

## 实验研究

# 补益心脾对产后抑郁症大鼠模型 Th1/Th2 平衡细胞免疫调节作用的影响

王丹 赵瑞珍 曲森 李净娅 杨歆科 唐启盛

(北京中医药大学第三附属医院,北京,100029)

**摘要** 目的:观察产后抑郁症大鼠模型 Th1 和 Th2 细胞比例的变化并探讨参芪解郁方对产后抑郁症 Th1/Th2 平衡的调节作用机制。方法:选取 SD 雌性大鼠 90 只,随机分为正常组、模型组、假手术组、中药组、西药组,每组 6 只,设灌胃 1、2、4 周 3 个时间点。采用流式细胞术检测 3 个时间点各组大鼠外周血 Th1 细胞和 Th2 细胞比例,并计算 Th1/Th2 比值。结果:1 周模型组 Th1 及 Th2 细胞比例较正常组降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),2 周、4 周模型组较正常组升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );1 周模型组 Th1/Th2 比值较正常组升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),2 周、4 周模型组较正常组降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。3、1 周中药组 Th1 细胞比例较模型组升高,2 周、4 周中药组较模型组降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。1 周中药组 Th2 细胞比例较模型组升高( $P < 0.05$ );2 周、4 周中药组较模型组降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。1 周中药组 Th1/Th2 比值较模型组降低;2 周中药组较模型组升高( $P < 0.05$ ),4 周中药组升高明显,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论:Th1/Th2 平衡细胞参与产后抑郁症大鼠模型的发生发展,参芪解郁方通过对产后抑郁症 Th1/Th2 失衡状态的调节而发挥其效用。

**关键词** 产后抑郁症;补益心脾法;参芪解郁方;Th1 细胞;Th2 细胞;Th1/Th2 平衡;免疫;流式细胞术

## Effects of Nourishing the Heart and Spleen on Th1/Th2 Balance Cellular Immune Regulation in Postpartum Depression Rats

Wang Dan, Zhao Ruizhen, Qu Miao, Li Jingya, Yang Xinke, Tang Qisheng

(The Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

**Abstract Objective:** To observe the change of the proportion of Th1 cells to Th2 cells in postpartum depression (PPD) rats, and to explore the mechanism of Shenqi Jieyu Decoction (SJD) on regulating the balance of PPD Th1/Th2 from T cell immunity. **Methods:** A total of 90 female SD rats were divided into normal group, model group, sham-operated group, SJD group and medicine group with 6 rats in each group. The rats were administrated for 1, 2, and 4 weeks. The proportion of Th1 cells to Th2 cells in peripheral blood of each group was observed with flow cytometry in 3 times, and the ratio of Th1/Th2 was calculated. **Results:** Proportion of Th1 cells to Th2 cells in model group was lower than that in normal group ( $P < 0.01$ ); and it increased in 2-week and 4-week time point than that in normal group ( $P < 0.01$ ); Proportion of Th1 to Th2 in model group was increased in 1-week time point than that in normal group ( $P < 0.05$ ), while it was lower in 2-week and 4-week time point ( $P < 0.01$ ); Th1 cells in SJD group were increased in 1-week time point compared with that in model group ( $P > 0.05$ ), while it decreased in 2-week and 4-week time point ( $P < 0.01$ ). The proportion of Th2 cells in SJD group increased in 1-week time point compared with the model group ( $P < 0.05$ ), while it decreased in 2-week and 4-week time point ( $P < 0.01$ ). Proportion of Th1 to Th2 was decreased in SJD group in 1-week time point compared with that in model group ( $P > 0.05$ ); It was increased in the 2-week time point ( $P < 0.05$ ), while it increased in 4-week time point ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Imbalance in the ratio between Th1 and Th2 may be a potent pathogenesis of PPD, and therapeutic effect of SJD on PPD is worked by regulating Th1 cells and Th2 cells.

**Key Words** Postpartum depression; Nourishing heart and spleen; Shenqi Jieyu Decoction; Th1 cells; Th2 cells; The balance of Th1/Th2; Immune system; Flow cytometry

中图分类号:R289.5;R749 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.11.040

基金项目:教育部博士点基金项目优先发展领域(20130013130002);北京中医药大学创新团队项目(2011-CXTD-26);北京中医药大学自主选题资助项目(2015-JYB-JSMS140);北京中医药大学自主选题资助项目(2018-JYBZZ-JS164)

作者简介:王丹(1988.11—),女,硕士,主治医师,研究方向:中医药防治脑病,E-mail:63626587@163.com

通信作者:唐启盛(1956.02—),男,博士,教授、主任医师,博士研究生导师,E-mail:tangqisheng@263.net

产后抑郁症 (Postpartum Depression, PPD) 是目前常见的继发性抑郁症之一。在国外发病率高<sup>[1-2]</sup>, 国内发病 11.00%~23.25%<sup>[3]</sup>。由于患者产后处于哺乳期的特点, 西药治疗有一定不良反应, 而中医疗法则具有独特的优势。本课题组前期研究发现<sup>[4-8]</sup>, 自拟参芪解郁方通过改善调节下丘脑-垂体-肾上腺轴和下丘脑-垂体-性腺轴、单胺类神经递质及其相关代谢产物的变化, 达到治疗 PPD 的作用。近年来, 随着抑郁症的免疫学病因的逐步揭示, T 淋巴细胞介导的免疫平衡在妊娠期母体生殖免疫反应中发挥重要作用, 而 PPD 发病与 T 细胞免疫调节的关系有待进一步研究。本研究拟采用激素注射后突然停撤法大鼠模型, 进一步探讨 PPD 发病过程中机体免疫器官与免疫分子的改变, 通过观察 T 细胞亚群及其表面分化抗原 Th1、Th2 的水平, 阐释 PPD 发病过程中由 T 细胞免疫失衡介导免疫功能紊乱的机制; 同时应用补益心脾中药参芪解郁方进行干预, 明确该方剂对于 PPD 大鼠免疫系统 T 细胞亚群及其表面分化抗原的干预调节机制, 进一步完善补益心脾法治疗 PPD 的中医药理论体系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 选取健康雌性 SD 大鼠 90 只, 2 月龄, SPF 级, 体重 (200 ± 10) g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司 (动物许可证号: SCXK (京) 2012-0001), 相对湿度: 60%~70%, 室温: 20~22 °C, 光照周期: 12 h (7:00-19:00), 室内安静。

1.1.2 药物 参芪解郁方 (党参 12 g、郁金 15 g、黄芪 20 g 等) 配方颗粒来源北京康仁堂药业有限公司; 盐酸氟西汀胶囊 (礼来苏州制药有限公司, 批号: 2090A), 20 mg; 杭州动物药品厂苯甲酸雌二醇注射液 (批号: 140429), 上海通用药业股份有限公司黄体酮注射液 (批号: 131014)。

1.1.3 试剂与仪器 北京博雷德生物科技有限公司 PBS 稀释液, 天津灏洋生物制品科技有限责任公司外周血淋巴细胞分离液, 美国 Biologend 公司的 Cell Activation Cocktail (with Brefeldin A)、Alexa Fluor<sup>®</sup> 647 anti-rat CD3, FITC anti-rat CD4, PerCP anti-rat CD8a, PE anti-rat IFN- $\gamma$ , PE anti-rat IL-4, Cell staining Buffer, Fixation Buffer, Permeabilization Wash Buffer, 杭州四季青生物工程材料有限公司胎牛血清; RPMI-1640 培养基。

大鼠旷场测试箱: 规格为 80 cm × 80 cm × 40 cm, 木质材料, 底部及箱子内壁为黑色, 底部分为 25

块等大方格 (北京中医药大学中医学院中诊教研室)。OLYMPUS CKX41SF 倒置式显微镜 (日本 OLYMPUS 公司)、强迫游泳水缸: 规格为高 60 cm、直径 25 cm 的圆柱玻璃缸 (自购)。流式细胞仪 (美国 BD 公司, FACS Calibur Flow Cytometer System 型); CO<sub>2</sub> 恒温培养箱 (美国 Thermo 公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 购入大鼠进行适应性喂养 1 周后, 对实验大鼠进行敞箱测试 (Open-Field Test, OFT), 根据评分结果筛选合格动物随机分正常组、模型组、中药组、西药组、假手术组, 分别灌胃 1、2、4 周, 每时间点每组 6 只。分组完成后, 根据激素模拟妊娠状态突然停撤法<sup>[9]</sup> (Hormone-simulated Pregnancy, HSP) 制备模型。模型组、中药组、西药组 (切除双侧卵巢), 假手术组 (只摘除大鼠卵巢周围少许脂肪), 进行阴道涂片筛查挑选去势手术合格动物, 前 16 d 对卵巢完全切除的大鼠皮下注射雌二醇注射液 0.1 mL (2.5  $\mu$ g)/d、黄体酮注射液 0.2 mL (4 mg)/d, 后 7 d 注射雌二醇注射液 0.1 mL (50  $\mu$ g)/d, 于第 24 天停止注射; 而假手术组在前 16 d 皮下注射芝麻油 (0.3 mL/d), 后 7 d 注射芝麻油 (0.1 mL/d)。

1.2.2 干预药方法 在造模结束后对其进行药物干预, 灌胃体积: 1 mL/100 g。正常组、模型组及假手术组予以蒸馏水灌胃; 西药组给予盐酸氟西汀胶囊 (参照生药量 0.25 mg/mL 溶进蒸馏水, 置于 4 °C 冰箱备用, 用前进行加热); 中药组给予参芪解郁方 (按成人用量的 7 倍估算大鼠用量, 生药配比为 1.25 g/mL); 于 1、2、4 周分别进行行为学观察以及取材。

1.2.3 检测指标与方法 1) 大鼠行为学评价: 蔗糖水消耗实验: 蔗糖水消耗量 = 测定前瓶质量 - 测定后瓶质量 (g)。大鼠测试前均禁水 24 h, 再检测其 1 h 内蔗糖水 (1%) 的消耗量。

强迫游泳实验: 强迫游泳桶内注水, 保持水深 35 cm 左右, 水温 24~25 °C。将大鼠放入水中, 使其游泳 15 min, 结束后拭干。第 2 天在相同时间和相同条件下, 再将大鼠放入注水的强迫游泳桶中游 5 min, 记录 5 min 中大鼠的静止状态的时间。

旷场实验: 每次开始时将大鼠放至中心格, 使其自由活动。记录 5 min 内大鼠的水平得分和垂直得分。其中水平得分为穿越的格数, 以四肢都进入方格内为准; 垂直得分为直立次数, 以两前肢均需离地为准。为避免上次测试的大鼠残留信息如大小便、

气味影响测试结果,大鼠检测完毕后使用 70% 乙醇清洗旷场箱的内壁及底面。

造模后 1、2、4 周观察模型组与正常组、假手术组行为学变化,明确造模成功;同时观察中药组、西药组对大鼠行为学变化的影响。

2)应用流式细胞术检测 Th1、Th2 的细胞比例:在麻醉的情况下,取 4 mL 新鲜大鼠腹主动脉血液,离心弃血浆后再加磷酸盐缓冲液(PBS)2 mL,混匀;取 15 mL 的离心管并加入 5 mL 淋巴细胞分离液,再以 2 500 r/min 速度离心 20 min,吸取淋巴细胞层,使用 RPMI-1640 培养基洗涤 2 次,弃掉上清液;然后取外周血单个核细胞(Peripheral Blood Mononuclear Cells,PBMC)悬液 100  $\mu$ L;在每管加入 Per CP 抗大鼠 CD4 2  $\mu$ L,混匀后避光孵育 30 min;把 1  $\times$  Cell Activation Cocktail(with Brefeldin A)4  $\mu$ L 和 RPMI-1640 培养基 100  $\mu$ L 放入 5% CO<sub>2</sub>,37  $^{\circ}$ C 的恒温箱中培养 6 h;再入 Cell Staining Buffer,2 mL;以 2 000 r/min 速度,离心 5 min,4  $^{\circ}$ C,去掉上清液,加 Fixation Buffer0.5 mL 后避光 20 min 并离心,2 000 r/min 速度,持续 5 min,4  $^{\circ}$ C,去上清液;再加 2 次 1  $\times$  Permeabilization Wash Buffer1 mL;以 2 000 r/min 速度,离心 5 min,4  $^{\circ}$ C,弃上清液;加 PE 抗大鼠 IL-4,2  $\mu$ L 和 FITC 抗大鼠 IFN- $\gamma$ ,2  $\mu$ L;避光静置,20 min 并洗涤 2 次,Cell Staining Buffer2 mL;以 2 000 r/min 速度离心,持续 5 min,4  $^{\circ}$ C,去上清液再加 1% 多聚甲醛 0.2 mL,固定,用锡纸包好待检测。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件处理数据。计量资料以均值  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,符合正态分布者,多组间比较采用单因素方差分析,方差齐则采用 LSD 进行多重比较。不符合正态分布时采用非参数检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 行为学检测

2.1.1 蔗糖水消耗量测试 各时间点模型组大鼠蔗糖水消耗量均较正常组、假手术组降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );各时间点中药组、西药组大鼠蔗糖水消耗量均较模型组有所升高,且 2 周、4 周中药组、西药组较同时间点模型组升高明显,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而与正常组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),1 周中药组大鼠蔗糖水消耗量较模型组虽有所升高,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),1 周西药组大鼠蔗糖水消耗量较同时间点模型组升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

2.1.2 强迫游泳不动时间比较 各个时间点模型组大鼠强迫游泳实验(Forced Swimming Test,FST)不动时间均较假手术组和正常组明显延长,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );中药组、西药组大鼠 FST 不动时间各时间点均较模型组减少,2 周、4 周中药组、西药组较同时间点模型组减少明显,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),虽然 2 周中药组、西药组的不动时间明显减少,与正常组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),但 4 周的中药组和西药组大鼠不动时间与正常组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),1 周中药组和西药组大鼠 FST 不动时间较模型组虽有所减少,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而与 1 周正常组、假手术组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 1 5 组蔗糖水消耗量比较( $\bar{x} \pm s, g$ )

组别	1 周	2 周	4 周
正常组( $n=6$ )	11.43 $\pm$ 2.35	11.53 $\pm$ 1.25	11.08 $\pm$ 1.98
假手术组( $n=6$ )	11.20 $\pm$ 1.04	11.27 $\pm$ 1.19	10.88 $\pm$ 1.02
模型组( $n=6$ )	6.23 $\pm$ 1.22*	5.70 $\pm$ 1.15*	5.23 $\pm$ 1.86*
中药组( $n=6$ )	8.07 $\pm$ 1.35*	10.42 $\pm$ 1.11 $\Delta$	11.03 $\pm$ 1.18 $\Delta$
西药组( $n=6$ )	8.93 $\pm$ 2.07* $\Delta$	10.68 $\pm$ 1.25 $\Delta$	11.37 $\pm$ 1.33 $\Delta$

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

表 2 5 组强迫游泳不动时间比较( $\bar{x} \pm s, s$ )

组别	1 周	2 周	4 周
正常组( $n=6$ )	71.77 $\pm$ 21.96	75.71 $\pm$ 9.08	79.24 $\pm$ 6.73
假手术组( $n=6$ )	72.41 $\pm$ 7.16	75.58 $\pm$ 10.02	83.47 $\pm$ 6.93
模型组( $n=6$ )	144.13 $\pm$ 19.91*	149.15 $\pm$ 18.69*	146.98 $\pm$ 23.27*
中药组( $n=6$ )	128.23 $\pm$ 18.88*	98.73 $\pm$ 6.81* $\Delta$	84.86 $\pm$ 3.80 $\Delta$
西药组( $n=6$ )	121.48 $\pm$ 29.43*	96.8 $\pm$ 4.02* $\Delta$	83.92 $\pm$ 11.78 $\Delta$

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

2.1.3 旷场测试结果比较 1)水平得分:各时间点模型组大鼠 OFT 的水平得分较同时间点假手术组和正常组比较均显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );各时间点中药组和西药组大鼠的 OFT 水平得分较同时间点模型组明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),但 1 周、2 周中药组、西药组与同时间点正常组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而 4 周中药组、西药组大鼠 OFT 的水平得分与正常组,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 3。

表 3 各组大鼠不同时间点 OFT 水平得分比较( $\bar{x} \pm s, 分$ )

组别	1 周	2 周	4 周
正常组( $n=6$ )	96.67 $\pm$ 16.77	96.50 $\pm$ 11.26	96.33 $\pm$ 6.28
假手术组( $n=6$ )	94.67 $\pm$ 11.27	95.33 $\pm$ 7.26	95.00 $\pm$ 8.81
模型组( $n=6$ )	31.67 $\pm$ 6.83*	28.33 $\pm$ 4.46*	38.67 $\pm$ 11.38*
中药组( $n=6$ )	49.67 $\pm$ 7.09* $\Delta$	76.33 $\pm$ 5.89* $\Delta$	96.67 $\pm$ 4.37 $\Delta$
西药组( $n=6$ )	52.67 $\pm$ 7.97* $\Delta$	71.5 $\pm$ 6.92* $\Delta$	95.67 $\pm$ 5.89 $\Delta$

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

2)垂直得分:各时间点模型组大鼠 OFT 的垂直得分均较同时间点正常组、假手术组明显减少,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );各时间点中药组、西药组大鼠 OFT 的垂直得分均较模型组增加,2 周、4 周中药组、西药组较同时间点模型组增加明显,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),虽然 2 周中药组、西药组垂直得分明显增加,但与正常组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而 4 周的中药组与西药组的垂直得分与正常组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),1 周时中药组、西药组大鼠 OFT 的垂直得分较模型组虽有所增加,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而与 1 周正常组、假手术组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 5 组大鼠 OFT 垂直得分比较( $\bar{x} \pm s$ ,分)

组别	1 周	2 周	4 周
正常组( $n=6$ )	18.83 ± 3.55	18 ± 3.16	17.67 ± 2.42
假手术组( $n=6$ )	17.5 ± 2.95	17.17 ± 2.32	17.5 ± 3.62
模型组( $n=6$ )	5.83 ± 2.32*	3.67 ± 1.86*	8.33 ± 4.08*
中药组( $n=6$ )	8.17 ± 4.07*	12.83 ± 2.79* $\Delta$	16.83 ± 3.87 $\Delta$
西药组( $n=6$ )	8.67 ± 2.58*	13.17 ± 2.48* $\Delta$	15.33 ± 3.83 $\Delta$

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

2.1.4 外周血 Th1 细胞和 Th2 细胞比例比较 1) 外周血 Th1 细胞 1 周模型组大鼠外周血 Th1 细胞比例较正常组明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),2 周、4 周模型组较同时间点正常组明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );1 周中药组、西药组大鼠外周血 Th1 细胞比例虽然较模型组升高,但 1 周西药组与模型组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而 1 周中药组、西药组均与正常组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );2 周、4 周时中药组和西药组均与同时时间点的模型组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),在 2 周时中药组和西药组与同时时间点正常组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而 4 周中药组、西药组与同时时间点正常组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 5。见图 1。

表 5 4 组大鼠 Th1 比例比较( $\bar{x} \pm s$ ,%)

组别	1 周	2 周	4 周
正常组( $n=6$ )	6.48 ± 0.39	5.35 ± 0.29	5.12 ± 0.25
模型组( $n=6$ )	3.97 ± 0.27*	6.50 ± 0.66*	6.13 ± 0.28*
中药组( $n=6$ )	4.43 ± 0.43*	4.70 ± 0.28* $\Delta$	5.15 ± 0.24 $\Delta$
西药组( $n=6$ )	4.48 ± 0.44* $\Delta$	4.78 ± 0.47* $\Delta$	5.18 ± 0.20 $\Delta$

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

2)外周血 Th2 比例:1 周模型组大鼠外周血 Th2 细胞比例较正常组明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),2 周、4 周模型组较同时间点正常组明显升

高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );1 周中药组、西药组大鼠外周血 Th2 细胞比例虽然较模型组升高( $P < 0.05$ ),但与同时时间点正常组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );2 周、4 周中药组、西药组均较同时时间点模型明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),且与同时时间点正常组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 6。见图 2。

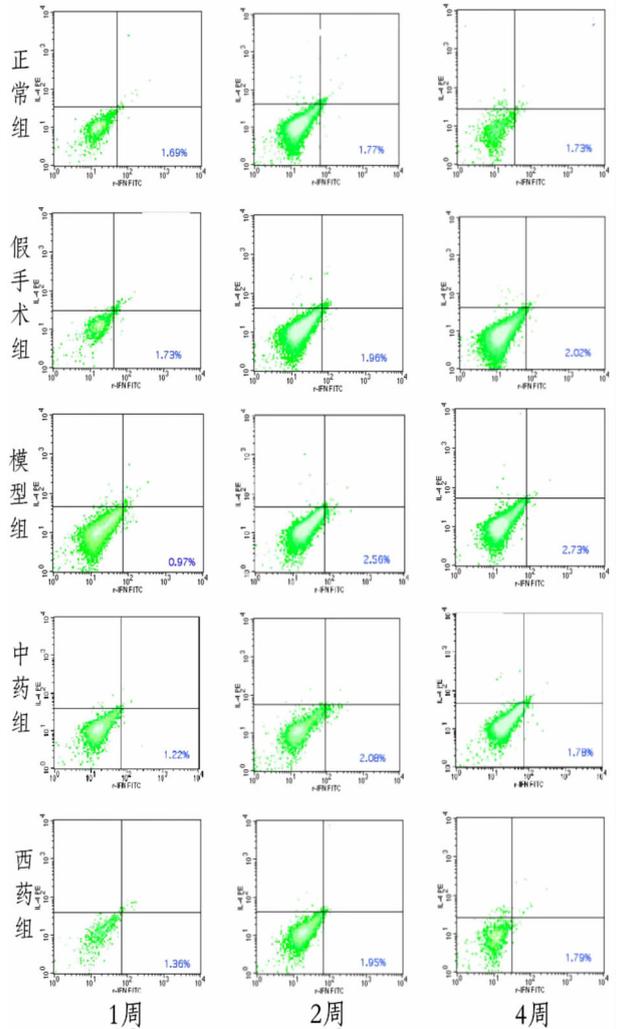


图 1 5 组 3 个时间点大鼠外周血 Th1 流式细胞

表 6 4 组大鼠 Th2 比例比较( $\bar{x} \pm s$ ,%)

组别	1 周	2 周	4 周
正常组( $n=6$ )	1.35 ± 0.15	1.03 ± 0.38	0.65 ± 0.1
模型组( $n=6$ )	0.68 ± 0.18*	3.15 ± 0.75*	1.30 ± 0.09*
中药组( $n=6$ )	0.90 ± 0.13* $\Delta$	1.15 ± 0.23 $\Delta$	0.63 ± 0.12 $\Delta$
西药组( $n=6$ )	0.88 ± 0.15* $\Delta$	1.18 ± 0.22 $\Delta$	0.62 ± 0.12 $\Delta$

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

3)外周血 Th1/Th2 比值:1 周模型组大鼠外周血 Th1/Th2 比值较正常组升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),2 周、4 周模型组较同时间点正常组明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );1 周中药组、

西药组大鼠外周血 Th1/Th2 比值虽然较模型组降低,与模型组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );2周、4周中药组、西药组均较同时间点模型升高( $P < 0.05$ ),且4周中药组、西药组升高明显,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而与同时间点正常组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );2周中药组、西药组虽较模型组升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),但与同时间点正常组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表7。

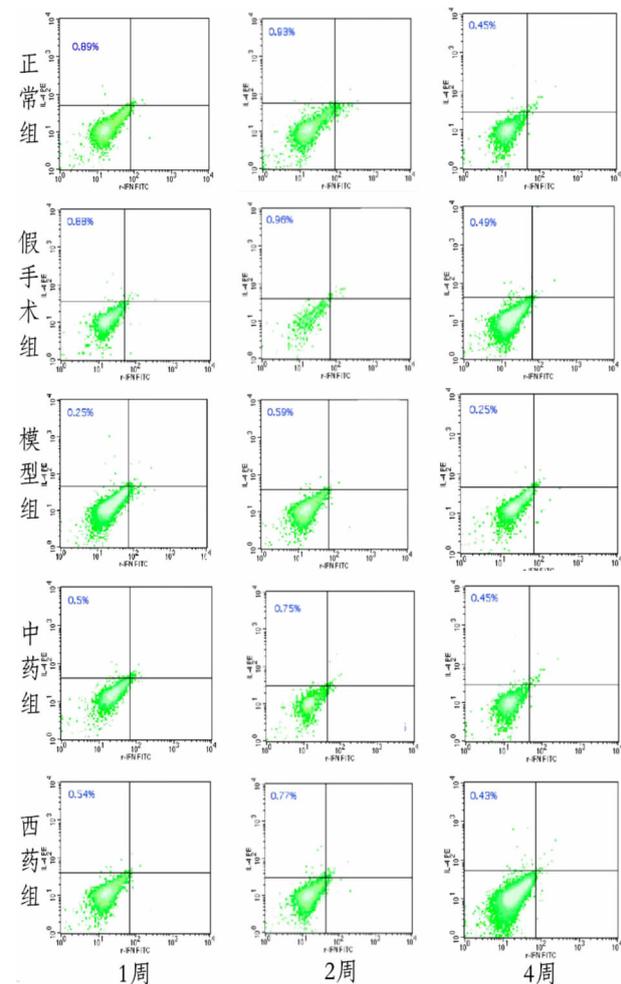


图2 5组大鼠外周血 Th2 流式细胞

表7 4组大鼠不同时间点 Th1/Th2 比值( $\bar{x} \pm s$ )

组别	1周	2周	4周
正常组(n=6)	4.86 ± 0.66	5.87 ± 2.33	8.08 ± 1.59
模型组(n=6)	6.13 ± 1.53*	2.24 ± 0.95*	4.73 ± 0.22*
中药组(n=6)	4.97 ± 0.47	4.19 ± 0.69 <sup>△</sup>	8.39 ± 1.65 <sup>△</sup>
西药组(n=6)	5.21 ± 1.05	4.14 ± 0.79 <sup>△</sup>	8.64 ± 1.53 <sup>△</sup>

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

### 3 讨论

辅助性 T 细胞 Th1 和 Th2(helper T cell,Th),是初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞 2 种不同功能的亚群,均来自于共同的前体细胞 Th0。Th1 与 Th2 细胞是 Th0 细胞发

展的 2 种形式。而 IFN- $\gamma$ 、IL-2 和 IL-4 都参与 Th1/Th2 细胞因子的调节作用。近些年来,发现 Th 细胞亚群及其细胞因子对于心理应激及抑郁症的发病及治疗中具有重要作用。现有研究主要集中在探讨抑郁症与 Th1/Th2 平衡状态的相关性方面,多数学者认为抑郁症以 Th1/Th2 比值升高为特点,表现为促炎性反应为主。Myint 等<sup>[10]</sup>研究表明,抑郁患者存在 Th1 和 Th2 细胞因子的失衡状态。亦有学者通过观察 IL-1 $\beta$ /IL-10 的比值来反映急性期抑郁症患者 Th1/Th2 平衡状态,结果可见抑郁患者 IL-1 $\beta$ /IL-10 的比值明显升高,说明 Th1/Th2 失衡对急性期抑郁症发病起重要作用<sup>[11]</sup>。目前有关 PPD 发病与 Th1/Th2 平衡状态的关系报道相对较少,新近有学者发现,产后精神病患者 Th1 细胞数在产后 4 周时明显降低<sup>[12]</sup>。

本研究中实验 HSP 大鼠模型 Th1 细胞比例在造模后 1 周时明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),2 周和 4 周时明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),同时模型组大鼠行为学评分与正常组、假手术组比较,差异有统计学意义;中、西药物治疗 4 周时恢复正常;Th2 细胞比例在各时间点均明显减少,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),经中药、西药干预 4 周后恢复正常;Th1/Th2 比值在各时间点均明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),治疗 4 周后恢复正常。在 Th1、Th2 以及 Th1/Th2 的数量变化上,中药组和西药组在 1、2、4 周时所显示出的变化趋势均为第 1 周接近模型组,即以手术后引起的变化为主。而随着时间延长,这种数量变化水平逐渐接近正常组,即以药物的干预作用为主;同时,在大鼠行为学变化,即蔗糖水消耗量、强迫游泳不动时间、OFT 水平得分及垂直得分上,中药组、西药组这种变化趋势也符合其 Th1、Th2 以及 Th1/Th2 比值的变化趋势,这说明大鼠外周血细胞中 Th1、Th2 以及 Th1/Th2 的数量变化可以直接或间接影响大鼠行为学变化,即影响其抑郁变化水平;而中药、西药组即通过调整大鼠外周血 Th1、Th2 以及 Th1/Th2 的数量变化而影响大鼠行为学变化,对大鼠的抑郁状态进行干预;同时,上述结果也说明,PPD 大鼠 Th1 和 Th2 细胞比例较正常大鼠均有不同,主要体现在以 Th1 细胞比例先降低后再升高,在造模后 1 周时 Th2 细胞比例降低,Th1/Th2 比值升高,进一步表明在造模后 1 周时,PPD 大鼠体内主要以炎症反应为主。在造模后 2 周和 4 周时间点,HSP 大鼠 Th2 细胞比例降低,Th1/Th2 比值升高,大鼠与造模 1 周时相

同,均以促炎性反应为主,进一步表明 HSP 模型大鼠处于炎症反应状态。

Th1 和 Th2 细胞亚群是一组动态平衡的细胞因子,一旦失去平衡则可出现相关免疫学病理产物,从而引发疾病。近年研究发现,正常机体 Th1 和 Th2 细胞间保持着类似于“阴阳消长”的动态平衡,亦与中医学虚实变化相契合<sup>[13-14]</sup>。有学者认为,实证与虚证时的失衡状态有规律可循<sup>[15]</sup>:当 Th1 型细胞因子占优势时,表现为细胞免疫亢进,产生炎症反应与实证表现;当 Th2 型细胞因子占优势时,提示免疫抑制与虚证表现。相关实验研究表明,实证与虚证时的 Th1/Th2 失衡状态具有一定的规律性。有学者通过 RT-PCR 检测小鼠脾单个细胞核中 Th1/Th2 2 类细胞因子的表达,发现阴虚和阳虚小鼠 2 类细胞因子的表达均受到明显抑制,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),阳虚小鼠 Th1 类细胞因子 IFN- $\gamma$ mRNA 抑制率明显高于阴虚小鼠,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),IFN- $\gamma$ /IL-10 比值显著增高( $P < 0.05$ ),实验表明阴阳失调小鼠 Th1/Th2 平衡发生漂移,阴虚小鼠较阳虚小鼠的 Th1 类细胞因子处于相对的表达优势<sup>[16]</sup>。有学者应用四君子汤干预脾虚证大鼠,观察其 Th1/Th2 平衡状态的变化,发现大鼠 IFN- $\gamma$ mRNA 的表达显著降低;而 IL-4mRNA 的表达却明显升高, Th2 细胞占据优势<sup>[17]</sup>;在由四君子汤干预后,IFN- $\gamma$ mRNA 的表达上调,而 IL-4mRNA 的表达则下调至正常水平。此外,补中益气汤也能够削减 Th2 的优势,调节机体 Th1/Th2 的平衡,进而可以治疗时中气虚等证<sup>[18]</sup>。有学者亦指出阴虚证、阳虚证共同表现为 Th1/Th2 比值降低<sup>[19]</sup>,阴阳失调时 Th1/Th2 比值升高。据此可以推测,实验中 HSP 模型大鼠在造模后 1 周、2 周和 4 周时外周血 Th1/Th2 比值升高,向 Th1 型细胞因子偏移,提示此模型 PPD 大鼠可能处于本虚标实状态;体现了 PPD 由本虚标实证向本虚证转化的动态过程,与中医学理论相契合,而通过中医补益心脾法治疗其 Th1/Th2 失衡状态效果显著。由此亦可认为,以补益心脾法遣方而成之参芪解郁方在治疗 PPD 本虚标实证状态时,可通过削弱 Th1 优势引发的促炎性反应而发挥作用;而对于 PPD 本虚证状态时,是通过削减 Th2 优势产生的抑炎性反应,调节机体 Th1/Th2 的失衡状态,从而对 PPD 的疾病过程发挥补益心脾,调气祛瘀,颐脑醒神的作用,而正是通过这一系列免疫调节从而发挥其治疗作用。

#### 参考文献

[1] Lanes A, Kuk JL, Tamim H. Prevalence and characteristics of postpar-

tum depression symptomatology among Canadian women: a cross-sectional study[J]. BMC Public Health, 2011, 11:302.

[2] Baker L, Cross S, Greaver L, et al. Prevalence of postpartum depression in a native American population [J]. Matern Child Health J, 2005, 9(1):21-25.

[3] 张巍, 安力彬, 刘媛. 产后抑郁研究进展 [J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(14):2227-2229.

[4] 李小黎, 杨敬科, 唐启盛, 等. 参芪解郁方对产后抑郁大鼠行为学与脑组织形态学改变的干预研究 [J]. 北京中医药, 2013, 32(3):177-182.

[5] 杨敬科, 唐启盛, 朱明瑾, 等. 参芪解郁方对产后抑郁大鼠神经内分泌系统相关激素变化的干预研究 [J]. 北京中医药, 2013, 32(3):188-194.

[6] 赵瑞珍, 杨敬科, 唐启盛, 等. 参芪解郁方对产后抑郁大鼠脑组织 ER 表达分布的干预研究 [J]. 北京中医药, 2013, 32(3):195-199.

[7] 侯秀娟, 唐启盛, 杨敬科, 等. 参芪解郁方对产后抑郁大鼠单胺递质及其代谢产物变化的干预研究 [J]. 北京中医药, 2013, 32(3):182-188.

[8] 曲森, 李净娅, 唐启盛, 等. Treg/Th17 平衡对产后抑郁大鼠的影响及参芪解郁方的细胞免疫调节作用 [J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(5):1452-1458.

[9] Galea LA, Wide JK, Barr AM. Estradiol alleviates depressive-like symptoms in a novel animal model of post-partum depression [J]. Behav Brain Res, 2001, 122(1):1-9.

[10] Myint AM, Leonard BE, Steinbusch HW, et al. Th1, Th2, and Th3 cytokine alterations in major depression [J]. J Affect Disord, 2005, 88(2):167-173.

[11] Huang TL, Lee CT. T-helper 1/T-helper 2 cytokine imbalance and clinical phenotypes of acute-phase major depression [J]. Psychiatry Clin Neurosci, 2007, 61(4):415-420.

[12] Bergink V, Burgerhout KM, Weigelt K, et al. Immune system dysregulation in first-onset postpartum psychosis. [J]. Biol Psychiatry, 2013, 73(10):1000-1007.

[13] 吴浩, 常雅萍. TH1 型/TH2 型细胞因子与妊娠的免疫调节 [J]. 国外医学:免疫学分册, 1999, 22(2):57-60.

[14] 周洪伟, 姚榛祥. TH1/TH2 转换与移植耐受 [J]. 国外医学:免疫学分册, 1999, 22(4):231-234.

[15] 吴婷婷, 汪悦. Th1/Th2 平衡紊乱与中医证本质之关系 [J]. 现代中西医结合杂志, 2006, 15(6):827-828.

[16] 姚成芳, 蔡生业, 王丽, 等. 阴虚与阳虚动物模型中 Th1/Th2 类细胞因子表达的差异性 [J]. 山东中医杂志, 2004, 23(3):166-168.

[17] 郑爱华, 李家邦, 蔡光先, 等. 肝气郁结证与脾气虚证的 Th 细胞分化中的相关性实验研究 [J]. 中国医师杂志, 2004, 6(3):357-359.

[18] 谢峥伟. 汉方药影响 Th1/Th2 平衡的疗效研究 [J]. 国外医学:中医中药分册, 2002, 26(6):335-337.

[19] 王宇鹤, 胥冰, 席孝贤. 论中医阴阳平衡与 Th1/Th2 平衡 [J]. 陕西中医学院学报, 2008, 31(2):5-6.