

加减四逆散对慢性心理应激大鼠胸腺糖皮质激素受体作用的研究*

严 灿¹ 徐志伟¹ 史亚飞¹ 李 艳¹ 吴伟康² 邓中炎¹ 潘 毅¹

内容提要 目的:观察加减四逆散对慢性心理应激大鼠胸腺细胞糖皮质激素受体作用的影响。方法:将大鼠随机分为正常对照组(C)、模型组(M)、加减四逆散组(C₁)、人参皂甙组(C₂)。电子天平称重并计算大鼠胸腺重量指数,采用放射免疫方法检测大鼠胸腺细胞糖皮质激素受体的数目、核转移率。结果:与C组比较,M组胸腺重量指数显著下降,糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GCR)的数目略有上升的趋势,胸腺糖皮质激素受体的核转移率显著上升($P<0.01$)。与M组相比,C₁组与C₂组的大鼠胸腺细胞糖皮质激素受体复合物的核转移率均显著降低,胸腺重量指数显著提高($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。在受体核转移率下降方面,C₁组优于C₂组($P<0.05$)。此外,C₁组各项数据与C组比较无统计学差异。结论:加减四逆散能显著减轻糖皮质激素对胸腺的抑制作用。其作用途径可能是通过抑制慢性心理应激大鼠GCR由胸腺细胞胞浆向胞核转位来实现的。

关键词 加减四逆散 心理应激 糖皮质激素 受体 核转移率

Study on Effect of Jiajian Sini San on Glucocorticoid Receptor in Thymocyte of Chronic Psychological Stressed Rats YAN Can, XU Zhi-wei, SHI Ya-fei, et al *Department of Basic Theory of TCM, Guangzhou University of TCM, Guangzhou (510405)*

Objective: To observe the effect of Jiajian Sini San (JJSNS) on glucocorticoid receptor (GCR) in thymocyte of chronic psychological stressed rats. **Methods:** Rats were divided randomly into 4 groups, the control group (C), the model group (M), the JJSNS treated group (C₁) and the ginsenoside treated group (C₂). Weight of thymus gland was weighed by electro-balance. Number of GCR in thymocyte was detected with radioimmunoassay (RIA) and its nuclear translocation rate (GCR-NTR) was calculated. **Results:** Compared with Group C, the thymus weight index in Group M was lowered significantly ($P<0.05$), and GCR in thymocyte showed a tendency to rise with the GCR-NTR elevation significantly ($P<0.01$). Compared with Group M, the thymus weight index was higher and GCR-NTR was lower in Group C₁ and C₂ ($P<0.05$ or $P<0.01$), and JJSNS showed more effective in reducing GCR-NTR than ginsenoside. The above-mentioned parameters in Group C₁ were different from those in Group C insignificantly. **Conclusion:** JJSNS could weaken the inhibitory effect of glucocorticoid on thymus by means of suppressing the translocation activity of GCR from cytoplasm to nucleus in chronic psychological stressed rat.

Key words Jiajian Sini San, psychological stress, glucocorticoid, receptor, nuclear translocation rate

心理应激可通过神经内分泌系统影响免疫系统,其主要途径是下丘脑—垂体—肾上腺皮质轴(hypothalamus-pituitary-adrenal gland axis, HPAA)。糖皮质激素作为该轴的外周产物,同时也是神经内分泌免疫网络系统的重要介质。它是导致机体免疫系统抑制

的重要因素,其生物学效应的发挥取决于靶细胞上糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GCR)的介导。本研究通过观察加减四逆散对慢性心理应激大鼠胸腺细胞糖皮质激素受体的作用,初步探讨了加减四逆散抗心理应激损伤的神经免疫学机制。

材料和方法

1 实验动物及分组

Wistar 大鼠,雌雄各半,体重 180~220g,购于第

* 国家自然科学基金(No. 30000217)及广东省自然科学基金(No. 000359)资助项目

1. 广州中医药大学中医基础理论教研室(广州 510405); 2. 中山大学中山医学院中西医结合研究所

一军医大学,正常饮食,在光—暗周期为 12h,温度(20 ± 2)℃,安静环境下饲养 7 天。按体重随机分为 4 组:正常对照组(简称 C 组)10 只,不给任何刺激。模型组(简称 M 组)10 只,给予束缚制动刺激,不予中药。加减四逆散组(简称 C₁ 组)10 只,束缚制动刺激前给予加减四逆散。人参皂甙组(简称 C₂ 组)10 只,束缚制动刺激前给予人参皂甙。

2 药物及给药方法

加减四逆散组成及剂量:柴胡 5g 白芍 15g 枳壳 6g 枸杞子 15g 栀子 5g 干地黄 18g 石决明 30g。由本校第一附属医院药房提供,经药剂科鉴定均为纯正药材,水煎浓缩至含生药 1.35g/ml(用药剂量为成年人 70kg 体重剂量的 10 倍),高压灭菌 4℃ 冰箱保存备用。人参总皂甙由长春白求恩医科大学提供,配制成水溶液 7mg/ml。C₁ 组束缚制动刺激前 1h 给予加减四逆散 2ml 灌胃, C₂ 组束缚制动刺激前给予人参总皂甙灌胃 2ml, C 组及 M 组以等量生理盐水灌服。1h 后将 M 组、C₁ 组、C₂ 组大鼠分别置于束缚制动筒内开始造模。

3 慢性心理应激反应模型的制作

将造模大鼠置于自制的束缚制动筒内(由大鼠固定仪改制而成),通过移动插片而逐步缩小大鼠的活动空间,调节到其不产生强烈反抗的紧张程度,每日束缚制动 1 次,每日开始时间及束缚制动时间不同,第 1 天为 4h,其后每次增加 30~60min,连续 2 周。造模大鼠在制动期间禁食、禁水。造模结束后在动物清醒、安静状态下进行实验。

4 检测方法

4.1 胸腺重量指数 无菌取大鼠胸腺,电子天平测其湿重。胸腺重量指数 = 胸腺重/体重。胸腺重以 mg 湿重为单位,体重以 g 为单位。

4.2 糖皮质激素受体(GCR)测定 采用放射免疫法检测,参照 Scott^[1]法改进。胸腺细胞 GCR 数以每克蛋白内含摩尔数表示, GCR 核转移率(%) = (胸腺细胞核 GCR 的放射性强度/整个细胞 GCR 的放射性强度) × 100%。

5 统计学处理 所有数据以 $\bar{x} \pm s$, 采用 SPSS 统计软件进行 *t* 检验、方差分析等。

结 果

1 各组大鼠胸腺重量指数的测定结果 见表 1。与 C 组比较, M 组胸腺重量指数显著下降($P < 0.05$),提示模型组胸腺细胞数目减少和胸腺重量减轻。与 M 组比较, C₁ 组和 C₂ 组胸腺重量指数显著增加($P <$

0.05)。C₁ 组与 C₂ 组及 C 组比较差异无显著性($P > 0.05$)。

2 各组大鼠 GCR 的变化 见表 1。各组之间 GCR 的数目差异无显著性, M 组较 C 组略有上升。在受体的核转移率方面则存在着较大差异,与 C 组比较, M 组胸腺 GCR 核转移率显著上升($P < 0.01$),提示其胸腺依赖性免疫功能受到抑制;而 C₁ 组及 C₂ 组与 M 组比较,胸腺细胞 GCR 核转移率显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),且 C₁ 组优于 C₂ 组($P < 0.05$)。C₁ 与 C 组比较差异无显著性。

表 1 加减四逆散对心理应激大鼠胸腺重量指数、GCR 数目及 GCR 核转移率的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	胸腺重量指数	GCR 数目 (fmol/mg pro)	GCR 核转移率 (%)
C	10	1.77 ± 0.27	39.91 ± 8.71	16.62 ± 5.64
M	10	$1.04 \pm 0.19^*$	46.66 ± 6.43	$41.71 \pm 9.50^*$
C ₁	10	$1.65 \pm 0.43^\Delta$	42.64 ± 8.12	$19.47 \pm 4.70^{\Delta\Delta\Delta}$
C ₂	10	$1.59 \pm 0.35^\Delta$	43.52 ± 4.83	$28.53 \pm 6.57^\Delta$

注:与 C 组比较, * $P < 0.05$; 与 M 组比较, $^\Delta P < 0.05$, $^\Delta\Delta P < 0.01$; 与 C₂ 组比较, $^\Delta P < 0.05$

讨 论

心理应激是机体通过认识、评价而察觉到应激原(Stressor)的威胁时引起的心理、生理机能改变的过程。机体的应激机制与许多疾病的发生发展和转归有着密切的关系。由此,探讨心理应激的机制以及对心理应激损伤的调治将是 21 世纪医学领域中一个非常重要而又紧迫的任务。

中医学脏象及七情学说认为,对于情志变化,尤其在调节情志因素(心理应激)引起的各种变化时,肝起着主要作用。肝主疏泄,调节气机,调畅情志;“肝者,将军之官,谋虑出焉”。临床上,情志疾病多与肝有关,对于情志失调(特别是慢性长期的情志活动异常),中医多从肝入手进行治疗。因此,中医的理论与临床实践为探讨调肝方药(加减四逆散)抗心理应激损伤提供了基础和依据。

糖皮质激素作为下丘脑—垂体—肾上腺轴的最终产物,可从多方面对免疫系统产生抑制作用,胸腺作为机体免疫系统的重要器官,其功能受到糖皮质激素的抑制。糖皮质激素作用于胸腺,可破坏胸腺细胞 DNA,抑制其蛋白的生物合成,导致细胞凋亡,使胸腺细胞数目明显减少和胸腺重量减轻^[2]。糖皮质激素可通过与胞内受体结合,形成 GCR 复合物,随后转移入细胞核内而发挥其作用。因而核转移率比受体数目更能反映糖皮质激素的作用强度^[3]。

实验结果表明,与正常组相比较,模型组大鼠的胸腺重量指数显著下降,GCR 数目略有上升趋势,但其胸腺 GCR 核转移率却显著升高,提示其胸腺依赖性免疫功能受到严重抑制,这与以往本课题组的研究结论是相一致的,即慢性心理应激大鼠的免疫功能受到抑制。与模型组相比,四逆散加减可以明显减轻慢性心理应激对胸腺的损害,使胸腺重量有所恢复,并能显著降低胸腺细胞 GCR 核转移率,提示其作用机制可能是通过抑制慢性心理应激大鼠 GCR 由胸腺细胞胞浆向胞核转位来减弱糖皮质激素对胸腺的抑制作用的⁽⁴⁾。

我们以往研究表明,慢性心理应激大鼠 HPAA 功能亢进,血浆皮质酮含量升高,免疫功能下降。调肝方药可以抑制 HPAA 的兴奋性,降低血浆皮质酮及促肾上腺皮质激素的含量,提高慢性心理应激大鼠的免疫功能⁽⁵⁾。由此亦提示,加减四逆散增强慢性心理应激大鼠的胸腺依赖性免疫功能的作用途径可能是通过 HPAA 来实现的,其确切的介导机制尚有待于进一步研究。

人参总皂甙具有广泛的免疫调节功能⁽⁶⁾。本次实验结果表明,人参总皂甙可有效地减轻慢性心理应激对胸腺依赖性免疫功能的损害。在提高胸腺重量指数、降低 GCR 数目方面,人参总皂甙与加减四逆散比较无统计学差异;但在降低胸腺细胞 GCR 核转移率方面,加减四逆散更优于人参总皂甙,其原因可能是加减四逆散重在疏肝理气,养肝柔肝,并兼以平肝清肝,治法方药更为符合慢性心理应激反应模型的证候特征(肝失疏泄)。而人参总皂甙则重在大补元气,虽然对免疫功能有较好的调节作用,但在整体调节上不如加减四逆散。

结合本次实验结果,亦初步反映出中医学所论之“肝失疏泄,气机紊乱”是慢性心理应激反应的主要病理变化。中医学认为,肝主疏泄,最为首要的是调节气机。从中医学角度而言,不良情志刺激首先是影响了机体正常的气机,进而气血津液及脏腑功能失调,阴阳失衡,机体的正气受到损害,这与现代应激学说的应激原理有许多相似之处,而肝主疏泄功能对机体的应激反应具有重要的调节作用。本实验研究表明,调肝法及其方药具有良好的抗心理应激损伤作用。本研究亦可为进一步研究中医学肝脏象与慢性心理应激的关系提供了一定的实验依据。

参 考 文 献

1. Scott HK, Fauzia FQ, Joel HS. An alternative approach to the quantitation of glucocorticoid receptor complex in the nuclei of lymphoid cells. *Endocrinology* 1982 ;110(3):708.
2. Durant S. In vivo effects of catecholamines and glucocorticoids on mouse thymic cAMP content and thymolysis. *Cell Immunol* 1986 ;102:136.
3. 詹秀琴. 补肾方药对老年大鼠胸腺细胞糖皮质激素受体的作用研究. *南京中医药大学学报(自然科学版)* 2000 ;16(3):152—153.
4. 赵伟康, 金国琴. 固真方对老年大鼠胸腺细胞糖皮质激素受体作用的研究. *中国中西医结合杂志* 1999 ;19(2):92—94.
5. 严 灿, 邓中炎, 王 剑, 等. 调肝方药对束缚应激大鼠神经内分泌免疫功能的调节作用. *中国病理生理杂志* 2000 ;16(6):560—562.
6. 刘 张均田. 人参皂甙 Rg1 对老年大鼠免疫调节作用的机制分析. *药学报* 1996 ;31(2):95—100.

(收稿 2001-08-24 修回 2002-01-28)

《中华急诊医学杂志》2003 年征订启事

由中国科学技术协会主管、中华医学会主办《中华急诊医学杂志》,主要面向全国从事急诊医学临床工作的医护人员,特别是中、高级急诊医学医师和从事急诊医学基础研究的科技人员及科研管理人员。及时报道国内外急诊医学最新进展及中华医学会相关信息,设有专论、基础研究、临床研究、综述、讲座、经验交流、院前急救、急诊护理、病例报告、国内外学术动态、继续医学教育等栏目。

自 2003 年起《中华急诊医学杂志》变更为月刊,大 16 开,72 页,铜版纸印刷,每期订价 8.00 元,全年 96 元。全年各地邮局订购,邮发代号 32—41,编辑部常年办理邮购。欢迎广大医护人员积极投稿、订阅杂志。

《中西医结合肝病杂志》2003 年征订启事

《中西医结合肝病杂志》由中国中西医结合学会与湖北中医学院主办。本刊严格遵循“基础与临床并重”、“普及与提高兼顾”、“中西医结合”的办刊宗旨,及时报道国内外中西医防治肝病的新理论、新成果、新进展、新动向、新疗法、新药物、新经验。所设栏目有专论、临床论著、实验研究、老中医心法、经验交流、短篇报道、讲座、信息资料、文献综述、会议纪要、患者之友、思路与方法等。本刊为双月刊,逢双月月末出版,国际大 16 开,64 页,单价 5.00 元,全年订价 30.00 元。国内外公开发行,可在全国各地邮局订阅,亦可直接汇款至本刊编辑部邮购。邮发代号 38—179;编辑部地址:武汉市武昌区花园山 4 号;邮编 430061;电话 027—88929354 88854726。