

素转换酶抑制剂 (ACEI) 或 AT1-R 拮抗剂可抑制这一过程, 用 TGF- β 1 的中和抗体可消除 Ang II 刺激胶原合成增加的作用, 因此, 也可认为 Ang II 促进 ECM 的合成作用是通过 TGF- β 1 介导完成的^[17,18]。

本实验结果表明, 苦参碱可以抑制 I、III 胶原蛋白的合成, 具有抑制心室重构的作用, 其机制可能与对 RAAS、ANP 及 TGF- β 1 的调节有关, 而确切的作用机制, 还有待于进一步的研究。

另外, 本研究结果显示, 心室重构模型组大鼠的 HR 明显加快、SBP 明显升高, 说明腹主动脉缩窄导致心脏后负荷的增加, 为心室重构模型成功的主要原因。心室重构模型组大鼠的 LVEDP 有一定程度升高, $\pm dp/dt_{\max}$ 降低, 说明模型组大鼠已经显示有一定心力衰竭的初期特征, 但还不是特别典型。本实验发现苦参碱能明显降低腹主动脉缩窄致心室重构大鼠的 HR、SBP, 同时显著升高 $\pm dp/dt_{\max}$, 因此, 不能排除苦参碱对血流动力学的改善在一定程度上对抑制心室重构的发生发展也起到了作用。但结合本实验的数据分析, 苦参碱对神经内分泌因子的影响可能是抑制心室重构作用更主要的因素。

References:

- [1] Hu Y C, Ouyang J P, Li Y Q, *et al.* Effects of matrine on cell cycle and expression of PCNA of rat cardiac fibroblasts induced by aldosterone [J]. *Med J Wuhan Univ* (武汉大学学报: 医学版), 2004, 25(3): 224-227.
- [2] Wu K, Ouyang J P, Wang B H, *et al.* Influence of matrine on the proliferation and collagen synthesis of cultured neonatal rat cardiac fibroblast stimulated by angiotensin I [J]. *Med J Wuhan Univ* (武汉大学学报: 医学版), 2003, 24(3): 235-237.
- [3] Doering C W, Jalil J E, Janicki J S, *et al.* Collagen network remodeling and diastolic stiffness of rat left ventricle with pressure overload hypertrophy [J]. *Cardiovasc Res*, 1988, 22: 686-695.
- [4] Brilla C G, Janicki J S, Weber K T. Impaired diastolic function and coronary reserve in genetic hypertension [J]. *Circ Res*, 1991, 69(7): 107-115.
- [5] Morgan H E, Baker K M. Cardiac hypertrophy: mechanical, neural, and endocrine dependence [J]. *Circulation*, 1991, 83: 13-25.
- [6] Baker K M, Aceto J F. Angiotensin I stimulation of protein synthesis and cell growth in chick heart cells [J]. *Am J Physiol*, 1990, 258: H610-H618.
- [7] Dostal D E, Baker K M. Angiotensin I stimulation of left ventricular hypertrophy in adult rat heart: mediation by the AT₁ receptor [J]. *Am J Hypertens*, 1992, 5: 276-280.
- [8] Weber K T, Brilla C G. Pathological hypertrophy and the cardiac interstitium: fibrosis and the renin-angiotensin-aldosterone system [J]. *Circulation*, 1991, 83: 1849-1865.
- [9] Sadoshima J I, Izumo S. Molecular characterization of angiotensin I-induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts [J]. *Circ Res*, 1993, 73: 413-423.
- [10] Suttner S W, Boldt J. Natriuretic peptide system: physiology and clinical utility [J]. *Curr Opin Crit Care*, 2004, 10(5): 338-341.
- [11] Campbell S E, Ktaw L C. Glucose kinetics and exercise performance during phases of the menstrual cycle: effect of glucose ingestion [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1997, 29: 1947-1958.
- [12] Sadoshima J, Izumo S. Molecular characterization of angiotensin I induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts. Critical role of the AT₁ receptor subtype [J]. *Circ Res*, 1993, 73: 413-423.
- [13] Kawano H, Do Y S, Kawano Y, *et al.* Angiotensin I has multiple profibrotic effects in human cardiac fibroblasts [J]. *Circulation*, 2000, 101: 1130-1137.
- [14] Campbell S E, Janicki J S, Weber K T. Temporal differences in fibroblast proliferation and phenotype expression in response to chronic administration of angiotensin I and aldosterone [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1995, 27: 1545-1560.
- [15] Booz G W, Baker K M. Molecular signaling mechanisms controlling growth and function of cardiac fibroblasts [J]. *Cardiovasc Res*, 1995, 30: 537-543.
- [16] Brand T, Schneider M D. The TGF beta superfamily in myocardium: ligands, receptors, transduction, and function [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1995, 27: 5-18.
- [17] Watson S, Burnside T, Carer W. Angiotensin I stimulated collagen contraction by heart fibroblasts: role of the AT₁ receptor and tyrosine kinase activity [J]. *J Cell Physiol*, 1998, 177(2): 224-231.
- [18] Fukuda N, Hu W Y, Kubo A, *et al.* Abnormal regulation of transforming growth factor- β 1 receptors on vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats by Angiotensin I [J]. *Hypertension*, 1998, 31(3): 672-677.

不同剂量四君子汤对脾虚证小鼠消化和免疫功能的影响

王 璐^{1,2}, 高云芳^{1*}, 姚 洋¹

(1. 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069; 2. 第四军医大学唐都医院 妇产科, 陕西 西安 710038)

摘要:目的 探讨四君子汤对脾虚证小鼠消化和免疫功能的影响及治疗用最佳药物剂量。方法 大黄酒液制备小鼠脾虚证模型后, 以 3 种剂量 (12.5、25、37.5 g/kg) 的四君子汤进行治疗, 测定小鼠体重、体温、消化道内食糜平均滞留时间、胃排空速率、胃泌素与胃动素水平、脾脏和胸腺脂数。结果 脾虚证小鼠体重增长缓慢, 体温降低、消

收稿日期: 2006-09-25

基金项目: 陕西省自然科学基金资助项目 (DH98273); 陕西省教育厅重点科研基金资助项目 (00JK009)

作者简介: 王 璐 (1980—), 女, 陕西宝鸡人, 硕士研究生, 从事药理学研究。

* 通讯作者 高云芳 Tel: (029) 88303935 E-mail: gaoyunf@nwwu.edu.cn

化道内食糜平均滞留时间缩短、胃排空加快、胃泌素的量降低、胃动素的量升高,脾脏和胸腺指数降低。3种剂量的四君子汤对脾虚证小鼠以上各指标的变化均有明显的矫正作用,以高剂量效果最佳。结论 高剂量四君子汤(37.5 g/kg)可能为治疗脾虚证小鼠消化及免疫功能紊乱的适宜剂量。

关键词:四君子汤;脾虚证;食糜平均滞留时间;胃排空速率;胃泌素;胃动素

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2007)04-0558-07

Influence of Sijunzi Decoction in various dosages on digestive and immune function of mice with Pi-deficiency syndrome

WANG Jun^{1,2}, GAO Yun-fang¹, YAO Yang¹

(1. College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China; 2. Department of Gynemetrics, Tangdu Hospital, The Forth Military Medical University, Xi'an 710038, China)

Abstract: **Objective** To study the influence and the optimal dosages of Sijunzi Decoction (SJZD) on treating digestive and immune function of mice with Pi-deficiency syndrome (PDS). **Methods** The experimental model of mice with PDS was induced by rhubarb decoction. Then the mice were treated with three dosages of SJZD (12.5, 25, and 37.5 g/kg), respectively. The body weight, body temperature, mean retention time of chyme in digestive tract, gastric emptying velocity, gastrin and motilin levels, and visceral index of mice were measured. **Results** Being compared with the normal group, the PDS mice showed a slower growth of body weight and a lower body temperature, a shorter mean retention time of chyme in digestive tract and faster gastric emptying velocity, a lower gastrin content, and a higher motilin content. Also splenic and thymus indexes were found to follow a downtrend in the PDS mice. Three dosages of SJZD showed a restoration effect on the above all indexes, and the high dosage was the most effective one, especially. **Conclusion** The high dosage (37.5 g/kg) of SJZD possibly is the optimal dosage on treating the digestive and immune diseases of PDS mice.

Key words: Sijunzi decoction (SJZD); Pi-deficiency syndrome (PDS); mean retention time of chyme; gastric emptying velocity; gastrin; motilin

四君子汤历来被视为益气健脾的代表方剂,有关四君子汤提高脾虚证患者的消化吸收能力和增强机体的免疫机能等方面已有较多报道,但关于消化功能的部分指标(如胃泌素、胃动素、胃排空速率等)的研究出现了不一致或相反的结果^[1~4],由于不同学者在研究时采用指标较单一,以胃肠运动为例,有学者仅以胃泌素和胃动素为指标^[1,2],也有学者仅以胃排空速率或胃及小肠运动指数为指标^[3~5],致使各研究结论间的对比、印证及推论难以进行。此外,不同学者在各自的研究中使用了不同剂量的四君子汤,如仅在研究四君子汤对脾虚证大鼠血浆胃动素量的影响方面,就有 10 g/kg^[1]、20 g/kg^[2,6]和 45 g/kg^[3]等多种剂量的应用,致使相互间的研究结论难以进行对比。本课题组曾以四君子汤研究中常用的几种剂量为参考,设计了 3 种剂量的四君子汤(12.5、25、37.5 g/kg),探讨其对脾虚证小鼠(Pi-deficiency syndrome mice, PDS mice)血象和胃酸的影响,结果显示 3 种剂量四君子汤均可显著增加脾虚证小鼠的红细胞数目、血红蛋白量及胃酸分泌量,以高剂量的作用最为显著^[7]。易崇勤等^[8]的研究也表明,不同剂量四君子汤(11、22 g/

kg)在纠正脾虚证小鼠胃肠功能紊乱和调整肝脏能量代谢方面以大剂量四君子汤的治疗效果更好。从本课题组和易崇勤的研究结果来看,高剂量四君子汤对脾虚证小鼠的治疗效果可能要优于低剂量,但由于资料有限,尚不能完全确定四君子汤的最佳用药剂量。基于以上分析,本实验选择了脾虚证小鼠消化道内食糜平均滞留时间、胃排空速率、胃泌素、胃动素、胸腺指数和脾脏指数为指标,观察 3 种不同剂量(12.5、25、37.5 g/kg)四君子汤的影响,从而为系统研究四君子汤对脾虚证小鼠消化及免疫功能的影响及治疗用最佳药物剂量提供实验资料。

1 材料与方法

1.1 主要仪器: TU—1800 型紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); CAP—RIA16 型 γ -计数器(Capintec Inc., 美国)。

1.2 药物及标记物的制备

1.2.1 药物制备: 实验所用各单味中药材均购自西安怡悦大药房,四君子汤以人参、白术、茯苓、甘草按质量比 10:9:9:6 配方。以高云芳等^[7]的方法制备大黄(即生药 1 g/mL)及 0.5、1、1.5 g/mL 3 种质量浓度的四君子汤煎液,置 4℃ 冰箱备用。

1.2.2 Co-EDTA 制备:氯化氨 27 g、15 mol/L 氨水 197 mL,蒸馏水稀释至 500 mL,制成缓冲液 (pH 10.0)。乙二氨四乙酸二钠 11.1 g、乙酸钴 7.74 g 溶于 100 mL 蒸馏水中,制成 0.3 mol/L 的溶液。将此溶液加入上述缓冲液中,调节 pH 值至 10.0,乙酸钴与乙二氨四乙酸二钠即络合成 Co-EDTA。紫外分光光度计在 517 nm 波长下制作 Co-EDTA 的质量浓度-吸光度标准曲线。

1.2.3 酚红-甲基纤维素制备:甲基纤维素 0.15 g 溶于 10 mL 80 °C 蒸馏水中,搅拌制成 1.5% 的溶液,冷却至 37 °C 加入 0.5 mg/mL 酚红溶液 7.5 mL,在 37 °C 下剧烈搅拌 4 h 呈黏稠状,配制后立即使用^[9]。分别取此溶液 0.01、0.02、0.05、0.10、0.15、0.20 mL,按以下步骤处理:①溶于 6 mL 0.1 mol/L NaOH 溶液中;②搅拌 30 s;③室温下静置 30 min;④取上清液 5 mL,加入 20% 三氯乙酸 0.5 mL,2 800 r/min 离心 20 min;⑤取上清液 3 mL 加入 4 mL 0.5 mol/L NaOH。处理后的溶液用紫外分光光度计在 560 nm 波长下制作酚红-甲基纤维素的质量浓度-吸光度标准曲线。

1.3 放免试剂盒:胃泌素试剂盒由北京北方生物技术有限公司提供。胃动素试剂盒由解放军总医院科技开发中心放免所提供。

1.4 动物分组及造模:ICR 小鼠 160 只,体重 (20±2) g,雌雄不拘,由西安交通大学医学院实验动物中心提供。按照体重配对原则,将小鼠随机分为 5 组,正常组、模型组、四君子汤低、中、高剂量组。正常组每日上午 ig 溶媒 (自来水),其余各组 ig 37.5 g/kg 大黄汤以造模,隔天记录小鼠的体重和体温。造模开始后,小鼠体重增长缓慢,体温持续下降。第 9 天造模小鼠的平均体重比正常组小鼠低 12.2% ($P<0.01$),第 10 天造模小鼠的平均体温比正常组小鼠低 6.04% ($P<0.01$)。同时,小鼠出现毛发枯涩、纳呆消瘦、倦怠少动、大便溏泻等“脾虚”症状,因此判断至第 10 天脾虚小鼠造模成功。

造模成功后分组治疗。正常组和模型组每日上午 ig 溶媒,四君子汤低、中、高剂量组分别以 12.5、25、37.5 g/kg 四君子汤进行 ig 治疗,13 d 后进行各项指标的检测。

1.5 指标测定

1.5.1 消化道内食糜平均滞留时间测定:参照文献方法^[10],每组各取 8 只小鼠禁食 24 h 后以 25 mL/kg ig 标记物。给药后开始计时,0~2 h 为第一时段,2~4 h 为第二时段,以此类推。每时段内每只小

鼠的所有粪便视为一个粪样,收集后溶于 3 mL 蒸馏水中,匀质,2 500 r/min 离心 5 min,取上清液用紫外分光光度计在 517 nm 波长下测定每个粪样中标记物的吸光度,对应 Co-EDTA 的质量浓度-吸光度标准曲线计算每个粪样中标记物的量。将每只小鼠每个粪样中标记物的量累加,发现所有小鼠在 ig 后 16 h 内排出的标记物的量均达到 ig 的标记物的 90% 以上,因此认为所有标记物已排出体外,粪便收集停止。根据以下公式计算每只小鼠消化道内食糜的滞留时间 (MRT)。

$$MRT = \frac{\sum_{i=1}^n m_i t_i}{\sum_{i=1}^n m_i}$$

t_i 是指从 ig 开始到第 i 个时段中点的时间 (min), m_i 是在第 i 个时段粪便中标记物的量, n 为时段总个数,MRT 为滞留时间。

1.5.2 胃排空速率测定:参照文献方法^[9],每组各取 8 只小鼠禁食 24 h,以 10 mL/kg ig 标记物酚红-甲基纤维素,30 min 后脱白致死。结扎胃幽门处后取胃,胃外表用生理盐水冲洗,再将胃体浸于 6 mL 0.1 mol/L NaOH 溶液中匀质化 30 s,室温下静置 30 min,取上清液 5 mL,加入 20% 三氯乙酸 0.5 mL,2 800 r/min 离心 20 min,取上清液 3 mL 加入 4 mL 0.5 mol/L NaOH 中。用紫外分光光度计在 560 nm 波长下测定每只小鼠胃中残留标记物酚红-甲基纤维素溶液的吸光度。根据标准曲线计算每组小鼠胃中残留的酚红-甲基纤维素溶液的量。

1.5.3 血清胃泌素和血浆胃动素测定:每组各取 16 只小鼠禁食 24 h 后,摘眼球取血,其中 8 只用于测定血清胃泌素的量,另外 8 只用于测定血浆胃动素的量。测定均采用放射免疫法,步骤依照试剂盒说明进行。

1.5.4 脏器指数测定:每组各取 12 只小鼠脱白致死,称其体重、脾脏和胸腺质量,计算各组小鼠脾脏和胸腺指数。

$$\text{脏器指数} = \frac{\text{脏器质量 (g)}}{\text{体重 (g)}} \times 10$$

1.6 统计方法:用 SPSS 10.0 软件进行单因素方差分析与多重比较,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 不同剂量四君子汤对脾虚证小鼠体重的影响:在治疗期间 (11~23 d),四君子汤不同剂量组小鼠的体重持续快速增长,模型组小鼠的体重增长缓慢。治疗结束后,正常组小鼠的平均体重为 (26.73±5.23) g,模型组小鼠的平均体重较正常组小鼠低 10.77% ($P<0.01$)。四君子汤低、中、高剂量组小鼠的平均体重分别比模型组小鼠高 14.38% ($P<$

0.01)、20.55% 和 21.05% ($P<0.001$)。且四君子汤中、高剂量组小鼠的平均体重较正常组小鼠亦分别高出 7.56% 和 8.01% ($P<0.01$)，见图 1。

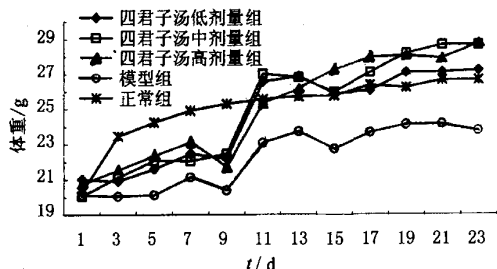


图 1 不同剂量四君子汤对脾虚小鼠体重的影响 ($n=32$)

Fig. 1 Effect of SJZD in various dosages on body weight of PDS mice ($n=32$)

2.2 不同剂量四君子汤对脾虚证小鼠体温的影响：在治疗期间 (11~23 d)，四君子汤不同剂量组小鼠的体温恢复速度明显高于模型组小鼠。治疗结束后，正常组小鼠的平均体温为 (37.30 ± 1.03) $^{\circ}\text{C}$ ，模型组小鼠的平均体温较正常组小鼠低 4.72% ($P<0.01$)。四君子汤低、中、高剂量组小鼠的平均体温分别比模型组小鼠高 5.09%、5.09% 和 5.94% ($P<0.01$)，但与正常组小鼠相比均无显著差异 ($P>0.05$)，见图 2。

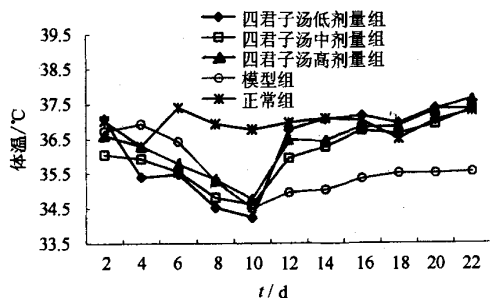


图 2 不同剂量四君子汤对脾虚小鼠体温的影响 ($n=32$)

Fig. 2 Effect of SJZD in various dosages on body temperature of PDS mice ($n=32$)

2.3 不同剂量四君子汤对脾虚证小鼠消化道内食糜平均滞留时间的影响：正常组小鼠的消化道内食糜平均滞留时间为 (649.68 ± 20.07) min，模型组小鼠的消化道内食糜平均滞留时间比正常组小鼠缩短了 17.61% ($P<0.001$)。四君子汤低、中、高剂量组小鼠的消化道内食糜平均滞留时间分别比模型组小鼠延长了 8.21% ($P<0.05$)、16.83% 和 24.28% ($P<0.001$)。且四君子汤高剂量组小鼠的消化道内食糜平均滞留时间与正常组小鼠相比无显著差异 ($P>0.05$)，见表 1。

2.4 不同剂量四君子汤对脾虚证小鼠胃排空速率

表 1 不同剂量四君子汤对脾虚证小鼠食糜平均滞留时间和胃中酚红残留量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Effect of SJZD in various dosages on mean retention time of chyme and residual amount of phenol red in stomach of PDS mice ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	平均滞留时间/min	胃中酚红残留量/mL
四君子汤	12.5	579.23±30.11*△△△	0.118±0.034△
	25	625.35±16.18***△	0.146±0.041*
	37.5	665.24±24.58***	0.134±0.026*
模型	—	535.26±43.57△△△	0.081±0.054△△
正常	—	649.68±20.07	0.174±0.058

与正常组比较：△ $P<0.05$ △△ $P<0.01$ △△△ $P<0.001$

与模型组比较：* $P<0.05$ *** $P<0.001$

△ $P<0.05$ △△ $P<0.01$ △△△ $P<0.001$ vs normal group

* $P<0.05$ *** $P<0.001$ vs model group

的影响：以胃中酚红的残留量来反映胃排空速率，残留量大，表示胃排空慢，反之，则表示胃排空快。正常组小鼠的胃中酚红残留量为 (0.174 ± 0.058) mL，模型组小鼠的胃中酚红残留量比正常组小鼠低 53.45% ($P<0.01$)。四君子汤低剂量组小鼠的胃中酚红残留量与模型组小鼠相比无显著差异 ($P>0.05$)，四君子汤中、高剂量组小鼠的胃中酚红残留量分别比模型组小鼠高 80.25% 和 65.43% ($P<0.05$)。且四君子汤中、高剂量组小鼠的胃中酚红残留量与正常组小鼠相比无显著差异 ($P>0.05$)，见表 1。

2.5 不同剂量四君子汤对脾虚证小鼠血清胃泌素的量的影响：正常组小鼠的血清胃泌素的量为 (33.11 ± 2.21) pg/mL，模型组小鼠的血清胃泌素量比正常组小鼠低 22.20% ($P<0.001$)。四君子汤低、中、高剂量组小鼠的血清胃泌素量分别比模型组小鼠高 5.98% ($P<0.05$)、14.91% ($P<0.01$) 和 24.88% ($P<0.001$)。且四君子汤高剂量组小鼠的血清胃泌素量与正常组小鼠相比无显著差异 ($P>0.05$)，见表 2。

2.6 不同剂量四君子汤对脾虚证小鼠血浆胃动素量的影响：正常组小鼠的血浆胃动素量为 (143.86 ± 22.48) pg/mL，模型组小鼠的血浆胃动素量比正常组小鼠高 28.09% ($P<0.01$)。四君子汤低、中、高剂量组小鼠的血浆胃动素量分别比模型组小鼠低 15.00% 和 17.72% ($P<0.05$)、29.99% ($P<0.001$)。且四君子汤低、中、高剂量组小鼠的血浆胃动素的量与正常小鼠相比均无显著差异 ($P>0.05$)，见表 2。

2.7 不同剂量四君子汤对脾虚证小鼠脾脏指数和

表 2 不同剂量四君子汤对脾虚证小鼠血清胃泌素及血浆胃动素的量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 2 Effect of SJZD in various dosages on serum gastrin content and plasma motilin content of PDS mice ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	胃泌素/(pg·mL ⁻¹)	胃动素/(pg·mL ⁻¹)
四君子汤	12.5	27.30±1.27*△△△	156.63±27.97*
	25	29.60±2.58**△	151.61±33.88*
	37.5	32.17±1.84***	129.00±30.16***
模型	—	25.76±1.35△△△	184.27±20.84△△
正常	—	33.11±2.21	143.86±22.48

与正常组比较: △ $P<0.05$ △△ $P<0.01$ △△△ $P<0.001$

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$

△ $P<0.05$ △△ $P<0.01$ △△△ $P<0.001$ vs normal group

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs model group

胸腺指数的影响: 正常组小鼠的脾脏指数为 0.0524 ± 0.0046 , 模型组小鼠的脾脏指数比正常组小鼠低 20.80% ($P<0.001$)。四君子汤低、中、高剂量组小鼠的脾脏指数分别比模型组小鼠高 14.94% ($P<0.05$)、16.39% ($P<0.01$) 和 27.71% ($P<0.001$)。且高剂量组小鼠的脾脏指数与正常组小鼠相比无显著差异 ($P>0.05$)。正常组小鼠的胸腺指数为 0.0265 ± 0.0041 , 模型组小鼠的胸腺指数比正常组小鼠低 36.98% ($P<0.001$)。四君子汤低、中、高剂量组小鼠的胸腺指数分别比模型组小鼠高 31.14% 和 40.12% ($P<0.05$)、50.90% ($P<0.01$)。且四君子汤中、高剂量组小鼠的胸腺指数与正常组小鼠相比无显著差异 ($P>0.05$), 见表 3。

表 3 不同剂量四君子汤对脾虚证小鼠脾脏和胸腺指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Table 3 Effect of SJZD in various dosages on splenic and thymus indexes of PDS mice ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	脾脏指数	胸腺指数
四君子汤	12.5	0.0477±0.0058*△	0.0219±0.0059*△
	25	0.0483±0.0045**△	0.0234±0.0067*
	37.5	0.0530±0.0053***	0.0252±0.0055**
模型	—	0.0415±0.0066△△△	0.0167±0.0063△△△
正常	—	0.0524±0.0046	0.0265±0.0041

与正常组比较: △ $P<0.05$ △△△ $P<0.001$

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$

△ $P<0.05$ △△△ $P<0.001$ vs normal group

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs model group

3 讨论

本实验在造模后治疗时, 模型组小鼠 ig 溶媒, 经自然恢复后, 所有指标与正常组小鼠相比均有显著差异, 说明脾虚证小鼠的自愈能力较低, 脾虚造成

的各生理指标的变化仅通过自愈是无法得到恢复的, 据此判断各治疗组诸指标的变化均是四君子汤作用的结果。

3.1 不同剂量四君子汤对脾虚证小鼠体重增长、体温恢复均有明显的促进作用, 体重增长缓慢、体温下降是脾虚证的症状表现之一^[8,11]。模型组小鼠经自然恢复后, 体重、体温仍显著低于正常组小鼠, 而脾虚证小鼠经 3 种剂量四君子汤治疗后, 体重都明显高于模型组小鼠, 表明 3 种剂量的四君子汤均能促进脾虚证小鼠体重的增长。其中四君子汤中、高剂量组小鼠的体重还显著高于正常组小鼠, 这可能与四君子汤这种补益方剂的营养作用有关。各四君子汤治疗组小鼠的体温与正常组小鼠相比均无显著差异, 表明 3 种剂量四君子汤均可使脾虚证小鼠的体温恢复至正常值。

3.2 不同剂量四君子汤对脾虚证小鼠胃肠激素分泌异常、胃肠运动亢进均有明显的矫正作用, 以高剂量四君子汤的作用最为显著。“脾主运化”, 消化系统形态和功能的异常是脾虚证最基本的病理变化。本实验中, 模型组小鼠消化道内食糜滞留时间显著低于正常组小鼠, 胃排空速率则显著高于正常组小鼠, 说明脾虚小鼠的胃肠运动机能亢进, 这与实验中脾虚小鼠出现的便溏泄泻、体重下降等症状相吻合, 也与以往的相关研究基本一致^[12]。已有研究显示, 四君子汤对胃的收缩活动有较强的抑制作用^[4], 也可抑制由于小鼠小肠推进运动亢进所引起的泄泻^[5]。本实验中脾虚证小鼠经 3 种剂量四君子汤治疗后, 与模型组小鼠相比, 其消化道内食糜平均滞留时间明显延长, 胃排空速率显著降低, 表明四君子汤对脾虚证小鼠胃肠运动的亢进有较强的抑制作用, 这与上述四君子汤对胃肠活动的研究结果是一致的。四君子汤矫正胃肠运动亢进, 使食糜滞留时间延长和胃排空减慢可促进消化道内食糜的消化和吸收, 从而改善机体的消化吸收功能, 这可能是四君子汤治疗脾虚时消化功能紊乱的基础。另外, 本实验结果亦显示唯有高剂量可使脾虚证小鼠的这两项指标均恢复至正常水平。

胃泌素具有刺激胃液与胰液分泌, 促进胃窦收缩等功能。以往对脾虚证与胃泌素关系的研究结果存在较大差异: 有研究表明脾虚患者或脾虚证动物其血清胃泌素水平明显低于正常人或动物, 但对脾阳虚型和胃阴虚型患者的检测结果则表明, 这两种证型血清胃泌素水平均高于正常组^[13]。本实验中脾虚证小鼠的血清胃泌素的量显著低于正常组小鼠,

与家兔及大鼠由大黄致脾虚证后胃泌素量的变化结果类似^[11,14]。实验中脾虚证小鼠经3种剂量四君子汤治疗后,与模型组小鼠相比,胃泌素的量明显回升,以中、高剂量组更加显著,高剂量组小鼠的胃泌素的量已达到正常水平,即治疗后脾虚小鼠胃泌素量的回升程度与四君子汤的剂量正向相关,这与易崇勤等^[1]在脾虚证大鼠中取得的结果类似。此前,本课题组曾就不同剂量的四君子汤对脾虚证小鼠胃酸分泌的影响进行过研究,发现四君子汤可促进胃酸分泌,且胃酸分泌的增加与四君子汤剂量之间存在量效关系^[7]。以上结果提示四君子汤对胃泌素分泌的促进作用可能是其促进胃酸分泌的机制之一。

胃动素具有强烈刺激上消化道机械运动的作用。以往对脾虚证与胃动素关系的研究结果不尽一致。研究发现脾虚泄泻患者血浆胃动素的量显著降低,毛炯等^[13]的研究结果则相反。也有实验表明,脾虚证动物模型进行短期造模(6d)后,血浆中胃动素的量是明显升高的,长期造模(14d)后,胃动素的量则明显降低,而四君子汤对长、短期造模后血浆中胃动素的量的异常均可纠正,使其恢复至正常水平^[6]。可见,四君子汤可能对脾虚时胃动素量的紊乱有双向调节作用。本实验中脾虚证小鼠血浆胃动素的量显著高于正常组小鼠。脾虚证小鼠经3种剂量四君子汤治疗后,与模型组小鼠相比,血浆胃动素的量降低,这与本实验中四君子汤治疗后小鼠的食糜滞留时间延长,胃排空速率减慢的结果可相互印证。易崇勤等^[1]的研究表明大剂量四君子汤对脾虚证大鼠胃动素的量的降低作用高于低剂量四君子汤,本实验结果亦显示在3种剂量四君子汤对脾虚证小鼠血浆胃动素量的降低作用中,以高剂量四君子汤效果最为明显。

总之,四君子汤对脾虚证小鼠胃肠运动亢进与胃肠激素分泌异常均有明显矫正作用,且高剂量四君子汤作用最为显著,这一结果提示,高剂量四君子汤可能是治疗脾虚时消化功能障碍的理想剂量。

3.3 不同剂量四君子汤对脾虚证小鼠的脏器指数降低均有明显的恢复作用,但仅高剂量四君子汤可使两项指标均恢复至正常。脾脏指数与胸腺指数的降低不仅直接说明免疫功能的降低,也间接说明淋巴细胞与巨噬细胞产生的减少^[15]。本研究中脾虚证小鼠脾脏和胸腺指数均降低,经四君子汤治疗后两指数均显著回升,尤以高剂量四君子汤效果最为明显,可使两指数回升至正常水平。表明四君子汤,尤其是高剂量四君子汤对脾虚证小鼠的脏器指数的降

低有极好的恢复作用。雷妮妮等^[16]研究表明脾虚证动物的脾脏、胸腺超微结构均有明显的破坏现象,四君子汤可使受破坏的组织结构得以改善。这可能是脾虚时脾脏及胸腺指数降低,四君子汤治疗后又有所回升的微观结构基础。

综上所述,四君子汤低、中、高剂量在脾虚证小鼠体重的增长、体温的恢复、胃肠运动的调整及胃肠激素的分泌、脾脏和胸腺指数的恢复等方面均有较好的治疗作用,尤以高剂量的作用最为显著,提示高剂量(37.5 g/kg)四君子汤可能是治疗脾虚证小鼠消化及免疫功能紊乱的适宜剂量。

致谢:西安第四军医大学西京医院放射中心林国成医生在放免测定方面提供了指导,西北大学生命科学学院刘建利教授提供使用实验设备,王慧平、胡琳琳、何志仙、牛银波同学在实验中提供了帮助。

References:

- [1] Yi C Q, Ye B K, Jin J S, et al. Effects of Sijunzi Decoction on enzymatic histochemistry of gastric mucosa cells and plasma gastrointestinal hormone in the rat with splenic deficiency [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* (北京中医药大学学报), 1997, 20(6): 31-34.
- [2] Wei Y M, Zong R Q, Yang X P. Changes of plasma gastrin and motilin in rat model of spleen-deficiency syndrome and effect of Sijunzi Decoction on it [J]. *Chin J Vet Sci* (中国兽医学报), 2001, 21(3): 281-283.
- [3] Ren P, Huang X, Zhang L, et al. Effect of Sijunzi Decoction on gastric empty rate in rat model of spleen deficiency syndrome [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 2000, 20(8): 596-598.
- [4] Ye F Q, Chen W W, Li R L, et al. Effects of ingredient group of Sijunzi Decoction on gastrointestinal motor in rat [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2002, 18(3): 2-4.
- [5] Zhang M, Ye F Q, Chen W W, et al. Effects of ingredient group of Sijunzi Decoction on diarrhea caused by senna leaf in mice [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2002, 18(5): 12-13.
- [6] Yao Y L, Xu B, Song Y G, et al. Motilin and gastrointestinal disturbance: an experimental study [J]. *Acad J First Med Coll PLA* (第一军医大学学报), 2001, 21(8): 602-603.
- [7] Gao Y F, Wang H P, Wang Y Z, et al. The influence of the Sijunzi Decoction on the blood picture and gastric acid of experimental model of spleen asthenia syndrome mice [J]. *J Northwest Univ: Nat Sci* (西北大学学报:自然科学版), 2003, 33(2): 213-216.
- [8] Yi C Q, Sun J N, Zhang J J, et al. Study on Sijunzi Decoction in rectifying digestive disorder in mice [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1997, 17(1): 42-44.
- [9] Vineet K, Vir S M, Yogendra K G. Acute intracranial hypertension-induced inhibition of gastric emptying: evaluation in conscious rats [J]. *Euro J Pharmacol*, 1999, 369:

- 65-72.
- [10] Pei Y X, Wang D H. The measuremental methods of passage rate of digesta through the gut of mammals [J]. *Chin J Zool* (动物学杂志), 2000, 35(6): 48-52.
- [11] Wei Y M. Experimental study on Sijunzi Decoction in rectifying model of spleen deficiency syndrome in rabbits [J]. *J Gansu Agric Univ* (甘肃农业大学学报), 1997, 32(3): 261-266.
- [12] Hu L L, Gao Y F, He Z X. Comparative study on changes of digestive and absorptive functions in three different models of Pi-deficiency syndrome [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 2005, 25(9): 813-816.
- [13] Zhao Y L, Xia T. The current situation and expectation of relationship between spleen deficiency syndrome and gastrointestinal hormone [J]. *J Anhui Coll Tradit Chin Med* (安徽中医学院学报), 1999, 18(6): 58-60.
- [14] Li B F, Zheng C H. Effects of smecta on gastrin and motilin contents in diarrhea rat caused by spleen deficiency syndrome [J]. *J Zhejiang Clin Med* (浙江临床医学), 2004, 6(10): 841-842.
- [15] Wang Y P, Li B Q, Qiu S C. Research on immune function of mice with spleen deficiency [J]. *Chin J Integrated Tradit West Med Gastrospine* (中国中西医结合脾胃杂志), 1998, 6(1): 34-36.
- [16] Lei W W, Huang Z Y, Zheng G F, et al. A comparative study on ultrastructures of immune and endocrine organs in kidney-deficiency model rat [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 1999, 10(4): 208-210.

二精丸有效部位对肾阴虚模型大鼠学习记忆障碍的影响及其分子机制

许小强, 黄敬耀*, 罗 荣, 肖百全, 赵 涛, 涂秀英

(江西中医学院 药理教研室, 江西 南昌 330006)

摘要:目的 探讨二精丸有效部位对肾阴虚模型大鼠学习记忆障碍的影响及其分子机制。方法 采用大鼠 ig 甲状腺素加 im 利水平方法制备肾阴虚模型, 二精丸总黄酮和总多糖 ig 给药结束后 Morris 水迷宫法测定各组的学习记忆能力; 采用酶联免疫法测定血清激素水平; 采用免疫组织化学法测定海马部位 Bcl-2 和 Bax 表达及 Tau 蛋白异常磷酸化水平。结果 二精丸总黄酮和总多糖能显著提高模型大鼠的学习记忆能力; 能显著恢复激素水平及海马区 Bcl-2 和 Bax 表达; 能显著抑制海马区 Tau 蛋白 Ser199/202、Ser396、Thr231 三个磷酸化位点异常磷酸化。结论 二精丸总黄酮和总多糖能提高肾阴虚模型大鼠的学习记忆能力。

关键词:二精丸; 肾阴虚; Morris 水迷宫; 总黄酮; 总多糖; Bax; Bcl-2; Tau 蛋白磷酸化

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)04-0564-06

Effect of active fractions in Erjing Pill on learning dysmnnesia of rat with kidney-YIN deficiency and its molecular mechanism

XU Xiao-qiang, HUANG Jing-yao, LUO Rong, XIAO Bai-quan, ZHAO Tao, TU Xiu-ying

(Department of Pharmacology, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of active fractions in Erjing Pill on learning dysmnnesia of rat with kidney-YIN deficiency and its molecular mechanism. **Methods** Model rat with kidney-YIN deficiency was made by ig administrating tetraiodothyronine and im injecting Reserpine. Morris water-maze was used to determine the learning and memory ability of every groups after ig administrating total flavones and polysaccharides; enzyme-linked immunoassay (ELIA) was used to determine the level of serum hormone; immunohistochemical method was used to determine the expression of Bcl-2 and Bax and the level of Tau protein abnormality phosphorylation in HIP. **Results** Total flavones and polysaccharides in Erjing Pill could obviously elevate the learning and memory ability of model rats, they could obviously recover the level of hormone and the expression of Bcl-2 and Bax in HIP; they could obviously restrain the abnormality phosphorylation in Tau protein Ser199/202, Ser396, and Thr231 phosphorylation situs in HIP. **Conclusion** The total flavones and polysaccharides in Erjing Pill could promote the learning and

收稿日期:2006-08-08

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30360123)

作者简介:许小强(1979—),男,江西广昌县人,江西中医学院 2004 级硕士研究生,主要从事抗衰老药理研究。

E-mail: lotus115@163.com

* 通讯作者 黄敬耀 Tel: (0791) 6801463 E-mail: huangjingyao@vip.sina.com