

利血平所致脾虚大鼠脾阳虚证 和脾气虚证的证候属性

赵 宁¹ 贾红伟² 张皖东² 查青林³ 吴志鹏³ 吕爱平¹

(1. 中国中医科学院中医临床基础医学研究所, 北京市东直门内南小街 16 号, 100700;

2. 中国中医科学院中医基础理论研究所; 3. 江西中医学院国家工程技术研究中心)

[摘 要] 目的 研究利血平所致脾虚大鼠的脾阳虚证和脾气虚证的证候属性。方法 SD 大鼠 80 只, 模型组和治疗组腹腔注射利血平造成脾虚模型, 选用分别代表脾气虚证和脾阳虚证的四君子汤和理中丸作为治疗药物, 检测各项指标, 并将检测结果作为多元统计分析对象, 采用聚类分析法, 分析样本及指标的区分度, 以探讨不同指标与脾气虚证和脾阳虚证的相关性。结果 12 项指标在正常组和模型组有较好的区分度; 从白细胞介素 1(IL-1) 及血管活性肠肽含量和动物体重等指标看, 二者有相同的变化趋势; 从脾 T 细胞增殖、转化生长因子 β (TGF- β) 等指标看, 理中丸组高于四君子汤组; 从胃泌素、外周血中 T 细胞亚群 CD_4^+/CD_8^+ 的比值和白细胞介素 6(IL-6) 含量等指标看, 理中丸组低于四君子汤组。结论 模型组与正常组有很好的区分度, 利血平脾虚证模型成功; 理中丸和四君子汤对脾虚大鼠的作用既有相同之处, 也有不同之处, 与中医理论相符。

[关键词] 脾阳虚证; 脾气虚证; 利血平; 证候属性; 理中丸; 四君子汤

Study on Syndrome Character of Spleen Yang Deficiency and Spleen Qi Deficiency of the Rats with Spleen Deficiency Induced by Reserpine

ZHAO Ning¹, JIA Hong-wei², ZHANG Wan-dong², et al.

(1. Institute of Clinical Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700; 2. Institute of Basic Theory of Traditional Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences)

ABSTRACT **Objective** To study the syndrome character of the rats with spleen yang deficiency and spleen qi deficiency induced by reserpine. **Methods** Totally 80 SD rats were included in the experiment. Spleen deficiency model rats groups were made by intraperitoneal injection of reserpine. Sijunzi Tang (Decoction of Four Noble Ingredients) and Lizhong Wan (Bolus for the Function of Middle Jiao) which were the representative medicines for spleen qi deficiency and spleen yang deficiency syndromes respectively were applied for treatment. Various indices tested were for clustering analysis. The clustering scheme was made to analyze the distinction of sample and index to study the correlation between the indices and spleen qi deficiency and spleen yang deficiency syndromes. **Results** Up to 12 indices have a good differential validity between the normal group and model groups; the indices of interleukin-1 (IL-1), vasoactive intestinal peptide (VIP), and body weight of both groups had the same changing tendency; the indices of spleen T lymphocyte proliferation and transforming growth factor (TGF) of Lizhong Wan group were higher than those of Sijunzi Tang group; the indices of gastrin, CD_4^+/CD_8^+ in peripheral blood, and interleukin-6 (IL-6) of Lizhong Wan group were lower than those of Sijunzi Tang group. **Conclusion** The normal group and model group have good differential validity, the spleen deficiency models were successfully made with reserpine. Effect of Lizhong Wan and Sijunzi Tang on the rats with spleen deficiency is in accord with TCM theory.

Key Words Spleen-yang deficiency; Spleen-qi deficiency; Reserpine; Syndrome character; Lizhong Wan (Bolus for the Function of Middle Jiao); Sijunzi Tang (Decoction of Four Noble Ingredients)

利血平所致脾虚证模型是较经典的方法之一^[1], 但单纯利血平脾虚大鼠的气虚或阳虚证证候特征不够明确, 不能有效适应中医证候的研究, 不能满足对中医证候动物模型的需要。四君子汤和理中丸分别是临床治疗脾气虚证和脾阳虚证的经典方剂, 本实验将以此作为工具药对利血平脾虚大鼠的脾气虚证和脾阳虚证

的证候属性进行反证, 探讨利血平所致脾虚大鼠的脾阳虚证和脾气虚证的证候属性, 分析利血平脾虚证不同指标与脾气虚证及脾阳虚证的不同相关性, 并以此作为判定和评价中医脾气虚证和脾阳虚证相关研究的指标体系。

1 材料

1.1 动物

选择健康雄性 SD 大鼠 80 只, 体重 200g 左右, 购自中国科学院遗传与发育生物学研究所(动物许可证

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(90209032); 江西省主要科学技术带头人计划项目(030009)

通讯作者: 贾红伟, jhw1974@163.com, (010)64014411 转 2564

号: SCXK11-00-0006), 清洁级, 适应性喂养 3 天, 恒温, 恒湿。实验期间自由饮水, 喂饲固体饲料, 喂养于中国中医科学院中医基础理论研究所实验动物室。

1.2 药物及试剂

四君子汤组成: 人参 10g, 白术 10g, 茯苓 10g, 甘草 5g; 理中丸组成: 人参 10g, 白术 10g, 干姜 10g, 甘草 5g, 购于北京同仁堂药店, 由中国中医科学院中医基础理论研究所制剂室加工成浓缩药液, 根据体表面积换算, 按 $8\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃, 每天 1 次, 持续 2 周。利血平注射液 ($1\text{mg}/\text{ml}$, 批号: 030104), 上海复旦复华药业有限公司生产。干扰素 γ (IFN- γ) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒, Diaclone 公司产品; 白细胞介素 1 (IL-1) 和白细胞介素 6 (IL-6) 放射免疫分析测定盒, 由解放军总医院科技开发中心放射免疫分析所提供; 胃泌素放射免疫分析药盒为北京北方生物技术研究产品; CD_3 、 CD_4 、 CD_8 单克隆抗体 (其中 CD_3 由 PE 标记, CD_3 、 CD_4 由 FITC 标记), Caltag Lab 公司产品; 1640 培养液, GIBCO 公司产品, $2\sim 8^\circ\text{C}$ 避光保存; MTT, Amresco 公司产品, 用 $0.01\text{mol}/\text{L}$ PBS 配制成 $5\text{mg}/\text{ml}$ 的储存液, 过滤除菌, 无菌分装后, 4°C 避光保存, 此溶液黄色无沉淀; 刀豆蛋白 A (ConA), 细菌脂多糖 (LPS), Sigma 公司产品; 淋巴细胞分离液: 天津灏阳生物制品科技有限责任公司; 转化生长因子 β (TGF- β)、TNF- α 免疫组化试剂盒, 博士德公司产品; 血管活性肠肽 (VIP) 放射免疫分析药盒, 由海军放免技术中心提供; P 物质 (SP) 放射免疫分析药盒, 由海军放免技术中心提供。

1.3 主要仪器

小动物自主活动检测仪: 中国中医科学院中医基础理论研究所生理室研制; 生理实验信号采集分析系统: MP-100 型, 美国 BIOPAC 公司; 放射免疫 γ 计数器, GC911, 中国科技大学科技实业总公司产品; 低温离心机, RS-20 V, Tomyseiko Co., LTD 产品; 流式细胞仪, EPICSXL, TOMUSEICO CO., LTD; CO_2 培养箱, CO-1, TOKIWA 公司产品。

2 方法

2.1 动物造模及分组

参照文献[1]方法, 80 只动物随机分为正常组、模型组、四君子汤治疗组 (四君子汤组)、理中丸治疗组 (理中丸组), 每组 20 只。模型组、四君子汤组、理中丸组腹腔注射利血平 $0.5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 连续 2 周, 正常组腹腔注射相应剂量的生理盐水 2 周。2 周后治疗组给予相应药物, 每天 $8\text{g}/\text{kg}$ 体重, 正常组和模型组给予相同体积的生理盐水灌胃。4 组均灌胃 2 周结束后

处死动物, 并检测各项指标。

2.2 检测指标及方法

对基础活动度、凝血时间、血清细胞因子 (IL-6、IL-1、IFN- γ 、TNF- α)、血清胃泌素、外周血 T 淋巴细胞亚群 (CD_4^+ 、 CD_8^+ 、 $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$)、小肠派伊尔小结 (PP 结) 计数、PP 结 T 淋巴细胞亚群 (CD_4 、 CD_8 、 CD_4/CD_8)、脾淋巴细胞增殖、小肠 TGF- β 和 TNF- α 表达、小肠 SP 和 VIP 含量进行了检测, 以这些检测结果作为多元统计分析对象。

2.3 统计学方法

采用 SPSS12.0 统计软件进行数据处理。用方差分析方法对数据结果进行分析, 选取有显著差异度的指标和样本, 采用 Cluster 和 Treeview 进行聚类分析。

3 结果

附表示, 组间有统计学差异的指标包括体重, 基础活动度, 外周血 IL-6、IL-1、IFN- γ 和胃泌素含量, 凝血时间, 脾 T 淋巴细胞增殖, 小肠 SP 和 VIP 含量, 小肠 TGF- β 和 TNF- α 表达, 外周血 T 淋巴细胞亚群 (CD_4^+ 、 CD_8^+ 、 $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$) 等 ($P < 0.05$)。保留有指标缺失度小于 20% 的样本进行聚类分析。

结果显示, 正常组与模型组有较好的区分度, 脾 T 淋巴细胞增殖、小肠 TGF- β 表达、外周血 CD_4^+ T 淋巴细胞亚群、外周血 T 淋巴细胞亚群 CD_4/CD_8 比值、血清 IFN- γ 、IL-1 含量、小肠 VIP 含量、体重、外周血 CD_8^+ T 淋巴细胞亚群、小肠 SP 含量、血清 IL-6 含量和血清胃泌素含量等指标在正常组和模型组差异有统计学意义。理中丸和四君子汤也有较好的区分度, 从血清 IL-1 含量、小肠 VIP 含量和动物体重等指标看, 二者有相同的变化趋势; 从脾 T 淋巴细胞增殖、TGF- β 等指标看, 理中丸组高于四君子汤组; 从血清胃泌素、外周血 T 淋巴细胞亚群 $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$ 的比值和血清 IL-6 含量等指标看, 理中丸组低于四君子汤组。

4 讨论

从聚类分析的结果可以看出, 利血平脾虚组脾 T 淋巴细胞增殖、小肠 TGF- β 表达、外周血 CD_4^+ T 淋巴细胞亚群、外周血 T 淋巴细胞亚群 $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$ 比值、血清 IFN- γ 和 IL-1 含量、小肠 VIP 含量、体重等指标比正常组低, 外周血 CD_8^+ T 淋巴细胞亚群、小肠 SP 含量、血清 IL-6 含量和血清胃泌素含量等指标比正常组高。脾虚模型组与正常组有很好的区分度, 利血平脾虚证模型成功。

上述指标表明, 利血平脾虚组大鼠细胞免疫低下, 处于免疫抑制状态; 肠道黏膜免疫功能则反之, 免疫抑制降低, 免疫功能相对亢进; 肠道抑制性神经递质下

附表 4 组大鼠 2 周后各检测指标的比较($\bar{x}\pm s$)

指标	正常组	模型组	四君子汤组	理中丸组
体重(g)	344.15±27.75	242.80±21.96	302.94±41.09	290.00±42.85
基础活动度(次)	637.88±222.70	351.86±88.45	395.43±147.98	420.69±199.90
凝血时间(s)	63.27±21.40	71.80±24.06	80.21±31.22	83.38±38.32
IL-6(pg/ml)	26.78±8.90	36.86±8.72	32.70±4.56	26.96±8.88
IL-1(ng/ml)	0.31±0.08	0.21±0.08	0.36±0.09	0.42±0.14
IFN-γ(pg/ml)	74.42±27.29	44.31±18.55	59.14±41.36	68.64±18.42
血清 TNF-α(pg/ml)	64.42±25.26	40.02±15.54	61.95±19.91	65.51±20.04
胃泌素(pg/ml)	23.29±11.48	57.80±21.17	43.95±25.60	23.41±15.47
血 CD ₄ ⁺ (%)	44.70±4.45	34.82±3.94	37.02±8.37	36.48±6.17
血 CD ₈ ⁺ (%)	18.49±6.88	27.01±7.93	19.64±5.11	21.98±3.18
血 CD ₄ /CD ₈	2.76±1.20	1.39±0.44	2.01±0.72	1.68±0.33
PP 结数量(个)	14.25±3.99	14.90±2.96	16.20±2.53	15.67±1.99
PP 结 CD ₄ ⁺ (%)	24.40±5.46	22.21±4.38	21.8±4.43	22.86±3.07
PP 结 CD ₈ ⁺ (%)	3.61±1.18	3.86±1.11	3.12±0.67	3.30±1.37
PP 结 CD ₄ /CD ₈	7.18±3.12	6.12±1.97	7.20±1.74	8.14±3.44
T 细胞增殖	0.04±0.01	0.01±0.01	0.03±0.02	0.03±0.01
B 细胞增殖	0	0.01±0.01	0.01±0	0.02±0.02
TGF-β	90.50±103.87	23.50±3.83	58.92±37.47	131.42±51.30
小肠 TNF-α	106.67±26.64	358.00±54.17	177.08±21.95	178.25±52.36
SP(pg/ml)	25048.24±9521.99	62664.69±26536.34	49968.99±27916.44	44653.5±23051.07
VIP(pg/ml)	575741.38±185614.42	324244.09±86305.65	636379.70±137241.96	618981.45±142727.23

降,兴奋性神经递质增加,进一步释放了肠道的抑制状态,这和利血平的作用相一致^[2],使体内儿茶酚胺类物质(NE、DA、5-HT)减少,使交感神经功能低下,副交感神经功能相对亢进,从而导致“脾虚”状态的发生。

从聚类分析结果可以看出,理中丸组和四君子汤组也有较好的区分度。从血清 IL-1 含量、小肠 VIP 含量和动物体重等指标看,二者有相同的变化趋势;从脾 T 淋巴细胞增殖、TGF-β 等指标看,理中丸组高于四君子汤组;从血清胃泌素、外周血 T 淋巴细胞亚群 CD₄⁺/CD₈⁺ 的比值和血清 IL-6 含量等指标看,理中丸组低于四君子汤组。这表明理中丸和四君子汤对利血平脾虚证的作用既有相同的趋势,也有不同之处。这与中医理论是一致的。

脾气虚证^[3]是指由于脾气不足、运化失职所表现的虚弱证候。见于肢体倦怠,神疲乏力,少气懒言,面色萎黄,形体消瘦,大便溏薄、纳差为主症,以脾虚失运,消化机能减弱及气虚证为证候要点;脾阳虚证^[3]是指脾阳虚衰,失于温运,阴寒内生所表现的虚寒证候。见于肢体倦怠,神疲乏力,少气懒言,形体消瘦,大便溏薄,纳差,面色萎白,形寒肢冷,腹痛喜温为主症,多因脾气虚进一步发展而来,气虚往往是阳虚的初期阶段,而阳虚则常是气虚的进一步发展。脾阳虚证是在脾气虚证基础上进一步加重,产生形寒肢冷等寒证表现。

四君子汤和理中丸仅一味之差,都有补气健脾之

功,但四君子汤以人参为君,补气之功更健,主治脾气虚证;理中丸以干姜为君,温阳之力更强,因而主治脾阳虚证。所以,脾气虚证和脾阳虚证既有相同之处,亦有不同之处;与此相应,理中丸和四君子汤的作用亦既有相同之处,又有不同之处。上述的统计结果亦证实了这一点。

从研究结果看,在理中丸和四君子汤作用趋势相同的指标中,体重下降与脾虚则气血不能充达肌肉、四肢,形体消瘦相一致;血清 IL-1 含量和小肠 VIP 含量则是上升的,在利血平所致脾虚证动物 VIP 和血清 IL-1 含量处于下降状态,表明对于这二者的作用,理中丸和四君子汤具有相同的作用趋势。而对于脾 T 淋巴细胞增殖、小肠 TGF-β 表达、血清 IL-6 含量和血清胃泌素含量等指标,理中丸组对其作用强于四君子汤组,这似乎表明理中丸的温阳作用更偏于促进机体的细胞免疫状态,增强肠道内的抑制作用,这和交感神经占主导地位的作用相类似,更符合中医阳主动的概念,这与理中丸温阳的作用强于四君子汤相一致;对于外周血 T 淋巴细胞亚群 CD₄⁺/CD₈⁺ 的比值,理中丸的促进其升高的作用低于四君子汤,这似乎表明四君子汤的作用更倾向于降低机体细胞免疫抑制因素,提高机体免疫功能,这与中医气的防卫功能相一致,即气虚证时机体更偏重于免疫机能低下相一致^[4],而四君子汤能够有效提高机体对外界的防御能力。

综上,理中丸和四君子汤与脾虚证之间有不同的方证相关性:在脾 T 淋巴细胞增殖、小肠 TGF- β 表达、血清 IL-6 含量和血清胃泌素含量等指标方面,理中丸与脾虚证的相关性更高;在外周血 T 淋巴细胞亚群 CD₄/CD₈ 的比值方面,四君子汤与脾虚的相关性更高,反映了脾气虚证和脾阳虚证这两个证候有着不同的指标体系。这意味着在不同的指标基础上,利血平所致脾虚大鼠可以反映脾阳虚证或者脾气虚证的证候属性,能够在一定程度上满足对中医脾气虚证和脾阳虚证相关研究的判定和评价需要。

参考文献

- [1]王肃,陈小野,邹世洁,等.利血平脾虚证模型大鼠皮层基因表达谱变化的初步研究.中医药学刊,2003,21(9):1512~1515.
- [2]杨宝峰.药理学.6版.北京:人民卫生出版社,2005:244.
- [3]朱文锋.中医诊断学.5版.上海:上海科学技术出版社,1995:149.
- [4]于赫,孙力.气虚证的生物化学与分子生物学研究进展.中医药信息,2005,22(5):48~51.

(收稿日期:2006-11-23;修回日期:2007-04-20)

[编辑:叶 展]

两地汤联合氯米芬治疗经间期出血 30 例

徐 继 辉

(河南省南阳防爆医院,南阳市仲景路 22 号,473000)

经间期出血指月经周期基本正常,在两次月经之间,发生周期性出血者。相当于西医有排卵型功能失调性子宫出血,是妇科常见病、多发病。尤其影响患者受孕时机。经常有经间期出血,出血增多,持续时间长达 7 天以上,应及时治疗。我们采用中西医结合方法治疗 30 例效果明显,报道如下。

1 临床资料

60 例患者均为 2006 年 6 月~2007 年 11 月河南中医学院妇科门诊患者。随机分为两组,年龄 22~43 岁。治疗组 30 例,年龄 22~30 岁 12 例,31~43 岁 18 例;病程 3~6 个月 11 例,7~24 个月 12 例,24 个月以上 7 例。对照组 30 例,年龄 23~30 岁 13 例,31~43 岁 17 例;病程 3~6 个月 13 例,7~24 个月 11 例,24 个月以上 6 例。两组患者年龄、病程比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。诊断标准参照第 6 版《中医妇科学》自拟:(1)月经周期基本规律;(2)出血发生在月经周期的 12~16 天,出血量较月经量少,或表现为透明黏稠的白带中夹有血丝,出血持续数小时至 2~7 天自行停止,经间期出血与月经期出血形成出血量一次多、一次少相间的现象;(3)基础体温监测为双相,出血时间于基础体温将上升或开始上升时。

2 治疗方法

治疗组于月经第 5 天开始服氯米芬 50~100mg,每天 1 次,连服 5 天。月经第 7 天开始服中药两地汤加味:生地 12g,玄参 12g,地骨皮 30g,麦冬 12g,阿胶 10g,白芍 15g,菟丝子 20g,腰痛者加桑寄生 15g,川续断 15g,量少淋漓不尽者加乌贼骨 30g;出血较多者加地榆炭 10g、杜仲炭 10g;伴有小腹胀痛者加制香附 6g、川楝子 9g;兼气虚者加党参 15g、黄芪 30g、炒升麻 6g。伴湿热者加大黄炭 6g,连服 10 剂。用药 3 个月经周期为 1 个疗程。对照组于月经第 7 天开始服己烯雌酚,每次 0.25mg,每天 1 次,连服 7~10 天。出血多时,给予维生素 K₄ 4mg,每日 3 次。以连续治疗 1 个疗程(3 个月经周期)后,停药观察 3 个月经

周期的结果评定。

3 疗效观察

3.1 疗效标准

痊愈:出血停止,自觉症状消失,连续 3 个月经周期未见复发;显效:出血停止,自觉症状消失,但停药后有复发;有效:出血量、出血天数明显少于治疗前,自觉症状减轻;无效:出血及自觉症状无改善。

3.2 两组临床疗效比较

治疗组 30 例,痊愈 17 例,显效 9 例,有效 3 例,无效 1 例,总有效率 96.67%。对照组 30 例,痊愈 4 例,显效 6 例,有效 9 例,无效 11 例,总有效率 63.33%。经统计学处理,两组疗效差异有统计学意义($P<0.01$)。治疗组总有效率明显优于对照组。

4 讨论

中医学认为,月经中期,冲任阴精充实,阳气渐长,有阴盛向阳盛转化的生理阶段。若肾阴不足,阴不制阳,致阳气内动,引动冲任伏热,热迫血行,因而出血;血出之后,阳气外泄,阴阳趋于平衡,则出血停止,下次周期,又再复发;或肾阴不足,久虚致瘀;或肾阳不足,无以蒸腾肾精化生肾气,影响胞宫固藏,同时胞脉血行瘀滞,新血不得归经,而成多虚多瘀,虚实夹杂之症。故辨证应以肾阴虚为本,或挟血瘀,或挟湿热,或挟气虚。

《傅青主女科》两地汤中“地骨、生地,能清骨中之热。骨中之热,由于肾经之热,清其骨髓,则肾气自清,……此治之巧也。况所用诸药,由纯是补水之味,水盛而火自平理也。”玄参养阴清热;阿胶、白芍养血滋阴益冲。全方重在壮水制火,即壮水之主,以制阳光,水盛而火自平,阴生而阳自秘。现代药理学研究表明,生地具有抗炎利尿、促进血液凝固、缩短出血时间的作用,并可提高机体的免疫功能;地骨皮对子宫有明显的兴奋作用,可使其收缩增强;阿胶止血作用与其能改善体内钙的平衡、促进钙的吸收、使血清钙增高有关;白芍对中枢神经系统、子宫平滑肌有抑制作用;综合而论,两地汤治疗经间期出血有标本兼治之效果。

(收稿日期:2008-01-24)

[编辑:黄 健]

基金项目:河南省教育厅科技攻关项目(14204032)

联系方式:xujihui615@sina.com.cn,15936106221