

## 黄芩、苍术对脾胃湿热证大鼠燥湿作用的性效关系

胡小勤<sup>1,2</sup>, 曾雪霞<sup>1</sup>, 付蓉<sup>1</sup>, 蒙丹<sup>1</sup>, 吴燕春<sup>1</sup>, 韦少宣<sup>1</sup>, 曾学文<sup>1\*</sup>

(1. 广西中医药大学, 南宁 530001; 2. 广西中药药效研究重点实验室, 南宁 530001)

**[摘要]** **目的:**观察黄芩和苍术对脾胃湿热证候模型燥湿药效的差异,阐明黄芩和苍术燥湿作用的性效相关性。**方法:**64只雄性健康SD大鼠随机分为空白组,模型组,黄芩高、中、低剂量组,苍术高、中、低剂量组。通过内服高脂高糖饮食和外部湿热环境双重作用20 d复制脾胃湿热证模型。观察大鼠宏观表征;使用苏木素-伊红(HE)染色法,光镜下观察大鼠胃和结肠组织的形态学变化,并进行病理积分计算;采用酶联免疫吸附测定试验(ELISA)法检测大鼠血清中肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),白细胞介素-4(IL-4)和干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )含量;采用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠胃组织水通道蛋白4(AQP4)蛋白含量表达;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)法检测大鼠胃组织AQP4 mRNA表达。**结果:**与空白组比较,模型组大鼠宏观表征显示具有湿热的表现;胃、结肠组织炎症反应明显,病理积分显著升高( $P<0.01$ );血清中IFN- $\gamma$ ,IL-4和TNF- $\alpha$ 含量升高( $P<0.05$ );胃组织中AQP4蛋白和mRNA表达量呈升高趋势,但差异无统计学意义。与模型组比较,药物组大鼠宏观表征得到改善;黄芩对模型大鼠胃和结肠组织炎症具有明显的改善作用,苍术对模型大鼠结肠组织炎症有一定的改善作用,但对胃组织炎症改善作用不明显,黄芩各剂量组病理积分均有所降低,但在胃组织病理积分中,只有黄芩高剂量组差异有统计学意义( $P<0.01$ ),苍术各剂量组病理积分与模型组差异无统计学意义;在结肠病理积分中,除了苍术低剂量组无统计学意义,其他各用药物组病理积分与模型组差异均有统计学意义( $P<0.01$ )。黄芩和苍术各剂量组均能降低模型大鼠血清中IFN- $\gamma$ ,IL-4和TNF- $\alpha$ 的含量( $P<0.05$ , $P<0.01$ );黄芩和苍术均能降低模型大鼠胃组织中AQP4蛋白表达量( $P<0.01$ ),黄芩高、低剂量组对模型组大鼠胃组织中AQP4 mRNA表达有降低的趋势,而黄芩中剂量组及苍术各剂量组对模型组大鼠胃组织中AQP4 mRNA表达有升高的趋势,但差异均无统计学意义。**结论:**黄芩和苍术对脾胃湿热证大鼠的燥湿作用具有一定的性效相关性,即其燥湿药效的强弱与其寒热药性有关,苦寒的黄芩比苦温的苍术作用效果更好。

**[关键词]** 黄芩;苍术;脾胃湿热证;燥湿;性效关系

**[中图分类号]** R2-0;R22;R285.5;R289;R975 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)13-0035-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20211294

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210512.1722.002.html>

**[网络出版日期]** 2021-5-13 11:09

### Property-efficacy Relationship of Scutellariae Radix and Atractylodis Rhizoma in Drying Dampness in Rats with Spleen-stomach Dampness-heat Syndrome

HU Xiao-qin<sup>1,2</sup>, ZENG Xue-xia<sup>1</sup>, FU Rong<sup>1</sup>, MENG Dan<sup>1</sup>, WU Yan-chun<sup>1</sup>,  
WEI Shao-xuan<sup>1</sup>, ZENG Xue-wen<sup>1\*</sup>

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China; 2. Guangxi Key Laboratory for Pharmacodynamics Research of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the difference in drying dampness between Scutellariae Radix and Atractylodis Rhizoma in model rats with spleen-stomach dampness-heat syndrome and clarify their property-efficacy relationship. **Method:** Sixty-four healthy male SD rats were randomized into the blank group, model group, high-, medium-, and low-dose Scutellariae Radix groups, as well as high-, medium-, and low-dose

**[收稿日期]** 20210202(004)

**[基金项目]** 广西中医药大学2018年广西一流学科建设项目重点课题(2018XK041);广西中药药效研究重点实验室系统性研究课题(17-259-20-A7)

**[第一作者]** 胡小勤,博士,教授,硕士生导师,从事中药药性和药效研究,E-mail:hxqok6905@163.com

**[通信作者]** \*曾学文,硕士,副教授,从事统计学研究,E-mail:15907813718@163.com

Atractylodis Rhizoma groups. The rats were exposed to high-fat and high-sugar diet and external dampness-heat environment for 20 days for inducing the spleen-stomach dampness-heat syndrome. The macroscopic manifestations of rats were observed and the morphological changes in stomach and colon were detected under a light microscope after hematoxylin-eosin (HE) staining, followed by the calculation of pathological scores. The serum tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-4 (IL-4), and interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) levels were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The protein and mRNA expression levels of aquaporin-4 (AQP4) in the gastric tissue were measured by Western blot and Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR), respectively. **Result:** Rats in the model group presented with the manifestations of dampness-heat syndrome. The inflammatory reaction in stomach and colon was obvious, and the pathological score was significantly increased ( $P<0.01$ ). The serum IFN- $\gamma$ , IL-4, and TNF- $\alpha$  levels were elevated ( $P<0.05$ ), and so were the AQP4 protein and mRNA expression levels in the gastric tissue except that there was no statistical difference. The clinical symptoms of rats in the medication groups were alleviated. Scutellariae Radix significantly relieved the gastric and colonic inflammation in model rats. Atractylodis Rhizoma inhibited the colonic inflammation in model rats to a certain extent, but it had no obvious effect on gastric inflammation. The pathological score of each Scutellariae Radix group was decreased. In terms of the pathological score of gastric tissue, only the high-dose Scutellariae Radix produced a significant difference ( $P<0.01$ ), and the pathological scores of the three Atractylodis Rhizoma groups were not significantly different from that in the model group. As for the pathological score of colonic tissue, all the medication groups except for the low-dose Atractylodis Rhizoma group exhibited a significant difference in comparison with that of the model group ( $P<0.01$ ). Scutellariae Radix and Atractylodis Rhizoma at each dose reduced not only the serum IFN- $\gamma$ , IL-4, and TNF- $\alpha$  levels ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), but also the AQP4 protein expression in gastric tissue of model rats ( $P<0.01$ ). The AQP4 mRNA expression in the gastric tissue of model rats declined in the high- and low-dose Scutellariae Radix groups, while that in the medium-dose Scutellariae Radix group and each Atractylodis Rhizoma group rose without statistical difference. **Conclusion:** Scutellariae Radix and Atractylodis Rhizoma display a certain property-efficacy relationship in drying dampness of rats with spleen-stomach dampness-heat syndrome. Specifically, the efficacy of drying dampness is related to their cold/heat property, and the resulting outcome of bitter-cold Scutellariae Radix is better than that of bitter-warm Atractylodis Rhizoma.

**[Key words]** Scutellariae Radix; Atractylodis Rhizoma; spleen-stomach dampness-heat syndrome; drying dampness; property-efficacy relationship

脾胃湿热是一种中医证候,主要指湿热之邪积聚于脾胃<sup>[1]</sup>。中医认为脾是太阴湿土之脏,胃是阳明燥土之腑,湿邪最易困于脾胃,湿邪形成的原因主要有以下几点,①感受外邪,由于人体脾胃生理功能和特点,燥湿易直接侵袭脾胃;②感受内邪,不适当饮食习惯,喜食肥甘厚味,增加脾胃运化的负担;③情绪失调,伤及脾胃,影响脾胃功能。内因和外因的综合因素导致人体脾、胃及脏腑功能失调,湿滞化为热,形成湿热。阻碍脾胃运化水谷精微的功能。脾胃的正常运化功能受到影响,进一步影响体内水液代谢的平衡,引起各种病变。

近年来,对于脾胃湿热证的研究多是复方研究、单体及化合物的研究,但对单味中药药性药效的基础研究较为欠缺。刘涵容<sup>[2]</sup>观察平胃散加味治

疗慢性浅表性胃炎脾胃湿热证患者,结果表明,胃黏膜活动性炎症改变消失,慢性炎症好转且达轻度,效果显著。周晶<sup>[3]</sup>根据胃炎的中医证型采用相应的中药方剂,脾胃湿热型者选用茯苓 18 g,半夏、厚朴各 10 g,陈皮、黄芩、藿香、苍术、佩兰各 8 g,黄连 6 g,干姜 5 g,治疗 220 例胃炎患者,总有效率达到 97.3%。课题组在对 370 首治疗脾胃湿热证方药用药规律的总结中,发现黄芩和苍术为高频使用药物,治疗药物多性寒、温、平,味苦、辛、甘<sup>[4]</sup>。苦味药物具有降泄、清泄和燥湿的作用,苦寒可用于湿热证,苦温可用于寒湿证。故课题组以四气理论为指导,以具有燥湿功效的中药为切入点,通过观察比较苦、寒燥湿中药黄芩和苦、温燥湿中药苍术作用于脾胃湿热证大鼠大鼠的差异,探讨中药药性-证

候-药效之间的关系,探讨“热者寒之”“寒者热之”“疗热以寒药”“疗寒以热药”的用药原则,探索建立基于传统功用的中药药性研究的思路与方法,为中药药性效应的研究奠定基础。

## 1 材料

**1.1 动物** 健康 SPF 级雄性 SD 大鼠 64 只,体质量(200±20) g,由湖南斯莱克景实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(湘)2016-0002。动物实验由广西中医药大学实验动物福利伦理委员会批准进行(批号 DW20180115-006)。

**1.2 药物** 黄芩、苍术均购自南宁同仁堂大药房,批号分别为 20170101,20170301,由广西中医药大学中药鉴定教研室滕建北教授鉴定,符合 2015 年版《中华人民共和国药典》<sup>[5]</sup>规定。

**1.3 试剂** 中性树胶(国药集团化学试剂有限公司,批号 20160612);4%多聚甲醛(上海 Biosharp 生物科技有限公司,批号 1809209);水合氯醛(成都市科隆化学品有限公司,批号 2018041601);苏木素,伊红试剂(武汉 Bioswamp 公司,批号分别为 PAB180015, PAB180016);肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),白细胞介素-4(IL-4),干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )酶联免疫吸附测定试验(ELISA)试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司,批号分别为 2401582830, 1281552902, 961570830);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)一抗抗体[圣克鲁斯生物技术(上海)有限公司,批号分别为 54165];二抗(武汉博士德生物工程有限公司,批号 IS001);trizol(北京百泰克生物技术有限公司,批号 RP1002);磷酸盐缓冲液(PBS,江苏凯基生物技术股份有限公司,批号 20160829A);甲醇(美国 Fisher 公司,批号 LOT 173533);氰基丙烯酸正丁酯(BCA)蛋白浓度测定试剂盒(碧云天生物技术研究所,批号 P0009);增强化学发光(ECL)发光液(北京普利莱基因技术有限公司,批号 E005);EDTA(天津市致远化学试剂有限公司,批号 20160311)。

**1.4 仪器** TRI-300B 型人工恒温恒湿气候箱(上海程造仪器设备有限公司);Motic BA400 型正置显微镜(德国徕卡显微系统有限公司);SpectraMax M3 型多功能酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);TKD-TSB 型组织脱水机(湖北康强医疗器械有限公司);TB-718D 型石蜡包埋机(湖北泰维科技实业有限公司);RM-2235 型石蜡切片机(徕卡显微系统有限公司);JB-L5 型冻台(武汉俊杰电子有限公司);KD-P 型组织摊片机(浙江省金华市科迪仪

器设备有限公司);SQP 型精密电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司);ST16R 型低温高速离心机(美国 Thermo 公司);微量移液器(德国 Eppendorf 公司);MC-246 型欧姆龙电子体温计(欧姆龙大连有限公司);HH-S8 型数显恒温水浴锅(金坛市医疗仪器厂);DHG-9140A 型烤箱(上海慧泰仪器制造有限公司);FSH-2A 型电动匀浆器(上海康华生化仪器);PAC3000 型电泳仪(美国 Bio-Rad 公司);DYY-12C 型电泳、转移装置(北京市六一仪器厂);DK-8D 型电热恒温水槽(上海森信实验仪器有限公司);ViiA 7 型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR) System(美国 APPLIED Biosystems 公司)。

## 2 方法

**2.1 药液制备** 取黄芩饮片加水煎煮 2 次,第 1 次加 12 倍量水煎煮 2 h,第 2 次加 8 倍量水煎煮 1 h,合并 2 次药液,过滤后,水浴浓缩成含生药量为 1 g·mL<sup>-1</sup>的水煎剂,备用。取苍术药材饮片,加 8 倍量水浸泡 12 h 后,第 1 次加 12 倍量水煎煮 2 h,第 2 次加 8 倍量水煎煮 2 h,合并 2 次药液,过滤后,水浴浓缩成含生药量为 1 g·mL<sup>-1</sup>的水煎剂,备用。

**2.2 动物分组、造模与给药** 将 64 只 SD 大鼠分为 8 组,空白组,模型组,黄芩高、中、低剂量组,苍术高、中、低剂量组,每组 8 只。参照吕冠华等<sup>[6]</sup>,李合国等<sup>[7]</sup>脾胃湿热证模型大鼠制作方法,对各组大鼠分别施加不同处理方法。正常组,在温度 20~28℃,相对湿度 50%~60%的环境下,以普通混合饲料喂养 27 d;模型组,10%蜂蜜水自由饮用,且按大鼠体质量隔日灌服油脂 10 g·kg<sup>-1</sup>与白酒(乙醇浓度 56%)10 mL·kg<sup>-1</sup>,第 16~20 天于每日 9 时至 17 时将大鼠放置人工恒温恒湿气候箱中,温度为(32±2)℃,相对湿度为 95%,造模共 20 d,治疗组前 20 d 处理同模型组。模型组大鼠第 21~27 天处于常温常湿度条件下饲养;黄芩高、中、低剂量组,第 21~27 天按大鼠体质量灌服相应剂量黄芩药液,其余条件与模型组相同;苍术高、中、低剂量组,第 21~27 天按大鼠体质量灌服相应剂量苍术药液,其余条件与模型组相同;正常组和模型组,第 21~27 天灌胃等容积蒸馏水,给药容积为 10 mL·kg<sup>-1</sup>。

2015 年版《中华人民共和国药典》中黄芩和苍术的剂量上限分别为 10 g 和 9 g,参照人和大鼠的剂量换算方法,以成人每日用药剂量除以体质量(一般默认为 60 kg),再乘以换算系数 6.3,就是大鼠的剂量。最终确定黄芩低、中、高剂量组分别为 0.53, 1.05, 2.10 g·kg<sup>-1</sup>,苍术低、中、高剂量组分别为 0.47,

0.95, 1.89 g·kg<sup>-1</sup>, 相当于人临床等效剂量的 0.5, 1, 2 倍。

**2.3 取材** 末次给药后, 禁食不禁水 12 h, 麻醉, 腹主动脉取血, 置于无抗凝真空采血管中 4 °C 静置 2 h, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min (离心半径为 10 cm), 吸取上清液, 分装至环氧树脂 (EP) 管, -20 °C 保存备用, 待检测大鼠血清中 TNF- $\alpha$ , IL-4, IFN- $\gamma$  的含量。取出胃体, 沿胃小弯侧剪开, 用 4 °C 生理盐水洗净, 滤纸吸干, 平铺, 纵向截取部分胃体; 结肠取距盲肠端 6~14 cm 段, 沿肠系膜侧剪开, 用 4 °C 生理盐水洗净, 滤纸吸干, 平铺, 纵向截取部分结肠。

**2.4 观察大鼠的宏观表征** 观察并记录大鼠的精神状态、皮毛色泽、活动度和大小便性状等。分别于造模前, 造模后 20 d 和给药结束后测定大鼠体质量。

**2.5 苏木素-伊红 (HE) 染色观察大鼠胃黏膜和结肠黏膜形态学变化** 截取的胃体和结肠用 4% 多聚甲醛固定液固定 48 h 后, 经过脱水、常规石蜡包埋, 切片厚度为 4  $\mu$ m, 并附于高黏附载玻片上, 编号, 37 °C 过夜, 次日进行 HE 染色,  $\times 100$  光镜下观察胃黏膜和结肠黏膜形态学变化。

**2.6 ELISA 法检测大鼠血清中 TNF- $\alpha$ , IL-4, IFN- $\gamma$  的含量** 取出上述保存在 -20 °C 的上清液, 具体操作步骤严格按照说明书进行。

**2.7 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测大鼠胃水通道蛋白 4 (AQP4) 蛋白表达** 称取胃组织, 研磨胃组织, 按照试剂盒说明提取胃蛋白, 取上清液, 根据蛋白样品吸光度 *A*, 用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。配置 12.5% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 凝胶, 上样后进行电泳、转膜, 用 TBST 封闭 1.5 h, 加入 GAPDH 一抗 (1:1 000), 4 °C 孵育过夜, TBST 洗膜, 加入相应的二抗 (1:4 万), 37 °C 摇床孵育 1.5 h。洗膜 3 次后使用 ECL 法显色, 用 Image J 软件分析条带的灰度值, 以 GAPDH 为内参, 以目的蛋白条带/GAPDH 条带灰度比值作为最终结果。

**2.8 Real-time PCR 法检测大鼠胃组织 AQP4 mRNA 表达** 每 50~100 mg 组织样品, 加入 1 mL 的 trizol 试剂, 用电动匀浆器进行匀浆。匀浆后, 样品于 15~30 °C 孵育 5 min, 向每 1 mL 的 trizol 试剂匀浆的样品中加入 0.2 mL 的三氯甲烷, 4 °C 12 000 $\times$ g 离心 15 min, 取无色水相后, 水相与 0.5 mL 异丙醇混合, 15~30 °C 孵育 10 min 后, 于 4 °C 12 000 $\times$ g, 离心 10 min 弃上清。每个样品中加入至少 1 mL 的 75 %

乙醇 (用 DEPC 水稀释), 清洗 RNA 沉淀。振荡后, 于 4 °C 7 500 $\times$ g, 离心 5 min。重新溶解 RNA 沉淀, 去除乙醇溶液, 空气中干燥 RNA 沉淀 5~10 min, 溶解 RNA 时, 先加入无 RNA 酶的水用枪反复吹打几次, 然后 55~60 °C 孵育 10 min。获得样本总 RNA。将所得到的 RNA 样本进行反转录以得到对应 cDNA。取无核酸酶离心管, 加入 RNA 样本, 再加入 oligo (dT) 0.8  $\mu$ L, N9 (50  $\mu$ mol·L<sup>-1</sup>) 0.5  $\mu$ L, dNTPs Mix (2.5 mmol·L<sup>-1</sup>) 1.6  $\mu$ L 和无 RNA 酶的 H<sub>2</sub>O 至总体积 13.5  $\mu$ L, 混合液在 65 °C 水浴 5 min, 冰上放置 2 min。4 °C 11 000 $\times$ g 离心 5 min, 在离心管中依次加入 RT 反应液 5 $\times$ First-Strand Buffer 4  $\mu$ L, 0.1 mol·L<sup>-1</sup> DTT 1  $\mu$ L, RNase Ihibitor 0.5  $\mu$ L, SuPerScriPt III RT 1 $\mu$ L, 混合后 37 °C 恒温 1 min。温浴 2 次 (50 °C 60 min, 70 °C 15 min), 即得到 cDNA 样本。PCR 引物序列见表 1, PCR 扩增反应条件为 95 °C, 10 min; 40 个 PCR 循环 [95 °C, 10 s; 60 °C, 60 s (收集荧光)]。采用 GAPDH 表达量作为内参, 采用 2<sup>- $\Delta\Delta$ C<sub>t</sub></sup> 法对数据进行分析。引物序列由上海康成生物工程有限公司合成, 见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence of PCR

引物	序列	长度/bp
GAPDH	上游 5'-GCTCTCTGCTCCTCCCTGTTCTA-3' 下游 5'-TGGTAACCAGGCGTCCGATA-3'	124
AQP4	上游 5'-TCGCCAAGTCCGTCTCTACA-3' 下游 5'-CGTGGTGACTCCCAATCCTC-3'	113

**2.9 统计学处理** 实验数据采用 SPSS 22.0 进行统计处理, 计量资料采用  $\bar{x}\pm s$  表示, 组间采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 法检验, 以  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

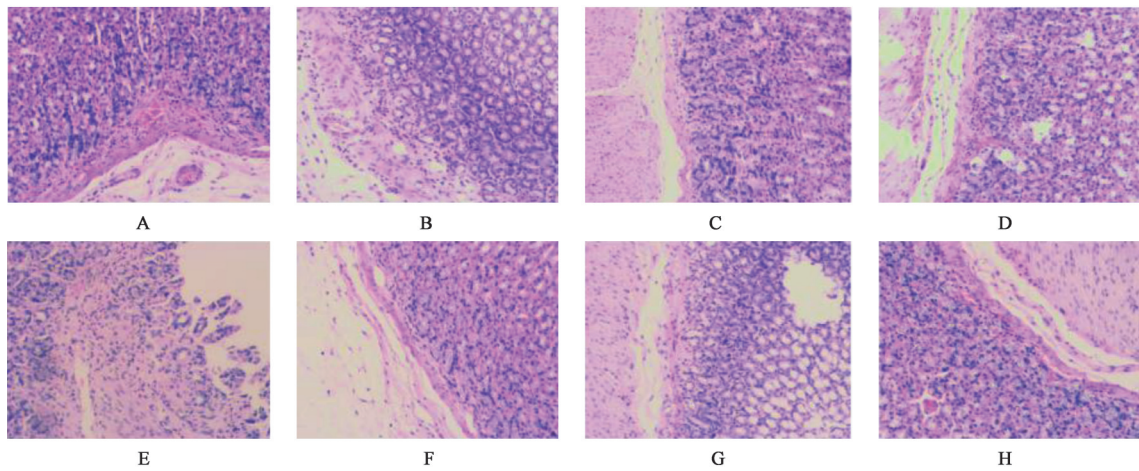
### 3 结果

**3.1 对大鼠宏观表征的影响** 正常组大鼠活动正常, 背毛光泽, 反应灵活, 食欲良好, 大便正常, 小便淡黄。模型组大鼠造模前期, 体质量增长迅速, 大便或干或软。造模后期, 放入人工恒温恒湿箱中后, 毛发晦暗无光泽, 倦怠懒动, 部分大鼠出现阴囊松弛下垂, 饮食饮水量减少, 体质量增长速度平缓, 大便时干时溏、味臭, 小便黄、量少。黄芩组和苍术组大鼠造模期间 20 d, 症状和体征变化均同模型组相似; 给药后 7 d, 两组体质量均缓慢上升, 精神状态有所好转, 黄芩组饮食饮水量增加, 二便正常; 苍术组饮食饮水量稍有增加, 大便出现干结, 颜色呈深褐色。

**3.2 对大鼠胃黏膜病理的影响** 空白组大鼠胃黏膜未见明显异常,结构层次清楚,上皮细胞结构完整,无损伤,黏膜腺体排列整齐,腺腔整洁,黏膜层无炎细胞浸润,胃组织未见明显病理形态学改变。模型组黏膜固有层可见较多炎细胞浸润,已超过黏膜底部进入中层,无黏膜缺损、脱落、糜烂。黄芩高剂量组黏膜固有层偶见微小炎症灶;黄芩中剂量组黏膜固有层有散在性微小炎症灶;黄芩低剂量组黏膜固有层有部分可见炎症灶;3种剂量组炎细胞浸润均仅限于黏膜底部,均无黏膜缺损、脱落、糜烂。

苍术高剂量组黏膜固有层有部分可见炎症灶,炎细胞浸润仅限于黏膜底部;苍术中、低剂量组黏膜固有层有部分可见炎症灶,已超过黏膜底部进入中层;3种剂量组均无黏膜缺损、脱落、糜烂。

脾胃湿热证大鼠胃组织炎症病理积分结果显示,与空白组比较,模型组病理积分显著升高( $P<0.01$ )。与模型组比较,黄芩各剂量组病理积分均有所降低,但只有黄芩高剂量组差异有统计学意义( $P<0.01$ );苍术各剂量组病理积分与模型组差异无统计学意义。见图1,表2。



A. 空白组;B. 模型组;C. 黄芩高剂量组;D. 黄芩中剂量组;E. 黄芩低剂量组;F. 苍术高剂量组;G. 苍术中剂量组;H. 苍术低剂量组(图2~3同)

图1 黄芩、苍术对脾胃湿热证大鼠胃组织病理的影响(HE,×100)

Fig. 1 Effect of Scutellariae Radix and Atractylodis Rhizoma (SA) on gastric histopathology in rats with spleen and stomach dampness-heat syndrome (HE,×100)

表2 黄芩、苍术对胃组织炎症病理积分的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 2 Effect of SA on pathological scores of gastric histopathological sections of colon of inflammation ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	炎症病理积分/分
空白		0.50±0.00
模型		1.17±0.29 <sup>2)</sup>
黄芩	2.10	0.50±0.00 <sup>4)</sup>
	1.05	0.83±0.29
	0.53	1.00±0.50
苍术	1.89	1.00±0.00
	0.95	1.50±0.00
	0.47	1.50±0.00

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ ,<sup>2)</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup> $P<0.05$ ,<sup>4)</sup> $P<0.01$ (表3~6同)。

**3.3 对大鼠结肠黏膜病理的影响** 空白组大鼠结肠各层结构清晰,肠腺规则,极向明显,间质未见充血水肿。模型组结肠黏膜呈灶状缺失,有明显水肿、大量炎细胞浸润,有糜烂,无溃疡。黄芩高剂量

组结肠黏膜见水肿,有大量炎细胞浸润;黄芩中剂量组结肠黏膜见轻度水肿,黄芩低剂量组结肠黏膜有明显水肿,2组均有少量炎细胞浸润。苍术高剂量组结肠黏膜见明显水肿,中、低剂量组大鼠结肠黏膜呈灶状缺失,3种剂量组均有大量炎细胞浸润,有糜烂,无溃疡。

脾胃湿热证大鼠结肠组织炎症病理积分结果显示,与空白组比较,模型组病理积分显著升高( $P<0.01$ )。与模型组比较,黄芩各剂量组和苍术高、中剂量组病理积分均显著降低( $P<0.01$ )。见图2,表3。

**3.4 对大鼠血清中IFN- $\gamma$ , IL-4和TNF- $\alpha$ 含量的影响** 与空白组比较,模型组血清中IFN- $\gamma$ , IL-4和TNF- $\alpha$ 的含量均显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,黄芩和苍术各剂量组血清中IFN- $\gamma$ , IL-4和TNF- $\alpha$ 的含量均明显降低( $P<0.05, P<0.01$ )。见表4。

**3.5 对大鼠胃组织AQP4蛋白表达的影响** 与模

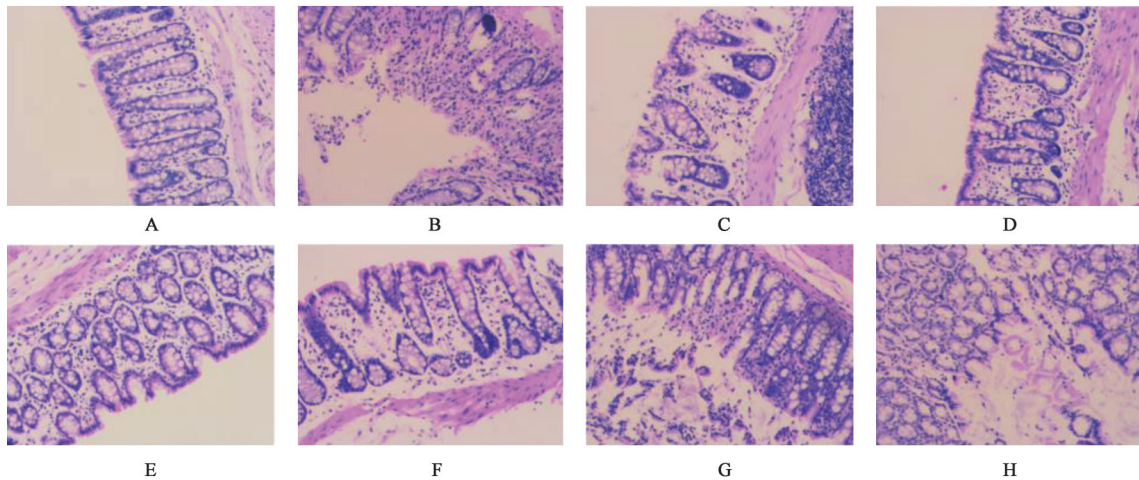


图2 黄芩、苍术对脾胃湿热证大鼠结肠组织病理的影响(HE,×100)

Fig. 2 Effect of SA on colonic histopathology in rats with spleen and stomach dampness-heat syndrome (HE,×100)

表3 黄芩、苍术对结肠组织炎症病理积分的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 3 Effect of SA on pathological score of pathological sections of colon of inflammation ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	炎症病理积分/分
空白		0.00±0.00
模型		2.67±0.58 <sup>2)</sup>
黄芩	2.10	1.00±0.00 <sup>4)</sup>
	1.05	1.33±0.29 <sup>4)</sup>
	0.53	1.67±0.58 <sup>4)</sup>
苍术	1.89	1.67±0.58 <sup>4)</sup>
	0.95	1.67±0.58 <sup>4)</sup>
	0.47	2.00±0.00

表4 黄芩、苍术对大鼠血清中IFN-γ, IL-4和TNF-α含量的影响( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Table 4 Effect of SA on levels of IFN-γ, IL-4 and TNF-α in serum of rats ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IFN-γ	IL-4	TNF-α
空白		54.77±2.78	35.20±0.81	10.14±0.22
模型		83.16±0.61 <sup>2)</sup>	53.92±1.09 <sup>2)</sup>	21.34±2.54 <sup>2)</sup>
黄芩	2.10	66.21±0.73 <sup>4)</sup>	35.62±0.44 <sup>4)</sup>	11.37±0.52 <sup>4)</sup>
	1.05	66.35±0.57 <sup>4)</sup>	35.38±1.15 <sup>4)</sup>	12.37±0.42 <sup>4)</sup>
	0.53	73.50±0.13 <sup>4)</sup>	40.32±0.09 <sup>3)</sup>	16.56±0.23 <sup>4)</sup>
苍术	1.89	72.15±0.85 <sup>4)</sup>	42.23±0.08 <sup>3)</sup>	23.66±0.44 <sup>4)</sup>
	0.95	72.71±1.17 <sup>4)</sup>	42.27±0.08 <sup>3)</sup>	23.75±0.52 <sup>4)</sup>
	0.47	74.03±1.23 <sup>4)</sup>	42.26±0.12 <sup>3)</sup>	23.88±0.81 <sup>4)</sup>

型组比较,黄芩和苍术各剂量组的AQP4蛋白表达量均显著降低( $P<0.01$ )。结果表明,黄芩和苍术均能降低模型大鼠胃组织中AQP4蛋白表达量。见表5,见图3。

### 3.6 对大鼠胃组织AQP4 mRNA表达的影响 与

表5 黄芩、苍术对脾胃湿热证大鼠胃组织AQP4蛋白表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 5 Effect of SA on protein expression of AQP4 in gastric sections of colon of rats with spleen and stomach dampness-heat syndrome by scutellaria and atang ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	AQP4/GAPDH
空白		0.76±0.06
模型		0.76±0.03
黄芩	2.10	0.60±0.13 <sup>4)</sup>
	1.05	0.44±0.04 <sup>4)</sup>
	0.53	0.49±0.02 <sup>4)</sup>
苍术	1.89	0.60±0.05 <sup>4)</sup>
	0.95	0.45±0.05 <sup>4)</sup>
	0.47	0.40±0.06 <sup>4)</sup>

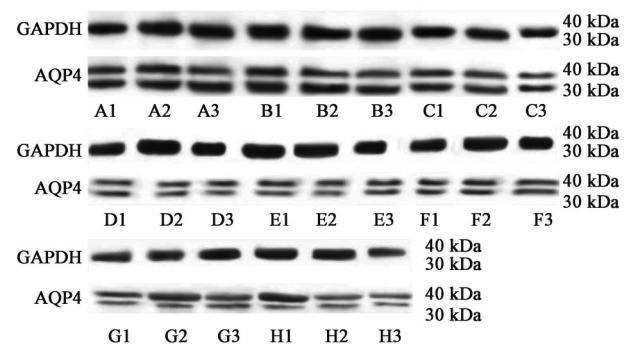


图3 各组大鼠胃组织AQP4蛋白电泳

Fig. 3 Electrophoresis of AQP4 protein expression in gastric tissues of rats in each group

模型组比较,黄芩高、低剂量组的AQP4 mRNA表达量有所下降,苍术各剂量组的AQP4 mRNA表达量有所升高,但差异均无统计学意义。见表6。

## 4 讨论

清热燥湿药和苦温燥湿药都具有燥湿的功效,

表6 黄芩、苍术对脾胃湿热证大鼠胃组织AQP4 mRNA表达的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 6 Effect of SA on mRNA expression of AQP4 in pathological sections of colon of rats with spleen and stomach dampness-heat syndrome by scutellaria and atang ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	AQP4
空白		0.092 4±0.020 8
模型		0.094 1±0.013 8
黄芩	2.10	0.091 6±0.057 2
	1.05	0.096 5±0.077 7
	0.53	0.085 5±0.064 4
苍术	1.89	0.190 2±0.041 5
	0.95	0.168 9±0.048 7
	0.47	0.174 0±0.087 2

但其寒热之性正好相反,前者主要用于治疗湿热证,后者主要用于治疗寒湿证。黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* 的干燥根,味苦、性寒,具有清热燥湿,泻火解毒,止血,安胎的作用,常用于湿温、暑湿,胸闷呕恶,湿热痞满等症。苍术为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* 或北苍术 *Atractylodes chinensis* 的干燥根茎,味苦、性温,具有燥湿健脾,祛风散寒,明目的作用,常用于治疗湿阻中焦,脘腹胀满,泄泻,水肿等证。

脾胃湿热证是脾胃实证中的一种常见证型,是以脾胃功能失调为主要病机的一类湿热病证。金元时期,医家首次提出湿热相合为病,基于对脾胃与湿热关系的充分认识,结合地域气候特点和饮食习惯,探索湿热病的辨治规律。明清医家吴鞠通广泛汲取前人有关湿热病证的论述,创立三焦辨证,从病因、病机及辨证3个方面对对湿热病证进行了系统阐述,制订了三仁汤、黄芩滑石汤等治疗湿热并重的名方,对脾胃湿热证理论的形成有促进作用<sup>[8]</sup>。欧阳宏<sup>[9]</sup>在依据已有的证候诊断标准,通过整理脾胃湿热证的古典和现代文献,进行专家调查、临床研究后能够发现,脾胃湿热证以肢体酸重、如绵裹首、舌苔黄腻、大便有黏液为主证,以神倦乏力、不成形便、舌质红、纳呆口黏为次证。关于脾胃湿热证的病机,主要包括体内、外湿邪的合化以及脾胃升降失司2个主要方面,由于湿属阴、热属阳,病机可变化为湿偏重及热偏重两种不同趋势,因此在湿热辨证中准确量化湿与热的偏重,对疾病的治疗有至关重要的作用<sup>[10]</sup>。

西医认为脾胃湿热证主要常见于慢性胃炎、功能性消化不良、肠易激综合征、消化性溃疡等消化

系统疾病<sup>[11]</sup>。本实验采用HE染色法观察各组大鼠胃和结肠组织黏膜病理学变化。结果表明脾胃湿热证大鼠胃和结肠组织炎症反应明显,黄芩高剂量组治疗可以有效减轻胃组织炎症,苍术各剂量组对脾胃湿热证胃组织炎症治疗作用不明显,黄芩、苍术各剂量组治疗均能够有效减轻结肠组织炎症,其中黄芩高剂量组对治疗脾胃湿热证大鼠结肠组织炎症效果最佳,说明黄芩和苍术对脾胃湿热证大鼠有明显的免疫抑制作用,提示苦寒药物黄芩和苦温药物苍术对脾胃湿热证大鼠燥湿作用的药性-效应具有相关性。张一帆等<sup>[12]</sup>研究发现,脾胃湿热证大鼠细胞免疫呈亢进状态,并伴有免疫调节功能减弱,清化饮具有调整细胞免疫应答和增强免疫调节功能的作用,进一步验证了药性效应关联性。

脾胃湿热证是慢性胃炎最常见的证型之一,刘亿托等<sup>[13]</sup>通过大量研究证实了脾胃湿热证和炎症之间的直接关系,慢性浅表性胃炎脾胃湿热证患者体内存在的一种基因调控蛋白,热休克蛋白70 (HSP70)的表达水平较高。慢性胃炎又包括非萎缩性和萎缩性胃炎,其中慢性萎缩性胃炎因其病程长且没有临床特征,成为消化系统疾病中的难治病。慢性萎缩性胃炎发病中期多为脾胃湿热证,研究发现,清利湿热治法对于防治慢性萎缩性胃炎病变具有重要意义<sup>[14]</sup>。盛天娇等<sup>[15]</sup>研究发现葛根芩连汤中黄芩、黄连配伍比例不同,具有不同程度体外抑菌和体内抑菌作用,在治疗脾胃湿热型肠激综合征上具有良好的临床效果,存在一定的临床应用价值。

由于脾胃湿热证的发病机制主要为中焦脾胃功能失调,近年来,随着对离子通道研究的深入,水通道病理的研究为揭示三焦实质提供了重要依据,某些水平衡紊乱性疾病可能导致水通道表达异常,进而表现出明显的眼、血液、肾脏、胃肠道、呼吸道、生殖系统及神经系统的异常。其中AQP2可能成为治疗各种原因导致的水平衡失调的靶点<sup>[16]</sup>。水通道蛋白亚型在消化系统中高度表达<sup>[17]</sup>。其中,肠道水吸收与结肠基底膜表面内皮细胞中AQP3表达有关。AQP3高表达可引起结肠黏膜水分再吸收增加,导致便秘,低表达可导致结肠黏膜重新吸收水分减少,导致腹泻或稀便。根据中医理论,脾的主水液输布,如果脾的运化功能失调,水液将在体内阻滞,产生湿阻<sup>[18]</sup>。一些研究发现,AQP3阳性慢性浅表胃炎脾胃湿热证患者湿的表现显著高于阴性患者,这被认为与AQP3的水代谢密切相关,提示AQP3的异常表达可能是湿热证发生的机制之

—<sup>[19-20]</sup>。AQP4主要在人体胃组织中表达。只在胃底腺的主要核壁细胞的膜上表达,其作用是参与胃液的分泌,维持壁细胞的正常体积。在脾胃湿热证患者胃组织中AQP4蛋白表达及mRNA表达均升高已被证实<sup>[21]</sup>。

本实验主要通过观察AQP4蛋白和mRNA在脾胃湿热证模型大鼠胃组织中的表达,来说明黄芩和苍术对其水液代谢的影响。在模型建立过程中,由于不同的湿热环境、不同的动物品系、造模时间的长短等都会对模型质量产生较大的影响,但没有系统性的标准来控制这些影响因素的施加。对模型的评价标准也主要通过对其症状体征、体温、饮水量等宏观证候指标为主,缺乏量化指标,这对模型质量的稳定及可重复性也有较大的影响。本实验中,模型组大鼠造模前期,体质量增长迅速,大便或干或软。造模后期,放入人工恒温恒湿箱中后,毛发晦暗无光泽,倦怠懒动,部分大鼠出现阴囊松弛下垂,饮食饮水量减少,体质量增长速度平缓,大便时干时溏、味臭,小便黄、量少,表明大鼠有湿热证的症状。黄芩组和苍术组大鼠造模期间20 d,症状和体征变化均同模型组相似;给药后7 d,两组体质量均缓慢上升,精神状态有所好转,黄芩组饮食饮水量增加,二便正常;苍术组饮食饮水量稍有增加,大便出现干结,颜色呈深褐色,表明黄芩、苍术对脾胃湿热证有一定的改善作用。模型组大鼠胃组织的AQP4蛋白表达及mRNA的表达与空白组比较未见统计学差异,可能原因是模型组大鼠第21~27天处于常温常湿度条件下饲养,7 d后,模型组大鼠得到了一定的恢复。但与模型组比较,黄芩和苍术各剂量组的AQP4蛋白表达量均显著降低,结果表明,黄芩和苍术可以下调脾胃湿热证胃组织中AQP4蛋白表达,从而达到调节水液转运,改善水液代谢紊乱的症状。进一步说明了黄芩和苍术对脾胃湿热证大鼠的燥湿作用具有一定的性效相关性,即其燥湿药效的强弱与其寒热药性有关,苦寒的黄芩比苦温的苍术作用效果更好。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] 庄高福. 脾胃湿热在消化系统中多种疾病的诊治规律[D]. 广州:广州中医药大学,2009.
- [2] 刘涵容. 平胃散加味治疗慢性胃炎脾胃湿热证的临床研究[J]. 光明中医,2017,32(21): 3104-3106.
- [3] 周晶. 220例慢性胃炎患者中医证型分析研究[J]. 中外女性健康研究,2019,11(22):104-106.

- [4] 肖林榕,李凌空,杨春波. 唐宋元时期消化道脾胃湿热证用药规律的研究[J]. 福建中医学院学报,2006,16(4):55-57.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015.
- [6] 吕冠华,劳绍贤. 脾胃湿热证动物模型的建立与评价[J]. 广州中医药大学学报,2005,22(3):231-235.
- [7] 李合国,劳绍贤. 清浊安中汤对慢性胃炎脾胃湿热证大鼠模型环氧合酶-2的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(8):166-169.
- [8] 劳绍贤,胡玲. 脾胃湿热证研究概要[J]. 广州中医药大学学报,2008,25(1):5-8.
- [9] 欧阳宏. 脾胃湿热证诊断标准研究及以药测证方法初探[D]. 广州:广州中医药大学,2002.
- [10] 廖荣鑫,周福生,文小敏,等. 脾胃湿热证大鼠湿偏重、热偏重模型尿液AQP2的变化及其在肾组织的表达[J]. 山东中医杂志,2007,26(12):846-848.
- [11] 刘路路,吴秀艳,王天芳,等. 脾胃湿热证诊断标准的现代文献研究[J]. 中医杂志,2015(14):83-87.
- [12] 张一帆,李星,朱亨焯,等. 清化饮对脾胃湿热证大鼠免疫功能影响的研究[J]. 中国中医药科技,2010,17(5):391-392.
- [13] 刘亿托,黎美玲. 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证与热休克蛋白70表达的关系[J]. 数理医药学杂志,2020,33(4):535-536.
- [14] 徐晓惠,章程鹏,孙易娜,等. 脾胃湿热型慢性胃炎证候演化规律研究[J]. 湖北中医药大学学报,2019,21(6):51-57.
- [15] 盛天娇,耿晓,孙笑然,等. 加减葛根苓连汤治疗脾胃湿热型腹泻型肠易激综合征临床疗效[J]. 临床军医杂志,2020,48(9):1039-1041.
- [16] 谭永振,陈佩婵,李云鹏,等. 水通道蛋白2在脾胃湿热证大鼠湿、热偏重模型中表达的研究[J]. 陕西中医,2009,30(5):619-621.
- [17] 冯璟,王俊平. 水通道蛋白在消化系统表达与调节的研究进展[J]. 医学综述,2007,13(17): 1295-1297.
- [18] 杨会锋. 水通道蛋白3和水通道蛋白9在功能性便秘结肠粘膜的表达及意义[D]. 河南:郑州大学,2007.
- [19] 梅武轩,劳绍贤,余娜,等. 慢性浅表性胃炎不同程度脾胃湿热证与胃黏膜水通道蛋白3、4基因表达的相关性[J]. 中西医结合学报,2010,8(2):111-115.
- [20] 周正,劳绍贤,黄志新,等. 脾胃湿热证与水通道蛋白4基因表达的关系[J]. 中国中西医结合消化杂志,2004,12(2):71-73.
- [21] 刘洋,向丽华,孙刚,等. 五苓散对腹泻模型大鼠结肠AQP4及AQP4 mRNA表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志,2012,18(5):547-549.

[责任编辑 王鑫]