

肝郁、脾虚和肝郁脾虚证模型大鼠下丘脑—垂体—肾上腺轴变化及柴疏四君汤的干预效应

赵荣华^{1,2} 刘进娜¹ 李 聪¹ 张敬升¹ 王帮众¹ 么元超¹ 谢 鸣¹ 王道涵³

摘要 **目的** 比较肝郁、脾虚和肝郁脾虚 3 证模型大鼠下丘脑—垂体—肾上腺轴(hypothalamus-pituitary-adrenal axis,HPAA)的变化特点及柴疏四君汤对 3 证模型的干预效应。**方法** 采用随机数字表法将 70 只 Wistar 大鼠分为正常对照组、肝郁组、脾虚组、肝郁脾虚组、肝郁干预组、脾虚干预组及肝郁脾虚干预组,每组 10 只。肝郁、脾虚、肝郁脾虚及其各干预组大鼠分别采用慢性束缚、过度疲劳加饮食失节、慢性束缚加过度疲劳加饮食失节法造模,正常对照组不予处理。于造模第 2 周末,3 证干预各组大鼠均按 2.86 g/kg 体重给予柴疏四君汤灌胃,连续 2 周;各证模型组及正常对照组给予等量蒸馏水灌胃。于实验第 29 天处死各组大鼠,测定肾上腺重量计算肾上腺指数;采用放射免疫法测定血浆及下丘脑促肾上腺皮质激素(CRH)、血浆和垂体促肾上腺皮质激素(ACTH)及血浆皮质酮(CORT)水平。**结果** 与正常对照组比较,3 证模型组大鼠肾上腺指数均明显降低($P < 0.05$),其中肝郁组及肝郁脾虚组血浆及下丘脑 CRH、血浆 CORT 均明显升高($P < 0.05$),且肝郁脾虚组伴有血浆及垂体 ACTH 升高($P < 0.05$);脾虚组血浆及垂体 ACTH、血浆 CORT 均明显降低($P < 0.05$)。与各相应模型组比较,3 个干预组大鼠肾上腺指数均明显升高($P < 0.05$);其中肝郁干预组血浆 CORT、下丘脑 CRH 及垂体 ACTH 均明显降低($P < 0.05$);脾虚干预组血浆 ACTH 及 CORT 均明显升高($P < 0.05$);肝郁脾虚干预组血浆 CRH、ACTH、CORT、下丘脑 CRH 及垂体 ACTH 均降低($P < 0.05$)。**结论** 肝郁、脾虚和肝郁脾虚 3 证大鼠均存在一定的 HPAA 的功能异常,其中肝郁证和肝郁脾虚证 HPAA 呈功能亢进状态,肝郁脾虚证还伴有下丘脑及垂体反馈调节功能受损;脾虚证 HPA 呈功能低下状态。具有疏肝健脾功用的柴疏四君汤对此 3 证模型的 HPAA 失常均有不同程度的改善作用,但以对肝郁脾虚证的作用最优。柴疏四君汤与肝郁脾虚证的关联程度较高。

关键词 方证相关;肝郁;脾虚;肝郁脾虚;下丘脑—垂体—肾上腺轴;柴疏四君汤

Changes of HPAA in Different Rat Models of Gan Stagnation, Pi Deficiency, Gan Stagnation Pi Deficiency and Interventional Effect of Chaishu Sijun Decoction ZHAO Rong-hua^{1,2}, LIU Jin-na¹, LI Cong¹, ZHANG Jing-sheng¹, WANG Bang-zhong¹, YAO Yuan-chao¹, XIE Ming¹, WANG Dao-han³ 1 Department of Formulary, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100029); 2 Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100600); 3 Department of Pediatrics, Dongfang University, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100078)

ABSTRACT **Objective** To compare changes of hypothalamus-pituitary-adrenal axis (HPAA) in different rat models of Gan stagnation (GS), Pi deficiency (PD), Gan stagnation Pi deficiency (GSPD) syndromes, and to observe interventional effect of Chaishu Sijun Decoction (CSD, capable of soothing Gan-qi invigorating Pi) on them. **Methods** Seventy Wistar rats were divided into the normal control group (group 1), the GS group (group 2), the PD group (group 3), the GSPD group (group 4), the GS intervention group (group 5), the PD intervention group (group 6), and the GSPD intervention group (group 7) according to random digit table, 10 in each group. Rats in group 1 received no treatment. Rats in group

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No. 81173193)

作者单位:1.北京中医药大学方剂教研室(北京 100029);2.中国中医科学院中药研究所(北京 100600);3.北京中医药大学东方医院儿科(北京 100078)

通讯作者:谢 鸣, Tel: 010-64286992, E-mail: xieming603@263.net

DOI: 10.7661/CJIM.2015.07.0834

2 and 5 were modeled by chronic restraint method. Rats in group 3 and 6 were modeled by excess fatigue plus alimentary abstinence method. Rats in group 4 and 7 were modeled by chronic restraint, excess fatigue, and alimentary abstinence method. At the 2nd weekend of modeling, CSD at 2.86 g/kg was fed to rats in group 5, 6, and 7 by gastrogavage for 2 successive weeks. Equal volume of distilled water was given to rats in the rest 4 groups. On the 29th day, rats were killed, adrenal weight weighed, and adrenal index calculated. Levels of plasma and hypothalamus corticotropin-releasing hormone (CRH), plasma and pituitary adrenocorticotrophic hormone (ACTH), and plasma corticosterone (CORT) were determined using radioimmunity. Results Compared with group 1, adrenal index significantly decreased in group 2, 3, and 4 ($P < 0.05$). Of them, plasma and hypothalamus CRH, plasma CORT increased significantly in group 2 and 4 ($P < 0.05$). Besides, plasma and pituitary ACTH increased in group 4 ($P < 0.05$). Plasma and pituitary ACTH, as well as plasma CORT decreased significantly in group 3 ($P < 0.05$). Compared with group 2, 3, and 4, adrenal index increased significantly in group 5, 6, and 7 ($P < 0.05$). Compared with group 2, plasma CORT, hypothalamus CRH, and pituitary ACTH decreased significantly in group 5 ($P < 0.05$). Compared with group 3, plasma ACTH and CORT increased significantly in group 6 ($P < 0.05$). Compared with group 4, plasma CRH, ACTH, CORT, hypothalamus CRH, and pituitary ACTH decreased in group 7 ($P < 0.05$). Conclusions The function of HPA axis was damaged to varying degrees in rats of the three models in this experiment. Hyperactivity of HPA axis existed in GS syndrome and GSPD syndrome. Impairment of feedback regulation in hypothalamus and pituitary was accompanied in GSPD syndrome. Hypofunction of HPA axis existed in PDS. CSD, capable of soothing Gan-qi invigorating Pi, showed improvement on disarranged HPAA, but with optimal effect on GSPD syndrome. CSD had higher correlation with GSPD syndrome.

KEYWORDS formula related to syndrome; Gan stagnation; Pi deficiency; Gan stagnation Pi deficiency; hypothalamus-pituitary-adrenal axis; Chaishu Sijun Decoction

下丘脑—垂体—肾上腺轴(hypothalamus-pituitary-adrenal axis, HPAA)作为机体对外界各种应激反应的内分泌调节轴,其应激信号与中枢神经系统密切相关^[1],参与控制应激反应,调节包括消化、免疫系统、情绪、性行为及能量贮存和消耗在内的多种生理活动。肝郁、脾虚、肝郁脾虚是中医临床常见的具有一定关联的3个证候,与临床多种疾病有关,涉及神经、内分泌、免疫等多个系统功能的异常^[2,3]。本研究以HPA为切入点,在比较肝郁、脾虚和肝郁脾虚3证模型大鼠HPA变化的基础上,从同方异证的角度,观察疏肝健脾方—柴疏四君子汤对此3证模型大鼠HPAA的影响,从实验角度论证中医方与证的关联性。

材料与方法

1 动物 70只健康雄性Wistar大鼠,体重(210 ± 10)g,级别SPF/VAF,动物许可证号:SCXK(京)2009-0001,由北京维通利华实验动物中心提供。动物饲养于屏障SPF级实验室。

2 药物、试剂及仪器 人参、白术、茯苓、柴胡、陈皮、川芎、香附、枳壳、芍药、炙甘草由北京同仁堂药业

股份有限公司提供,药材经北京中医药大学中药鉴定教研室张媛教授鉴定均为正品。柴胡疏肝散合四君子汤(以下简称“柴疏四君汤”)用量为:柴胡4g 陈皮4g 川芎3g 香附3g 枳壳3g 芍药3g 人参4g 白术3g 茯苓3g 炙甘草2g。上方按水提醇沉法制成颗粒,灌胃浓度配制为12.87%。促肾上腺皮质激素(CRH,批号:20120515)、促肾上腺皮质激素(ACTH,批号:20120515)、皮质醇(CORT,批号:20120517)放射免疫分析试剂盒由北京华英生物技术有限公司提供。塑料钢化筒:执行标准:Q/WHC02-2002。低温离心机(DDL25型)购于上海安亭科学仪器厂;SN2695B型智能放射免疫 γ 测量仪(上海核所日环光电仪器有限公司)。自制大鼠束缚筒,为有机玻璃制成的圆筒状结构,主筒长25cm,筒口外径7cm,内径5cm;前端置有一直径小于主筒的、可前后调节的带有透气孔、便于大鼠头伸进的有机玻璃前罩,后端为可调的开关闸门。

3 造模方法 实验前全部动物进行预游泳,剔除游泳时间 <10 min或 >20 min的大鼠。肝郁证大鼠模型采用慢性束缚法造模^[4],即将大鼠置于特制的束缚装置中,每日连续束缚3h(8:00~11:00am),连

续造模 28 天。脾虚证大鼠模型采用过度疲劳联合饮食失节法造模^[5],即将大鼠置于(22±1)℃水温中游泳 10 min (2:00 pm 开始),同时隔日喂食(隔日禁食,隔日足量给食),连续造模 28 天。肝郁脾虚证大鼠模型采用慢性束缚加过度疲劳加饮食失节法造模^[6],即将大鼠置于特制的束缚装置中,每日连续束缚 3 h(8:00~11:00 am),下午再将大鼠置于(22±1)℃水温中游泳 10 min (2:00 pm 开始),同时隔日喂食(隔日禁食,隔日足量给食),连续造模 28 天。3 证模型采用动物外观行为(症)积分量表^[7]的半定量形式作为模型成功标准,根据大鼠每周各行为指标项的积分值变化判断 3 证模型的成模情况,其中肝郁证大鼠造模 2 周后在活动状态、情绪睡眠两项指标积分上明显增加,表现出从最初的情绪不稳定、烦躁转为表情淡漠、少动等类似中医肝郁之象;脾虚证大鼠造模 2 周后在活动状态、皮肤毛发、饮食大便 3 项指标积分上显著增加,大鼠出现纳少便溏、肢体倦怠、神疲乏力、形体消瘦等类似中医脾虚之象;肝郁脾虚证大鼠造模 2 周后在活动状态、情绪睡眠、饮食大便、皮肤毛发的 4 项指标积分均显著增加,大鼠既表现有情绪焦虑或精神抑郁等肝郁之象,也表现出食少纳呆、大便溏薄、活动滞迟等脾虚之象^[7],提示造模成功。

4 分组及给药方法 采用随机数字表法将 70 只大鼠分为正常对照组、肝郁组、脾虚组、肝郁脾虚组、肝郁干预组、脾虚干预组、肝郁脾虚干预组,每组 10 只。后 6 组大鼠分别按上法复制肝郁、脾虚、肝郁脾虚证模型,正常对照组不予处理。各模型干预组给药剂量参照《医学动物实验方法》中的人与动物用量换算方法,即按体重换算如下:70 kg 成人与 0.2 kg 大鼠之间的每 kg 体重折算系数为 6.25,每只大鼠每千克体重日用生药量(g/kg)=2.86 g/kg。3 个模型干预组大鼠分别于造模第 2 周末(即造模第 15 天起),按 2.86 g(生药材量)/kg 体重给予柴疏四君汤颗粒灌胃,连续 2 周;3 个模型组及正常对照组给予等量蒸馏水灌胃。

5 样本采集 实验第 28 天 8:00 pm 开始,各组

大鼠禁食;翌日 8:00 am 断头取血 4 mL,2 000 r/min 离心 10 min,取血浆,于 -20℃ 保存,待测 ACTH、CORT、CRH;迅速在冰盘上分离下丘脑和垂体,称重后置于煮沸的生理盐水(1 mL)中 3 min,再加 1 mol/L 的冰醋酸 0.5 mL 于匀浆器中匀浆提取,再用 1 mol/L NaOH 0.5 mL 中和,低温条件下,3 000 r/min 离心 30 min,取上清液,于 -20℃ 保存,待测下丘脑 CRH、垂体 ACTH;小心剥离肾上腺,称量肾上腺重量(g)。

6 指标测定 肾上腺指数按照脏器指数=脏器重量/大鼠体重(g)计算;采用放射免疫法测定血浆 CORT、ACTH、CRH、下丘脑 CRH 及垂体 ACTH^[8],按试剂盒说明书操作。

7 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件包进行数据统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 LSD 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠血浆 CRH、ACTH 及 CORT 水平比较(表 1) 与正常对照组比较,肝郁组和肝郁脾虚组大鼠血浆 CRH、CORT 均升高($P < 0.05$),脾虚组血浆 ACTH、CORT 降低($P < 0.05$),肝郁脾虚组血浆 ACTH 也明显升高($P < 0.05$),肝郁干预组血浆 CRH 明显升高($P < 0.05$),余未见明显变化。与肝郁组比较,肝郁干预组大鼠血浆 CORT 明显降低($P < 0.05$);与脾虚组比较,脾虚干预组血浆 ACTH、CORT 明显升高($P < 0.05$);与肝郁脾虚组比较,肝郁脾虚干预组血浆 CRH、ACTH 及 CORT 均明显降低($P < 0.05$)。

2 各组大鼠下丘脑 CRH、垂体 ACTH 及肾上腺指数比较(表 2) 与正常对照组比较,3 个模型组大鼠肾上腺指数均明显降低($P < 0.05$),其中肝郁组及肝郁脾虚组下丘脑 CRH 升高,脾虚组垂体 ACTH 降低,肝郁脾虚组垂体 ACTH 升高(均 $P < 0.05$),余未见明显变化。与肝郁组比较,肝郁干预组大鼠下丘脑

表 1 各组大鼠血浆 CRH、ACTH 及 CORT 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CRH (ng/mL)	ACTH (pg/mL)	CORT (ng/mL)
正常对照	10	4.41 ± 0.38	21.78 ± 2.48	311.16 ± 31.01
肝郁	10	5.94 ± 0.95*	22.52 ± 2.23	356.01 ± 39.99*
肝郁干预	10	6.06 ± 0.42*	21.34 ± 3.29	303.22 ± 27.93 [△]
脾虚	10	4.47 ± 0.39	15.69 ± 2.08*	255.67 ± 14.06*
脾虚干预	10	4.48 ± 0.32	25.10 ± 4.01 [▲]	294.81 ± 18.06 [▲]
肝郁脾虚	10	6.94 ± 0.25*	28.34 ± 3.56*	371.67 ± 17.45*
肝郁脾虚干预	10	3.77 ± 0.46 [○]	24.64 ± 2.70 [○]	314.69 ± 11.24 [○]

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与肝郁组比较,[△] $P < 0.05$;与脾虚组比较,[▲] $P < 0.05$;与肝郁脾虚组比较,[○] $P < 0.05$;表 2 同

表 2 各组大鼠下丘脑 CRH、垂体 ACTH 及肾上腺指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CRH (ng/mL)	ACTH (pg/mL)	肾上腺指数
正常对照	10	0.16 ± 0.03	2.14 ± 0.53	0.000186 ± 0.000003
肝郁	10	0.28 ± 0.02 *	2.04 ± 0.59	0.000152 ± 0.000009 *
肝郁干预	10	0.16 ± 0.02 △	1.64 ± 0.39 △	0.000184 ± 0.000009 △
脾虚	10	0.16 ± 0.01	1.36 ± 0.38 *	0.000152 ± 0.000007 *
脾虚干预	10	0.17 ± 0.02	1.75 ± 0.63	0.000172 ± 0.000005 ▲
肝郁脾虚	10	0.28 ± 0.03 *	2.61 ± 0.23 *	0.000162 ± 0.000005 *
肝郁脾虚干预	10	0.12 ± 0.01 ○	1.72 ± 0.27 ○	0.000183 ± 0.000004 ○

CRH 及垂体 ACTH 明显降低,肾上腺指数升高(均 $P < 0.05$);与脾虚组比较,脾虚干预组肾上腺指数明显升高($P < 0.05$);与肝郁脾虚组比较,肝郁脾虚干预组下丘脑 CRH、垂体 ACTH 降低,肾上腺指数明显升高(均 $P < 0.05$)。

3 各组大鼠 HPA 轴相关指标变化水平比较 (表 3) 与正常对照组比较,3 证模型组大鼠肾上腺指数均明显降低($P < 0.05$),其中肝郁组和肝郁脾虚组的血浆及下丘脑 CRH、血浆 CORT 均明显升高($P < 0.05$),且肝郁脾虚组伴有血浆及垂体 ACTH 升高($P < 0.05$);脾虚组血浆与垂体 ACTH、血浆 CORT 均明显降低($P < 0.05$)。各证干预组大鼠肾上腺指数均明显升高($P < 0.05$);其中肝郁干预组及肝郁脾虚干预组血浆 CORT、下丘脑 CRH 及垂体 ACTH 均明显降低($P < 0.05$),肝郁脾虚干预组血浆 CRH 及 ACTH 均明显降低($P < 0.05$),脾虚干预组血浆 ACTH 及 CORT 均明显升高($P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠 HPA 轴相关指标变化水平比较

组别	n	HPA 轴					
		血浆 CRH	血浆 ACTH	血浆 CORT	下丘脑 CRH	垂体 ACTH	肾上腺指数
肝郁	10	↑↑	—	↑↑	↑↑	—	↓↓
肝郁干预	10	—	—	↓↓	↓↓	↓↓	↑↑
脾虚	10	—	↓↓	↓↓	—	↓↓	↓↓
脾虚干预	10	—	↑↑	↑↑	—	↑	↑↑
肝郁脾虚	10	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↓↓
肝郁脾虚干预	10	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓	↑↑

注:与正常对照组或对应的模型组比较,↓↓或↑↑为降低或升高($P < 0.05$);—为无明显变化

讨 论

HPAA 是机体最主要的应激反应轴,也是内分泌系统最重要的调节通路。研究发现,HPAA 的主要受控部位是中枢神经系统的下丘脑室旁核(paraventricular nucleus of hypothalamus, PVN),当应激信号经神经中枢到达 PVN 后,可刺激下丘脑合成 CRH 神经小细胞通过轴突将 CRH 释放入正中隆起的垂体门脉,后随血流到达垂体前叶促进 ACTH 的合成和释

放,增多的 ACTH 则刺激肾上腺皮质合成及分泌 CORT,进而促使机体发生一系列的调适反应,其中 CORT 又可负反馈调节垂体 ACTH 和下丘脑 CRH 的合成释放,共同构成 HPAA 的自调节环路^[9]。通常而言,应激信号可刺激下丘脑 CRH 分泌增多而引发垂体 ACTH 升高,最终导致 CORT 升高,而异常过度升高的 CORT 也可使 HPAA 的负反馈调节机制受损而出现 HPAA 持续亢进,从而引起机体神经、内分泌、免疫等多系统的紊乱^[10]。

本研究发现,由单纯束缚应激诱导的肝郁证大鼠下丘脑 CRH、血浆 CRH 和 CORT 出现明显升高,与之前采用孤养结合颈部戴枷法^[11]或慢性不可预知刺激法^[12]建立的肝郁模型所观察到的结果基本一致,推测中医肝郁证确实存在 HPAA 功能偏亢进状态。通常血浆中 CORT 升高可反馈引起下丘脑 CRH 和垂体 ACTH 的分泌减少,但本证大鼠的下丘脑 CRH 不仅未见减却反见升高,提示肝郁证大鼠 HPA 中可能存在上位下丘脑反馈性调节机制的受损。

本实验中的脾虚证大鼠垂体 ACTH、血浆 ACTH、CORT 的变化与既往采用该法复制脾虚证模型所观察到大鼠垂体 ACTH、血浆 ACTH 和 CORT 降低的结果一致^[13]。再次证明该脾虚证大鼠存在 HPAA 功能的低下。本实验结果表明,该模型在血浆中 CORT 降低、垂体和血浆 ACTH 降低的同时,其垂体和血浆 CRH 并未见明显变化,推测该脾虚模型大鼠肾上腺皮质功能的降低与 HPAA 中的垂体 ACTH 的分泌减弱有关。

实验结果表明,肝郁脾虚证大鼠的下丘脑和血浆 CRH、垂体和血浆 ACTH 及血中 CORT 均出现显著升高,与既往研究观察到的肝郁脾虚大鼠模型 HAP 的变化基本一致^[14],表明肝郁脾虚证模型不仅存在肾上腺皮质功能亢进,并可能与下丘脑持续的 CRH 分泌增多有关。根据 HPA 反馈调节机制,本模型血中 CORT 的增高不仅未引起垂体 ACTH 和下丘脑 CRH 的降低,反而出现升高,提示存在下丘脑和垂体的反应性降低,这可能与阎玥等^[15]观察到的该模型大鼠存在

中枢下丘脑促肾上腺皮质激素受体、糖皮质激素受体和垂体下丘脑促皮质素释放激素受体、糖皮质激素受体 mRNA 表达下调有关。

肾上腺包括肾上腺皮质和髓质两部分结构,其中皮质分泌醛固酮、皮质醇及性激素,髓质部分分泌肾上腺素和去甲肾上腺素。本研究显示肝郁、脾虚、肝郁脾虚 3 证模型大鼠均出现肾上腺指数的降低,提示不同应激条件作用下大鼠均存在肾上腺组织的损伤,有待进一步研究。

3 证模型大鼠给予柴疏四君汤 2 周后,其异常的 HPAA 均出现不同程度改善,其中肝郁证大鼠升高的血浆 CORT 及下丘脑 CRH 下降,同时原无明显变化的垂体 ACTH 也出现下降,提示该方对肝郁证 HPA 的作用主要是通过抑制上位下丘脑 CRH 分泌,从而引起垂体 ACTH 的下降以恢复 HPA 的功能;脾虚证大鼠降低的血浆 ACTH 和 CORT 均见升高,下降的垂体 ACTH 也呈升高趋势,其下丘脑 CRH 无明显变化,提示该方对脾虚证 HPAA 的作用可能主要是促进垂体 ACTH 分泌,促进下位肾上腺皮质功能的恢复;肝郁脾虚证大鼠升高的血浆 ACTH 和 CORT、下丘脑 CRH 及垂体 ACTH 均见降低,表明该方对该证的 HPAA 有全面的调节作用。

中医学认为肝郁与脾虚在病机上(如土壅木郁或土虚木乘)存在一定的联系,而肝郁脾虚证是肝郁和脾虚的复合证,即此 3 证之间在病理上存在一定的关联。本研究发现,肝郁、脾虚和肝郁脾虚 3 证大鼠均存在 HPAA 功能异常,其中肝郁证和肝郁脾虚证 HPAA 均呈功能亢进状态,脾虚证 HPAA 则呈功能低下状态;肝郁证和脾虚证 HPAA 异常的主要调点分别涉及下丘脑和垂体,而肝郁脾虚证则同时伴有下丘脑及垂体反馈调节功能受损。

柴疏四君子汤为柴胡疏肝散和四君子汤之合方,其中柴胡疏肝散出自《医学统旨》,四君子汤则源于《太平惠民和剂局方》。柴疏四君汤由具有疏肝功用的四逆散(主治肝郁证)和具有健脾功用的四君子汤(主治脾虚证)二方合并而成,该方具有疏肝健脾功用,主治肝郁脾虚证。根据“方证相关”理论^[16],该方疏肝健脾的功用与肝郁、脾虚、肝郁脾虚证均有一定的关联,但关联程度应有不同。研究表明,柴疏四君汤对此 3 证 HPAA 的失常均有不同程度的改善作用,但以对肝郁脾虚证的调节作用较为全面,可能与肝郁脾虚证 HPAA 功能损伤较重有关,提示该方效用与它所作用的病证状态有关。该结果为中医方证相关的经验提供了一定的实证依据。

参 考 文 献

- [1] 丁寿根. 应激过程中下丘脑—垂体—肾上腺轴的调控机理[J]. 国外医学·军事医学分册, 1994, 11(1): 9-14.
- [2] 严灿, 邓中炎, 王剑. 调肝方药对慢性束缚应激大鼠神经内分泌免疫功能的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2000, 16(9): 488.
- [3] 温庆祥, 张蕾, 何俊仁, 等. 四君子汤对脾虚大鼠神经内分泌免疫网络功能的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2005, 13(2): 124-125.
- [4] 陈禹, 谢鸣, 李艳彦, 等. 束缚法复制大鼠肝郁证模型的实验研究[J/OL]. <http://www.paper.edu.cn/> (中国科技论文在线), 2006-06/2013-04.
- [5] 李聪, 谢鸣, 赵荣华. 肝郁、脾虚和肝郁脾虚三证模型大鼠性腺轴的变化及疏肝健脾方的作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(6): 694-697.
- [6] 赵荣华, 谢鸣, 李聪, 等. 肝郁、脾虚和肝郁脾虚证模型大鼠的免疫功能变化[J]. 北京中医药大学学报, 2013, 36(12): 822-825.
- [7] 李聪, 谢鸣, 赵荣华. 疏肝健脾方对肝郁-脾虚-肝郁脾虚证大鼠外观表征的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2013, 19(11): 1279-1281.
- [8] 何维主编. 医学免疫学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 25-27, 416.
- [9] Bakshi VP, Kalin NH. Corticotrophin-releasing hormone and animal models of anxiety: gene-environment interactions[J]. Biol Psychiatry, 2000, 48(12): 1175-1198.
- [10] Lacroix M, Hontela A. Regulation of acute cortisol synthesis by cAMP-dependent protein kinase and protein kinase C in teleost species, the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Endocrinology, 2001, 169(1): 71-78.
- [11] 赵海滨, 刘子旺, 张秀静, 等. 肝气郁结证动物模型的建立及 HPA 轴相关激素的初步研究[J]. 天津中医药, 2011, 28(6): 489-492.
- [12] 刘建鸿, 姚凝, 王淳, 等. 肝郁证与下丘脑—腺垂体—肾上腺皮质轴和肝组织过氧化损伤的实验研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2008, 16(5): 302-304.
- [13] 王洪海. 四君子汤、柴疏四君汤、柴胡疏肝散作用于脾虚证大鼠模型的生物效应比较[D]. 北京: 北京中医药大学, 2007.
- [14] 王桐生, 阎玥, 王玉杰, 等. 柴疏四君汤对肝郁脾虚大鼠下丘脑—垂体—肾上腺皮质轴变化的调整作用[J]. 安徽中医学院学报, 2009, 28(3): 29-31.
- [15] 阎玥, 王桐生, 谢鸣, 等. 肝郁脾虚证模型大鼠 HPA 轴中枢相关受体的表达及疏肝健脾方药的干预作用[J]. 上海中医药杂志, 2010, 43(1): 58-60.
- [16] 谢鸣. 方证相关的逻辑内涵及意义[J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26(2): 11-12.

(收稿: 2014-08-29 修回: 2015-03-06)