

健脾温胃散对脾气虚胃炎大鼠血清 TNF- α , IL-6 及胃组织 IRAK-4 mRNA 表达的影响

冯果^{1,2,3*}, 武静¹, 陈继婷¹, 刘文^{1,3}, 何新², 何前松¹, 吴增光¹
(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550025; 2. 天津中医药大学, 天津 300193;
3. 国家苗药工程技术研究中心, 贵阳 550025)

[摘要] **目的:**探讨健脾温胃散对脾气虚胃炎大鼠血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-6(IL-6)及胃组织白细胞介素-1受体相关激酶-4(IRAK-4) mRNA 表达的影响,为中药方剂治疗脾气虚胃炎提供实验依据。**方法:**Wistar 大鼠 60 只,随机分正常组,胃炎模型组,阳性药物组(丽珠得乐胶囊,0.016 g·kg⁻¹·d⁻¹)及健脾温胃散高、中、低剂量组(0.324,0.259,0.194 g·kg⁻¹·d⁻¹),除正常组外均建立大鼠脾气虚胃炎动物模型,测量各组大鼠的肛温变化,各组大鼠 ig 相应药物 30 d 治疗后,采用放射免疫法测定其血清中 IL-6, TNF- α 的含量;苏木素-伊红(HE)染色观察胃组织病理学情况;逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)方法观察健脾温胃散对胃炎大鼠模型胃黏膜 IRAK-4 mRNA 表达的影响。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠肛温变化显著降低,大鼠血清 IL-6, TNF- α 含量显著升高,大鼠胃组织 IRAK-4 mRNA 表达显著升高($P < 0.01$),大鼠胃黏膜的病理损伤较明显;与模型组比较,健脾温胃散高、中、低剂量组能明显改善模型大鼠的证候特征及肛温变化,改善胃黏膜的病理形态,能显著降低胃炎模型大鼠血清 IL-6, TNF- α 含量($P < 0.01$),下调胃组织 IRAK-4 mRNA 表达($P < 0.01$)。**结论:**健脾温胃散能使模型大鼠的肛温恢复正常,改善胃黏膜的病理形态,降低脾气虚胃炎模型大鼠血清 IL-6, TNF- α 含量,抑制 IRAK-4 表达,可能是其治疗胃炎的作用机制之一。

[关键词] 健脾温胃散; 脾气虚胃炎; 白细胞介素-6; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-1受体相关激酶-4

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)14-0145-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016140145

Effects of Jianpi Wenwei Powder on Serum TNF- α , IL-6 and IRAK-4 mRNA Expression in Gastric Tissues of Spleen-deficiency Gastritis Rats

FENG Guo^{1,2,3*}, WU Jing¹, CHEN Ji-ting¹, LIU Wen^{1,3}, HE Xin², HE Qian-song¹, WU Zeng-guang¹
(1. Guiyang University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Guiyang 550025, China;
2. Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China;
3. National Engineering and Technology Research Center of Miao Medicine, Guiyang 550025, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Jianpi Wenwei powder on the expression of serum tumour necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-1 receptor-associated kinase 4 (IRAK-4) mRNA in the gastric mucosa of spleen-deficiency rats. **Method:** Totally 60 Wistar rats were randomly divided into normal control group, gastritis model group, positive drug control group (Colloidal Bismuth Subcitrate capsules, 0.016 g·kg⁻¹·d⁻¹) and Jianpi Wenwei powder high dose group, middle dose group, low dose group (0.324, 0.259, 0.194 g·kg⁻¹·d⁻¹). Except for the normal control group, all of the remaining groups were included in the spleen deficiency animal model of gastritis. The changes of anus temperature were measured in rats. At 30 d after the treatment for each group, IL-6, TNF- α in serum were determined by radioimmunoassay, histopathological changes in gastric tissues were observed by htoxylin eosin (HE) staining; reverse transcription

[收稿日期] 20150324(012)

[基金项目] 贵州省科学技术厅贵阳中医学院科学技术联合基金项目(黔科合中药字[2011]LKZ7025号)

[通讯作者] *冯果, 硕士, 副教授, 从事中药新制剂新技术、中药药理学研究, Tel:15822735386, E-mail:453989352@qq.com

polymerase chain reaction (RT-PCR) method was used to observe the effect of Jianpi Wenwei powder on the expression of IRAK-4 mRNA in gastric mucosa of chronic gastritis model rats. **Result:** Compared with the normal group, the model group showed significant decrease in the rectal temperature changes, and increases in serum IL-6, TNF- α and IRAK-4 mRNA expression in gastric tissues ($P < 0.01$), with obvious pathological injury at gastric mucosa of rats; Compared with the model group, Jianpi Wenwei Powder can significantly alleviate the syndrome characteristics and rectal temperature changes in model rats, release the pathological morphology of gastric mucosa, significantly decrease serum IL-6, TNF- α in rats of gastritis model ($P < 0.01$), down-regulate the IRAK-4 mRNA expression in the gastric mucosa ($P < 0.01$). **Conclusion:** Jianpi Wenwei powder can recover the anus temperature of model rats to normal, alleviate the pathological morphology of gastric mucosa, reduce the content of serum IL-6 and TNF- α in the rat model of spleen deficiency chronic gastritis, and inhibit the expression of IRAK-4, which may be one of its mechanisms for treatment of gastritis.

[**Key words**] Jianpi Wenwei powder; spleen-deficiency gastritis; interleukin-6; tumour necrosis factor- α ; interleukin-1 receptor-associated kinase-4

胃炎是临床常见病、多发病,属于中医“胃脘痛”、“腹胀”、“嘈杂”、“心下痞满”、“痞证”等范畴,主要是胃黏膜上皮遇到药物、微生物、毒素和胆汁返流等各种致病因子的反复侵袭,发生慢性持续性炎症性病变,其中机体免疫机制异常是关键因素之一,特别是细胞免疫异常^[1]。健脾温胃散来源于贵州省首届名老中医陈慈煦教授多年的临床经验方,该方疗效显著,全方由党参、土炒白术、茯苓、广木香、砂仁、延胡索、丹参、陈皮、炙甘草组成。具有益气健脾,和胃止痛,燥湿化痰之功效。主治脾胃虚弱型胃炎、胃溃疡。前期临床应用及研究表明,该方使用安全,疗效确切,是临床治疗脾胃虚弱型胃炎、胃溃疡的经典方,具有很高的开发应用价值。本研究造脾气虚胃炎动物模型,采用放射免疫法分别检测经健脾温胃散治疗前后大鼠血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素-6 (IL-6)水平;观察该方对胃炎模型大鼠胃组织病理形态学的改变;采用逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)法检测胃炎模型大鼠胃黏膜白细胞介素-1受体相关激酶-4 (IRAK-4) mRNA的表达。进一步探讨“健脾温胃散”对脾气虚弱型胃炎的治疗作用机制,为本方的临床应用和 新药开发提供依据。

1 材料

1.1 动物 健康清洁级 Wistar 大鼠 60 只,体重 (200 \pm 20) g,雌雄各半,由重庆腾鑫生物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(渝)2012-000J,清洁、通风条件饲养,温度 15 ~ 25 $^{\circ}\text{C}$,湿度 55% ~ 70%,混合饲料喂养。

1.2 药物及试剂 IL-6 放射免疫试剂盒(上海锐谷生物科技有限公司,货号 42899),TNF- α 放射免

疫试剂盒(南京森贝伽生物科技有限公司,货号 SBJ-M0030),脱氧胆酸钠(上海日初生物科技有限公司,批号 Rc-0613),TRNzol 总 RNA 提取试剂(北京天根生化科技有限公司,批号 DP405-02); PrimeScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser, SYBR[®] Premix Ex TaqTM II 及 ROX plus(日本 TaKaRa 公司,批号分别为 RR047B, RR82LR, RR41WR);引物合成(美国 Invitrogen 公司)。健脾温胃散(贵阳中医学院中药制剂中心提供,批号 20120120,用水调成混悬液后 *ig*),丽珠得乐胶囊(丽珠集团丽珠制药厂,批号 120302),可加水溶解后 *ig*, 吡哆美辛肠溶片(重庆科瑞制药有限责任公司,批号 111025)。造模用番泻叶水浸液制备:将番泻叶按 1:1 比例与水混合于恒温水浴箱中 70 $^{\circ}\text{C}$ 浸泡 24 h,将浸得液用三层纱布过滤后放在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。氨水(分析纯),无水乙醇(分析纯)。

1.3 仪器 ABI7500 型荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司),UV-1800 型紫外-可见光分光光度计(上海美谱达仪器有限公司),TGL16A 型台式高速冷冻离心机(湖南凯达科学仪器有限公司),KD-1508A-VI 型两用石蜡切片机(河北润联科技开发有限公司),HH-S4 型双列四孔恒温水浴锅(江苏省金坛市金南仪器制造有限公司),XSP-14A 型显微镜(上海光学仪器一厂),ProgRes[®] 型数码显微镜照相机(业纳上海仪器设备有限公司),FT-613 型自动计数 I¹²⁵ 放免测量仪(北京核仪器厂),QL-902 型涡旋振荡仪(海门市其林贝尔仪器制造有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组 将 60 只实验大鼠随机分为 2 组,

正常组 10 只,造模组 50 只,造模组大鼠造模后再随机分为 5 组,分别为模型组、丽珠得乐胶囊组以及健脾温胃散高、中、低剂量组,每组 10 只。

2.2 造模方法 实验大鼠模型复制参考氏造模方法^[2]略加改进,除正常组外(正常组正常饲养,不予造模,每日给予等量生理盐水 ig),其余大鼠建立大鼠脾气虚胃炎动物模型,主要分为 2 步。

第 1 步,脾气虚造模,参照文献报道的综合造模法改进^[3],大鼠适应性饲养 3 d 后开始造模(正常组除外)。造模过程分为两阶段(均自由饮水),共 3 周。第 1 阶段为前 5 d,饮食失节伤脾气,即单日喂饲甘蓝 $50\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,双日喂饲精炼猪脂 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$;劳倦过度伤脾气,每日 $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温水中游泳至疲劳(疲劳的标准为全身下沉至没顶,不能坚持游泳)。第 2 阶段为后 6~21 d,除饮食失节及劳倦过度因素外,另加苦寒泻下伤脾阳,每日加灌藩泻叶水浸液 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。当大鼠出现倦怠、喜聚堆、腹泻、皮毛枯槁易落,不能坚持游泳、肛周污浊、躯体扭曲等现象时,说明脾气虚造模成功。

第 2 步,脾气虚胃炎造模,脾气虚造模成功后,给脾气虚大鼠 ig 40% 乙醇,每周 1 空腹 1 次,每次 $8\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$; $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 去氧胆酸钠 ig ,每日上午 1 次,每次 $8\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$; 0.05%~0.1% 氨水作为大鼠日常饮用水自由饮用,并记录每日饮用量;0.05% 吡啶美辛 ig ,每日下午 1 次,每次 $8\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$;并配以饥饱失常;连续 90 d 后(每 10 d 测体重 1 次),脾气虚胃炎动物模型复制成功,再将模型动物随机分为脾气虚胃炎模型组、健脾温胃散高、中、低治疗组和丽珠得乐胶囊药物组,每组 10 只。

2.3 给药方法 从第 91 天开始分别给予各组大鼠相应药物灌服 30 d。具体为正常组灌服生理盐水 $7\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$;脾气虚胃炎模型组,灌服生理盐水 $7\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$;健脾温胃散高、中、低剂量治疗组,分别灌服健脾温胃散 $0.324, 0.259, 0.194\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$;丽珠得乐胶囊组,灌服丽珠得乐胶囊 $0.016\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

2.4 标本采集和保存 各组动物于末次 ig 给药治疗后,禁食不禁水 24 h,测体重后,将大鼠麻醉,股动脉采血 8 mL,血液静置 20 min 后,使用离心机以 $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,分离血清并置于低温冰箱($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$)保存。断头处死大鼠,快速剖取胃组织,在低温生理盐水中洗去血液,沿胃大弯剪开,从前胃到胃窦切取胃组织一块,立即放入 4% 甲醛溶液内固定。另外,再从前胃至胃窦切取另一块胃

组织,放入液氮中保存备用。

2.5 观察指标测定方法

2.5.1 模型动物证候特征 的观察 对实验大鼠在造模前后的行动特征和证候表现进行观察,并详细记录。

2.5.2 大鼠肛温的测量 用温度计测定大鼠的肛温,并详细记录。

2.5.3 病理组织学检测 取胃组织用石蜡包埋,切片,苏木素-伊红(HE)染色,光镜下组织形态观察。

2.5.4 放射免疫法测定血清 TNF- α , IL-6 的含量 对 IL-6, TNF- α 的免疫活性进行测定,并绘制其标准曲线,采用放射免疫法测定其血清中 IL-6, TNF- α 含量,其操作过程严格按照试剂盒操作步骤说明进行。

2.5.5 对大鼠胃黏膜 IRAK-4 mRNA 表达的测定 IRAK-4 上游引物 5'-GTCATGACCAGCCGAATCGTG-3',下游引物 5'-CAGACACTGGTCAGCAGCAGA-3',产物大小 597 bp; GAPDH 上游引物 5'-TGGGGTGATGCTGCTGCTGACT-3',下游引物 5'-AGGTTTCTCCAGGCGGCATGTC-3',产物大小 138 bp。用 Trizol 试剂提取胃黏膜中的总 RNA,并且逆转录为 cDNA,放置 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备检。用 SYBR Green I 荧光定量检测各指标 mRNA 的水平。根据 RT-PCR 原始检测结果,分析得出各个样品量的循环阈值(C_t),用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 公式^[4]计算 mRNA 的相对表达量。

$$\Delta\Delta C_t = (C_{t\text{目的基因}} - C_{t\text{内参}})_{\text{实验组}} - (C_{t\text{目的基因}} - C_{t\text{内参}})_{\text{空白组}}$$

2.6 统计学分析 采用 SPSS 13.0 对数据进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料采用单因素方差分析,组间比较采用两独立样本 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 模型动物证候特征 试验期间,正常组体胖、行动活跃、精神良好、皮毛润泽、饮食不减、实验后体重明显高于实验前($P < 0.01$);造模各组均出现不同程度的精神萎靡、眯眼、蜷卧、扎堆、反应迟钝、行动迟缓、甚至行走不稳、皮毛枯槁散乱、肛周污浊、饮食减少、消瘦等表现。

3.2 对大鼠体重变化的影响 造模后,造模组的体重下降明显,与造模前比较有显著差异($P < 0.01$)。治疗后,除了模型组体重无明显变化外,健脾温胃散高、中、低剂量组和丽珠得乐胶囊组治疗后,上述各症状均有明显改善,体重也明显增加,与造模后比较均有显著差异($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 健脾温胃散对大鼠体重变化的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of Jianpi Wenwei powder on body weight change in rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	造模前体重	造模后体重	治疗后体重
正常	-	225.1 ± 10.2	266.0 ± 10.3 ¹⁾	284.5 ± 10.2 ²⁾
模型	-	224.5 ± 10.5	215.8 ± 11.4 ¹⁾	221.7 ± 10.0
丽珠得乐胶囊	0.016	224.8 ± 11.4	212.4 ± 11.3 ¹⁾	224.8 ± 10.4 ²⁾
健脾温胃散	0.324	225.5 ± 9.4	215.9 ± 8.8 ¹⁾	236.2 ± 8.9 ²⁾
	0.259	223.7 ± 12.3	206.4 ± 9.6 ¹⁾	218.3 ± 10.1 ²⁾
	0.194	225.1 ± 11.6	207.5 ± 10.3 ¹⁾	216.5 ± 8.5 ²⁾

注:与本组造模前比较¹⁾ $P < 0.01$;与本组造模后比较²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.3 对大鼠肛温变化的影响 测量大鼠肛温,除了正常组肛温正常无变化外,其他大鼠肛温在造模前和造模后比较明显下降($P < 0.01$)。治疗后,模型

组肛温与造模后肛温无明显差异;健脾温胃散高、中、低剂量组与丽珠得乐胶囊组肛温均恢复正常,与造模后比有显著差异($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 健脾温胃散对大鼠肛温变化的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of Jianpi Wenwei powder on anal temperature change in rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	造模前肛温	造模后肛温	治疗后肛温
正常	-	38.05 ± 0.20	38.10 ± 0.21	38.08 ± 0.25
模型	-	38.11 ± 0.20	36.65 ± 0.30 ¹⁾	36.48 ± 0.22
丽珠得乐胶囊	0.016	38.23 ± 0.21	36.68 ± 0.29 ¹⁾	38.01 ± 0.28 ²⁾
健脾温胃散	0.324	38.35 ± 0.23	36.49 ± 0.24 ¹⁾	38.27 ± 0.30 ²⁾
	0.259	38.22 ± 0.22	36.77 ± 0.28 ¹⁾	37.45 ± 0.26 ²⁾
	0.194	38.19 ± 0.24	36.75 ± 0.24 ¹⁾	37.55 ± 0.33 ²⁾

3.4 对脾气虚胃炎大鼠血清 TNF- α , IL-6 的影响 脾气虚胃炎大鼠血清 TNF- α , IL-6 含量明显升高,与正常组比较均有显著性差异($P < 0.01$);健脾温胃散能显著降低脾气虚胃炎大鼠血清 TNF- α , IL-6 的含量;其中,高、中剂量组与丽珠得乐胶囊组比较无显著差异;低剂量组大鼠血清 TNF- α , IL-6 含量虽有降低,但健脾温胃散高、中剂量组更为明显($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 健脾温胃散对大鼠血清 TNF- α , IL-6 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

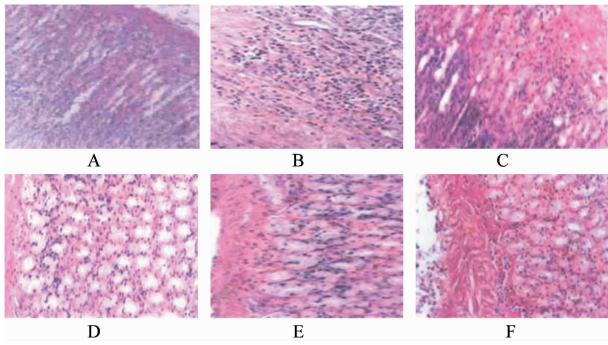
Table 3 Effects of Jianpi Wenwei powder on serum TNF- α , IL-6 in rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	TNF- α	IL-6
正常	-	0.68 ± 0.12	17.46 ± 3.25
模型	-	1.82 ± 0.15 ¹⁾	42.35 ± 5.82 ¹⁾
丽珠得乐胶囊	0.016	0.76 ± 0.11 ²⁾	18.66 ± 3.85 ²⁾
健脾温胃散	0.324	0.72 ± 0.10 ²⁾	19.24 ± 3.71 ²⁾
	0.259	0.89 ± 0.14 ²⁾	20.68 ± 4.45 ²⁾
	0.194	1.56 ± 0.17	36.87 ± 5.54

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ (表 4 同)。

3.5 对大鼠胃组织病理学的影响 正常组的黏膜上皮完整,固有黏膜密集排列的腺体,淋巴细胞散在,未见胃黏膜萎缩;模型组大鼠胃黏膜显示腺萎缩,固有层淋巴细胞灶性浸润,有淋巴滤泡形成,黏膜基层增厚;丽珠得乐组大鼠黏膜固有腺体轻度萎缩,可见淋巴细胞、浆细胞弥漫性浸润,小血管扩张充血纤维组织增生,黏膜下肌层略增厚;健脾温胃散高剂量组大鼠胃黏膜有淋巴细胞、浆细胞散在浸润;健脾温胃散中剂量组大鼠胃黏膜可见固有层淋巴细胞灶性浸润,有少量小血管扩张充血;健脾温胃散低剂量组在鼠黏膜组织呈慢性炎症,黏膜固有层有多量淋巴细胞、浆细胞及少量中性粒细胞浸润,黏膜下基层增厚。见图 1。

3.6 对大鼠胃黏膜中 IRAK-4 mRNA 表达的影响 与正常组比较,模型组大鼠胃黏膜中的 IRAK-4 mRNA 表达明显增高,且有极显著差异($P < 0.01$);与模型组比较,丽珠得乐胶囊组和健脾温胃散高、中、低剂量组胃黏膜中的 IRAK-4 mRNA 表达明显下降,且具有显著性差异($P < 0.01$);与丽珠得乐胶囊阳性对照组比较,健脾温胃散高、中、低剂量组



A. 正常组; B. 模型组; C. 丽珠得乐胶囊组; D. 健脾温胃散 0.324 g·kg⁻¹·d⁻¹组; E. 健脾温胃散 0.259 g·kg⁻¹·d⁻¹组; F. 健脾温胃散 0.194 g·kg⁻¹·d⁻¹组(图 2 同)

图 1 健脾温胃散对大鼠胃组织病理学的影响(HE, ×200)

Fig. 1 Effects of Jianpi Wenwei powder on stomach tissue pathology in rats(HE, ×200)

IRAK-4 mRNA 表达没有显著性差异;健脾温胃散能够抑制胃黏膜中的 IRAK-4 mRNA 表达,可能与其健脾温胃散治疗胃炎的作用有关。见表 4,图 2。

表 4 健脾温胃散对大鼠胃组织 IRAK-4 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s$, n = 10)

Table 4 Effects of Jianpi Wenwei powder on stomach tissue IRAK-4 mRNA expression serum in rats($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	剂量/g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	IRAK-4
正常	-	1.054 ± 0.459
模型	-	2.736 ± 0.081 ¹⁾
丽珠得乐胶囊	0.016	1.074 ± 0.072 ²⁾
健脾温胃散	0.324	1.072 ± 0.069 ²⁾
	0.259	1.092 ± 0.068 ²⁾
	0.194	1.094 ± 0.064 ²⁾

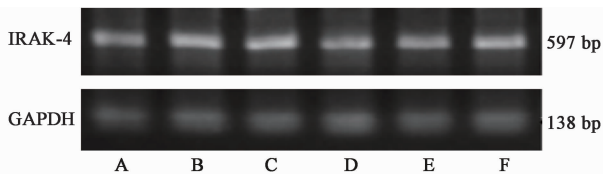


图 2 健脾温胃散对大鼠胃组织 IRAK-4 mRNA 表达的影响

Fig. 2 Effects of Jianpi Wenwei powder on stomach tissue IRAK-4 mRNA expression serum in rats

4 讨论

胃炎为胃黏膜的炎症。近年来,越来越多的研究工作者采用中医药对胃炎进行治疗及研究,收到了很好的效果,且复发率低,已受到广大胃病患者的接受和青睐。

TNF- α 是血清中具有的一种能杀伤某些肿瘤细胞或使体内肿瘤组织发生出血坏死的因子,称为肿瘤坏死因子。TNF- α 是最丰富的一种早期炎症介质

组织,是由许多不同类型的细胞产生,特别是巨噬细胞^[5-6]。TNF- α 是最重要的炎症细胞因子,同时还是众多细胞因子的重要启动因子,其作用强弱与炎症活动性成正相关^[7]。TNF- α 在炎症的发生、发展过程起重要作用,是炎症趋化因子和激活因子。适量的 TNF- α 可参与免疫细胞的活化炎症反应,具有抗感染、抗病毒和抗肿瘤作用;而过量的 TNF- α 则增强微血管壁通透性,改变黏膜血管内皮细胞反应性,致微血管内凝血,导致细胞破坏,溶酶体漏出,炎症介质释放等。TNF- α 还可以趋化中性粒细胞,增强其吞噬杀伤能力,增强炎症局部淋巴细胞浸润和增殖,从而诱发了一系列的炎症改变,加重黏膜炎症反应^[8]。

IL-6 作为前炎症细胞因子,在炎症反应过程中起着重要的作用,是敏感反映机体炎症和组织损伤严重程度的重要指标^[9]。IL-6, TNF- α 等细胞因子作为重要的炎症介质参与机体的炎症反应^[10]。生理状态下,人体液中 TNF- α 和 IL-6 水平较低,但在病理状态下, TNF- α 和 IL-6 分泌量增加以及引起的各种炎症因子的瀑布式释放,可导致炎症反应,引起组织细胞损伤。同时, TNF- α 和 IL-6 等细胞因子在蛋白激酶, ERK1/2 和 p38 MAPK 磷酸化与表达方面密切相关^[11]。

IRAKs 参与炎症的细胞信号转导网络的调节。研究表明, IRAKs 存在于多种细胞类型中,并能介导包括 TLRs 在内的各种细胞受体信号。因此, IRAKs 的活化,可发生下游不同的信号转导过程,人类 IRAKs 基因的遗传变异与人的各种炎症性疾病有关^[12]。IRAKs 家族在 TLRs/IL-1 信号通路中起着信号通路连接体和枢纽作用。IRAKs 家族包括 IRAK-1, 2, M 和 IRAK-4 四个成员,其中 IRAK-4 是 TLR 介导的信号通路中的一个重要连接体,在炎症反应的启动和调节中有重要意义^[13-14]。

健脾温胃散系贵州省首批名老中医专家陈慈煦教授的经验方,该方疗效卓著,全方由党参、土炒白术、茯苓、广木香、砂仁、延胡索、丹参、陈皮、炙甘草组成。具有益气健脾,和胃止痛,燥湿化痰之功效。主治脾胃虚弱型胃炎、胃溃疡等。临床应用及研究表明,该方使用安全,疗效确切,是临床治疗脾胃虚弱型胃炎、胃溃疡的经典方,深受广大患者好评,现已开发成医院制剂。

本研究结果表明,脾气虚大鼠造模前后的证候特征及肛温有明显的变化;脾气虚模型大鼠血清中 IL-6, TNF- α 含量和胃组织 IRAK-4 表达明显升高;

模型组大鼠胃黏膜显示腺萎缩,固有层淋巴细胞灶性浸润,有淋巴滤泡形成,黏膜基层增厚等。使用健脾温胃散给药后,能明显改善模型大鼠的证候特征及肛温变化;显著降低脾气虚大鼠血清 IL-6, TNF- α 含量和胃组织 IRAK-4 表达;健脾温胃散能改善胃黏膜的病理形态,治疗后胃黏膜各层结构基本正常,黏膜固有腺体丰富排列较规则,大鼠胃黏膜有淋巴细胞、浆细胞散在浸润。健脾温胃散的作用机理可能与其降低血清 IL-6, TNF- α 含量及胃组织 IRAK-4 表达密切相关,其中,健脾温胃散大、中剂量组疗效最佳,与药物对照组对照无明显差异,而健脾温胃散小剂量对脾气虚大鼠血清 IL-6, TNF- α 含量无明显降低作用,说明健脾温胃散中剂量已达到治疗脾虚胃炎、胃溃疡有较大的发展前景,今后将继续加强对该方的作用机制研究和深层次的开发,以便服务于临床。

[参考文献]

[1] 江伟,胡永敏. 健脾益气清幽汤对慢性浅表性胃炎大鼠胃组织淋巴细胞亚群及 IL-2 mRNA 的影响[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(7): 926-930.

[2] 姒健敏,吴加国,曹倩,等. 鼠慢性萎缩性胃炎模型的建立及致萎缩因素探讨[J]. 中华消化杂志, 2001, 21(2): 75-77.

[3] 陈学习,陈继婷. 大建中汤对脾阳虚大鼠 TXB₂ 及 6-Keto-PGF_{1 α} 的影响[J]. 江苏中医药, 2003, 24(2): 49-50.

[4] Livak K, Schmittgen T. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{- $\Delta\Delta C_t$} method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.

[5] Beutler B, Cerami A. The biology of cachectin/TNF- α primary mediator of the host response [J]. Annu Rev Immunol, 1989, 7(7): 625-655.

[6] Vassalli P, The pathophysiology of tumor necrosis factors [J], Annu Rev Immunol, 1992, 10(10): 411-452.

[7] 康晓平,任蕴芳,沈倍奋. 人 IL-6 及其受体拮抗剂的研究进展[J]. 国外医学分子生物学分册, 2001, 23(4): 196-199.

[8] 张静霜,朱西杰,朱微微,等. 复方蜥蜴散对慢性萎缩性胃炎模型大鼠肿瘤坏死因子- α 及胃黏膜病理组织学的影响[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(2): 286-288.

[9] 李卫,刘佳,白家媛,等. 肿瘤坏死因子 α 的研究进展[J]. 动物医学进展, 2010, 31(12): 108-110.

[10] 丁桂霞,陈荣华,张爱华,等. 核因子 2B 反义寡核苷酸对系膜细胞炎症因子基因表达的影响[J]. 肾脏病与肾透析移植杂志, 2002, 11(2): 128-132.

[11] Scherle P A, Jones E A, Favata M F, et al. Inhibition of MAP kinase prevents cytokine and prostaglandin E₂ production in lipopolysaccharide-stimulated monocytes [J]. J Immunol, 1998, 161(10): 5681-5686.

[12] 李卿慧,刘亚贤. 白细胞介素 1 受体相关激酶在调控炎症细胞信号转导中的作用及研究进展[J]. 实用心脑血管肺血管病杂志, 2013, 21(11): 1-2.

[13] 张艳丽,李秀萍,王宁萍,等. 毒热平注射液对病毒感染巨噬细胞 IRAK4 表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(6): 1432-1433.

[14] Lye E, Dhanji S, Calzascia T, et al. IRAK-4 kinase activity is required for IRAK-4-dependent innate and adaptive immune responses[J]. Eur J Immunol, 2008, 38(3): 870-876.

[责任编辑 周冰冰]