

# 加味逍遥丸对小鼠小站台水环境应激状态调节作用的实验研究

★ 高书亮<sup>1</sup> 吴振宇<sup>2</sup> 杨军平<sup>3</sup> 蔡少华<sup>1</sup> 周步高<sup>1</sup> 刘志勇<sup>1</sup> (1 江西中医学院 南昌 330006 2 北京广安门医院中心实验室 北京 100053 3 江西中医学院附属医院 南昌 330006)

**摘要:**目的:观察加味逍遥丸对小鼠应激状态调节作用。方法:本实验采用自制小站台水环境应激小白鼠,应激后灌胃加味逍遥丸,取不同应激时间应激组和给药组小鼠,分别测定小鼠胸腺、脾的重量和指数、5-HT 及血清糖皮质激素。结果:随应激时间的加长,小鼠胸腺的 5-羟色胺、糖皮质激素的含量逐渐升高,胸腺、脾指数逐渐下降。结论:加味逍遥丸可以有效地改善小鼠的心理应激变化。

**关键词:**加味逍遥丸;应激;胸腺;脾;糖皮质激素;5-羟色胺

**中图分类号:**R 285.5 **文献标识码:**A

应激是当环境刺激威胁到个体所产生的一类特殊的心理生理反应,这种紧张状态倾向于通过非特异的心理和生理反应所表现出来<sup>[1,2]</sup>。

本课题研究的目的是采用小站台水环境应激模型,探讨心理应激对机体自身的免疫器官的影响,以及中药加味逍遥丸的调节作用及作用的初步机理。

## 2 材料与方法

### 2.1 实验动物

昆明种小鼠 140 只,由中国人民解放军军事科学院动物中心提供,雌雄各半,体重(25±1) g。

### 2.2 实验仪器与试剂

自制小站台水环境装置:大桶装水,木柱高出水面 20 cm,形成直径为 2 cm 的方形小站台,每个小站台上放一只小鼠,小鼠在站台上形成活动受限、睡眠虚脱、相互争夺、心慌恐惧等应激现象<sup>[11]</sup>。

仪器:紫光分光光度计 Beckman;荧光分光光度计 HITACHI F-4500。

试剂:5-羟色胺(标准品),SIGMA chemical Co.lit,批号 Z6H0362;加味逍遥丸,北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂,批号:3080702。

### 2.3 实验方法

2.3.1 动物分组 依据实验设计,动物随机分为 14 组:站台 72 小时组(A 组);站台 72 小时+给加味逍遥丸组(B 组);站台 48 小时组(C 组);站台 48 小时+给加味逍遥丸组(D 组);站台 24 小时组(E 组);站台 24 小时+给加味逍遥丸组(F 组);站台 12 小时组(G 组);站台 12 小时+给加味逍遥丸组(H 组);站台 8 小时组(I 组);站台 8 小时+给加味逍遥丸组(J 组);站台 4 小时组(K 组);站台 4 小时+给加味逍遥丸组(L 组);正常对照组(M 组);正常对照给药组(N 组)。动物称重后,按组放置不同的实验间,应激实验开始后,各组动物站台,站台期间每天豆奶粉流质食物灌胃 6 次,每次量为 0.8 mL。正常对照组及正常对照给药组不站台但同样灌胃

给食。

2.3.2 给药处理方法 加味逍遥丸成人用量为 12 g/日,按中剂量计算小鼠为 300 mg/100g。B、D、F、H、J、L、N 组动物在站台期间每日给药 1 次,浓度 0.09 g/mL,用量为 0.8 mL。站台结束后,各组动物称重并断头取血处死,在冰面上迅速取出胸腺、脾,称重后一半的胸腺及整个脾置-86℃冰箱保存备用,血液迅速分离血清并置-86℃冰箱保存备用。以如下方式计算脏器指数:脏器指数=脏器重量/小鼠体重(mg/g)。

2.3.3 血清糖皮质激素的检测 血清糖皮质激素含量的测定采用放免法,测试试剂盒为北京北方免疫试剂研究所生产的专用试剂盒。

2.3.4 5-羟色胺(5-HT)的检测 组织 5-HT 的测定参考文献<sup>[6]</sup>方法。

## 3 结果

3.1 加味逍遥丸对不同应激时间小鼠胸腺和脾重量及指数的影响

见表 1。A、C 组小鼠胸腺和 A 组脾重量及指数改变极度显著,与对照组相比有极显著性差异( $P<0.001$ );E 组小鼠胸腺和 C 组脾重量及指数改变显著,与对照组相比有极显著性差异( $P<0.01$ );其余各组与对照组相比无明显变化( $P>0.05$ );B 组小鼠胸腺重量及指数与相对应应激组相比有极显著性差异( $P<0.001$ ),D 组小鼠胸腺和 B 组小鼠脾重量及指数与相对应应激组相比有显著性差异( $P<0.01$ );其余各组与相对应应激组相比无显著性差异( $P>0.05$ )。

3.2 加味逍遥丸对应激不同时间小鼠血清糖皮质激素含量的影响

见表 1。A、C、E 组小鼠血清糖皮质激素含量均有明显变化,与对照组相比有极显著性差异( $P<0.001$ ),G 组小鼠血清糖皮质激素含量与对照组相比有显著性差异( $P<0.05$ ) 其余各组与对照组相比无明显变化( $P>0.05$ )。B 组小鼠血清糖皮质激素含量与相对应应激组相比有显著性差异( $P<0.01$ );

其余各组与相对应激组相比无显著性差异( $P>0.05$ )。

表 1 站台不同时间对小鼠胸腺、脾脏重量及指数、血清糖皮质激素、5-HT 含量的影响及中药调节作用( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别 | n  | 胸腺重量<br>/g              | 脾脏重量<br>/g             | 胸腺指数<br>/mg·g <sup>-1</sup> | 脾指数<br>/mg·g <sup>-1</sup> | 血清糖皮质激素<br>含量/mg·mL <sup>-1</sup> | 胸腺 5-HT<br>/ng·mg <sup>-1</sup> | 脾 5-HT<br>/ng·mg <sup>-1</sup> |
|----|----|-------------------------|------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| A  | 10 | 57.8±9.12 <sup>#</sup>  | 63.8±7.7 <sup>#</sup>  | 2.0±0.4 <sup>#</sup>        | 2.4±0.3 <sup>#</sup>       | 23.3±4.6 <sup>#</sup>             | 2.9±0.3 <sup>#</sup>            | 8.0±1.7 <sup>#</sup>           |
| B  | 10 | 71.3±10.5 <sup>#*</sup> | 70.3±9.1 <sup>#*</sup> | 3.0±0.2 <sup>#*</sup>       | 3.±0.1 <sup>*</sup>        | 19.2±5.1 <sup>**</sup>            | 2.2±0.3 <sup>#</sup>            | 6.1±2.1 <sup>*</sup>           |
| C  | 10 | 70.5±15.3 <sup>#</sup>  | 71.8±6.2 <sup>*</sup>  | 3.1±0.4 <sup>#</sup>        | 3.0±0.4 <sup>*</sup>       | 18.6±5.5 <sup>#</sup>             | 2.2±0.3 <sup>#</sup>            | 6.1±2.6 <sup>#</sup>           |
| D  | 10 | 81.5±14.9 <sup>**</sup> | 76.5±5.1               | 3.9±0.3 <sup>**</sup>       | 3.3±0.4                    | 17.0±4.5                          | 1.8±0.2 <sup>#</sup>            | 5.8±2.2                        |
| E  | 10 | 103.6±12.3 <sup>*</sup> | 87.4±7.1               | 4.2±0.3 <sup>*</sup>        | 3.5±0.2                    | 16.1±3.8 <sup>#</sup>             | 2.1±0.5 <sup>#</sup>            | 5.6±1.9                        |
| F  | 10 | 105.1±14.3              | 90.7±5.9               | 4.3±0.3                     | 3.5±0.2                    | 15.8±3.9                          | 1.8±0.4                         | 5.8±2.2                        |
| G  | 10 | 110.0±16.7              | 95.8±11.3              | 4.8±0.5                     | 3.8±0.2                    | 12.2±4.7 <sup>*</sup>             | 1.7±0.6 <sup>*</sup>            | 5.1±1.8                        |
| H  | 10 | 113.0±13.0              | 95.3±12.1              | 4.9±0.4                     | 3.8±0.6                    | 12.2±4.7 <sup>*</sup>             | 1.6±0.2                         | 5.1±2.1                        |
| I  | 10 | 114.8±19.7              | 97.6±15.1              | 5.2±0.8                     | 4.0±0.7                    | 10.7±3.2                          | 1.5±0.2                         | 4.7±1.6                        |
| J  | 10 | 116.6±12.6              | 98.3±11.7              | 5.1±0.5                     | 4.0±0.6                    | 10.4±2.7                          | 1.5±0.1                         | 4.7±1.4                        |
| K  | 10 | 117.8±11.1              | 99.4±15.4              | 5.5±0.9                     | 4.1±0.5                    | 9.0±2.7                           | 1.4±0.7                         | 4.6±1.8                        |
| L  | 10 | 117.4±19.1              | 99.2±16.3              | 5.5±0.5                     | 4.1±0.5                    | 9.0±4.1                           | 1.4±0.3                         | 4.5±1.3                        |
| M  | 10 | 119.5±15.6              | 101.5±15.5             | 5.5±0.1                     | 4.1±0.5                    | 8.1±2.3                           | 1.3±0.1                         | 4.4±1.0                        |
| N  | 10 | 114.9±16.1              | 99.3±17.2              | 5.5±0.2                     | 4.1±0.5                    | 8.6±3.1                           | 1.3±0.1                         | 4.6±1.0                        |

注:与对照组相比, # $P<0.001$ ; \* $P<0.01$ ; 与对应应激相比, # $P<0.001$ ; \* $P<0.01$ 。

### 3.3 加味逍遥丸对应激不同时间小鼠胸腺和脾 5-HT 含量的影响

见表 1。A、C、E 组小鼠胸腺和 A 组脾组织 5-HT 含量均有极明显变化,与对照组相比有显著性差异( $P<0.001$ ); C 组小鼠脾组织 5-HT 含量有明显变化,与对照组相比有显著性差异( $P<0.01$ ),应激 8 小时、12 小时组小鼠胸腺组织 5-HT 含量均有明显变化,与对照组相比有显著性差异( $P<0.05$ ),其余各组与对照组相比无明显变化( $P>0.05$ )。B 组小鼠胸腺组织 5-HT 含量与相对应激组相比有显著性差异( $P<0.001$ ),D 药组小鼠胸腺组织 5-HT 含量与相对应激组相比有显著性差异( $P<0.01$ ),B 组小鼠脾组织 5-HT 含量有明显变化,与相对应激组相比有显著性差异( $P<0.05$ ),其余各组与相对应激组相比无显著性差异( $P>0.05$ )。

### 4 讨论

小站台水环境造模过程中存在活动受限、睡眠虚脱、相互争夺、心慌恐惧等应激现象,包括了生理和心理的作用。机体在应激状态下,多出现以交感神经-肾上腺髓质和下丘脑-垂体-肾上腺皮质反应为主的变化,使血清儿茶酚胺和肾上腺糖皮质激素含量上升<sup>[3]</sup>。

本实验发现:随应激时间的加长胸腺、脾指数逐渐下降,小鼠胸腺的 5-羟色胺、糖皮质激素的含量逐渐升高。应激 24 小时、48 小时、72 小时组与对照组相比有显著性差异,且胸腺应激反应比脾出现时间早而长,说明机体处于慢性应激状态下的抑制状态,应激引起了免疫器官的退化,而胸腺是重要的中枢免疫器官,充当着免疫和内分泌调节的双重角色,在神经—内分泌—免疫调节网络中,胸腺是中枢通路的桥梁,作为免疫-内分泌器官与神经系统的联结物构成了神经-内分泌-胸腺轴,应激所致胸腺结构与功能的变化越来越受到研究者的重视<sup>[4,5]</sup>。

应激通过不同的调节轴或外周神经系统影响着免疫系统的功能。其可能的机理是经过刺激和精神紧张后,小鼠下

丘脑-交感肾上腺系统兴奋性升高,下丘脑产生 5-HT 等单胺类神经递质激素含量升高,出现中枢神经系统和植物神经功能紊乱,并通过下丘脑-垂体-肾上腺-胸腺轴影响免疫功能。

中医脏象及七情学说认为,肝主疏泄,调畅情志,临床上对于情志失调,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治法方药抗心理应激损伤提供了基础和依据<sup>[6,7]</sup>。

加味逍遥丸具有疏肝解郁、调和肝脾的作用,本实验结果显示应激给加味逍遥丸组小鼠胸腺、脾重量及指数与相对应激组升高,应激 72 小时给加味逍遥丸组小鼠胸腺、脾重量及指数与相应应激组相比有显著性差异,5-HT 含量与相应应激组相比下降,应激 72 小时给加味逍遥丸组与相应应激组相比有显著性差异,表明加味逍遥丸对小站台水环境应激引起的机体功能状态紊乱有一定的调节作用,并从作用的机理上做了初步的阐述。

### 参考文献

- [1] 张宴,肖健,耿晓峰,吴振宇,等. 切断交感神经小鼠在情绪应激中免疫功能的改变[J]. 中国行为医学科学,2003(1):1~4
- [2] 肖健,张宴,耿晓峰,吴振宇,等. 应激引起不同年龄、性别和种类小鼠免疫器官退化的比较研究[J]. 北京大学学报,2000(5):725~731
- [3] 邵枫,林文娟,王伟雯,等. 电击信号对大鼠体液免疫及内分泌功能的影响[J]. 心理学报,2000,32(4):428~432
- [4] 徐荷,赵法汲,郭俊生,等. 膳食锌对急性热暴露大鼠胸腺超微结构的影响[J]. 解放军预防医学杂志,1997,15(5):327
- [5] Rey AD, Besedovsky, Sorkin E. Endogenous blood levels of corticosterone control the immunologic cell mass and B cell activity in mice[J]. Journal of Immunology,1984,133(2):572~575
- [6] 李凤夕. 肝郁气滞血瘀的临床和实验研究[J]. 中医杂志,1991(10):46
- [7] 须惠仁,傅湘琦,向丽华,等. 肝郁证的动物实验研究[J]. 中医杂志,1991(6):44~46

(收稿日期:2006-01-06)