

# 疏肝理肺方防治应激条件下大鼠哮喘的作用机制研究

童 瑶<sup>1</sup>, 张宁霞<sup>2</sup>, 陈惠娟<sup>3</sup>, 倪力强<sup>4</sup>

(1. 香港大学中医药学院, 香港; 2. 上海中医药大学普陀医院康复科, 上海 200062; 3. 上海中医药大学基础医学院, 上海 201203; 4. 上海医药情报研究所, 上海 200063)

**[摘要]** 目的: 探讨心理因素对哮喘发病的影响和调肝法调节应激、防治哮喘的作用机制。方法: 用卵蛋白加束缚应激刺激建立应激条件下哮喘大鼠模型, 采用放射免疫分析法、酶联免疫吸附法、原位杂交、免疫组化、光镜及电镜等方法, 检测各组大鼠血浆皮质酮、白细胞介素 4、干扰素、海马糖皮质激素受体 mRNA 和下丘脑促肾上腺皮质激素释放激素(adrenocorticotrophic hormone corticoliberin, CRH)阳性神经元, 并观察肺和海马组织形态学的变化。结果: 疏肝理肺方可明显降低血浆皮质酮水平, 升高血浆干扰素, 降低血浆白细胞介素 4, 减少下丘脑室旁核 CRH 阳性神经元, 上调海马 CA3 区糖皮质激素受体 mRNA 的表达, 减轻海马神经元的损伤, 并可明显减轻应激条件下哮喘大鼠肺组织的病理改变。结论: 疏肝理肺方通过抑制应激条件下哮喘大鼠下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴功能的亢进及调节免疫系统的功能, 从而起到防治哮喘的作用。

**[关键词]** 应激; 哮喘; 疏肝理肺法

**[中图分类号]** R562.65 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-1977(2005)05-0391-06

## Protective and therapeutic effects of Shugan Lifei Recipe on rats with asthma under stress and the mechanisms

TONG Yao<sup>1</sup>, ZHANG Ning-Xia<sup>2</sup>, CHEN Hui-Juan<sup>3</sup>, NI Li-Qiang<sup>3</sup>

(1. School of Chinese Medicine, University of Hong Kong, Hong Kong, China; 2. Department of Rehabilitation, Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China; 3. Basic Medical College, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 201203, China; 4. Shanghai Institute of Medical Information, Shanghai 200063, China)

**ABSTRACT** Objective: To explore the influence of psychological factor on asthma, the protective and therapeutic effects of Shugan Lifei Recipe on rats with asthma under stress and the mechanisms. Methods: Allergy and stress-induced asthma models were established in rats by giving ovalbumin and restraining stress. Radio-immunoassay, enzyme linked immunosorbent assay, in situ hybridization and immunohistochemical method were used to detect plasma corticosterone, IL-4, IFN- $\gamma$ , expression of glucocorticoid receptor (GR) mRNA in hippocampus and adrenocorticotrophic hormone corticoliberin (CRH) positive neuron in hypothalamus. Optical and electron microscopes were used to observe the morphological changes of pulmonary hilar and hippocampal tissues. Results: Shugan Lifei Recipe (SGLFR) could reduce plasma corticosterone, decrease CRH positive neurons in paraventricular nucleus of hypothalamus, up-regulate the expression of GR mRNA in hippocampus and reduce the injury of hippocampal neuron. SGLFR had certain inhibitive effect on hyperfunction of hypothalamo-pituitary-adrenal cortex (HPA) axis in rats with asthma under stress and could also relieve the pathological changes of the pulmonary hilar tissue. The level of plasma IFN- $\gamma$  was increased while the level of plasma IL-4 was decreased in SGLFR-treated group. Conclusion: The mechanism of SGLFR in treating the rats with asthma under stress is probably to regulate the hyperfunction of HPA axis and the disorder of immuo-system.

**KEY WORDS** stress; asthma; dispersing stagnated liver qi and regulating lung qi

J Chin Integr Med, 2005, 3(5):391-396

**[作者简介]** 童 瑶(1952-), 女, 博士, 教授.

Correspondence to: TONG Yao, MD, Professor. E-mail: tongyao@hku.hk

支气管哮喘是一种多病因疾病,发病机制十分复杂,严重危害人类的健康。其发病受生物、心理和社会三方面因素的影响,其中精神心理因素在哮喘的发生、发展和转归中起着重要的作用。现代社会工作和生活节奏日益加快,竞争日趋激烈,机体长期处于紧张状态下,通过影响神经内分泌系统继而干扰机体的免疫功能,从而诱发或加重哮喘。

中医学很早就认识到不良的环境或精神刺激与躯体疾病的发生、发展有密切的关系。肝主疏泄,调畅气机,在心理应激调节中起着决定性的作用。现代医学认为:任何形式的应激都可导致神经内分泌功能紊乱,造成免疫功能障碍,使机体对各种感染性疾病呈易感状态。大量研究表明:肝主疏泄功能与现代医学的神经内分泌免疫网络密切相关,调肝法有调整神经内分泌免疫功能失调的作用。本实验运用疏肝理肺方治疗应激条件下的哮喘大鼠,探讨心理因素对哮喘发病的影响以及调肝法调节应激、防治哮喘的作用机制。

## 1 材料与方

1.1 实验动物分组及模型建立 SD 雄性大鼠 56 只,体质量(190 ± 20)g,随机分为 7 组:正常组、哮喘组、应激组、哮喘应激组、地塞米松组、理肺组和疏肝理肺组,每组 8 只。哮喘组、哮喘应激组、地塞米松组、理肺组和疏肝理肺组大鼠分别予以腹腔注射抗原液(含卵蛋白、氢氧化铝干粉和灭活百日咳杆菌)1 ml 致敏;正常组和应激组大鼠则分别予以腹腔注射等量生理盐水。致敏后第 8 天起,应激组、哮喘应激组、地塞米松组、理肺组和疏肝理肺组大鼠予以双后肢立式固定,行束缚应激刺激,4 h/d,共 3 周;致敏后第 8 天起,哮喘组、哮喘应激组、地塞米松组、理肺组和疏肝理肺组大鼠另分别予以 2% 卵蛋白雾化吸入,3 min/d,共 2 周。

1.2 药物及给药方法 理肺方(Lifei Recipe, LFR)即小青龙汤,由麻黄 9 g、桂枝 9 g、炙甘草 9 g、细辛 9 g、干姜 9 g、半夏 9 g、五味子 9 g 和白芍 9 g 组成;疏肝理肺方(Shugan Lifei Recipe, SGLFR)即小青龙汤合四逆散,由麻黄 9 g、桂枝 9 g、炙甘草 9 g、细辛 9 g、干姜 9 g、半夏 9 g、五味子 9 g、白芍 9 g、柴胡 9 g 和炙枳实 9 g 组成。理肺方和疏肝理肺方用水煎制后滤液,制成浓缩口服液,分别含生药 2.8 g/ml 和 3.6 g/ml。地塞米松(0.75 mg/片)于灌胃前用生理盐水配制成混悬液,浓度为 0.1 mg/ml。致敏后第 8 天起,地塞米松组、理肺组和疏肝理肺组大鼠分别予以地塞米松混悬液 10 ml/kg、理肺方口服液 10 ml/kg 和疏肝理肺方口服液 10 ml/kg

灌胃;正常组、应激组、哮喘组和哮喘应激组大鼠则分别予以等量生理盐水灌胃。共给药 3 周。

1.3 动物处理及取材 实验第 4 周末,用 25% 乌拉坦腹腔注射麻醉大鼠,抽取腹主动脉血立即注入抗凝管中,3 000 r/min 离心 15 min,分离血浆,分装保存于 -70 °C 低温冰箱中待测。腹主动脉抽血后立即灌流大鼠,每组选取灌流成功的大鼠 3 只,取肺组织备光镜检查及视交叉至乳头体的脑组织备光镜、电镜、免疫组化和原位杂交检查。

1.4 血浆皮质酮的测定 血浆皮质酮放射免疫检测试剂盒,由晶美生物工程有限公司提供。根据标记的与未标记的皮质酮抗原竞争性结合其特异性抗体的原理进行检测。反应系统中<sup>125</sup>I-皮质酮抗原-抗体复合物的形成量受样品中未标记的皮质酮抗原量的影响,即样品中未标记皮质酮的含量越高,则<sup>125</sup>I-皮质酮抗原-抗体复合物的形成就越少,通过测定抗原-抗体复合物的放射性,计算相关参数,绘制标准曲线,直接读出样品中皮质酮的含量。实验步骤严格按试剂盒说明书操作。

1.5 海马糖皮质激素受体 mRNA 的检测 海马糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR) mRNA 原位杂交试剂盒,由博士德生物工程有限公司提供,采用漂浮法检测。取视交叉至乳头体的脑组织,行快速连续冰冻切片,检测步骤严格按试剂盒说明书进行,均为无菌操作。采用 IMS 细胞图像分析系统分析结果。

1.6 下丘脑促肾上腺皮质激素释放激素阳性神经元的检测 下丘脑促肾上腺皮质激素释放激素(adrenocorticotrophic hormone corticoliberin, CRH)阳性神经元采用 SABC 免疫组化试剂盒进行检测,试剂盒由博士德生物工程有限公司提供。取视交叉至乳头体的脑组织,行快速连续冰冻切片,检测步骤严格按试剂盒说明书进行。采用 IMS 细胞图像分析系统分析结果。

1.7 白细胞介素 4 和干扰素 的检测 白细胞介素 4(interleukin-4, IL-4)和干扰素(interferon-, IFN-)酶联免疫试剂盒,均由晶美生物工程有限公司提供。

## 1.8 形态学观察

1.8.1 大鼠海马光镜形态学观察 取大鼠视交叉至乳头体的脑组织,常规光镜下观察。

1.8.2 大鼠海马透射电镜形态学观察 依据鼠脑立体定位图谱,取海马矢状切面 1 mm<sup>3</sup> 组织块,常规电镜下观察。

1.8.3 大鼠肺组织光镜形态学观察 取大鼠肺门组织,常规光镜下观察。

1.9 统计学方法 采用 SPSS 10.0 软件进行统计学分析。计量资料均数用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析和  $q$  检验。

2 结果

2.1 疏肝理肺方对应激条件下哮喘大鼠血浆皮质酮的影响 应激组与正常组比较,血浆皮质酮水平明显升高 ( $P < 0.01$ );哮喘应激组与哮喘组比较,血浆皮质酮水平亦有明显升高 ( $P < 0.01$ );疏肝理肺组与理肺组比较,血浆皮质酮水平明显降低 ( $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 各组大鼠血浆皮质酮水平比较

Tab 1 Comparison of plasma corticosterone in different groups ( $\bar{x} \pm s$ , mg/L)

Group	n	Plasma corticosterone
Normal control	8	235.27 ± 46.64
Allergy-induced asthma model	8	323.32 ± 100.40*
Stress-induced model	8	532.48 ± 115.28**
Allergy and stress-induced asthma model	8	569.89 ± 72.32
Dexamethasone-treated	8	392.43 ± 112.90
LFR-treated	8	528.60 ± 130.72
SGLFR-treated	8	309.50 ± 46.52

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , vs normal control group;  $P < 0.01$ , vs allergy-induced asthma model group;  $P < 0.01$ , vs allergy and stress-induced asthma model group;  $P < 0.01$ , vs LFR-treated group;  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ , vs dexamethasone-treated group

2.2 疏肝理肺方对应激条件下哮喘大鼠海马 GR mRNA 和下丘脑 CRH 阳性神经元的影响 应激组与正常组比较,海马 GR mRNA 表达明显减少 ( $P < 0.01$ ),下丘脑 CRH 阳性神经元的数目明显增加 ( $P < 0.01$ );哮喘应激组与哮喘组比较,海马 GR mRNA 表达明显减少 ( $P < 0.01$ ),下丘脑 CRH 阳

性神经元的数目明显增加 ( $P < 0.01$ );疏肝理肺组与理肺组比较,海马 GR mRNA 表达明显增加 ( $P < 0.01$ ),下丘脑 CRH 阳性神经元的数目明显减少 ( $P < 0.01$ )。见表 2。

2.3 疏肝理肺方对应激条件下哮喘大鼠海马形态的影响 光镜下观察结果:正常组大鼠海马锥体细胞排列规则,细胞核圆而大,核仁清晰;哮喘组大鼠海马锥体细胞排列较规则,CA3 区可见暗神经元;应激组和哮喘应激组大鼠海马锥体细胞排列不规则,在 CA3 区可见大量的锥体细胞核固缩;地塞米松组和理肺组大鼠海马锥体细胞异常改变与哮喘应激组基本相近;疏肝理肺组大鼠海马锥体细胞排列比较规则,在 CA3 区核固缩神经元明显减少。

常规透射电镜下观察结果:正常组大鼠海马锥体细胞核形态规则,核膜光滑,核异染色质分布均匀,线粒体丰富,嵴排列规则;哮喘组大鼠海马锥体细胞核形态规则,但胞浆疏松,部分线粒体出现空泡,嵴排列紊乱;应激组和哮喘应激组大鼠海马锥体细胞核形态不规则,核异染色质明显增多,聚集成块,胞浆疏松,多数线粒体扩张、出现空泡、嵴排列紊乱;地塞米松组大鼠海马锥体细胞形态不规则,细胞器变性;理肺组大鼠海马锥体细胞胞浆疏松,多数线粒体扩张、出现空泡;疏肝理肺组大鼠海马锥体细胞核形态较规则,核膜光滑,核异染色质分布较均匀,胞浆疏松,线粒体丰富但致密。

2.4 疏肝理肺方对应激条件下哮喘大鼠血浆 IL-4 和 IFN- $\gamma$  的影响 应激组与正常组比较,血浆 IL-4 水平明显升高 ( $P < 0.01$ ),IFN- $\gamma$  水平明显降低 ( $P < 0.01$ );哮喘应激组与哮喘组比较,血浆 IL-4 水平明显升高 ( $P < 0.01$ ),IFN- $\gamma$  水平明显降低 ( $P < 0.01$ );疏肝理肺组与理肺组比较,血浆 IL-4 水平无明显降低,IFN- $\gamma$  水平明显升高 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 2 各组大鼠海马 GR mRNA 和下丘脑 CRH 阳性神经元比较

Tab 2 Comparison of expression of GR mRNA in hippocampus and number of CRH positive neurons in paraventricular nucleus of hypothalamus in different groups

Group	n	GR mRNA (mg/L)	CRH positive neuron ( $/7 \times 10^4 \mu m^2$ )
Normal control	3	7.67 ± 0.52	14.33 ± 3.07
Allergy-induced asthma model	3	6.00 ± 0.63**	37.83 ± 7.25**
Stress-induced model	3	3.67 ± 0.52**	174.50 ± 4.68**
Allergy and stress-induced asthma model	3	3.33 ± 0.52	174.33 ± 3.93
Dexamethasone-treated	3	3.67 ± 0.52	61.33 ± 6.56
LFR-treated	3	4.00 ± 0.89	170.17 ± 3.18
SGLFR-treated	3	5.33 ± 0.52	108.17 ± 16.18

\*\*  $P < 0.01$ , vs normal control group;  $P < 0.01$ , vs allergy-induced asthma model group;  $P < 0.01$ , vs allergy and stress-induced asthma model group;  $P < 0.01$ , vs LFR-treated group;  $P < 0.01$ , vs dexamethasone-treated group

表 3 各组大鼠血浆 IL-4 和 IFN- $\gamma$  浓度比较Tab 3 Comparison of plasma IL-4 and IFN- $\gamma$  in different groups

Group	n	IL-4 (ng/L)	IFN- $\gamma$ (ng/L)
Normal control	8	37.53 ± 5.20	79.44 ± 25.30
Allergy-induced asthma model	8	58.90 ± 18.13**	55.19 ± 13.31**
Stress-induced model	8	54.07 ± 9.29**	43.26 ± 8.48**
Allergy and stress-induced asthma model	8	82.91 ± 23.07	37.07 ± 5.65
Dexamethasone-treated	8	42.68 ± 2.41	42.44 ± 7.14
LFR-treated	8	40.51 ± 2.79	51.63 ± 15.72
SGLFR-treated	8	39.82 ± 6.48	62.31 ± 26.99

\*\*  $P < 0.01$ , vs normal control group;  $P < 0.01$ , vs allergy-induced asthma model group;  $P < 0.01$ ,  $P < 0.01$ , vs allergy and stress-induced asthma model group;  $P < 0.05$ , vs LFR-treated group;  $P < 0.05$ , vs dexamethasone-treated group

2.5 疏肝理肺方对应激条件下哮喘大鼠肺组织形态的影响 正常组大鼠支气管及肺泡结构正常; 应激组大鼠支气管周围及肺泡壁有少量炎细胞浸润; 哮喘组和哮喘应激组大鼠支气管周围及肺泡壁有大量炎细胞浸润, 支气管管腔狭窄, 上皮细胞脱落, 腔内有分泌物; 地塞米松组大鼠支气管周围及肺泡壁亦有较多炎性细胞浸润; 理肺组和疏肝理肺组大鼠支气管周围及肺泡壁炎细胞浸润明显减轻。

### 3 讨论

应激是指机体受到各种应激原刺激时出现的以下丘脑-垂体-肾上腺皮质 (hypothalamo-pituitary-adrenal, HPA) 轴过度激活为主的一系列神经内分泌反应。适度的应激刺激对人体的健康和功能活动起着促进作用, 使机体能够适应内外环境的变化; 但长期持续的 HPA 轴功能亢进, 可导致机体对各种感染性因素处于易感状态, 造成免疫功能的障碍。应激时, HPA 轴激活, 下丘脑室旁核 (paraventricular nucleus, PVN) 的小细胞神经元分泌 CRH, CRH 刺激垂体前叶释放促肾上腺皮质激素 (adrenocorticotrophic hormone, ACTH), ACTH 刺激肾上腺皮质合成和分泌糖皮质激素。本研究结果表明: 在应激条件下, 哮喘大鼠血浆皮质酮水平明显升高, 说明束缚应激刺激可导致应激条件下哮喘大鼠 HPA 轴功能亢进, 使血浆皮质酮水平升高。疏肝理肺组大鼠血浆皮质酮水平与哮喘应激模型组比较明显降低, 但理肺组大鼠血浆皮质酮水平与哮喘应激组比较无统计学差异, 说明疏肝理肺方可通过抑制应激条件下 HPA 轴的兴奋性, 降低血浆皮质酮水平。

海马不仅是 HPA 轴的高位调节中枢, 而且是应激损伤的敏感区, 刺激海马可抑制应激诱导的皮质酮分泌, 这种作用是由 GR 所介导的<sup>[1]</sup>。海马是 GR 含量最多的大脑区域, 在应激引起内源性糖皮质激素升高的过程中起着复杂的调节作用<sup>[2]</sup>。有报

道指出: 慢性社会应激或束缚应激能不同程度地下调海马 CA3 区 GR mRNA 的表达, 抗抑郁药治疗后可明显增加海马 GR mRNA 和盐皮质激素受体 mRNA 的表达, 并能阻止应激诱导的 CA3 区 GR mRNA 的表达下调<sup>[3]</sup>。本研究结果表明: 在应激条件下, 哮喘大鼠海马 CA3 区 GR mRNA 的表达明显减少; 疏肝理肺组大鼠海马 CA3 区 GR mRNA 的表达与哮喘应激组比较明显升高, 而理肺组大鼠海马 CA3 区 GR mRNA 表达与哮喘应激组比较无明显差异, 说明疏肝理肺方可通过调节应激反应, 降低血浆皮质酮水平, 升高海马 CA3 区 GR mRNA 的表达, 从而对应激条件下哮喘大鼠 HPA 轴功能紊乱起到了一定的调节作用。

支气管哮喘属于中医“哮证”、“喘证”范畴。《素问·脏气法时论》云:“肺病者, 咳喘逆气、肩背痛、汗出……”表明本病病位在肺。朱丹溪认为:“哮主乎痰。”《症因脉治·哮喘》云:“哮病之因, 痰饮留伏, 结成窠臼, 潜伏于内, 饮食之伤或外有时令之风寒束肌表, 则哮喘之症作矣。”清代李中梓云:“因内有壅塞之气, 外有非时之感, 膈有胶固之痰, 三者相合, 闭拒气道, 搏击有声, 发为哮喘。”《诸病源候论》云:“呷嗽者……痰气相击, 随嗽动息……”由此可见, 痰饮是哮喘发病的关键因素。古代医家早已认识到痰与七情的关系。《证治汇补》云:“惊恐忧思, 痰乃生焉。”肝气郁滞, 失于疏泄, 横克脾土, 脾失健运而痰浊内生; 肝郁化火, 炼液成痰, 此皆因郁而生痰。郁痰贮于肺脏, 壅阻肺气, 不得宣降, 而发咳、喘、哮证。说明情志失调可导致痰饮内生, 从而诱发哮喘。《金匱要略·痰饮咳嗽病》提出“病痰饮者, 当以温药和之”。疏肝理肺方由小青龙汤和四逆散组成。小青龙汤中麻黄、桂枝发汗解表, 以解“外有非时之感”; 干姜、细辛、半夏温肺化饮, 以除“膈中胶固之痰”, 兼助麻黄、桂枝解表, 同时可顺“内有壅塞之气”; 五味子敛气、芍药养血、甘草益气和中, 三药互配可制诸药之辛燥, 以防太过。八味相配, 使风寒解、水饮去、

肺气复舒、宣降有权。四逆散方是调理气机的基本方之一,方中炙甘草甘温益气以健脾,柴胡透邪、疏肝解郁,枳实下气破结,芍药益阴养血柔肝。枳实、柴胡相配,一升一降,增强疏肝理气之功;柴胡、芍药相配,一散一敛,疏肝理脾而不伤阴;芍药、炙甘草酸甘化阴,柔肝缓急。四药互配,使邪去郁解、气血调畅。近代药理学研究表明:四逆散方中柴胡的活性成分柴胡皂苷有抑制中枢神经兴奋和抗炎的作用;白芍总苷可对抗应激后升高的血浆促肾上腺皮质激素,同时能促进脾淋巴细胞增殖,增强免疫功能;枳实可疏肝理气,还可抑制炎性细胞释放组胺<sup>[4]</sup>。枳实的有效成分挥发油对中枢神经系统亦有抑制作用<sup>[5]</sup>。有报道认为:肝郁多表现出神经内分泌免疫系统功能的改变,如肝郁证患者去甲肾上腺素、5-羟色胺和多巴胺等中枢神经递质,肾上腺皮质功能以及免疫系统多项指标均发生变化<sup>[6]</sup>,说明中医肝的功能与现代医学的神经-内分泌-免疫网络密切相关<sup>[7]</sup>。肝在心理应激的调节中起决定性的作用,调肝具有调整神经内分泌免疫功能失调的作用<sup>[8]</sup>。

下丘脑和边缘系统是重要的情绪活动整合中枢,其中下丘脑 PVN 分泌的 CRH 是各种应激反应的主要调节者<sup>[9,10]</sup>。应激水平的糖皮质激素对下丘脑 PVN 的 CRH 神经元起负反馈调节的作用,这一作用主要由边缘系统的海马所介导<sup>[11,12]</sup>。本研究结果表明:在应激条件下,哮喘大鼠下丘脑室旁核 CRH 阳性神经元明显增加,说明束缚应激可导致哮喘大鼠血浆皮质酮升高,对下丘脑 PVN 的抑制性负反馈调节作用减弱,疏肝理肺组大鼠下丘脑 PVN 的 CRH 阳性神经元与哮喘应激组比较明显减少,而理肺组与哮喘应激组比较则无明显差异,说明疏肝理肺方药通过调节应激反应,可减少下丘脑 PVN 的 CRH 阳性神经元,对应激条件下哮喘大鼠 HPA 轴的功能亢进具有一定的抑制作用。

应激水平的糖皮质激素对中枢神经系统造成损伤,这种损伤既是应激反应的结果,也是许多继发反应的原因。海马是 GR 含量最多的大脑区域,因此也是应激时糖皮质激素选择性攻击的靶区,应激水平的糖皮质激素的长期作用,将导致海马神经元萎缩,甚至死亡<sup>[13~15]</sup>。这种损伤主要表现在海马 CA3 区,该区神经元对损伤的易感性是由于缺乏钙结合蛋白所致<sup>[16]</sup>。本研究结果表明:在应激条件下,光镜下哮喘大鼠海马 CA3 区锥体细胞形态不规则,细胞核固缩,有较多的暗神经元出现;透射电镜下海马 CA3 区锥体细胞核形态不规则,核异染色质明显增多、聚集成块,胞浆疏松,多数线粒体扩张、出现空泡、嵴排列紊乱,说明海马神经元受到了损伤。疏肝理肺组大鼠海马 CA3 区在光镜下表现为核固缩神经元减少;电镜下可见胞浆疏松,线粒体丰富但

致密,与哮喘应激组比较神经元损伤有所减轻。理肺组大鼠海马 CA3 区锥体神经元形态与哮喘应激组比较,无明显差异。由此可见,疏肝理肺方可通过调节应激反应,降低血浆皮质酮水平,减轻海马锥体神经元的损伤,增强对应激条件下哮喘大鼠下丘脑的负反馈抑制作用。

应激时,糖皮质激素作为一种免疫抑制剂,在应激条件下对机体的免疫功能产生一定的影响。T 细胞是参与机体细胞免疫的活性细胞,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值在维持人体正常的细胞免疫中发挥着重要作用。CD4<sup>+</sup> T 细胞可分为 Th1 和 Th2,应激水平的糖皮质激素可引起外周血单核细胞内 Th1/Th2 平衡的改变,使 Th2 细胞分泌增加<sup>[17]</sup>。目前哮喘的发病率仍持续升高,与情感刺激和当前的生活状态有关。长期处于心理应激状态下可导致皮质酮过度分泌,影响免疫功能,特别是对 Th1/Th2 的影响,增加了人体对哮喘的易感性<sup>[18]</sup>。本实验结果表明:在应激条件下,哮喘组大鼠与正常组比较,血浆 IL-4 明显升高,IFN- $\gamma$  明显降低;疏肝理肺组和理肺组大鼠与哮喘应激组比较,血浆 IL-4 均降低,血浆 IFN- $\gamma$  均升高;疏肝理肺组与理肺组比较,血浆 IFN- $\gamma$  明显升高,而血浆 IL-4 则无明显差异。因此,疏肝理肺方可通过调节应激反应升高血浆 IFN- $\gamma$  和降低血浆 IL-4,对抗应激条件下哮喘大鼠免疫功能的抑制状态,增强机体对感染的抵抗力,其免疫增强作用可能是通过抑制糖皮质激素而实现的。

[参考文献]

- 1 Sousa N, Lukoyanov NV, Madeira MD, *et al*. Reorganization of the morphology of hippocampal neurites and synapses after stress-induced damage correlates with behavioral improvement[J]. *Neuroscience*, 2000, 97(2): 253-266.
- 2 Feldman S, Weidenfeld J. Electrical stimulation of the dorsal hippocampus caused a long lasting inhibition of ACTH and adrenocortical responses to photic stimuli in freely moving rats[J]. *Brain Res*, 2001, 911(1): 22-26.
- 3 Makino S, Smith MA, Gold PW. Increased expression of corticotropin-releasing hormone and vasopressin messenger ribonucleic acid (mRNA) in the hypothalamic paraventricular nucleus during repeated stress: association with reduction in glucocorticoid receptor mRNA levels[J]. *Endocrinology*, 1995, 136(8): 3299-3309.
- 4 钱瑞琴,张春英,杨宇.疏肝中药对应激小鼠免疫功能影响的对比研究[J].*中成药*, 2000, 22(9): 645-647.
- 5 胡盛珊,王大元,邱萍.枳实有效成分的药理活性比较[J].*中草药*, 1994, 25(8): 419-421.
- 6 尹浩军.肝气郁结证的实验研究近况[J].*国医论坛*, 1996, 11(2): 45-48.



7 李 峰, 杨维益, 梁山荣. 从中医学看肝脏调节应激反应的作用[J]. 北京中医药大学学报, 1998, 21(1): 20-22 .

8 严 灿, 邓中炎, 吴伟康. 从心理应激理论研究中医肝主疏泄脏象本质[J]. 中医杂志, 2001, 42(1): 8-10 .

9 吴东辉. 即刻早期基因与心理应激[J]. 国外医学·精神病学分册, 2001, 28(2): 119-122 .

10 李泽桂, 陆振山, 蔡文琴. 应激与神经肽[J]. 第三军医大学学报, 1999, 21(9): 693-696 .

11 Herman JP, Dolgas CM, Carlson SL. Ventral subiculum regulates hypothalamo-pituitary-adrenocortical and behavioural responses to cognitive stressors[J]. Neuroscience, 1998, 86(2): 449-459 .

12 朱晓蔓, 朱子涛, 温传俊, 等. 海马内 NA 能神经损毁对抗急性低氧诱发皮质酮分泌[J]. 生理学报, 1999, 51(3): 356-360 .

13 Herman JP, Larson BR. Differential regulation of fore-brain glutamic acid decarboxylase mRNA expression by aging and stress[J]. Brain Res, 2001, 912(1): 60-66 .

14 Herman JP, Spencer R. Regulation of hippocampal glucocorticoid receptor gene transcription and expression in vivo[J]. J Neurosci, 1998, 18(18): 7462-7473 .


15 严 进, 汤淑萍, 路长林, 等. 睫状神经营养因子对应激引起海马 CA3 神经元损伤的作用[J]. 解剖学杂志, 1999, 22(2): 99-104 .

16 McIntosh LJ, Sapolsky RM. Glucocorticoids may enhance oxygen radical-mediated neurotoxicity[J]. Neurotoxicology, 1996, 17(3-4): 873-882 .

17 Von Hertzen LC. Maternal stress and T-cell differentiation of the developing immune system: possible implications for the development of asthma and atopy [J]. J Allergy Clin Immunol, 2002, 109(6): 923-928 .

18 李 义, 赵玉军, 吴长德. 应激与免疫[J]. 动物医学进展, 1999, 20(3): 32-34 .

[收稿日期] 2005-04-14 [本文编辑] 黄文华 周庆辉

Clinical Experience 经验交流 

## 类风湿性关节炎肩关节粘连的手法治疗

冯国璋, 何 勇, 戴 号  
(上海光华医院类风关外科, 上海 200052)

[关键词] 关节炎, 类风湿; 肩关节; 粘连; 肌肉骨骼手法  
[中图分类号] R244 .1; R593 .22 [文献标识码] B [文章编号] 1672-1977(2005)05-0396-03

### Clinical observation on treatment of rheumatoid shoulder conglutination with manipulation therapy

FENG Guo-Zhang, HE Yong, DAI Hao  
(Department of Rheumatoid Surgery, Guanghua Hospital, Shanghai 200052, China)

KEY WORDS arthritis, rheumatoid; shoulder joint; adhesions; musculoskeletal manipulations  
J Chin Integr Med, 2005, 3(5): 396-398

肩关节是类风湿性关节炎患者经常受累的部位, 关节的肿胀、疼痛, 以及肩关节囊、周围滑囊、肌腱等组织炎症反应均可引起肩关节粘连及活动受限, 严重影响患者的生活质量。我们在临床工作中对于此类患者应用中医手法进行了治疗。

#### 1 资料与方法

1.1 一般资料 2002 年 1 月~2005 年 3 月, 我们对 130 例 162 肩肩关节粘连进行了手法治疗。其中女 125 例 157 肩, 男 5 例 5 肩; 左侧 90 肩, 右侧

72 肩; 年龄 28~75 岁, 平均 48.6 岁。所有入选患者符合 1987 年美国风湿病学会所制定的类风湿性关节炎诊断标准, 平均类风湿性关节炎病程 11.2 年, 肩关节活动受限病史 1.3 年。肩关节治疗前活动范围: 外展 30~70°, 上举 60~150°, 前屈 40~60°, 后伸 20~45°。所有患者治疗前行肩关节正侧位 X 线摄片, 排除严重骨质疏松和关节间隙明显狭窄、消失等不宜行手法治疗的情况。上述病例按随机化原则分为 A、B 两组, A 组 68 例 85 肩, 其中男 3 例 3 肩, 左侧 47 肩, 右侧 38 肩; B 组 62 例

[作者简介] 冯国璋(1952-), 男, 副主任医师。  
Correspondence to: FENG Guo-Zhang, Associate Professor. E-mail: hernshall@msn.com