

芪黄煎剂对大鼠胃切除后肠黏膜免疫屏障的影响

于庆生^{1,2} 袁以洋^{1,2} 刘举达^{1,2} 张琦^{1,2} 王振¹ 黄龙¹

摘要 目的 观察芪黄煎剂对大鼠胃切除后小肠黏膜免疫屏障的影响。**方法** 将 60 只 Wistar 大鼠随机分为假手术组、模型组、芪黄煎剂组(中药组),每组 20 只。模型组与中药组均行胃切除手术,模型组术后给予小肠内滴注肠内营养制剂能全素;中药组予小肠内滴注能全素和中药芪黄煎剂。假手术组仅行腹部正中切开及关腹处理,术后正常进食水,不予药物及营养干预。干预 1 周后,分离出大鼠小肠集合淋巴小结(Peyer's patches, PPs)细胞、固有层淋巴细胞(lamina propria lymphocytes, LPLs)、黏膜上皮内淋巴细胞(intraepithelial lymphocytes, IELs)和肠腔黏膜表面分泌型免疫球蛋白 A(secretory IgA, sIgA),应用流式细胞术、免疫组织化学、双抗体-PEG 放射免疫等技术,检测肠黏膜不同解剖部位 T 细胞抗原受体($\alpha\beta$ T cell antigen receptor)-CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞比例、IgA⁺B 细胞数量、sIgA 含量。**结果** 与假手术组比较,模型组肠黏膜 sIgA 含量、PPs 中 IgA⁺B 细胞数量和 LPLs 中 IgA⁺B 细胞数量均降低($P < 0.01$);模型组 IELs 中 CD3⁺、CD8⁺T 细胞比例, LPLs 中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞比例, PPs 中 CD3⁺、CD4⁺T 细胞比例降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与模型组比较,中药组肠黏膜 sIgA 含量、PPs 中 IgA⁺B 细胞数量和 LPLs 中 IgA⁺B 细胞数量升高($P < 0.01$, $P < 0.05$),中药组 IELs 中 CD3⁺、CD8⁺T 细胞比例, LPLs 中 CD3⁺、CD4⁺T 细胞比例, PPs 中 CD3⁺、CD4⁺T 细胞比例升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。**结论** 芪黄煎剂能促进大鼠胃切除术后小肠黏膜免疫屏障中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T、IgA⁺B 淋巴细胞的增殖与分化及 sIgA 含量的增加,能够促进大鼠胃切除术后肠道免疫屏障功能障碍的恢复。

关键词 芪黄煎剂;胃切除;肠黏膜免疫屏障;淋巴细胞

Effect of Qihuang Decoction on the Intestinal Mucosal Immunologic Barrier of Rats after Gastric Resection YU Qing-sheng^{1,2}, YUAN Yi-yang^{1,2}, LIU Ju-da^{1,2}, ZHANG Qi^{1,2}, WANG Zhen¹, and HUANG Long¹ 1 Department of General Surgery, First Affiliated Hospital, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei (230031); 2 Institute of Chinese Medical Surgery, Anhui Academy of Traditional Chinese Medicine, Hefei (230031)

ABSTRACT Objective To observe the effect of Qihuang Decoction (QHD) on the intestinal mucosal immunologic barrier of rats after gastric resection. **Methods** Sixty Wistar rats were randomly divided into the sham-operation group, the model group, and the QHD group, 20 in each group. Rats in the model group and the QHD group received gastric resection. Intestinal dripping Nutrison (an intact protein enteral nutrition powder) was given to rats in the model group after resection. Intestinal dripping Nutrison and QHD was given to rats in the QHD group. Rats in the sham-operation group only received abdominal midsection and suture. They ate and drank normally with no drug or nutrition intervention. After one-week intervention, Peyer's patches (PPs), lamina propria lymphocytes (LPLs), intraepithelial lymphocytes (IELs), secretory IgA (sIgA) were isolated from rat small intestine. Ratios of $\alpha\beta$ T cell antigen receptor ($\alpha\beta$ TCR)-cluster of differentiation 3 positive (CD3⁺), cluster of differentiation 4 positive (CD4⁺), cluster of differentiation 8 positive (CD8⁺), counts of IgA⁺B lymphocytes, and contents of intestinal mucosa sIgA were detected using flow cytometry, immunohistochemistry, and double antibody-PEG radioimmunoassay. **Results** Compared with the sham-operation group, contents of intestinal mucosa sIgA, counts

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 30973855);“十二五”国家临床重点专科建设项目(No. 财社[2013]239)

作者单位:1. 安徽中医药大学第一附属医院普外科(合肥 230031);2. 安徽省中医药科学院中医外科研究所(合肥 230031)

通讯作者:于庆生, Tel: 0551-62838590, E-mail: qsy6312@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.11.1358

of IgA⁺B lymphocytes in PPs, and counts of IgA⁺B lymphocytes in LPLs all decreased ($P < 0.01$); CD3⁺ and CD8⁺T ratios in IELs, CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺ ratios in LPLs; CD3⁺ and CD4⁺ ratios in PPs decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$) in the model group. Compared with the model group, contents of intestinal mucosa sIgA, counts of IgA⁺B lymphocytes in PPs, and counts of IgA⁺B lymphocytes in LPLs all increased in the QHD group ($P < 0.01$, $P < 0.05$); CD3⁺ and CD8⁺T ratios in IELs, CD3⁺ and CD4⁺ ratios in LPLs, CD3⁺ and CD4⁺ ratios in PPs increased in the QHD group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Conclusion QHD could promote differentiation and multiplication of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺T, and IgA⁺B lymphocytes in the intestinal mucosal immunologic barrier, increase contents of intestinal mucosa sIgA, and promote the recovery of intestinal mucosal immunologic barrier of gastric resection rats.

KEYWORDS Qihuang Decoction; gastric resection; intestinal mucosa immunologic barrier; lymphocyte

肠黏膜免疫屏障由小肠集合淋巴小结(Peyer's patches, PPs)、固有层淋巴细胞(lamina propria lymphocytes, LPLs)、黏膜上皮内淋巴细胞(intra-epithelial lymphocytes, IELs)和肠腔黏膜表面分泌型免疫球蛋白A(secretory IgA, sIgA)共同组成,是肠黏膜屏障核心构成要素之一,其功能的正常与否直接关系着肠屏障的完整性^[1,2]。异常情况下,尤其是手术创伤可以引起肠黏膜屏障功能障碍^[3,4],肠腔内细菌及其内毒素移位,刺激机体免疫细胞和组织细胞释放各种炎性介质、细胞因子,触发全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)以及多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)。笔者既往研究发现,胃切除应激反应可导致肠黏膜屏障功能障碍和触发细菌移位,进一步研究发现健脾通里中药芪黄煎剂对机体免疫机能具有调节作用和对肠黏膜屏障功能起到保护作用^[5,6],但其保护机制尚不清楚。本研究拟通过建立胃切除手术创伤大鼠模型,采用芪黄煎剂小肠内滴注干预,分离出小肠PPs、LPLs、IELs和肠腔黏膜表面sIgA,以探讨芪黄煎剂对胃切除手术应激后肠黏膜免疫功能的调节作用。

材料与方法

1 动物 清洁级Wistar雄性大鼠60只,3月龄,体重290~310 g,购自安徽省实验动物中心,生产许可证号:SCXK(皖)2011-002。

2 药物 芪黄煎剂组方:黄芪20 g 党参20 g 白术20 g 大黄10 g(后下) 枳实10 g 厚朴10 g 丹参15 g 黄芩12 g,饮片购自安徽中医药大学第一附属医院中药房,加水500 mL,煎煮过滤药液并调整浓度为1.5 g/mL。

3 试剂及仪器 EDTA, Biosharp 公司,批号:

2010/10;淋巴细胞分离液 Percoll, Pharmacia 公司,批号170891-01;CD3(FITC 标记)、CD4(PE 标记)、CD8(PE 标记)抗体检测试剂盒:BioLegend 公司,批号:B1219400;DTT, Biosharp 公司,批号:2011/08;封闭用正常山羊血清工作液(6 mL),北京中杉金桥生物技术有限公司,批号:549257A;分泌型免疫球蛋白A放射免疫分析药盒,原子高科股份有限公司,批号:201003;Ⅱ型胶原酶, GIBCO 公司,批号:461699;SlgA质控 QC, I(低), II(中), III(高), 原子高科股份有限公司,批号:200907。肠内营养制剂选用能全素, 荷兰纽迪希亚出口有限公司。EPICS XL-MCL 4C 型流式细胞仪, 美国 Coulter 公司;LD4-8 低速自动平衡离心机, 北京医用离心机厂;CR-22F 日立高速冷冻离心机, 北京鑫诺恒信科技发展有限公司;Nikon80i 荧光显微镜, 新飞达光学仪器公司;BM-II 病理组织包埋机, 安徽电子科学研究所;Olympus PM-20 型显微照相设备, 日本 Olympus 光学工业株式会社;GPN-9160 型隔水式恒温培养箱, 上海三发科学仪器有限公司;DFM-96 型多管放射免疫计数器, 众成机电技术公司。

4 大鼠模型制备 随机选取40只清洁级Wistar大鼠,参照参考文献方法^[6],选腹部正中切口,进腹后找到胃体,给予胃体大小弯之间的前壁部分切除,并缝合残胃。并于幽门附近将直径1.0 mm 硅胶导管置入空肠内,缝合固定硅胶管,并从腹壁切口及皮下潜行至颈背部肩胛区引出,外套弹簧固定,用作术后使用。造模成功以个体大鼠完成手术模型制备,接受1周疗程治疗并存活为标准,包括固定弹簧和硅胶管脱落以常规灌胃完成治疗的大鼠。本次60只大鼠接受治疗后,存活48只,成功率为80%。考虑造模失败因素,本次实验扩大了每组造模大鼠数量以保证实验所需样本量。

5 动物分组及干预方法 选择20只大鼠作为假手术对照,仅行腹部正中切开约2.5 cm 及关腹处

理,麻醉死亡 1 只,术后正常进食水,不予药物及营养干预。40 只胃切除模型大鼠麻醉手术因素死亡 2 只,余 38 只随机分为模型组和中药组,每组 19 只。模型组大鼠胃切除术后第 1 天开始,使用微量注射泵,通过肠内营养管向空肠内缓慢滴注能全素调制而成的营养液,具体的能全素调制方法、滴注方法以及热量计算方法均等同以往建立方法^[6]。按 120 kJ/(kg·d) 提供热量,能全素 160 g 用温开水溶解成 500 mL 的溶液,每 100 mL 含 830 kJ 热量,每只大鼠按 300 g 计算。每天注入肠内营养的量:(120 kJ/kg×0.3 kg)/8.3 kJ/mL=4.3 mL/d,分 2 次用微量注射泵通过硅胶管缓慢匀速持续注入小肠内,速度控制为 2 mL/h。滴注营养液前滴注生理盐水 6 mL。疗程共计 1 周。中药组大鼠干预同模型组,并通过肠内营养管滴注健脾通里中药芪黄煎剂 6 mL^[6],相当于临床成人用量 8.5 倍。具体滴注方法等同营养液滴注,持续 1 周。

6 检测指标及方法 大鼠造模完成及疗程结束,三组大鼠均有因麻醉、手术、术后管理等因素而导致的死亡,假手术组剩余 17 只;对照组剩余 15 只;中药组剩余 16 只。每组大鼠中随机选取 15 只用于肠道 sIgA、IELs、LPLs 和 PPs 的分离。流式细胞术检测 PPs、IELs、LPLs 中 T 细胞,通过 Cell quest 软件分析得出数据。免疫组化法检测 PPs、LPLs 中 IgA⁺B 细胞,通过医学图像分析软件分析得出数据。双抗体-PEG 放射免疫分析法检测 sIgA。

6.1 sIgA 分离及检测 干预结束后,以乌拉坦常规麻醉大鼠,立即剖腹切取各组大鼠小肠全长(从 Treitz 韧带至回盲部),清洗肠腔,并以 10% 醋酸溶液冲洗肠腔并收集灌洗液,于 4℃,20 000 r/min 离心 30 min,收集上清液-70℃保存。以双抗体-PEG 放射免疫分析法检测 sIgA。

6.2 PPs 分离及检测 PPs 的分离:机械分离的方式分离小肠 PPs。将分离的 PPs 一半放于含 10% 福尔马林固定,用免疫组织化学法检测 IgA⁺B 细胞,另一半用于 T 细胞检测。PPsT 淋巴细胞的分离:将剩余的 PPs 放置少量培养液中,用眼科剪剪成碎沫,通过尼龙网过滤、离心机离心、洗涤后,制成 PPs 的单细胞悬液,流式细胞仪检测 T 细胞抗原受体(αβT cell antigen receptor)-CD3⁺ 细胞及其亚群 CD4⁺、CD8⁺T 细胞比例。

6.3 IELs 分离及检测 参照文献方法^[7]:翻转去除 PP 结的小肠黏膜,使黏膜外翻,将小肠置于含有 1 mmol EDTA 和 1 mmol DTT 的 D-Hank's 液中,并放置恒温振荡器进行振荡消化 1 h,通过温和的化

学消化及机械振荡方式将 IELs 从小肠黏膜上皮层分离出来。并将含有淋巴细胞的消化液过滤、离心、Percoll 分离提纯,制成 IELs 混悬液,用于 T 细胞检测。流式细胞术检测 IELs 中 T 细胞,通过 Cell quest 软件分析得出数据。

6.4 LPLs 分离及检测 LPLs 中 B 细胞的标本分离:将分离出 PPs 后的小肠,在距回盲部 2~3 cm 处切取一段小肠用作免疫组化检测 IgA⁺B 细胞。LPLs 中 T 淋巴细胞的分离:以上消化 IELs 后的小肠转移至盛有含有 0.1%Ⅱ型胶原酶的 1640 液中,放置水浴振荡器中震荡消化 1 h。过滤、Percoll 分离、细胞提取方法同 IELs。流式细胞术检测 LPLs 中 T 细胞,通过 Cell quest 软件分析得出数据。免疫组织化学法检测 LPLs 中 IgA⁺B 细胞,通过医学图像分析软件分析得出数据。

7 统计学方法 应用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理。连续型变量采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计采用单因素方差分析,两两比较方差齐采用 LSD 法,方差不齐采用 Tamhane's T2 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

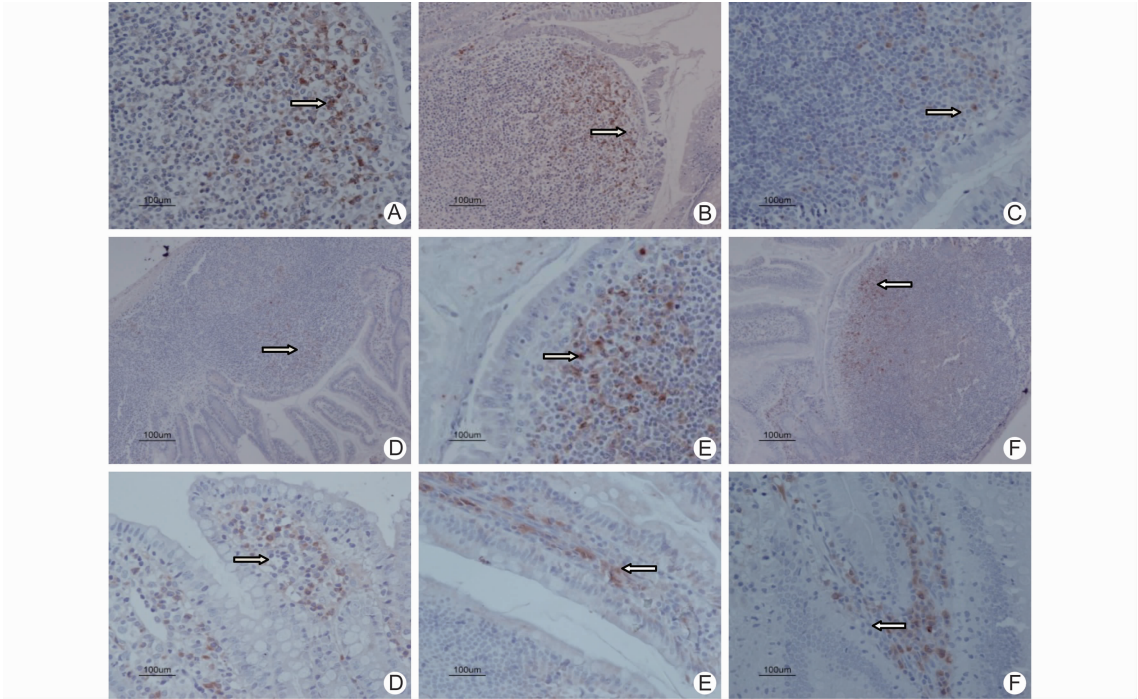
1 各组大鼠肠黏膜 sIgA 含量、PPs 和 LPLs 中 IgA⁺B 细胞数量比较(表 1,图 1) 与假手术组比较,模型组肠黏膜 sIgA 含量、PPs 中 IgA⁺B 细胞数量和 LPLs 中 IgA⁺B 细胞数量降低($P < 0.01$)。与模型组比较,中药组肠黏膜 sIgA 含量、PPs 中 IgA⁺B 细胞数量和 LPLs 中 IgA⁺B 细胞数量升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠肠黏膜 sIgA 含量、PPs 和 LPLs 中 IgA⁺B 细胞数量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	肠黏膜 sIgA (μg/mL)	PPs 中 IgA ⁺ B 细胞 (细胞数/400 倍视野)	LPLs 中 IgA ⁺ B 细胞 (细胞数/400 倍视野)
假手术	15	0.68±0.09**	68±18**	29.7±12.9**
模型	15	0.22±0.07	39±17	14.4±2.6
中药	15	0.31±0.12*	56±11*	21.3±7.6**

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

2 各组大鼠肠黏膜 IELs 和 LPLs、PPs 中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞比例比较(表 2,图 2) 与假手术组比较,模型组 IELs 中 CD3⁺、CD8⁺T 细胞比例降低,LPLs 中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞比例降低,PPs 中 CD3⁺、CD4⁺T 细胞比例降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与模型组比较,中药组 IELs 中 CD3⁺、CD8⁺T 细胞比例升高,LPLs 及 PPs 中 CD3⁺、CD4⁺T 细胞比例升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。



注:A 为假手术组 PP 结(×400);B 为假手术组 PP 结(×100);C 为模型组 PP 结(×400);D 为模型组 PP 结(×100);E 为中药组 PP 结(×400);F 为中药组 PP 结(×100);G 为假手术组 LPL(×400);H 为模型组 LPL(×400);I 为中药组 LPL(×400);白色箭头所指棕黄色细胞为阳性细胞

图 1 各组大鼠 PPs 与 LPLs 中 IgA⁺B 免疫组化结果

表 2 各组大鼠 IELs 和 LPLs、PPs 中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞比例比较 (%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	IELs			LPLs			PPs		
		CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺
假手术	15	80 ± 7 **	9.1 ± 5.1	71 ± 9 *	75 ± 8 **	23 ± 6 **	54 ± 9 **	20 ± 1 **	16 ± 1 **	18 ± 2
模型	15	63 ± 11	5.5 ± 2.3	56 ± 16	52 ± 10	15 ± 6	37 ± 12	15 ± 2	14 ± 1	16 ± 2
中药	15	75 ± 8 **	5.7 ± 2.3	70 ± 10 *	60 ± 11 *	22 ± 8 *	39 ± 18	18 ± 2 **	15 ± 2 **	16 ± 2

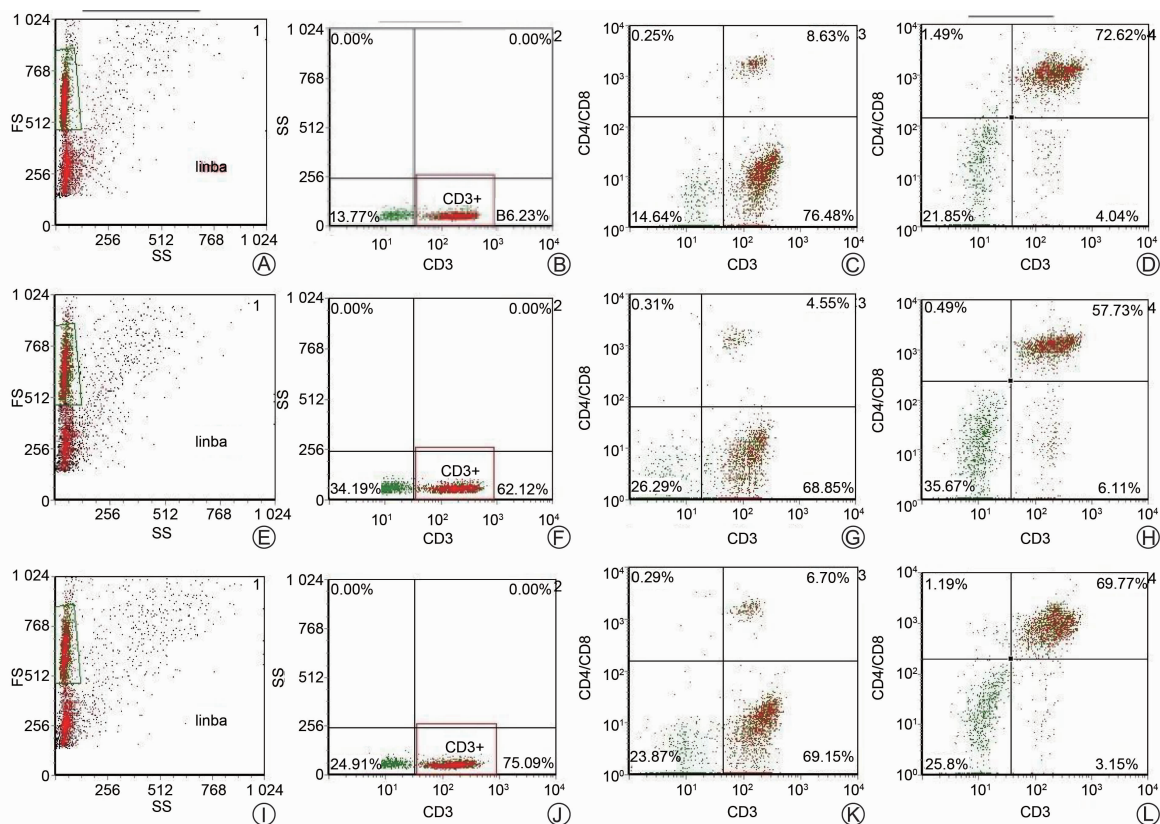
注:与模型组比较,**P* < 0.05,***P* < 0.01

讨 论

肠黏膜免疫屏障由 PPs、IELs 及 LPLs 组成,PPs 发挥免疫应答的诱导作用,后两者发挥免疫应答的效应作用。PPs 是位于小肠壁黏膜层或黏膜下的高度器官化的黏膜淋巴组织,主要由 B 细胞、T 细胞构成。B 细胞分布在淋巴滤泡内,为 IgA⁺淋巴母细胞,经 PPs 上的传出淋巴管、淋巴结、胸导管进入血循环,归巢到肠黏膜固有层。T 细胞位于淋巴滤泡间区,主要行使辅助性 T 细胞功能。其组成特点决定了 PPs 中的淋巴细胞(包括 T 和 B 细胞)并不直接发挥黏膜免疫作用,而是对淋巴细胞的分化和成熟起诱导作用^[8]。本实验结果表明,中药组 PPs 中 IgA⁺B 细胞、CD3⁺、CD4⁺T 细胞比例明显高于模型组(*P* < 0.01,*P* < 0.05),提示芪黄煎剂对 PPs 中原始淋巴细胞的

分化和成熟起着明显诱导作用,为下一步的淋巴细胞归巢到肠黏膜固有层,并发挥黏膜免疫屏障作用奠定基础。

IELs 分布于肠黏膜上皮细胞之间,95.2%位于上皮基底部,3.7%在上皮核层,1.1%在顶端,其上方为两上皮细胞的紧密连接,下方为基底膜,成年人每 100 个肠上皮细胞有 6~40 个 IELs。90% 以上 IELs 为 TCR-CD3⁺T 细胞。而 IELs 中的 T 细胞又以 CD8⁺淋巴细胞为主,决定了它们主要行使类似细胞毒性 T 细胞(cytotoxic T cells,CTL)的功能^[9]。除此之外,IELs 还具备分泌细胞因子的作用,如:分泌多种细胞因子包括 IL-2、IL-5、IL-6、粒-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor,GM-CSF)、γ 干扰素(interferon-γ,IFN-γ)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)和转



注:A 绿色框内为假手术组 IELs;B 红色框内为假手术组 IELs 中 $\alpha\beta$ TCR-CD3⁺ 比例;C 第二象限为假手术组 IELs 中 CD4⁺ 比例;D 第二象限为假手术组 IELs 中 CD8⁺ 比例;E 绿色框内为模型组 IELs;F 红色框内为模型组 IELs 中 $\alpha\beta$ TCR-CD3⁺ 比例;G 第二象限为模型组 IELs 中 CD4⁺ 比例;H 第二象限为模型组 IELs 中 CD8⁺ 比例;I 绿色框内为中药组 IELs;J 红色框内为中药组 IELs 中 $\alpha\beta$ TCR-CD3⁺ 比例;K 第二象限为模型组 IELs 中 CD4⁺ 比例;L 第二象限为中药组 IELs 中 CD8⁺ 比例

图 2 IELs 流式细胞仪检测结果

化生长因子- β (transforming growth factor β , TGF- β)等,这些细胞因子可以作用于黏膜免疫系统,刺激淋巴细胞的增殖并指导 B 细胞的分化,尤其是 sIgA 的合成和装配,对 IgA 产生调节作用。IELs 对小肠上皮细胞更新亦产生积极的作用,其排除损伤细胞,加速上皮新细胞的生成,保证黏膜机械屏障的完整性。本实验结果表明,中药组 IELs 中 CD3⁺、CD8⁺ T 细胞比例明显高于模型组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$),提示芪黄煎剂对 IELs 中 T 细胞的增殖、分化和成熟具有明显的促进和诱导作用,这为发挥 T 淋巴细胞的黏膜免疫屏障功能及保护肠黏膜机械屏障功能方面起着重要作用。

LPLs 位于黏膜上皮细胞基底膜下方。其中 B 淋巴细胞数量占 LPLs 的绝对优势,且这里的 B 细胞多已经是分化成熟 IgA⁺ B 细胞,具有 IgA 的分泌功能,称为浆细胞。IgA 和 J 链结合形成二聚体或多聚体,再和黏膜上皮细胞分泌的分泌片(secretory component, SC)非共价键结合形成 sIgA,分泌到肠腔的黏膜表面,发挥黏膜免疫屏障的第一道防御作用。sIgA 免疫效应主要通过两个途径:一是黏附和包被将要入

侵黏膜上皮细胞的病原体(包括细菌、细菌毒素和病毒),形成抗原抗体复合物,将其排除;二是 sIgA 在从固有层出来,穿越黏膜上皮细胞分泌到肠腔的过程中,与已入侵的病原体结合,将其从胞内带到黏膜腔,从而避免对黏膜上皮细胞的损害。LPLs 中的 T 细胞主要以 CD4⁺的 $\alpha\beta$ TCR T 细胞为主,占 60%~70%,通过分泌多种细胞因子辅助从 PPs 归巢的 IgA⁺ B 细胞分化成为 IgA⁺ 浆细胞^[10]。本实验结果表明,中药组 LPLs 中 IgA⁺ B 细胞、CD3⁺、CD4⁺ T 细胞比例,以及肠黏膜表面 sIgA 水平明显高于对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),这表明中药芪黄煎剂对 LPLs 中淋巴细胞的增殖、分化和成熟具有明显的促进和诱导作用,而且推测可能与促进淋巴细胞归巢有关,这对最终发挥肠黏膜的免疫屏障作用至关重要。就芪黄煎剂药物组成而言,已发现君药黄芪中最具活性的黄芪多糖可以抑制肠黏膜局部淋巴细胞的活性和炎症因子的表达,促进组织修复,调节免疫状态,达到治疗和缓解黏膜免疫紊乱相关疾病的作用^[11],亦有研究发现较大分子量的黄芪多糖可以促进肠黏膜 sIgA 分泌增加^[12]。另一君

药大黄所含大黄多糖可促进机体免疫功能,对机体细胞多种损伤有保护作用,它能使小鼠肠黏膜固有层中浆细胞明显增多,从而促进 sIgA 分泌,增强肠道局部免疫能力^[13]。本课题中肠黏膜表面 sIgA 水平的提高也是这一作用的体现。

目前,国内外学者把疾病状况下黏膜免疫异常的干预,主要集中在早期给予肠内营养及在肠内营养中添加特殊营养物质^[14-17],关于中药对应激下黏膜免疫屏障的影响研究甚少,抑或集中在单味中药单个成分如人参多糖对肠黏膜淋巴细胞的影响等研究方面^[7],而将胃切除与中医辨证施治结合起来研究应激状态下中医药对肠黏膜 PPs、IELs 和 LPLs 等不同层次影响的研究,尚未见报告。

笔者发现胃癌胃切除术后,患者存在脾虚与腑实两种证型并存的情况,基于此证型,本研究继承李东垣《脾胃论》补中益气汤健脾益气和张仲景《伤寒论》大承气汤通下攻里的组方思想,研制而成健脾通里方剂芪黄煎剂。既往的临床及实验研究证实,芪黄煎剂对胃切除术后患者 B 细胞和 T 细胞免疫功能具有调节作用^[18,19];同时具有保护肠黏膜屏障和减少细菌移位发生作用^[5,6]。进一步的研究发现芪黄煎剂可以减少肠黏膜上皮细胞凋亡,进而保护了肠黏膜机械屏障^[20]。本课题证实:芪黄煎剂能促进大鼠胃切除术后小肠黏膜免疫屏障中 T、B 淋巴细胞的成熟,提高肠道黏膜淋巴细胞的数量,能够促进大鼠胃切除术后肠道免疫屏障功能障碍的恢复。本研究初步探讨了芪黄煎剂对大鼠胃切除肠黏膜免疫屏障影响的机制,受现有研究条件的限制,尚不能明确这种有益的影响是否是通过中药对肠黏膜淋巴细胞归巢或者相关分子机制产生影响来完成的,需要进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Macpherson AJ, McCoy KD, Johansen FE, et al. The immune geography of IgA induction and function[J]. *Mucosal Immunol*, 2008, 1(1): 11-22.
- [2] 曹珊,王晶桐,刘玉兰. 胃肠道黏膜屏障与自身免疫性疾病[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2007, 16(2): 198-200.
- [3] Murakami M, Sato N, Sato N, et al. Changes in lymphocyte phenotypes and cytokine production by surgical stress in a rat small intestinal resection control[J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2007, 40(3): 216-220.
- [4] Ogawa K, Hirai M, Katsube T, et al. Suppression of cellular immunity by surgical stress[J]. *Surgery*, 2000, 127(3): 329-336.
- [5] 于庆生,侯勇,张福忠,等. 胃癌术后早期小肠内滴注中

- 药改善细胞免疫功能和肠黏膜通透性临床研究[J]. *安徽中医学杂志*, 2006, 25(1): 7-11.
- [6] 于庆生,张琦,潘晋方,等. 中药芪黄煎剂对大鼠胃癌术后早期免疫功能和肠黏膜屏障的影响[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2009, 15(2): 135-138.
- [7] 张皖东,吕诚,刘振丽,等. 人参多糖和猪苓多糖对大鼠肠道黏膜淋巴细胞功能的影响[J]. *中草药*, 2007, 38(2): 221-224.
- [8] Hashizume T, Togawa A, Nochi T, et al. Peyer's patches are required for intestinal immunoglobulin A responses to *Salmonella* spp[J]. *Infect Immun*, 2008, 76(3): 927-934.
- [9] Brandtzaeg P, Kiyono H, Pabst R, et al. Terminology: nomenclature of mucosa-associated lymphoid tissue[J]. *Mucosal Immunol*, 2008, 1(1): 31-37.
- [10] Fagarasan S. Evolution, development, mechanism and function of IgA in the gut[J]. *Curr Opin Immunol*, 2008, 20(2): 170-177.
- [11] 刘端勇,赵海梅,周枫,等. 黄芪多糖调节小鼠小肠黏膜淋巴细胞因子的表达[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2008, 14(9): 692-693.
- [12] 吴瑕,杨薇,张磊,等. 不同分子量段黄芪多糖对整体及黏膜免疫功能的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(18): 169-172.
- [13] 吕冠华,王长洪,王立新,等. 大黄对重症急性胰腺炎大鼠小肠黏膜分泌性免疫球蛋白 A 及 $\gamma\delta$ T 细胞的影响[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2009, 17(3): 153-156.
- [14] Ikezawa F, Fukatsu K, Moriya T, et al. Reversal of parenteral nutrition-induced gut mucosal immunity impairment with small amounts of a complex enteral diet[J]. *J Trauma*, 2008, 65(2): 360-365.
- [15] Fan J, Meng Q, Guo G, et al. Effects of enteral nutrition supplemented with glutamine on intestinal mucosal immunity in burned mice[J]. *Nutrition*, 2009, 25(2): 233-239.
- [16] Hermesen JL, Sano Y, Kudsk KA. Food fight! Parenteral nutrition, enteral stimulation and gut-derived mucosal immunity[J]. *Langenbecks Arch Surg*, 2009, 394(1): 17-30.
- [17] 王浩,吴国豪,周昭彦,等. 不同营养方式对肠道缺血-再灌注大鼠肠屏障功能影响的实验研究[J]. *肠外与肠内营养*, 2004, 11(1): 31-35.
- [18] 于庆生,陈子义,唐雄荣. 芪黄煎剂对胃癌切除后早期淋巴细胞免疫功能的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 1996, 2(2): 13-15.
- [19] 于庆生,刘弋,侯勇,等. 胃癌术后早期小肠内滴注健脾通里中药对血清 IL-2、SiL-2R 和 IL-12 的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2005, 25(8): 710-713.
- [20] 于庆生,余宏亮,潘晋方,等. 芪黄煎剂对缺血-再灌注大鼠肠黏膜上皮细胞 Bcl-2、Bax 及 Caspase-3、9 mRNA 表达的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2011, 31(2): 224-227.

(收稿:2013-09-21 修回:2015-06-22)