

# 补骨脂 - 肉豆蔻醇提物对脾虚泄泻小鼠水通道蛋白及结肠中细胞因子的影响

孙祥瑞<sup>1</sup>, 高家荣<sup>2</sup>, 汪庆飞<sup>1</sup>, 王 婷<sup>2</sup>

**[摘要]** **目的:**探讨补骨脂 - 肉豆蔻醇提物对脾虚泄泻小鼠水通道蛋白(AQP)及结肠中细胞因子的作用。**方法:**昆明小鼠 60 只,随机分正常组、模型组、参苓白术散组和补骨脂 - 肉豆蔻醇提取物(醇提物)低、中、高剂量组,各 10 只。模型组、醇提物组和参苓白术散组均采用大黄诱导脾虚泄泻小鼠模型,正常组小鼠每天给予等量蒸馏水灌胃。建模成功后,醇提物低、中、高剂量组分别给予补骨脂 - 肉豆蔻醇提取物 7.02、14.04、21.06 g/kg 灌胃,参苓白术散组给予参苓白术散 2.34 g/kg 灌胃,正常组和模型组给予等量蒸馏水,每天 1 次,连续给药 2 周。比较各组小鼠体质量和胸腺指数、脾脏指数;免疫组织化学法检测 AQP3、AQP4 蛋白表达;ELISA 法检测结肠白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 、IL-2、肿瘤坏死因子(TNF)水平。**结果:**各组小鼠体质量间差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),其中模型组小鼠体质量明显低于正常组( $P < 0.01$ ),醇提物中、高剂量组小鼠体质量均高于模型组( $P < 0.05$ )。模型组小鼠脾脏指数和胸腺指数均低于正常组( $P < 0.05$  和  $P < 0.01$ ),而醇提物中、高剂量组小鼠脾脏指数和醇提物高剂量组小鼠胸腺指数均高于模型组( $P < 0.05$ )。免疫组织化学结果显示,模型组和醇提物各组小鼠 AQP3、AQP4 蛋白表达均低于正常组( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ );醇提物中、高剂量组和参苓白术散组小鼠 AQP3、AQP4 蛋白表达均明显高于模型组和醇提物低剂量组( $P < 0.01$ )。与正常组比较,模型组小鼠结肠中 IL-1 $\beta$ 、IL-2 和 TNF- $\alpha$  水平均明显升高( $P < 0.01$ );与模型组和醇提物低、中剂量组比较,醇提物高剂量组和参苓白术散组小鼠结肠中 IL-1 $\beta$ 、IL-2 和 TNF- $\alpha$  水平均明显降低( $P < 0.01$ )。**结论:**补骨脂 - 肉豆蔻醇提物可上调 AQP 表达,降低肠道的炎性因子水平,对脾虚泄泻小鼠胃肠道功能有一定的改善作用。

**[关键词]** 脾虚泄泻;补骨脂 - 肉豆蔻醇提物;水通道蛋白;小鼠

**[中图分类号]** R 256.34 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2018.02.004

## Effect of ethanol extract of psoralen-nutmeg on aquaporin and cytokines in spleen deficiency diarrhea mice

SUN Xiang-rui<sup>1</sup>, GAO Jia-rong<sup>2</sup>, WANG Qing-fei<sup>1</sup>, WANG Ting<sup>2</sup>

(1. Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233040; 2. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei Anhui 230031, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effects of ethanol extract of psoralen-nutmeg on aquaporin (AQP) and cytokines in spleen deficiency diarrhea mice. **Methods:** Sixty Kunming mice were randomly divided into the normal group, model group, Shenling Baizhu powder group, and low, medium and high dose of ethanol extract of psoralen-nutmeg group (10 mice each group). The spleen deficiency diarrhea mice in model group, Shenling Baizhu powder group and ethanol extract group were established using rhubarb, and the normal group was gavaged using the same volume distilled water. After successful modeling, the low, medium and high dose of ethanol extract group were gavaged with 7.02, 14.04 and 21.06 g/kg of ethanol extract of psoralen-nutmeg, respectively. The Shenling Baizhu powder group was gavaged with Shenling Baizhu powder at the dose of 2.34 g/kg, and the normal group and model group were gavaged with the same volume of distilled water, once a week, for 2 weeks. The body mass, thymus index and spleen index between all groups were compared. The protein expression levels of AQP3 and AQP4 were detected by immunohistochemistry, and the levels of IL-1 $\beta$ , IL-2, TNF- $\alpha$  of colon were measured using ELISA. **Results:** The difference of the body mass between all groups was statistically significant ( $P < 0.01$ ), which in model group was significantly lower than that in normal group ( $P < 0.01$ ), and which in medium and high dose of ethanol extract group was higher than that in model group ( $P < 0.05$ ). The thymus index and spleen index in model group were significantly lower than those in normal group ( $P < 0.05$  and  $P < 0.01$ ), and which in middle and high dose of ethanol extract group were higher than those in model group ( $P < 0.05$ ). The results of immunohistochemistry showed that the protein expression levels of AQP3 and AQP4 in normal group and ethanol extract group were lower than those in normal group ( $P < 0.05$  to  $P < 0.01$ ), and the protein expression levels of AQP3 and AQP4 in medium and high dose of ethanol extract group and Shenling

**[收稿日期]** 2016-10-24

**[基金项目]** 蚌埠医学院科研基金资助课题 (Byky1485)

**[作者单位]** 1. 蚌埠医学院第二附属医院 药剂科, 安徽 蚌埠 233040; 2. 安徽中医药大学第一附属医院 药学部, 安徽 合肥 230031

**[作者简介]** 孙祥瑞 (1986 - ), 女, 硕士, 主管药师。

Baizhu powder group were significantly higher than those in model group and low dose of ethanol extract group ( $P < 0.01$ ). Compared with normal group, the levels of IL-1 $\beta$ , IL-2 and TNF- $\alpha$  in colon tissue in model group significantly increased ( $P < 0.01$ ). Compared with model group and low and medium dose of ethanol extract group, the levels of IL-1 $\beta$ , IL-2 and TNF- $\alpha$  in colon tissue in high dose of ethanol extract group and Shenling Baizhu powder group significantly decreased ( $P < 0.01$ ). **Conclusions:** Ethanol extract of psoralen-nutmeg can obviously enhance the expression of aquaporin, reduce the levels of intestinal inflammatory factors, and improve the gastrointestinal function of spleen deficiency diarrhea mice.

[**Key words**] spleen deficiency diarrhea; ethanol extract of psoralen-nutmeg; aquaporin; mouse

“二神丸”出自宋·许叔微《普济本事方》，由补骨脂和肉豆蔻组成，具有温肾暖脾、涩肠止泻的功效，是临床治疗脾虚泄泻的基础方剂之一。我们利用现代药学研究方法，在现有文献研究的基础上，采用免疫组织化学法、ELISA 法等多种方法，从小鼠的一般体征、免疫功能、细胞因子等多方面进一步验证补骨脂-肉豆蔻醇提取物对脾虚泄泻的作用，从而选取更加安全、有效、严谨的药物配伍和剂量，为临床治疗提供实验依据。现作报道。

## 1 材料与方

1.1 实验动物 SPF 级昆明小鼠 60 只，雌雄各半，体质量 18 ~ 22 g，由安徽医科大学动物实验中心提供，许可证号：SCXK(皖)2011-002。室温 18 ~ 22  $^{\circ}\text{C}$ ，湿度 40% ~ 60%，自由饮水饮食，适应性饲养 1 周。将小鼠随机分正常组、模型组、参苓白术散组和补骨脂-肉豆蔻醇提取物(醇提物)低、中、高剂量组，各 10 只。

1.2 药物 补骨脂(批号：20141212)、肉豆蔻(批号：20140625)、生大黄(批号：150401)均购自安徽普仁中药饮片有限公司；参苓白术散(批号：20150905)购自山西华康药业股份有限公司。

1.3 仪器与试剂 上海徠卡仪器有限公司 RM2016 型病理切片机；武汉俊杰电子有限公司 JB-P5 型包埋机。4%多聚甲醛(北京索莱宝科技有限公司，批号：20121113)；PBS 缓冲液(谷歌生物公司，批号：20110807144)；无水乙醇(国药控股化学试剂有限公司，批号：20110301)。

1.4 方法 取补骨脂-肉豆蔻(2:1)药材，加 8 倍体积用量 60% 乙醇，每次提取 1 h，共提取 2 次，合并药液，浓缩，分别配制成 1.05 g/mL、0.7 g/mL、0.35 g/mL 药液备用。模型组、醇提物组和参苓白术散组小鼠均采用苦寒泻下法，以 100% 生大黄水煎剂(含原生药 1 g/mL)0.2 g/10 g 灌胃，每天 1 次，连续 8 d，复制脾虚泄泻模型；正常组小鼠每天给予等量蒸馏水灌胃。待模型小鼠腹泻或脱肛后，醇提物低、中、高剂量组分别给予补骨脂-肉豆蔻醇提

取物 7.02、14.04、21.06 g/kg 灌胃，参苓白术散组给予参苓白术散 2.34 g/kg 灌胃，正常组和模型组给予等量蒸馏水，每天 1 次，连续给药 2 周。

1.5 观察指标 (1)体质量：比较各组小鼠体质量，并观察毛色、神志、活动频率等。(2)脾脏、胸腺指数：剥离小鼠脾脏、胸腺，去除筋膜、脂肪组织，电子天平称质量，脾脏指数 = 脾脏质量/体质量(mg/g)，胸腺质量指数 = 胸腺/体质量(mg/g)。(3)水通道蛋白(aquaporin, AQP) AQP3、AQP4 表达(免疫组织化学法)：取小鼠结肠组织，经常规脱水、浸蜡后包埋，制作石蜡切片；切片经二甲苯脱蜡后，乙醇梯度洗脱水化；98  $^{\circ}\text{C}$  条件下置于 500 mL 柠檬酸抗原修复 15 min；洗涤后，滴加一抗、二抗，避光 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 90 min；DAB 显色剂显色 10 min，苏木素衬染 180 s，中性树胶封片，荧光显微镜下观察并采集图像，细胞质中显示棕褐色为阳性表达。(3)白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 、IL-2、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$  水平(ELISA 法)：取结肠组织 0.2 g，加入一定量 0.9% 氯化钠注射液制成 10% 组织匀浆，3 000 r/min 离心 20 min，取上清液，分别稀释成 120、80、40、20、10 ng/L 备用，依次加样，封板膜封板，配液，洗涤，显色，终止后测定吸光度。

1.6 统计学方法 采用单因素方差分析和  $q$  检验。

## 2 结果

2.1 各组小鼠体质量比较 模型组小鼠出现饮水、食欲下降、便溏、毛色不整、体质量减轻、倦怠、嗜卧等情况。各组小鼠体质量间差异有统计学意义( $P < 0.01$ )，其中模型组小鼠体质量明显低于正常组( $P < 0.01$ )，醇提物中、高剂量组小鼠体质量均高于模型组( $P < 0.05$ ) (见表 1)。

2.2 各组小鼠脾脏、胸腺指数比较 与正常组比较，模型组小鼠脾脏指数和胸腺指数均降低( $P < 0.05$  和  $P < 0.01$ )；与模型组比较，醇提物中、高剂量组小鼠脾脏指数均升高( $P < 0.05$ )，醇提物高剂量组小鼠胸腺指数亦升高( $P < 0.05$ ) (见表 2)。

2.3 各组小鼠 AQP3、AQP4 蛋白表达比较 免疫组织化学结果显示, AQP3、AQP4 蛋白阳性表达分布于细胞质中(见图 1、2)。模型组和醇提物各组小鼠 AQP3、AQP4 蛋白表达均较正常组降低( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ );醇提物中、高剂量组和参苓白术散组小鼠 AQP3、AQP4 蛋白表达均较模型组和醇提物低剂量组明显升高( $P < 0.01$ )(见表 3)。

表 1 各组小鼠体质量比较( $n_i = 10; \bar{x} \pm s; g$ )

| 分组       | 体质量                       | F    | P     | MS <sub>组内</sub> |
|----------|---------------------------|------|-------|------------------|
| 正常组      | 37.20 ± 2.69              |      |       |                  |
| 模型组      | 32.51 ± 1.57**            |      |       |                  |
| 醇提物 低剂量组 | 35.22 ± 2.31              | 3.56 | <0.01 | 6.531            |
| 中剂量组     | 35.36 ± 2.40 <sup>△</sup> |      |       |                  |
| 高剂量组     | 35.47 ± 2.42 <sup>△</sup> |      |       |                  |
| 参苓白术散组   | 34.56 ± 3.54              |      |       |                  |

q 检验:与正常组比较\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较 $\Delta P < 0.05$

表 2 各组小鼠脾脏、胸腺指数比较( $\bar{x} \pm s; n_i = 10; mg/g$ )

| 分组               | 脾脏指数                     | 胸腺指数                     |
|------------------|--------------------------|--------------------------|
| 正常组              | 3.12 ± 0.91              | 2.29 ± 0.79              |
| 模型组              | 2.33 ± 0.35*             | 1.34 ± 0.40**            |
| 醇提物 低剂量组         | 2.43 ± 0.37              | 1.43 ± 0.42*             |
| 中剂量组             | 2.50 ± 0.34 <sup>△</sup> | 1.94 ± 0.30              |
| 高剂量组             | 3.05 ± 0.57 <sup>△</sup> | 2.03 ± 0.57 <sup>△</sup> |
| 参苓白术散组           | 2.69 ± 0.88              | 1.85 ± 0.63              |
| F                | 3.26                     | 5.11                     |
| P                | <0.05                    | <0.01                    |
| MS <sub>组内</sub> | 0.000                    | 0.000                    |

q 检验:与正常组比较\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较 $\Delta P < 0.05$

表 3 各组小鼠 AQP3、AQP4 蛋白表达比较( $\bar{x} \pm s; n_i = 3$ )

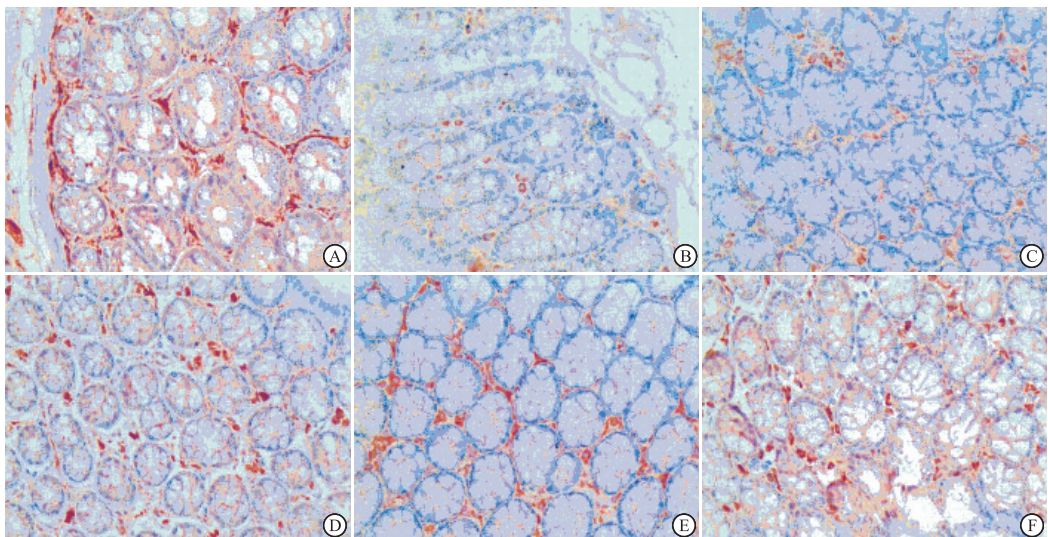
| 分组               | AQP3                            | AQP4                            |
|------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 正常组              | 0.758 ± 0.057                   | 0.721 ± 0.026                   |
| 模型组              | 0.351 ± 0.045**                 | 0.354 ± 0.062**                 |
| 醇提物 低剂量组         | 0.422 ± 0.118**                 | 0.431 ± 0.084**                 |
| 中剂量组             | 0.590 ± 0.060** <sup>△△##</sup> | 0.549 ± 0.055** <sup>△△##</sup> |
| 高剂量组             | 0.664 ± 0.084 <sup>△△##</sup>   | 0.620 ± 0.133** <sup>△△##</sup> |
| 参苓白术散组           | 0.620 ± 0.101** <sup>△△##</sup> | 0.674 ± 0.117 <sup>△△##</sup>   |
| F                | 35.05                           | 26.63                           |
| P                | <0.01                           | <0.01                           |
| MS <sub>组内</sub> | 0.007                           | 0.008                           |

q 检验:与正常组比较\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较 $\Delta P < 0.01$ ;与醇提物低剂量组比较## $P < 0.01$ ;与醇提物中剂量组比较+ $P < 0.05$

2.4 各组小鼠结肠 IL-1 $\beta$ 、IL-2 和 TNF- $\alpha$  水平比较 与正常组相比,模型组结肠中 IL-1 $\beta$ 、IL-2 和 TNF- $\alpha$  水平均明显升高( $P < 0.01$ );与模型组和醇提物低、中剂量组相比,醇提物高剂量组和参苓白术散组小鼠结肠中 IL-1 $\beta$ 、IL-2 和 TNF- $\alpha$  水平均明显降低( $P < 0.01$ )(见表 4)。

### 3 讨论

脾为气血生化之源,后天之本。脾虚时中枢及外周淋巴组织的免疫功能减退,出现消化道功能障碍。脾虚泄泻,即西医所称的“肠易激综合征”,是指因脾阳气虚而致运化失常、作泻,表现为餐后脘腹饱胀、腹泻、泻下不消化物、消瘦、乏力。补骨脂与肉豆蔻配伍具有温肾暖脾,涩肠止泻之功效,是临床治疗脾虚泄泻的代表方剂复方四神丸、四神汤的主要



A: 正常组; B: 模型组; C: 醇提物低剂量组; D: 醇提物中剂量组; E: 醇提物高剂量组; F: 参苓白术散组

图 1 6组小鼠结肠AQP3免疫组织化学染色结果

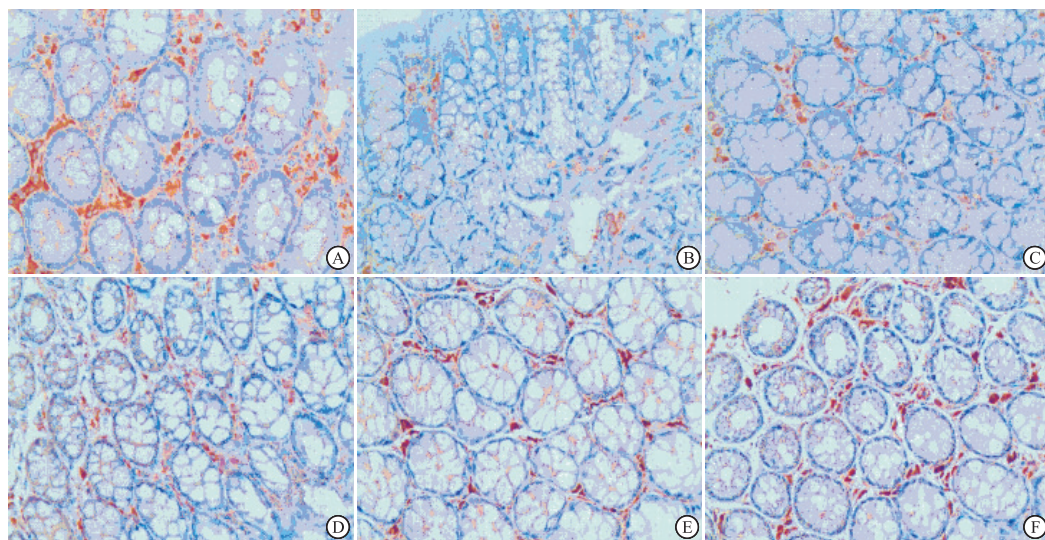


图2 6组小鼠结肠AQP4免疫组织化学染色结果  
A: 正常组; B: 模型组; C: 醇提取物低剂量组; D: 醇提取物中剂量组; E: 醇提取物高剂量组; F: 参苓白术散组

表4 各组小鼠结肠 IL-1 $\beta$ 、IL-2 和 TNF- $\alpha$  水平比较 ( $\bar{x} \pm s; n_i = 10; \text{pg/mL}$ )

| 分组                      | IL-1 $\beta$                              | IL-2                                    | TNF- $\alpha$                              |
|-------------------------|---|---|--|
| 正常组                     | 71.16 $\pm$ 7.99                          | 118.58 $\pm$ 36.05                      | 322.06 $\pm$ 49.93                         |
| 模型组                     | 137.92 $\pm$ 15.82 **                     | 283.56 $\pm$ 39.16 **                   | 563.51 $\pm$ 72.57 **                      |
| 醇提取物 低剂量组               | 130.10 $\pm$ 13.97 **                     | 260.45 $\pm$ 44.04 **                   | 543.87 $\pm$ 58.23 **                      |
| 中剂量组                    | 125.74 $\pm$ 12.04 **                     | 251.52 $\pm$ 21.71 **                   | 510.02 $\pm$ 31.43 **                      |
| 高剂量组                    | 89.13 $\pm$ 10.36 ** $\Delta\Delta\#\#\#$ | 137.05 $\pm$ 25.75 $\Delta\Delta\#\#\#$ | 390.87 $\pm$ 41.90 ** $\Delta\Delta\#\#\#$ |
| 参苓白术散组                  | 83.18 $\pm$ 15.14 $\Delta\Delta\#\#\#$    | 133.43 $\pm$ 34.35 $\Delta\Delta\#\#\#$ | 404.96 $\pm$ 51.97 ** $\Delta\Delta\#\#\#$ |
| <i>F</i>                | 48.55                                     | 47.88                                   | 33.98                                      |
| <i>P</i>                | <0.01                                     | <0.01                                   | <0.01                                      |
| <i>MS</i> <sub>组内</sub> | 165.131                                   | 1 181.157                               | 2 765.746                                  |

*q* 检验:与正常组比较 \*\*  $P < 0.01$ ;与模型组比较  $\Delta\Delta P < 0.01$ ;与醇提取物低剂量组比较  $\#\# P < 0.01$ ,与醇提取物中剂量组比较  $++ P < 0.01$

成分,也是治疗脾虚泄泻的基础方剂。

研究<sup>[1-2]</sup>显示,脏器指数直接反映免疫功能的改变,小鼠体质量、脾脏指数以及胸腺指数的变化能很好地反映小鼠脾虚的严重程度,是小鼠脾虚研究中的关键指标之一。本研究结果显示,各组小鼠体质量间差异有统计学意义,其中模型组小鼠体质量明显低于正常组,而醇提取物中、高剂量组小鼠体质量均高于模型组;模型组小鼠脾脏指数和胸腺指数均低于正常组,而醇提取物中、高剂量组小鼠脾脏指数均高于模型组,醇提取物高剂量组小鼠胸腺指数亦高于模型组。提示补骨脂-肉豆蔻醇提取物中、高剂量可提高脾虚泄泻小鼠体质量和脾脏、胸腺指数,对小鼠免疫功能可能有一定的改善作用。

炎症介质作为神经-内分泌-免疫调控的中间递质,在其发病机制中起到重要的作用<sup>[3]</sup>。TNF和IL能诱导产生多种细胞因子,在机体免疫调节中具有重要作用。TNF可以诱导细胞凋亡,激活T细

胞,TNF- $\alpha$ 是机体炎症与免疫反应的重要调节因子,在炎症的发生发展过程中发挥重要作用<sup>[4-5]</sup>。而IL可促进B细胞表达IL-2,促使B细胞增殖,产生免疫球蛋白。IL-2是T细胞生长因子,诱导多种细胞毒细胞活性发挥免疫监视作用<sup>[6]</sup>,维持体内的免疫耐受,促进效应性T细胞的激活并诱导细胞死亡,同时也是调节性T细胞存活与发挥功能的必需因子<sup>[7]</sup>。本研究中,与正常组相比,模型组小鼠结肠中IL-1 $\beta$ 、IL-2和TNF- $\alpha$ 水平均明显升高;与模型组和醇提取物低、中剂量组相比,醇提取物高剂量组和参苓白术散组小鼠结肠中IL-1 $\beta$ 、IL-2和TNF- $\alpha$ 水平均明显降低。提示脾虚泄泻模型小鼠有肠道组织的损伤和炎症反应,这与本实验中结肠HE染色结果是一致的;而高剂量补骨脂-肉豆蔻醇提取物和参苓白术散可降低小鼠结肠中IL-1 $\beta$ 、IL-2和TNF- $\alpha$ 水平,其可能通过降低炎症因子水平从而调节机体免疫功能。

(下转第159页)

- [5] 庞伯健,常艳华. 胰岛素强化方法治疗成人隐匿性自身免疫性糖尿病老年病人的疗效及其对胰岛  $\beta$  细胞功能的影响[J]. 中国老年学杂志,2015,35(15):4247.
- [6] 罗惠金,陈谷平,杨锐,等. 对比沙格列汀、二甲双胍联合罗格列酮的三联方案与胰岛素强化方案治疗初诊断 2 型糖尿病病人的有效性及对  $\alpha$ 、 $\beta$  细胞功能的影响[J]. 中华内分泌代谢杂志,2015,31(6):515.
- [7] WONG J, TABET E. 2 型糖尿病病人的胰岛素治疗[J]. 中国全科医学,2015,18(20):2365.
- [8] 张甜,苏悦,孙丽荣,等. 不同体质指数 2 型糖尿病病人胰高血糖素水平的变化研究[J]. 中国全科医学,2015,18(26):3158.
- [9] 沈赞,孙睿,丁波,等. 动态血糖在妊娠期糖尿病病人胰岛素强化治疗期间的临床应用价值[J]. 重庆医学,2015,44(36):5152.
- [10] 王薪宁,徐斌,周金培,等. 基于新靶点的抗糖尿病药物研究进展[J]. 中国药科大学学报,2015,46(2):141.
- [11] 吴日,马超,李晓丹,等. 长效促胰岛素降糖酵母的构建及其对糖尿病模型小鼠的治疗效果[J]. 遗传,2015,37(2):183.
- [12] 胡琳,权莉,张莉,等. 新诊断酮症倾向 2 型糖尿病病人临床特点及胰岛素抵抗分析[J]. 中国全科医学,2015,18(27):3347.
- [13] 陈春莲,易玉芳,王志成,等. 2 型糖尿病病人血清 chemerin 和 C 反应蛋白水平及胰岛素抵抗与大血管病变的相关性研究[J]. 中国全科医学,2013,16(21):2438.
- [14] 张梅珍,罗义,吴岸晶,等. 老年代谢综合征病人血清炎症因子水平与胰岛素抵抗的关系[J]. 广东医学,2013,34(24):3741.
- [15] 徐华良,徐仁荣. RA 病人血清 FFA、hs-CRP 及 TNF- $\alpha$  的水平变化与胰岛素抵抗的关系[J]. 放射免疫学杂志,2012,25(5):569.
- [16] 朱亨,邓月珍. 吡格列酮对肥胖 2 型糖尿病病人血清脂联素及 CRP 的影响[J]. 临床和实验医学杂志,2012,11(18):1465.

(本文编辑 刘畅)

(上接第 155 页)

AQP 是一类选择性介导水分子高效转运的膜蛋白,可通过改变局部水通道蛋白分布来调节细胞的水液代谢,其在胃肠道的异常表达与胃肠道疾病的发生密切相关<sup>[8]</sup>。研究<sup>[9]</sup>显示,AQP 可通过影响肠道水液代谢、黏液合成和分泌以及调节肠神经系统和肠道微血管等作用于病人肠道内环境,对脾虚泄泻起一定调控作用。本研究中,免疫组织化学结果显示,AQP3、AQP4 蛋白阳性表达分布于细胞质中,模型组和醇提物各组小鼠 AQP3、AQP4 蛋白表达均较正常组降低,而醇提物中、高剂量组和参苓白术散组小鼠 AQP3、AQP4 蛋白表达均较模型组和醇提物低剂量组明显升高。与文献<sup>[10]</sup>报道结果一致,提示补骨脂-肉豆蔻醇提物可上调结肠黏膜 AQP3 和 AQP4 的表达,增强结肠黏膜对水的重吸收,从而改善脾虚泄泻。

综上,补骨脂-肉豆蔻醇提物可上调 AQP 表达,降低肠道炎性因子水平,对脾虚泄泻小鼠胃肠道功能有一定的改善作用,以中、高剂量效果为佳。而泄泻为临床常见症,中药复方制剂靶点多,可整体调节机体肠道功能,在治疗慢性腹泻方面疗效较好,具有良好的临床前景。

## [参 考 文 献]

- [1] 韩海荣. 参苓白术散对大黄引起的脾虚泄泻小鼠免疫机能的

影响[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学,2006.

- [2] 刘海涛,施家希,黄张杰,等. 补中益气汤不同配伍对脾虚大鼠免疫器官及小肠黏膜转运体蛋白表达的影响[J]. 中药材,2017,40(2):466.
- [3] 王友多,陈华. 双歧杆菌四联活菌片对肠易激综合征患者血清白介素-8 和肿瘤坏死因子- $\alpha$  水平的的影响及疗效观察[J]. 药物流行病学杂志,2014,23(6):353.
- [4] 赵娅,刘飞,古远云,等. 类胰蛋白酶与 2 型糖尿病心肌病发病机制[J]. 重庆医科大学学报,2015,40(7):997.
- [5] 陈晓,王启之,梁冰,等. Toll 样受体 4、肿瘤坏死因子- $\alpha$  在溃疡性结肠炎大鼠结肠组织中的表达及意义[J]. 蚌埠医学院学报,2013,38(2):134.
- [6] 杜薇薇,李冀,王玉来,等. 五味子散与四神丸对脾虚泄泻大鼠分泌型 IgA 白介素-2 含量影响的配伍比较研究[J]. 中华中医药学刊,2009,27(10):2189.
- [7] 黄逸婷,张梅. 白介素-2 和白介素-2 受体的调控在自身免疫性疾病和器官移植中的作用[J]. 免疫学杂志,2017,33(10):911.
- [8] 赵凯科,郑立,毛智斌,等. 水通道蛋白与胃肠道疾病关系研究进展[J]. 动物医学进展,2016,37(1):77.
- [9] GOODWIN L, WHITE PD, HOTOPF M, et al. Life course study of the etiology of self-reported irritable bowel syndrome in the 1958 British birth cohort[J]. Psychosom Med,2013,75(2):202.
- [10] 李姿慧. 健脾化湿法对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠水通道蛋白 3、4 表达的影响及机制研究[D]. 北京:北京中医药大学,2012.

(本文编辑 卢玉清)