

益生菌复合制剂对脾虚证大鼠胃肠及免疫功能的调节作用

熊海燕¹, 金鑫², 杨瀚琳^{1,3}, 高擎², 葛亚中², 彭颖¹, 李晓波¹

(1. 上海交通大学药学院, 上海 200240) (2. 无限极(中国)有限公司, 广东广州 510665)

(3. 沈阳药科大学生命科学与生物制药学院, 辽宁沈阳 110016)

摘要: 采用 ELISA 法测定比较不同剂量益生菌复合制剂和脾虚证经典方剂四君子汤对番泻叶水煎液诱导的脾虚证大鼠血清胃肠激素和免疫因子水平的影响, 考察其对脾虚证大鼠的调节作用。结果表明, 益生菌复合制剂和四君子汤均能显著降低脾虚证大鼠血清血管活性肠肽 (Vasoactive intestinal peptide, VIP) 及丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 水平 ($p < 0.05$), 且均可显著升高白介素-2 (Interleukin-2, IL-2) 水平 ($p < 0.05$)。此外, 益生菌复合制剂可显著降低脾虚证大鼠血清胆囊收缩素 (Cholecystokinin, CCK)、P 物质 (Substance P, SP) 及白介素-4 (Interleukin-4, IL-4) 水平 ($p < 0.05$); 四君子汤能极显著降低脾虚证大鼠血清胃泌素 (Gastrin, GAS) 及胃动素 (Motilin, MTL) 水平 ($p < 0.01$)。益生菌复合制剂能够调节脾虚证大鼠胃肠激素水平, 改善其免疫功能。与传统脾虚证治疗方剂四君子汤相比, 益生菌复合制剂与四君子汤所调节的胃肠激素和免疫因子指标不同, 提示二者治疗脾虚证的作用机制可能不一。

关键词: 脾虚证; 益生菌; 胃肠激素; 免疫力

文章编号: 1673-9078(2018)05-14-23

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.05.003

Effects of Composite Probiotics on the Gastrointestinal and Immune Function of Spleen Deficiency Syndrome Rats

XIONG Hai-yan¹, JIN Xin², YANG Han-lin^{1,3}, GAO Qin², GE Ya-zhong², PENG Ying¹, LI Xiao-bo¹

(1. School of Pharmacy, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China) (2. Infinitus (China) Company Ltd., Guangzhou 510665, China) (3. School of Life and Biopharmaceutics, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: ELISA kit was used to investigate the regulatory effects of different doses of composite probiotics and Sijunzi Decoction on the levels of serum gastrointestinal hormones and immune factors in spleen deficiency syndrome rats induced by *Folium Sennae*. The results showed that both composite probiotics and the Sijunzi Decoction could significantly reduce the serum levels of vasoactive intestinal peptide (VIP) and malondialdehyde (MDA) ($p < 0.05$), while increase the interleukin-2 (IL-2) level in spleen deficiency syndrome rats ($p < 0.05$). The composite probiotics could also significantly reduce the levels of serum cholecystokinin (CCK), substance P (SP) and interleukin-4 (IL-4) in spleen deficiency rats ($p < 0.05$), while the Sijunzi Decoction had no significant effect. In addition, the Sijunzi Decoction could significantly decrease the content of serum gastrin (GAS) and motilin (MTL) in spleen deficiency rats ($p < 0.01$). The results showed that composite probiotics could regulate the levels of gastrointestinal hormone, as well as correcting immune dysfunction of spleen deficiency rats. Compared with the traditional prescription (Sijizitang decoction) for the treatment of spleen deficiency syndrome, the probiotics and Sijunzi decoction had different indicators of gastrointestinal hormones and immune factors, suggesting that the mechanisms of composite probiotics and the Sijunzi Decoction treating on spleen deficiency syndrome may be different.

Key words: spleen deficiency syndrome; probiotics; gastrointestinal hormone; immune function

脾虚证是中医临床常见证候。中医认为脾为后天

之本, 主运化、升清降浊、统摄血液, 是气血生化之源。现代医学认为, 中医脾的生理功能与消化系统以及免疫功能关系密切。脾虚时消化系统处于紊乱状态^[1]。“脾病者, 虚则腹泻肠鸣, 飧泄食不化”, 脾虚证临床表现大部分可归属于消化系统功能障碍^[2], 故常

收稿日期: 2017-11-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30973962)

作者简介: 熊海燕 (1993-), 女, 硕士, 研究方向: 药学与胃肠道疾病

通讯作者: 李晓波 (1963-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 生药学

通过研究胃肠功能的变化来研究脾虚证。脾虚时机体的细胞免疫包括巨噬细胞的吞噬功能、自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)活性功能、淋巴细胞转化率、细胞因子等功能皆低下,细胞免疫紊乱是中医脾虚证的另一个重要表现^[3]。近年研究表明,肠道菌群与脾虚证的发生发展密切相关^[4,5]。脾虚时机体胃肠功能异常,各脏器间的平衡遭到破坏而导致肠道的微生态系统受到严重破坏,而肠道菌群的失调又影响机体对营养物质的吸收,降低机体的免疫力,加重脾虚症状^[6]。基于肠道菌群在脾虚证的重要作用,临床上常采用益生菌和益生元等微生态制剂治疗脾虚证,如复方嗜酸乳杆菌片、培菲康、双歧杆菌三联活菌胶囊、妈咪爱和丽珠肠乐等。微生态制剂可促进机体对营养物质的消化,促进肠道蠕动,合成机体所需的维生素,提高人体免疫力^[7],产生确切具有健康功效的次级代谢产物,帮助调节肠道微生态健康。

四君子汤出自《太平惠民和剂局方》,由人参、白术、茯苓和炙甘草4味药组成,具有调理脾胃的功效,广泛应用于临床,被作为治疗脾胃气虚证的代表方和基本方。虽中医临床对脾虚证的治疗是基于辨证施治、整体观念的理论,灵活调整中药方剂以治疗脾虚证。但研究发现,四君子汤含量最多的成分是多糖^[8]。有报道,多糖作为一种益生元,能够刺激消化道内有益菌的生长繁殖及代谢功能,调节脾虚时的肠道菌群失调,进而维持机体免疫平衡和免疫耐受而发挥治疗脾虚证的作用^[8]。可见,四君子汤治疗脾虚证的功效可能与调节肠道菌群关系密切,而四君子汤亦被证明可改善脾虚证大鼠肠道菌群紊乱^[9,10]。

益生菌复合剂以改善肠道健康的功效研发而成,主要成分为山楂粉、山药粉、菊粉、嗜酸乳杆菌NCFM、乳双歧杆菌 Bi-07、鼠李糖杆菌 HN001。其被证明对抗生素诱导的腹泻模型小鼠肠道菌群具有较强恢复作用^[11]。为进一步评价该益生菌复合制剂对脾虚证的治疗作用,本文采用番泻叶塑造脾虚证大鼠模型,通过比较不同剂量益生菌复合制剂及四君子汤对脾虚证大鼠模型血清中血管活性肠肽(Vasoactive intestinal peptide, VIP)、胆囊收缩素(Cholecystokinin, CCK)、P物质(Substance P, SP)、胃泌素(Gastrin, GAS)、胃动素(Motilin, MTL)共5种胃肠激素以及丙二醛(Malondialdehyde, MDA)、白介素-2(Interleukin-2, IL-2)、白介素-4(Interleukin-4, IL-4)共3种免疫因子水平的调节作用,探讨益生菌复合制剂对番泻叶诱导脾虚证大鼠的改善作用,为其临床应用提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 实验动物

72只SPF级Wistar大鼠,体重180~220g,雌雄各半,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号11400700187485,饲养于上海交通大学实验动物中心。所有实验动物均在恒温、恒湿及昼夜光线变化的环境下饲养,自由进食、饮水,适应性饲养一周。

1.2 药物

番泻叶(*Sennae Folium*)用10倍蒸馏水浸泡2h后,煎煮3次,每次15min,过滤,合并3次滤液,水浴浓缩至1g生药/mL,冷却后置4℃保存待用。人参(*Ginseng Radix et Rhizoma*)、白术(*Atractylodis macrocephalae Rhizoma*)、茯苓(*Poria*)、炙甘草(*Glycyrrhizae Rhizoma et Rhizoma*)原药材按10:9:9:6比例配制,用10倍蒸馏水浸泡2h后,煎煮3次,每次40min,过滤,合并3次滤液,水浴浓缩至0.35g生药/mL四君子汤水煎液,冷却后置4℃保存待用。以上药材均购自上海华宇药业有限公司,经由上海交通大学药学院李晓波教授鉴定符合药典规定,标本存放于上海交通大学药学院。

益生菌复合制剂(产品批号20160706),由无限极(中国)有限公司提供。

1.3 试剂

大鼠GAS酶联免疫试剂盒(LOT #R20170218)、MTL酶联免疫试剂盒(LOT #R20170319)、VIP酶联免疫试剂盒(LOT #R20170320)、CCK酶联免疫试剂盒(LOT #R20170326)、SP酶联免疫试剂盒(LOT #R20170325)。

大鼠MDA酶联免疫试剂盒(货号A003-1, LOT #R20170405)、IL-2酶联免疫试剂盒(LOT #R20170301)、IL-4酶联免疫试剂盒(LOT #R20170302)。以上试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.4 方法

1.4.1 动物造模和给药治疗

72只Wistar大鼠,适应性饲养一周后,随机分为空白组、模型组、四君子汤组、益生菌复合制剂低、中、高剂量组,每组12只,雌雄各半。参考文献复制脾虚证大鼠模型^[9],采用番泻叶水煎液(10g生药/kg)灌胃大鼠。

每天2次,连续10d塑造脾虚证模型。造模结束后,阳性药组大鼠灌胃给予四君子汤水煎液3.5g/kg

(临床等效剂量,按照实验动物研究 70 kg 成人体表面积换算),益生菌复合制剂低、中、高剂量组分别灌胃给予 60、180 (临床等效剂量)、540 mg/kg 的益生菌溶液,连续给药治疗 10 d,空白组、脾虚模型组大鼠灌胃给予同体积蒸馏水。

1.4.2 脾虚证表现指标

参考文献^[12],观察动物造模前后及给药治疗后的排便、毛发、精神状态等体征变化,记录各组大鼠造模及治疗期间体重变化。(参照卫生部药政司“关于中药治疗脾虚证的临床研究指导原则”的脾虚证诊断标准,脾虚证动物模型评估标准^[12]为具备两项主症及两项兼症。

其中,①大便溏泄,严重者甚至脱肛;②食少纳呆;③消瘦,体质量减轻;④精神萎靡嗜卧,四肢不收,竖毛、脱毛、毛发黯淡无华;⑤蜷缩扎堆;⑥易疲劳。第①、②项为主症,第③~⑥项为兼症。)

1.4.3 脾虚证诊断的生化指标

给药治疗结束后,各组大鼠经 10% 水合氯醛麻醉,剖开腹腔,腹主动脉采血 5~6 mL 于真空采血管管中,4 °C 静置 24 h,吸取上清液,分装后置于 -20 °C 冰箱待测。采用 ELISA 试剂盒法对大鼠血清 GAS、MTL、VIP、CCK、SP、MDA、IL-2 和 IL-4 含量进行测定,具体操作按照试剂盒说明书进行。

1.4.4 统计分析

实验数据用均数±标准误差 (Mean±SE) 表示,采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计学分析,不同实验组之间的差异分析采用 t 检验, $p<0.05$ 则表示差异具有显著性统计学意义, $p<0.01$ 则表示差异具有极显著

性统计学意义。

2 结果与分析

2.1 脾虚证大鼠体重、胃肠及免疫功能变化

造模期间,正常组大鼠精神良好,毛色顺滑有光泽,自主活动较多,反应灵敏,大便呈颗粒状。各造模组大鼠经灌胃给予番泻叶水煎剂后开始出现大便稀溏或便软,并夹杂粘液,尿液呈橘黄色,肛门污秽,进食量明显减少。随后出现精神萎靡嗜卧,蜷缩扎堆,动作迟缓,拱背、倦怠乏力、四肢不收等现象,自主活动减少,并出现竖毛、脱毛、背部毛发黯淡无华等较明显的脾虚症状。实验期间各组大鼠的体重变化如表 1。

各造模组大鼠造模后体重增长缓慢,造模第 10 d 各造模组大鼠体重均明显低于空白组,造模前后体重差与空白组相比具有极显著性差异 ($p<0.01$)。血清胃肠激素及免疫功能指标测定结果表明,与空白组相比,模型组大鼠血清 GAS、MTL、VIP、CCK、SP 含量均显著升高 ($p<0.05$),表明脾虚证大鼠胃肠激素分泌紊乱,胃肠道功能失调;且模型组大鼠血清 MDA 和 IL-4 水平显著高于空白组 ($p<0.05$),IL-2 水平显著低于空白组 ($p<0.05$),表明脾虚证大鼠体内脂质过氧化程度较高,免疫功能紊乱。

综合分析大鼠的一般体征观察、体重、胃肠及免疫功能指标在造模前后的变化情况,表明脾虚证模型大鼠塑造成功。

表 1 各组大鼠体重变化 (n=12)

Table 1 Weight changes of rats in each group (n = 12)

组别	造模前/g	造模后/g	治疗后/g	造模前后差值/g	治疗前后差值/g
空白组	213.00±6.66	257.42±12.09	271.75±14.37	44.83±5.81	14.33±8.23 [#]
模型组	212.83±4.18	233.33±7.30	274.83±13.02	20.75±3.56**	41.50±6.00
四君子汤组	210.58±4.78	229.25±6.73	266.92±10.92	20.64±3.64**	39.27±5.44
益生菌复合制剂高剂量组	216.08±5.61	235.25±7.84	269.50±11.88	22.45±4.49**	31.64±5.41
益生菌复合制剂中剂量组	210.58±4.70	223.00±5.84	261.25±9.81	13.17±3.19**	38.25±4.91
益生菌复合制剂低剂量组	213.75±5.92	233.58±8.59	270.92±13.41	20.50±3.60**	37.33±5.59

注: * $p<0.05$, ** $p<0.01$, 与空白组比较; [#] $p<0.05$, 与模型组比较。

2.2 益生菌复合制剂对脾虚证大鼠血清胃肠激素的影响

药物治疗后,各组大鼠血清中胃肠激素变化如图 1 所示。益生菌复合制剂剂量依赖性改善脾虚证大鼠

血清 VIP、CCK 和 SP 水平。其中,益生菌复合制剂高剂量能极显著降低脾虚证大鼠血清 VIP 水平 ($p<0.01$),并显著降低 CCK 和 SP 水平 ($p<0.05$);低、中剂量能显著降低脾虚证大鼠血清 VIP 水平 ($p<0.01$) 和 SP 水平 ($p<0.05$)。而四君子汤能极显著降低脾虚证大鼠血清 GAS、MTL 和 VIP 含量

($p < 0.01$)。以上结果表明,四君子汤及益生菌复合制剂对脾虚证大鼠胃肠激素异常变化均有一定改善作用,但对各指标的改善程度不同。在改善 GAS、MTL 和 VIP 方面,四君子汤作用强于益生菌复合制剂;而益生菌复合制剂则主要是通过改善 CCK、SP、VIP 来调节脾虚大鼠胃肠激素分泌。

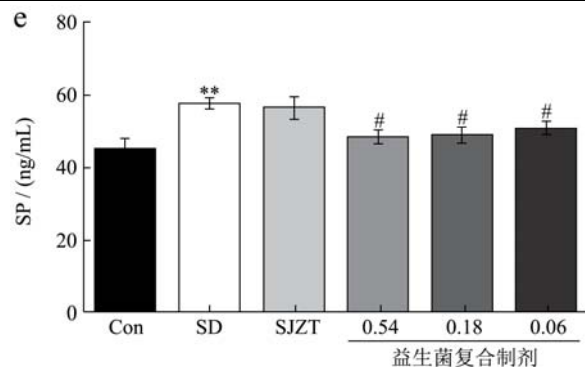
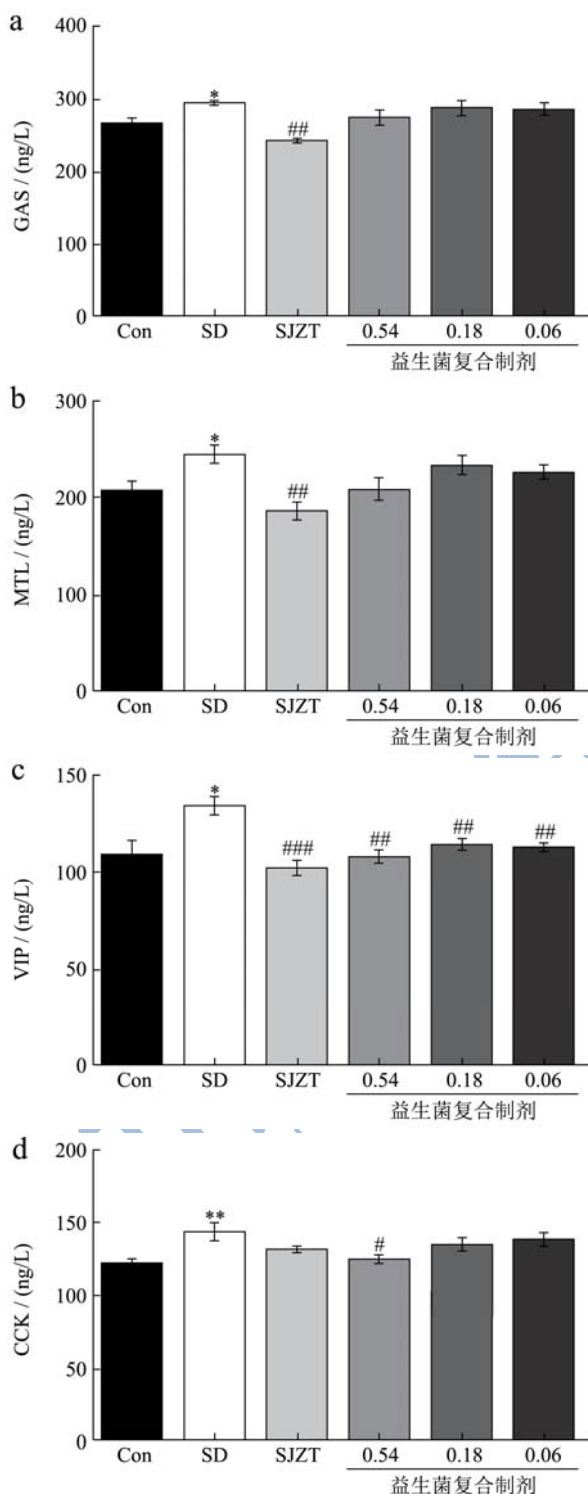


图1 各组大鼠胃肠激素 GAS (a)、MTL (b)、VIP (c)、CCK (d)、SP (e) 含量变化

Fig.1 Changes of GAS (a), MTL (b), VIP (c), CCK (d) and SP (e) levels of rats in each group

注: ① Con-空白组, SD-脾虚模型组, SJZT-四君子汤组; ② * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, 与空白组比较; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$, 与模型组比较。

2.3 益生菌复合制剂对脾虚证大鼠血清免疫因子的影响

药物治疗后,各组大鼠血清中 MDA、IL-2 和 IL-4 水平变化如图 2 所示。

益生菌复合制剂低、中剂量和四君子汤均能极显著降低脾虚证大鼠血清 MDA 水平 ($p < 0.01$), 而益生菌复合制剂高剂量组对脾虚大鼠血清 MDA 虽有一定的降低作用, 但与模型组相比无显著性差异, 表明益生菌复合制剂低、中剂量和四君子汤均具有一定抗氧化活性, 改善脾虚证大鼠体内脂质过氧化程度。此外, 四君子汤、益生菌复合制剂中剂量可显著升高脾虚证大鼠血清 IL-2 水平 ($p < 0.05$), 益生菌复合制剂低、高剂量虽有升高 IL-2 水平的趋势, 但无显著性差异。

以上结果表明四君子汤、益生菌复合制剂中剂量可通过调节 IL-2 分泌提高大鼠免疫力, 减轻脾虚症状。在抑制 IL-4 过度分泌方面, 益生菌复合制剂的低、中剂量只表现出降低 IL-4 水平的趋势, 相比于模型组并无显著性差异, 益生菌复合制剂高剂量可显著降低脾虚证大鼠血清 IL-4 水平 ($p < 0.05$), 表明益生菌复合制剂高剂量对 IL-4 有显著改善作用, 其可改善大鼠免疫调节网络, 治疗脾虚证。

以上结果表明, 四君子汤能够调节脾虚证大鼠血清 MDA 和 IL-2 紊乱, 而益生菌复合制剂则对 MDA、IL-2 和 IL-4 有一定改善作用。

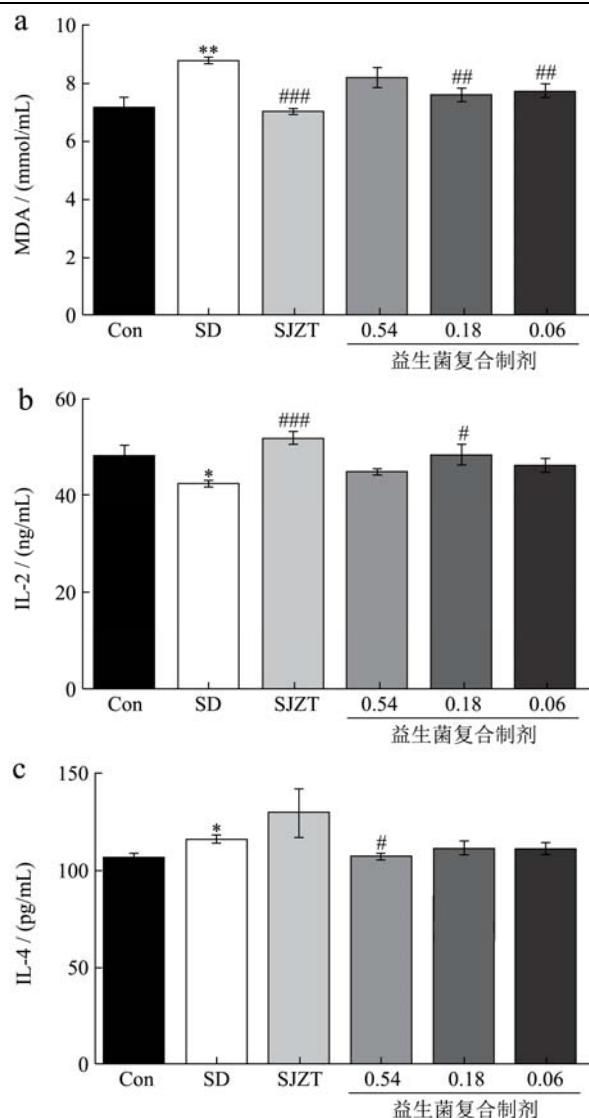


图2 各组大鼠胃肠激素MDA (a)、IL-2 (b)、IL-4 (c) 含量变化

Fig.2 Changes of MDA (a), IL-2 (b), IL-4 (c) levels of rats in each group

注: ① Con-空白组, SD-脾虚模型组, SJZT-四君子汤组;
② * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, 与空白组比较; # $p < 0.05$, ### $p < 0.01$, ### $p < 0.001$, 与模型组比。

为进一步探讨益生菌复合制剂产品显著改善的脾虚证大鼠血清胃肠激素水平与MDA、IL-2和IL-4水平之间的关联,采用Pearson相关系数法对血清CCK、VIP和SP水平与MDA、IL-2和IL-4水平进行了相关性分析,结果显示血清CCK和SP水平与MDA水平呈负相关,相关系数分别为-0.20和-0.19,但相关性均不显著($p > 0.05$);血清VIP水平与MDA水平之间则无相关性,相关系数为0;血清CCK、VIP和SP水平与IL-2和IL-4水平均显著正相关($p < 0.05$),三者与IL-2水平的相关系数分别为0.34、0.38和0.55,与IL-4水平的相关系数分别为0.29、0.53和0.66。

3 讨论

脾虚证是中医临床常见虚证。脾虚时机体各脏器间的平衡破坏,胃肠道功能及免疫功能等紊乱,肠蠕动加快,大便溏泄,肠道中有益菌大量排除体外,机体肠道内的双歧杆菌和乳杆菌等益生菌数量降低,肠杆菌、肠球菌数量显著增多,肠道菌群紊乱^[13]。肠道菌群紊乱反之又减弱胃肠道功能,降低免疫力,加速脾虚证发展,两者互为因果关系。研究表明,治疗脾虚证经典方剂四君子汤能使脾虚证动物肠绒毛的形态恢复正常,改善肠道微生物群落定植环境,促进肠道有益菌的生长繁殖,治疗脾虚证^[14]。因此,临床常采用微生态制剂通过调节机体的肠道菌群平衡治疗脾虚证。本文采用传统脾虚治疗方剂四君子汤为阳性对照,比较益生菌复合制剂对脾虚证大鼠的改善作用,对深入探讨益生菌复合制剂和四君子汤对脾虚证的作用机制及临床应用具有重要意义。

3.1 益生菌复合制剂治疗脾虚证的意义

益生菌的作用依赖于菌株的特异性,不同的菌株具有不同的功效。本实验中的益生菌复合制剂含有的嗜酸乳杆菌NCFM、乳双歧杆菌Bi-07和鼠李糖杆菌HN001三种菌株,经临床证实,嗜酸乳杆菌NCFM具有调节免疫,改善肠炎,降低胆固醇,改善乳糖的耐受性,恢复抗生素导致的肠道菌群失调,抑制肠道病原菌等作用^[15-18];乳双歧杆菌Bi-07具有促进肠道健康、改善腹泻和便秘、调节免疫等作用^[19,20]。

鼠李糖杆菌HN001则具有调节免疫、抑制病原菌和缓解过敏性湿疹等作用,而且定植于肠道中的HN001还能够促进其他益生菌的增殖^[21-23]。此外,益生菌复合制剂成份中还有山药粉、山楂粉和菊粉。山药常出现在治疗脾胃病的中药方剂中,有补脾益气之功效,临床上用于治疗脾虚不思饮食,泄泻便溏;山楂,有消食化积之功,研究表明^[24],口服山楂能够调节胃肠功能紊乱,健脾消食;菊粉,俗称菊糖,是一种优质的水溶性纤维,被公认为世界三大益生元之一。人体口服菊粉后,通常不会被胃和小肠吸收,而是在结肠处被双歧杆菌以及乳杆菌发酵,从而促进肠道益生菌的产生,改善肠道微生态环境,调节胃肠道生理功能。因此,该产品中的山药、山楂和菊粉也有助于发挥治疗脾虚证的作用。

3.2 益生菌复合制剂对大鼠体重及胃肠功能的调节作用

体重是评价脾虚模型的一个重要指标,观察造模后大鼠体重变化以及药物治疗组大鼠的体重恢复情况,可帮助判断脾虚模型是否成功建立以及评价药物的疗效。本文采用番泻叶水煎液灌胃大鼠塑造脾虚模型,造模后,各造模组大鼠造模前后体重差值极显著低于空白组,表明大鼠脾虚时体质量明显下降。在治疗后,模型组和各给药组大鼠体重均反弹明显。治疗后体重的恢复情况可以一定程度上反应药物的治疗作用,但不能作为大鼠治疗后恢复健康的唯一指标。

中医学理论认为“脾主运化”,“运”是指运输分布,“化”是指消化吸收,故脾虚患者存在脾失健运,胃肠道运动异常的现象,食物不能与消化液进行充分接触,胃排空、肠道推进性运动异常,消化、吸收功能减退,临床主要表现为脘腹胀满、呃逆、呕吐或腹泻等症状。说明中医理论中“脾”的主要生理作用及其病理机制与现代医学中消化系统关系密切。胃肠道既是消化器官,也是内分泌器官,遍布着分泌胃肠激素的细胞。研究表明^[25],胃肠激素能够调节胃肠道的吸收、分泌及运动等方面的生理功能。胃肠激素主要通过两个途径发挥调节胃肠运动的作用,其一是以内分泌形式通过血液作用于胃肠肌细胞相应的受体,如 MTL 以及 CCK。二是以胃肠肽释放递质的形式调节胃肠功能。

本实验中模型组大鼠与空白组相比,血清 GAS、MTL、VIP、CCK 以及 SP 含量均显著性升高,表明脾虚大鼠存在胃肠激素分泌紊乱,胃肠功能失调。经四君子汤治疗后,脾虚证大鼠血清 GAS、MTL 和 VIP 含量显著降低。GAS 是由胃窦、十二指肠和小肠黏膜 G 细胞分泌的一种重要的胃肠激素,其生理功能主要有营养胃黏膜并促进其增殖,促进胃酸、胃蛋白酶和内因子分泌,促进胃肠道平滑肌收缩,可作为胃分泌功能的客观指标^[26]。研究证明,脾虚状态下会导致 GAS 含量异常升高^[27]。血清及细胞中胃泌素水平紊乱是脾胃运化功能障碍的重要原因,血清胃泌素水平可作为脾虚证诊断及疗效评定的客观指标^[28]。G 细胞增生时,分泌大量的胃泌素,作用于胃肠效应细胞的受体,使消化道分泌功能亢进,运动功能紊乱,因而出现食欲不振、食后腹胀和便秘等脾虚的证候。血清中 GAS 水平升高可导致基础胃酸分泌增加,胃蛋白酶和胰液、胆汁分泌增加,加快胃肠肌收缩,促进胃肠运动。GAS 还可促胰岛素释放,增加食道下括约肌张力,松弛幽门、胆道和回盲部括约肌,促进胃、小肠、结肠及胆囊的收缩和运动。MTL 是一种由 22 个氨基酸残基组成的直链多肽,是一种脑肠肽,具有强烈的刺激上消化道的机械运动和点活动的作用^[29]。MTL 能刺激胃蛋白酶和胰液分泌,促进胃排空,在消化间

期胃动素呈周期性释放,引起胃和小肠产生消化间期移行性复合运动(migrate motor complex, MMC)。已有研究表明^[30,31],脾虚患者 MTL 水平显著升高,促进小肠明显的分节运动,使胃肠功能紊乱,出现脾虚泄泻等脾虚症状。VIP 是由 28 个氨基酸组成的肽类物质,既是胃肠道激素又是神经肽。VIP 作为抑制性神经递质,可减慢胃排空,抑制胃酸及胃蛋白酶的分泌,能够松弛胃肠道血管平滑肌,扩张血管,抑制胃蠕动和胆囊收缩,抑制小肠环形括约肌收缩,降低十二指肠收缩频率,松弛结肠平滑肌,抑制结肠和直肠的紧张性,减弱结肠运动,并刺激大、小肠分泌^[32]。已有文献报道^[33,34],脾虚患者和实验性脾虚动物均存在 VIP 含量异常升高的现象。VIP 含量异常升高,可引起肠道黏膜血管扩张(导致黏膜充血或水肿),能使乙状结肠平滑肌松弛,使粪便在乙状结肠停留时间过短,水分吸收减少,同时刺激肠道水分、电解质的分泌,引起大便稀溏,大便次数增多,从而引发腹泻^[35]。这提示我们,四君子汤可通过抑制 GAS、MTL 和 VIP 的过多分泌,抑制胃肠肌收缩和小肠明显的分节运动,促进乙状结肠平滑肌的收缩,同时降低肠道水及电解质的分泌,进而减轻食欲不振、食后腹胀、脾虚泄泻等脾虚的证候。

本文研究结果显示,与模型组相比,益生菌复合制剂能显著降低脾虚大鼠血清 CCK、SP 和 VIP 含量,减轻大鼠脾虚症状。CCK 主要由十二指肠和空肠黏膜的 I 细胞合成,具有广泛的生物作用,可抑制胃排空和近端十二指肠蠕动,促进远端十二指肠蠕动、空肠蠕动、胆囊收缩和胰腺分泌,促进结肠平滑肌兴奋收缩,促进胃肠运动并缩短内容物通过时间^[36]。CCK 分泌减少或 CCK 受体阻断,则胆囊收缩功能和胰腺分泌功能受损,使饥饿感增强,促进摄食。已有研究表明^[37],脾虚患者以及脾虚实验动物均存在 CCK 含量升高的现象。SP 是具有 11 个氨基酸的促炎性多肽,广泛分布于中枢神经系统、消化系统及免疫器官等部位,对消化道平滑肌有强烈的刺激作用,促进肠蠕动、增高结肠内压力、参与痛觉传导、刺激小肠和结肠黏膜分泌水分及电解质、促进胃肠道血管扩张等^[38]。SP 还可促进肥大细胞脱颗粒反应,释放组胺、前列腺素、白三烯、缓激肽等活性介质,可引起组织炎症性反应、神经性疼痛,介导内脏高敏反应等^[39]。动物实验研究表明^[37],实验性脾虚大鼠血清 SP 含量显著高于空白组。临床研究亦发现^[33],脾虚泄泻患者回肠末端 SP 含量较无腹泻组和非脾虚泄泻组显著增加,提示回肠组织中 SP 含量的升高,引起肠蠕动加快,是脾虚泄泻的原因之一。因此,推测益生菌复合制剂可通过抑

制 CCK、SP 和 VIP 的过多分泌,抑制空肠蠕动,降低小肠和结肠黏膜水分及电解质的分泌量,相应地减轻脾虚证大鼠的腹胀、纳呆、腹泻症状;抑制胆囊收缩和胰腺分泌功能,增强大鼠的饥饿感,促进大鼠进食,使大鼠体重增加。

3.3 益生菌复合制剂对脾虚大鼠免疫的调节作用

中医学中的“脾”的概念既包含了其生理学结构,也体现了其功能。脾是人体最大的淋巴网状内皮系统。“脾为之卫”、“脾为后天之本”,传统中医理论表明脾与机体的防御功能有关。而现代医学研究表明^[40],这种防御功能主要与机体的非特异性免疫、特异性免疫中的体液免疫和细胞免疫功能有关,还与多种免疫细胞和细胞因子有关。

本文实验结果显示,与空白组相比,脾虚模型组 MDA 及 IL-4 含量显著升高,IL-2 含量显著性降低。经四君子汤治疗后,脾虚模型大鼠血清 MDA 含量显著降低,IL-2 含量显著升高。给予益生菌复合制剂治疗后,脾虚证大鼠血清 MDA 及 IL-4 含量均显著降低,IL-2 含量显著升高。MDA 即血浆中脂质过氧化物(LPO)的代谢产物,其含量可反映机体内脂质过氧化物的程度,间接地反映出机体细胞受氧自由基攻击的严重程度和机体清除自由基的能力。研究表明^[41],脾虚时机体脂质过氧化损伤和抗氧化酶活性降低,致使机体氧化和抗氧化失衡,MDA 分泌水平异常升高,提示中医的脾虚证与衰老相关。实验表明,益生菌复合制剂和四君子汤可通过有效抑制体内脂质过氧化发挥治疗脾虚证的作用。IL-2 是辅助性 T 淋巴细胞分泌的一种调节免疫应答的重要介质,其分泌量决定免疫反应的幅度,可刺激 NK 细胞的生长,提高细胞溶解活性,使其变为 LAK 细胞^[42],另外还能作用于 B 细胞,促进其生长及抗体合成,并可诱生干扰素等,它在体液免疫和细胞免疫中具有重要作用。研究表明^[43],IL-2 分泌量降低或 IL-2 受体在免疫细胞表面表达不足会导致多种疾病。已有文献报道^[3],大鼠脾虚状态下,血清 IL-2 分泌水平显著低于正常大鼠。IL-4 主要由活化的 T 细胞、肥大细胞及嗜碱性粒细胞产生,可辅助 B 细胞分化为抗体分泌细胞,是参与体液免疫的重要细胞因子,同时它还具有促进 B 细胞活化、增殖、分化和产生 Ig 的作用^[44]。据文献报道,脾虚状态下,脾虚泄泻可引起炎症反应,刺激大鼠产生应激反应,而使 IL-4 分泌紊乱^[45]。IL-2 是一种 Th₁ 型细胞因子,IL-4 是最具代表性的 Th₂ 型细胞因子。研究人员

根据大鼠脾虚时免疫力降低,推测细胞因子、抗原刺激、信号转导通路、以及其他综合因素,促使了脾虚证 Th₁ 细胞向 Th₂ 偏移,导致了 Th₁/Th₂ 细胞比例失衡^[46]。本文结果提示,益生菌复合制剂和四君子汤均能调节脾虚证大鼠血清 MDA 和 IL-2 水平,在细胞免疫和体液免疫中均能发挥重要作用,提高大鼠免疫力,减轻脾虚证大鼠脾虚症状。

此外,相关性分析结果表明,脾虚证大鼠血清 VIP 水平与 IL-2 和 IL-4 水平具有显著正相关,这与文献报道相符^[47]。胃肠激素 VIP 是一种潜在的免疫调节剂,其对免疫因子 IL-2 分泌水平在不同条件下表现出不同趋势的调节作用^[47],其既能调节固有免疫,也可调节获得性免疫,具有较好的抗炎作用^[48]。亦有研究报道 VIP 受体在浸润性炎症细胞中大量表达,在溃疡性结肠炎患者中,VIP 受体表达的数量与 IL-4 阳性表达的细胞正相关^[49]。研究表明,SP 与炎症细胞表面的受体相结合时,能够促进炎症性细胞因子的释放和合成,主要是与 Th₁ 型细胞表面受体结合促进 Th₁ 型细胞因子如 IL-2 和 IL-12 等表达量的升高^[50];而脾虚证大鼠血清 SP 水平与 IL-2 水平显著正相关,与研究报道一致。有研究报道,胃损伤的病理机制包括了机体内脂质过氧化损伤反应的发生^[51],脂质过氧化损伤会导致溶酶体酶的分泌,胃组织损伤后,会产生大量 MDA,可作为胃溃疡指数^[52]。而发酵乳杆菌可通过其抗氧化作用发挥减轻胃损伤的作用^[53]。本文研究结果显示,脾虚证模型大鼠血清胃肠激素 VIP、CCK 和 SP 水平与 MDA 水平之间并无显著相关性,且未见胃肠激素与脂质过氧化特征指标 MDA 之间的关联报道,因此益生菌复合制剂对胃肠功能的调节作用与降低体内脂质过氧化损伤的联系还有待进一步研究。

4 结论

综上所述,番泻叶致脾虚证模型大鼠胃肠功能紊乱,免疫力下降。传统健脾药物四君子汤主要可以调节胃肠激素 GAS、MTL 和 VIP 的分泌以及 MDA 和 IL-2 的分泌,改善大鼠胃肠道功能,提高大鼠的免疫力。而益生菌复合制剂主要是显著改善胃肠激素 CCK、SP 和 VIP,调节脾虚大鼠胃肠道功能;并且显著调节 MDA、IL-2 和 IL-4 的分泌,减轻机体脂质过氧化损伤程度,通过调节细胞免疫、体液免疫来提高机体免疫力,从而改善脾虚证的症状。二者均能一定程度上改善脾虚证大鼠的脾虚症状,调节紊乱的胃肠激素和免疫因子水平,为临床上应用益生菌复合制剂治疗脾虚证提供了一定理论和实验依据。值得注意的是,二者显著改善胃肠激素及免疫因子指标存在差异,

这提示,二者可能是通过不同作用机制来治疗脾虚证。

参考文献

- [1] 金敬善,王丽华,陈桂君,等.老年人和脾虚患者消化系统功能的观察[J].中国中西医结合杂志,1984,3:164-165,132
JIN Jing-shan, WANG Li-hua, CHEN Gui-jun, et al. Preliminary observation on digestive function of aged people and patients with spleen deficiency [J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 1984, 3: 164-165, 132
- [2] 危北海.有关脾胃学说的理论探讨及临床诊治经验[J].中华中医药学刊,2006,24(7):1189-1194
WEI Bei-hai. The oretical discussion on spleen-stomach theory and clinical experiences of diagnosis and treatment [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2006, 24 (7): 1189-1194
- [3] 童光东,袁静,刘惠玲,等.温补培元方对脾虚与脾肾虚模型细胞免疫功能的实验研究[J].中国中西医结合消化杂志,2001,9(1):8-10
TONG Guang-dong, YUAN Jing, LIU Hui-ling, et al. Effects of formula of warm tonification and reinforcing primary qi on cellular immune function in insufficiency models of spleen and of both spleen and kidney [J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Weatern Medicine on Digestion, 2001, 9(1): 8-10
- [4] Rooks MG, Garrett W S. Gut microbiota, metabolites and host immunity [J]. Nature Reviews Immunology, 2016, 16(6): 341
- [5] Peng Y, Wang Z, Lu Y, et al. Intestinal microflora molecular markers of spleen-deficient rats and evaluation of traditional Chinese drugs [J]. World Journal of Gastroenterology, 2009, 15(18): 2220-2227
- [6] 彭颖,李晓波.脾虚证与肠道微生态[J].世界华人消化杂志, 2012,34:3287-3291
PENG Ying, LI Xiao-bo. Pi-deficiency and gastrointestinal microbiota [J]. World Chinese Journal of Digestology, 2012, 34: 3287-3291
- [7] 孙芝兰.卷曲乳杆菌益生特性及黏附机理研究[D].济南:山东大学,2012
SUN Zhi-lan. Studies on the probiotic properties and adhesion mechanisms of *Lactobacillus crispatus* [D]. Jinan: Shandong University, 2012
- [8] 吴秀.四君子汤总多糖通过肠道菌群改善脾虚小鼠免疫功能的研究[D].广州:广州中医药大学,2014
WU Xiu. The effect of polysaccharide of Sijunzi Decoction on immune functions improving by gut microbiota in spleen deficiency mice [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2014
- [9] 王卓,彭颖,李晓波.四君子汤对两种脾虚模型大鼠肠道菌群紊乱的影响[J].中国中西医结合杂志,2009,29(9):825-829
WANG Zhuo, PENG Ying, LI Xiao-bo. Effect of sijunzi decoction on the intestinal flora disturbance in two rat models of insufficiency of the spleen [J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2009, 29(9): 825-829
- [10] 彭颖,金晶,杨静玉,等.3种健脾补气方药对脾气虚证大鼠肠道菌群的影响[J].中国中药杂志,2008,33(21):2530-2534
PENG Ying, JIN Jing, YANG Jing-yu, et al. Regulation of three Jianpi Buqi recipes on intestinal microflora of Piqi-deficiency rat [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2008, 33(21): 2530-2534
- [11] 武香玉,徐海燕,辛国芹,等.益生菌对抗生素诱导的大鼠腹泻肠道菌群的影响作用[J].畜牧与饲料科学,2013, 34(6): 22-23
WU Xiang-yu, XU Hai-yan, XIN Guo-qin, et al. Effects of probiotics on the intestinal flora of diarrhea rats induced by antibiotics [J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2013, 34(6): 22-23
- [12] Bi DY, Liu Q, Yi Z, et al. Effect of herbal cake-partitioned moxibustion on MEK1/2 and ERK1/2 expressions of gastric tissues in rats with spleen deficiency syndrome [J]. Journal of Acupuncture & Tuina Science, 2017, 15(5): 305-310
- [13] 李秋明,张亚杰,张大方,等.健脾止泻颗粒对脾虚证及抗生素肠道菌群失调模型小鼠的微生态调节作用[J].中国中医基础医学杂志,2010,12:1119-1120
LI Qiu-ming, ZHANG Ya-jie, ZHANG Da-fang, et al. Microbiological regulation of invigorating spleen and preventing diarrhea granule on spleen deficiency syndrome and intestinal dysbacteriosis induced by antibiotics animal models [J]. Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine, 2010, 12: 1119-1120
- [14] 潘晓川,康白,回春生及其中药合剂对脾虚动物肠道双歧杆菌的调整作用[J].中国微生态学杂志,1991,2:16-20
PAN Xiao-chuan, KANG Bai. The effects of the bifidobiogen and its mixture with traditional chinese drug in readjustment to the bifidobacterium in the intestine of the mouse of "spleen deficiency" [J]. Chinese Journal of Microecology, 1991, 2: 16-20
- [15] Thompson L U, Jenkins D J, Amer M A, et al. The effect of fermented and unfermented milks on serum cholesterol [J].

- American Journal of Clinical Nutrition, 1982, 36(6): 1106
- [16] Mcdonough F E, Hitchins A D, Wong N P, et al. Modification of sweet acidophilus milk to improve utilization by lactose-intolerant persons [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1987, 45(3): 570
- [17] Engelbrekton A, Korzenik JR, Pittler A, et al. Probiotics to minimize the disruption of faecal microbiota in healthy subjects undergoing antibiotic therapy [J]. Journal of Medical Microbiology, 2009, 58(Pt 5): 663
- [18] Paineau D, Carcano D, Leyer G, et al. Effects of seven potential probiotic strains on specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized, controlled trial [J]. Fems Immunology & Medical Microbiology, 2008, 53(1): 107-113
- [19] Martin F A, Belinchón P P, Costa C M, et al. Effect of oral nutritional supplementation with or without synbiotics on sickness and catch-up growth in preschool children [J]. International Pediatrics, 2002, 4: 216
- [20] Ringel Y, Palsson O S, Leyer G, et al. T1406 Probiotic Bacteria *Lactobacillus Acidophilus* Ncfm and *Bifidobacterium Lactis* Bi-07 Improve Symptoms of Bloating in Patients with Functional Bowel Disorders (FBD) [J]. Gastroenterology, 2008, 134(4): A-549
- [21] Sistek D, Kelly R, Wickens K, et al. Is the effect of probiotics on atopic dermatitis confined to food sensitized children? [J]. Clinical & Experimental Allergy, 2006, 36(5): 629-633
- [22] Gill H, Cross M, Rutherford K, et al. Dietary probiotic supplementation to enhance cellular immunity in the elderly [J]. British Journal of Biomedical Science, 2001, 58(2): 94
- [23] Tannock G, Munro K, Harmsen H, et al. Analysis of the fecal microflora of human subjects consuming a probiotic product containing *Lactobacillus rhamnosus* DR20 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(6): 2578-2588
- [24] 彭芝配.山楂研究现状[J].中医药信息,1989,3:32-34
PENG Zhi-pei. The state of *Crataegus pinnatifida* Bunge research [J]. Information of Traditional Chinese Medicine, 1989, 3: 32-34
- [25] Chang I Y, Glasgow N J, Takayama I, et al. Loss of interstitial cells of Cajal and development of electrical dysfunction in murine small bowel obstruction [J]. The Journal of Physiology, 2001, 536(2): 555-568
- [26] 金敬善,王广才,张绳祖,等.血清中胃泌素水平与脾虚证的关系[J].中国中西医结合杂志,1982,1:25-26
JIN Jing-shan, WANG Guang-cai, ZHANG Sheng-zu, et al. The relation between serum gastrin level and the syndrome of deficiency in the spleen [J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 1982, 1: 25-26, 62
- [27] 张桂珍,李织.脾虚证患者胃窦 G 细胞体视学定量分析[J].中国中西医结合杂志,1989,12:711-713
ZHANG Gui-zhen, LI Zhi. The stereologic-quantitative analysis of gastric antrum G Cells of spleen deficiency patients [J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 1989, 12: 711-713
- [28] 周建伟,张凡,肖鸣.药条灸对脾虚证患者血清胃泌素 D-木糖排泄率及 T 细胞亚群的影响[J].中国针灸,1998,1:15-16
ZHOU Jian-wei, ZHANG Fan, XIAO Ming. Effects of medicinal moxibustion on serum gastrin, excretory rate of xylose and subgroups of T-cells in patients of deficiency of spleen [J]. Chinese Acupuncture and Moxibustion, 1998, 18(1): 15-16
- [29] Liddle R A. Cholecystokinin cells [J]. Annual Review of Physiology, 1997, 59(59): 221
- [30] 毛炯,伍怡和.脾阴虚证与血浆胃动素水平关系初探[J].中国中西医结合杂志,1994,14(11):653-655
MAO Jiong, WU Yi-he. Study on motilin and spleen-yin deficiency [J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 1994, 14(11): 653-655
- [31] 张兵,张万岱,李黎波,等.脾虚证患者胃运动功能的研究[J].中国中西医结合杂志,1994,14(6):346-348
ZHANG Bing, ZHANG Wan-dai, LI Li-bo, et al. Studies on gastric motility of patients with spleen-deficiency symptoms [J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 1994, 14(6): 346-348
- [32] 刘晓玲,王汝俊,付铨盛.补中益气汤对脾虚大鼠胃粘膜 MEK/ERK mRNA 表达的影响[J].中药药理与临床,2013,29(1):5-8
LIU Xiao-ling, WANG Ru-jun, FU Quan-sheng. Effect of Buzhongyiqi decoction on the expression of gastric mucosa MER/ERK mRNA in rats with the syndrome of spleen deficiency [J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2013, 29(1): 5-8
- [33] 张忠兵,张学庸,陈希陶,等.脾虚泄泻患者肠粘膜中 SP 和 VIP 初步探讨[J].中国中西医结合杂志,1991,3:144-146
ZHANG Zhong-bing, ZHANG Xue-yong, CHEN Xi-tao, et al. A preliminary study on SP and VIP contents in intestinal mucosa of chronic diarrhea with splenic weakness [J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 1991, 3: 144-146
- [34] 段永强,程卫东,杜娟,等.益气健脾中药对脾气虚大鼠神经肽 Y、血管活性肠肽和丝裂原活化蛋白激酶 14 基因表达

- 的影响[J].中国中医药信息杂志,2014,21(4):59-62
- DUAN Yong-qiang, CHENG Wei-dong, DU Juan, et al. Effect of Yiqi Jianpi herb on content of NPY, VIP and expression of Mapk14 Mrna of rats with spleen-qi deficiency [J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2014, 21(4): 59-62
- [35] 贾波,李晓红,梁煜,等.白术茯苓汤对脾虚大鼠胃肠激素的影响[J].成都中医药大学学报,2001,24(4):47-48
- JIA Bo, LI Xiao-hong, LIANG Yu, et al. Effects of baizhu poria decoction on gastrointestinal hormones of spleen deficiency syndrome rats [J]. Journal of Chengdu University of TCM, 2001, 24(4): 47-48
- [36] 费晓燕,谢建群,郑昱,等.疏肝饮对腹泻型肠易激综合征模型大鼠胃动素和胆囊收缩素的影响[J].上海中医药杂志,2008,42(4):63-65
- FEI Xiao-yan, XIE Jian-qun, ZHENG Yu, et al. Effects of "Shugan Beverage" on motilin and cholecystokinin in rats of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine, 2008, 42(4): 63-65
- [37] 段永强,程卫东,杜娟,等.益气健脾中药对脾气虚大鼠 SP/CCK 和 Mapk14mRNA 表达水平的影响[J].中药材,2014,2:304-308
- DUAN Yong-qiang, CHENG Wei-dong, DU Juan, et al. Effect of Yiqi Jianpi herb on content of SP/CCK and expression of Mapk14 mRNA of Rats with spleen-qi deficiency [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2014, 2: 304-308
- [38] 蓝程,唐承薇.P 物质对多器官功能衰竭时肠黏膜肥大细胞活性的调节[J].中华消化杂志,2003,23(5):271-274
- LAN Cheng, TANG Cheng-wei. Effects of substance P on the activity of intestinal mucosal mast cells in rats with multiple organ failure [J]. Chinese Journal of Digestion, 2003, 23(5): 271-274
- [39] Bradesi S, Eutamene H, Garcia-Villar R, et al. Acute and chronic stress differently affect visceral sensitivity to rectal distension in female rats [J]. Neurogastroenterology & Motility, 2002, 14(1): 75-82
- [40] 段永强,成映霞,程容,等.脾虚证进程中小鼠特异性/非特异性免疫功能变化及中药的干预作用[J].中国老年学,2011,31(15):2874-2876
- DUAN Yong-qiang, CHENG Ying-xia, CHENG Rong, et al. Variation of the specific and non-specific immune function of mice with spleen deficiency and effect of Chinese medicine [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2011, 31(15): 2874-2876
- [41] 李姿慧,王键,王又闻,等.参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠血清 EGF、SOD、MDA 的影响[J].世界华人消化杂志,2012,20(5):410-413
- LI Zi-hui, WANG Jian, WANG You-wen, et al. Effect of Shenlingbaizhu powder on serum levels of EGF, SOD and MDA in ulcerative colitis rats with syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency [J]. World Chinese Journal of Digestology, 2012, 20(5): 410-413
- [42] Phillips J H, Lanier L L. Dissection of the lymphokine-activated killer phenomenon. Relative contribution of peripheral blood natural killer cells and T lymphocytes to cytotoxicity [J]. Journal of Experimental Medicine, 1986, 164(3): 814-25
- [43] 金虹,梁旻若,王建华.从 IL-2 水平探讨黄芪及黄芪多糖的免疫调节作用[J].中国免疫学杂志,1989,5:308-310
- JIN Hong, LIANG Min-ruo, WANG Jian-hua. Immunological modulating effect of Astragalus membranaceus and its polysaccharide on IL-2 production of rats [J]. Chinese Journal of Immunology, 1989, 5: 308-310
- [44] 陈慰峰.医学免疫学.第4版[M].北京:人民卫生出版社,2004
- CHEN Wei-feng. Medical Immunology. The Fourth Edition [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004
- [45] 李云,李伟,张雪廷,等.山药茯苓对脾虚模型小鼠免疫功能的影响[J].北京中医药大学学报,2015,38(8):535-538
- LI Yun, LI Wei, ZHANG Xue-ting, et al. Effects of the herbal pair Shaoyao and Qianshi at different dosage ratios on spleen-deficiency mice's immune function [J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2015, 38(8): 535-538
- [46] 杨冬花,李家邦,郑爱华,等.脾气虚证模型大鼠 Th1/Th2 细胞因子的失衡以及四君子汤的干预作用[J].中国医师杂志,2004,6(2):181-183
- YANG Dong-hua, LI Jia-bang, ZHENG Ai-hua, et al. Imbalance of Th₁/Th₂ cytokines in the rats with spleen deficiency syndrome and effect of decoction of Sijunzi on it [J]. Journal of Chinese Physician, 2004, 6(2): 181-183
- [47] Abdalla E E. Gastrin, secretin, GIP and VIP alter levels of IL-2 and IFN-gamma in human peripheral blood mononuclear cells under various culture conditions [J]. Iranian Journal of Immunology, 2008, 5(2): 107-114
- [48] Jimeno R, Leceta J, Martínez C, et al. Effect of VIP on the balance between cytokines and master regulators of activated helper T cells [J]. Immunology & Cell Biology, 2012, 90(2): 178-186

- [49] Yukawa T, Oshitani N, Yamagami H, et al. Differential expression of vasoactive intestinal peptide receptor 1 expression in inflammatory bowel disease [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2007, 20(2): 161-167
- [50] Kang H, Byun D G, Kim J W, et al. Effects of substance P and vasoactive intestinal peptide on interferon-gamma and interleukin-4 production in severe atopic dermatitis [J]. *Annals of Allergy Asthma & Immunology Official Publication of the American College of Allergy Asthma & Immunology*, 2000, 85(3): 227-232
- [51] Tarnawski A S, Ahluwalia A, Jones M K, et al. Increased susceptibility of aging gastric mucosa to injury: The mechanisms and clinical implications [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(16): 4467-4482
- [52] Bekpinar S, Vardagli D, Unlucerci Y, et al. Effect of rosiglitazone on asymmetric dimethylarginine metabolism in thioacetamide-induced acute liver injury [J]. *Pathophysiology the Official Journal of the International Society for Pathophysiology*, 2015, 22(3): 153
- [53] Suo H, Xin Z, Yu Q, et al. *Lactobacillus fermentum* Attenuates HCl/Ethanol Induced Gastric Injury in Mice through Its Antioxidant Effects [J]. *Nutrients*, 2016, 8(3): 155