (1) [J]. New J Tradit Chin Med, 1978, 10(5): 53-55.
- [23] 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.
- Han L, Wang P X, Han B. Total polysaccharide or four separate polysaccharides from Sijunzi Decoction to influence intestinal epithelial cell-6 proliferation in rat's intestinal epithelium [J]. Chin Remedies Clin, 2005, 5(7): 496-499.
- [24] Oliveira A P, Souza L K M, Araújo T S L, et al. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 protects against gastric damage induced by ethanol administration in mice: Role of TRPV1/substance P axis [J]. Nutrients, 2019, 11 (1): 208.
- [25] Yu W G, Lu B, Zhang H W, 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.
- [26] Wang T, Feng Y Y, Wang H S, et al. The mechanisms of sijunzi decoction in the treatment of chronic gastritis revealed by network pharmacology [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020, 2020: 8850259.
- [27] Lu Y, Lin H J, Zhang J W, et al. Sijunzi Decoction attenuates 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis in rats and ameliorates TNBS-induced claudin-2 damage via NF- κ B pathway in Caco2 cells [J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17(1): 35.
- [28] 张羽, 黄美祯, 潘春曲, 等. 四君子汤有效化学成分以及防治消化系统疾病机制研究进展 [J]. 海南医学院学报, doi: 10.13210/j.cnki.jhmu.20210709.001.
- Zhang Y, Huang M Z, Pan C Q, et al. Research progress on effective chemical constituents of Sijunzi Decoction and mechanism of prevention and treatment of digestive system diseases [J]. J Hainan Med Univ, doi: 10.13210/j.cnki.jhmu.20210709.001.

[责任编辑 兰新新]