

# 基于TLR4/NF- $\kappa$ B通路探讨柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠的影响

孟宗德<sup>1,2</sup>, 吕静静<sup>2,3\*</sup>, 赵霞<sup>1</sup>

(1. 河北省中医院综合内科, 河北 石家庄 050000; 2. 河北省中西医结合胃肠病研究重点实验室, 河北 石家庄 050000; 3. 河北省中医院脾胃病科, 河北 石家庄 050000)

**摘要:** **目的** 探讨柴胡疏肝散对反流性食管炎的改善作用。**方法** 110只成年雄性SD大鼠随机选取20只为假手术组, 其余大鼠行改良贲门部分肌切开术结合外置幽门部分结扎术构建反流性食管炎模型。建模成功的80只大鼠随机分为模型组、柴胡疏肝散组(9.6 g/kg)、西药组(雷贝拉唑钠2.1 mg/kg+枸橼酸莫沙比利1.6 mg/kg)、联合用药组, 每组20只。观察食管下段黏膜病变情况, HE染色观察食管组织病理学变化, 甲苯胺蓝改良法染色观察肥大细胞的数量和脱颗粒率, RT-qPCR法和Western blot法检测食管组织TLR4、NF- $\kappa$ B p65 mRNA和蛋白表达, ELISA法检测食管组织TNF- $\alpha$ 、IL-8、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平, 免疫投射比浊法检测血清IgA水平, 放射免疫法检测食管组织SIgA水平。**结果** 与假手术组比较, 模型组大鼠食管黏膜肉眼可见红色、点片状糜烂、充血和增生的白斑, 食管组织TNF- $\alpha$ 、IL-8、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平及TLR4、NF- $\kappa$ B p65 mRNA和蛋白表达升高( $P < 0.05$ ), 肥大细胞数量和脱颗粒率增加( $P < 0.05$ ), 血清IgA水平和食管组织SIgA水平降低( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 各给药组大鼠食管黏膜病理状态改善, 食管组织TNF- $\alpha$ 、IL-8、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平及TLR4、NF- $\kappa$ B p65 mRNA和蛋白表达降低( $P < 0.05$ ), 肥大细胞数量和脱颗粒率减少( $P < 0.05$ ), 血清IgA水平和食管黏膜组织SIgA水平降低( $P < 0.05$ ), 以联合用药组最显著( $P < 0.05$ )。**结论** 柴胡疏肝散与雷贝拉唑、莫沙比利联合使用可以改善反流性食管炎大鼠的食管黏膜损伤程度, 三者发挥协同作用, 可能作用机制为激活TLR4/NF- $\kappa$ B转导途径发挥免疫调节作用, 减轻食管黏膜组织炎症, 从而改善食管黏膜病理状态、增强食管上皮屏障功能。

**关键词:** 柴胡疏肝散; 反流性食管炎; 雷贝拉唑; 莫沙比利; TLR4/NF- $\kappa$ B转导途径; 免疫调节; 炎症因子

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2025)03-0953-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.03.040

反流性食管炎是临床常见的胃食管反流疾病之一<sup>[1]</sup>, 发病原因复杂, 包括食管高度敏感、黏膜防护功能减弱等<sup>[2-3]</sup>。质子泵抑制剂是治疗反流性食管炎的首选药物, 但长期使用会导致胃肠炎、慢性肾脏损伤等不良反应, 部分患者会对药物产生依赖性, 此外, 单纯使用质子泵抑制剂存在疾病复发的风险<sup>[4]</sup>。鉴于此, 开发更有效的治疗策略具有极其重要的意义。柴胡舒肝散是出自《景岳全书》的经典名方, 具有活血止痛、疏肝理气之功, 近年来临床实践发现, 该方剂治疗反流性食管炎临床效果良好<sup>[5-6]</sup>。另外, 中药多糖具有免疫调节活性, 机制可能与TLR信号转导途径密切相关, TLR4可以激活适应性免疫相关基因, 还在中药调控机体免疫功能、激活NF- $\kappa$ B途径、促进炎症因子释放等过程中发挥重要作用<sup>[7-9]</sup>。目前关于柴胡舒肝散治疗反流性食管炎的研究较多, 但关于柴胡舒肝散改善食管黏膜屏障功能的作用机制, 以及TLR4/NF- $\kappa$ B转导途径介导反流性食管炎免疫调节过程之间的关系尚需进一步研究。本研究建立反流性食管炎大鼠模型, 研究柴胡舒肝散对大

鼠食管组织中TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路的表达及其对免疫调节功能的影响, 旨在揭示柴胡舒肝散干预反流性食管炎的潜在作用机制, 为其临床应用提供更加坚实的理论支持。

## 1 材料

1.1 动物 SPF级健康SD雄性大鼠110只, 体质量250~280 g, 购自河南康达实验动物有限公司, 饲养于郑州大学医学部实验动物中心[实验动物使用许可证号SYXK(豫)2020-0043], 环境温度20~28℃, 相对湿度(50 $\pm$ 5)%, 自由进食全价营养饲料和清洁饮用水。本研究经郑州大学医学部动物实验伦理委员会批准(伦理批号HB20220215002)。

1.2 药物 柴胡舒肝散由柴胡、白芍、赤芍、炙甘草、川芎、炙甘草、香附各10 g, 陈皮15 g组成, 饮片购自安国市一方药业有限公司。饮片加10倍量超纯水浸泡30 min, 大火煮沸后转文火再煮30 min, 药渣加入8倍量水再次煎煮, 合并药液过滤, 浓缩成质量浓度为0.96 g/mL的柴胡疏肝散生药液, 备用。

雷贝拉唑钠肠溶片购自双鹤药业(海南)有限责任公

**收稿日期:** 2024-07-28

**基金项目:** 河北省中医药管理局科研计划项目(2020020, 2021072)

**作者简介:** 孟宗德, 男, 硕士, 主治医师, 从事消化系统疾病的基础与临床研究。Tel: 15100186831, E-mail: 103458123@qq.com

\* **通信作者:** 吕静静, 女, 硕士, 主治医师, 从事消化系统疾病的基础与临床研究。Tel: 15100175391, E-mail: 15100175391@

司,批号 20200106;枸橼酸莫沙必利片购自江苏豪森药业集团有限公司,批号 A20200306。

1.3 试剂 鼠 TLR4 抗体、NF- $\kappa$ B p65 抗体、GAPDH 抗体、TNF- $\alpha$ 、IL-6 ELISA 试剂盒 (英国 Abcam 公司,货号 ab22048、ab288751、ab8245、ab208348、ab222503); RT-qPCR 试剂盒 (上海翌圣生物科技股份有限公司,货号 11214ES80); IL-8、IL-1 $\beta$  ELISA 试剂盒 (武汉赛培生物有限公司,货号 SP12278、SP12225); IgA/SIgA 测定试剂盒 [西门子医学诊断产品 (上海) 有限公司,货号 OSAR09]。

1.4 仪器 RT-qPCR 仪 (型号 7500Fast)、冷冻高速离心机 (型号 Sorvall LYNX 4000)、分光光度计 (型号 NanoDrop Eight)、Western blot 凝胶电泳系统 (型号 SureLock Tandem) (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 化学发光成像系统 (美国 GE 公司,型号 Image Quant LAS 4000)。

## 2 方法

2.1 造模 参考文献 [10] 报道,10% 水合氯醛麻醉大鼠,行贲门肌切开手术,将直径为 4 mm 的金属棒放置于大鼠的幽门外侧,完成结扎后取出金属棒。术后大鼠可以自由饮用糖盐水。术后 24 h 内禁食,随后按每天 15 g 饲料喂食 3 d,后增加至每天 30 g 喂养 4 d。7 d 后,随机挑选 3 只大鼠评估造模是否成功,观察是否出现轻度及轻度以上的病理改变,共 80 只大鼠造模成功,7 只大鼠因为幽门梗阻、感染或过度失血等原因死亡。造模前选取 20 只大鼠为假手术组,采用相同的麻醉和开腹程序,但仅将胃部提起暴露于空气中 10 min 后缝合并关闭腹腔,饲养模式同造模大鼠,未出现死亡情况。

2.2 分组及给药 80 只反流性食管炎大鼠随机分为模型组、柴胡疏肝散组、西药组、联合用药组,每组 20 只。柴胡疏肝散组灌胃给予 9.6 g/kg 柴胡疏肝散原药液;西药组大鼠灌胃给予西药混悬液 (含雷贝拉唑钠 2.1 mg/kg 和枸橼酸莫沙比利 1.6 mg/kg);联合用药组大鼠同时灌胃给予柴胡疏肝散原药液和西药混悬液,剂量与柴胡疏肝散组和西药组相同;假手术组和模型组大鼠灌胃给予等体积无菌蒸馏水,每天 1 次,连续 14 d。

2.3 取材 给药结束后,所有大鼠均禁食不禁水 24 h,10% 水合氯醛麻醉,每只大鼠心脏抽取 5 mL 血液,离心后收集上清液,-20℃ 冷冻保存备用。行腹腔开放手术截取 2.0 cm 食管组织,纵向切开,生理盐水洗净,每个样本分为 3 份,2 份于-80℃ 冷冻保存,另 1 份用 4% 多聚甲醛固定。

2.4 观察食管下段黏膜病变情况 通过肉眼和光学显微镜观察评估食管黏膜的病变情况并记录,食管黏膜的病理形态分级依据《反流性食管炎诊断及治疗指南 (2003 年)》<sup>[11]</sup>,标准见表 1。

2.5 HE 染色观察食管组织病理学变化 食管组织经 4% 多聚甲醛固定后,全自动组织脱水浸蜡,石蜡包埋,切片;常规脱蜡、水化、苏木素染色、氨水返蓝、伊红染色、脱

表 1 反流性食管炎病理形态分级

病理改变	分级		
	轻度	中度	重度
鳞状上皮增生	+	+	+
黏膜固有层乳头延伸	+	+	+
上皮细胞层内炎细胞浸润	+	+	+
黏膜糜烂	/	+	/
溃疡形成	/	/	+
Barrett 食管改变	/	/	+

水封片;光镜下观察各组大鼠食管组织病理情况并采集图像。病理评分按照表 1 中病例形态进行相应评分,正常状态为 0 分,轻度为 1 分,中度为 2 分,重度为 3 分。

2.6 甲苯胺蓝改良法染色观察食管组织肥大细胞数量和脱颗粒率 取“2.5”项下未经染色的食管组织石蜡切片,烤片,二甲苯、乙醇梯度脱蜡水化,蒸馏水浸洗 2~3 次,加入甲苯胺蓝染色液染色 30 min,洗去多余染色液,95% 乙醇分色,显微镜下控制分色效果,乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂胶封片,观察肥大细胞形态,记录肥大细胞数量。正常肥大细胞呈圆形或椭圆形,细胞轮廓清晰,胞膜光滑完整,颗粒呈红紫色,胞核呈蓝色,而发生脱颗粒的肥大细胞形态多样,胞膜凹凸不平,颗粒外溢,细胞周围有散在的颗粒痕迹,颗粒完全脱出时细胞呈空泡状,计算肥大细胞脱颗粒率,公式为脱颗粒率=(脱颗粒细胞数/肥大细胞总数)×100%。

2.7 RT-qPCR 法检测食管组织 TLR4、NF- $\kappa$ B p65 mRNA 表达 取大鼠食管组织制成组织匀浆,TRIzol 试剂提取总 RNA,检测总 RNA 浓度;按照反转录试剂盒进行逆转录,反应条件为 42℃ 30 min,85℃ 5 s;使用 qPCR 试剂盒进行扩增反应,反应条件为 95℃ 预变性 35 s;95℃ 变性 15 s,60℃ 30 s,共 40 个循环,以  $\beta$ -actin 为内参,使用 2<sup>- $\Delta\Delta$ CT</sup> 法进行相对定量处理。引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成,引物序列见表 2。

表 2 引物序列

基因	引物序列 (5'→3')
TLR4	正向 GCCTTTCAGGGAATTAAGCTCC
	反向 GATCAACCGATGGACGTGTAAA
NF- $\kappa$ B p65	正向 ACGATCTGTTTCCCCTCATC
	反向 TGCTTCTCTCCCAGGAATA
$\beta$ -actin	正向 TCAGTTCATCACTATCGGCAAT
	反向 AAAGAAAGGCTGTAAAACGCA

2.8 Western blot 法检测食管组织 TLR4、NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达 含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 缓冲液裂解大鼠食管组织,提取蛋白,BCA 法检测蛋白含量,取等质量蛋白进行变性,加入蛋白上样缓冲液后冷冻保存备用。制备 10% SDS-PAGE,上样,电泳,湿转法转移至 PVDF 膜,封闭液室温封闭 1 h,分别加入 TLR4 (1:500)、NF- $\kappa$ B p65 (1:3000) 抗体,4℃ 孵育过夜,次日洗涤后加入 HRP 二抗 (1:10000) 室温孵育 2 h,ECL 法显影曝光,以 GAPDH 为内参,通过 Quantity One 软件进行图像分析并计

算蛋白灰度值。

2.9 ELISA法检测大鼠食管组织TNF- $\alpha$ 、IL-8、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平 严格按照试剂盒说明书步骤，取食管组织加入PBS缓冲液充分冰浴研磨，匀浆液离心后取上清液，在450nm波长处检测光密度值，计算大鼠食管组织TNF- $\alpha$ 、IL-8、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平。

2.10 血清IgA和食管组织SIgA水平检测 严格按照试剂盒说明书步骤，采用免疫投射比浊法检测血清IgA水平，放射免疫法检测食管组织SIgA水平。

2.11 统计学分析 通过SPSS 19.0软件进行处理，计量资料以( $\bar{x}\pm s$ )表示，组间比较采用t检验，符合正态分布且方差齐采用单因素方差分析，方差不齐采用Tukey's HSD检验；计数资料以百分率表示，组间比较采用卡方检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

3.1 柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠食管下段黏膜病变的影响 假手术组大鼠的食管黏膜为健康状态，外观红润、光滑，无炎症反应或黏膜损伤的迹象；与假手术组比较，模型组大鼠食管黏膜病理形态分级评分升高( $P<0.05$ )，食管黏膜外观为红色，可见点状或片状的充血、糜烂，增生白斑或溃疡；与模型组比较，各给药组大鼠食管黏膜病理形态分级评分降低( $P<0.05$ )，以联合用药组最显著( $P<0.05$ )，其中柴胡疏肝散组和西药组部分大鼠食管黏膜

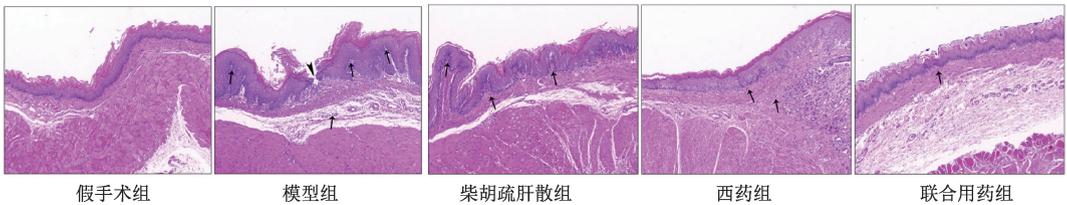
出现水肿，无溃疡或糜烂，联合用药组极少数大鼠食管黏膜出现轻度水肿或充血，无糜烂或溃疡的现象，见表3。

表3 柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠食管下段黏膜病变的影响( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=20$ )

组别	肉眼分级/例				评分/分
	正常	轻度	中度	重度	
假手术组	20	0	0	0	0
模型组	0	5	10	5	2.23 $\pm$ 0.58*
柴胡疏肝散组	3	10	5	2	0.85 $\pm$ 0.23** $\blacktriangle$
西药组	4	9	5	2	0.79 $\pm$ 0.21** $\blacktriangle$
联合用药组	10	7	3	0	0.31 $\pm$ 0.15**

注：与假手术组比较，\* $P<0.05$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ；与联合用药组比较， $\blacktriangle P<0.05$ 。

3.2 柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠食管黏膜病理学变化的影响 假手术组大鼠食管组织结构无显著的炎症反应；与假手术组比较，模型组大鼠食管黏膜病理学分级评分升高( $P<0.05$ )，可见大量炎性细胞浸润和黏膜溃疡或损伤；与模型组比较，各给药组大鼠食管黏膜病理学分级评分降低( $P<0.05$ )，以联合用药组最显著( $P<0.05$ )，其中柴胡疏肝散组和西药组大鼠食管黏膜仅有少量炎性细胞浸润，无溃疡或损伤现象，可见食管基底细胞和鳞状上皮的增生和增厚，固有层乳头延伸程度的显著减轻，联合用药组仅少数样本可见少量炎性细胞浸润，无黏膜溃疡或损伤的迹象，见图1、表4。



注：细箭头处可见炎性细胞或黏膜固有层乳头延伸，粗箭头处可见黏膜糜烂。

图1 各组大鼠食管黏膜组织病理学图(HE,  $\times 100$ )

表4 柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠食管黏膜病理学变化的影响( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=20$ )

组别	病理学分级/例				评分/分
	正常	轻度	中度	重度	
假手术组	20	0	0	0	0
模型组	0	6	9	5	2.01 $\pm$ 0.47*
柴胡疏肝散组	3	9	6	2	0.92 $\pm$ 0.34** $\blacktriangle$
西药组	4	9	5	2	0.65 $\pm$ 0.27** $\blacktriangle$
联合用药组	10	8	2	0	0.29 $\pm$ 0.23**

注：与假手术组比较，\* $P<0.05$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ；与联合用药组比较， $\blacktriangle P<0.05$ 。

3.3 柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠食管组织肥大细胞数量及脱颗粒率的影响 与假手术组比较，模型组大鼠食管组织肥大细胞数量和脱颗粒率增加( $P<0.05$ )；与模型组比较，各给药组大鼠食管组织肥大细胞数量和脱颗粒率减少( $P<0.05$ )，以联合用药组最显著( $P<0.05$ )，见表5。

3.4 柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠食管组织TLR4、NF- $\kappa B$  p65 mRNA表达的影响 与假手术组比较，模型组大鼠

表5 柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠食管组织肥大细胞数量及脱颗粒率的影响( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=20$ )

组别	肥大细胞总数/个	脱颗粒率/%
假手术组	5.28 $\pm$ 1.45	13.25 $\pm$ 3.27
模型组	25.68 $\pm$ 2.36*	38.69 $\pm$ 4.14*
柴胡疏肝散组	12.05 $\pm$ 1.89** $\blacktriangle$	18.62 $\pm$ 2.98** $\blacktriangle$
西药组	11.85 $\pm$ 1.65** $\blacktriangle$	19.41 $\pm$ 2.75** $\blacktriangle$
联合用药组	7.96 $\pm$ 1.88**	15.08 $\pm$ 3.56**

注：与假手术组比较，\* $P<0.05$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ；与联合用药组比较， $\blacktriangle P<0.05$ 。

食管组织TLR4、NF- $\kappa B$  p65 mRNA表达升高( $P<0.05$ )；与模型组比较，各给药组大鼠食管组织TLR4、NF- $\kappa B$  p65 mRNA表达降低( $P<0.05$ )，以联合用药组最显著( $P<0.05$ )，见表6。

3.5 柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠食管组织TLR4、NF- $\kappa B$  p65蛋白表达的影响 与假手术组比较，模型组大鼠食管组织TLR4、NF- $\kappa B$  p65蛋白表达升高( $P<0.05$ )；与模型组比较，各给药组大鼠食管组织TLR4、NF- $\kappa B$  p65蛋白

表达降低 ( $P < 0.05$ ), 以联合用药组最显著 ( $P < 0.05$ ), 见表7、图2。

**表6 柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠食管组织 TLR4、NF-κB p65 mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 20$ )**

组别	TLR4	NF-κB p65
假手术组	0.45±0.36	0.88±0.65
模型组	63.27±16.69*	58.85±20.14*
柴胡疏肝散组	22.47±15.36*#▲	23.71±11.20*#▲
西药组	23.25±14.96*#▲	22.41±12.37*#▲
联合用药组	11.20±5.63*#	9.74±6.56*#

注: 与假手术组比较, \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较, # $P < 0.05$ ; 与联合用药组比较, ▲ $P < 0.05$ 。

**表7 柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠食管组织 TLR4、NF-κB p65 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 20$ )**

组别	TLR4	NF-κB p65
假手术组	0.10±0.01	0.45±0.05
模型组	0.65±0.08*	0.95±0.12*
柴胡疏肝散组	0.23±0.03*#▲	0.69±0.10*#▲
西药组	0.24±0.05*#▲	0.68±0.08*#▲
联合用药组	0.18±0.03*#	0.56±0.06*#

注: 与假手术组比较, \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较, # $P < 0.05$ ; 与联合用药组比较, ▲ $P < 0.05$ 。

**表8 柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠食管组织 TNF-α、IL-8、IL-6、IL-1β 水平的影响 (pg/mL,  $\bar{x} \pm s, n = 20$ )**

组别	TNF-α	IL-8	IL-6	IL-1β
假手术组	109.26±10.31	1 233.28±93.20	130.24±15.78	530.27±50.36
模型组	169.25±12.06*	2 943.69±200.14*	435.72±22.36*	1 447.21±121.74*
柴胡疏肝散组	133.97±11.48*#▲	1 468.71±82.98*#▲	195.13±18.49*#▲	698.13±65.41*#▲
西药组	130.91±12.54*#▲	1 429.41±92.75*#▲	189.62±17.52*#▲	689.64±62.58*#▲
联合用药组	120.22±13.60*#	1 304.08±100.56*#	149.69±16.80*#	582.41±66.84*#

注: 与假手术组比较, \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较, # $P < 0.05$ ; 与联合用药组比较, ▲ $P < 0.05$ 。

**表9 柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠血清 IgA 和食管组织 SIgA 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 20$ )**

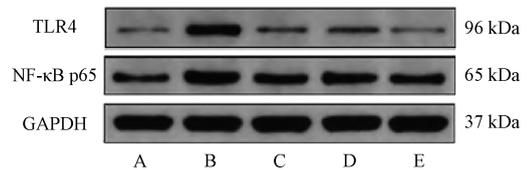
组别	血清 IgA/(mg·L <sup>-1</sup> )	食管组织 SIgA/(mg·L <sup>-1</sup> )
假手术组	1.81±0.32	53.62±6.68
模型组	0.50±0.10*	30.89±5.14*
柴胡疏肝散组	1.33±0.27*#▲	44.71±5.20*#▲
西药组	1.35±0.27*#▲	45.47±5.06*#▲
联合用药组	1.62±0.30*#	49.74±6.51*#

注: 与假手术组比较, \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较, # $P < 0.05$ ; 与联合用药组比较, ▲ $P < 0.05$ 。

#### 4 讨论

反流性食管炎是一种常见消化道疾病, 严重影响患者生活质量<sup>[12-13]</sup>。西医将质子泵抑制剂作为治疗反流性食管炎的首选药物, 但亦存在反复发作等不足<sup>[14]</sup>。中医治疗反流性食管炎的基本原则是“疏肝理气, 和胃降逆”<sup>[15]</sup>, 推荐使用柴胡疏肝散结合左金丸加减法进行治疗。近年研究表明, 中药汤剂与西药联合治疗反流性食管炎的效果优于单一疗法, 且能降低复发风险和药物副作用<sup>[16-17]</sup>。

本研究首先建立大鼠反流性食管炎模型, 观察到各给药组大鼠食管黏膜组织病理状态均得到改善, 且以联合用药组改善最大, 提示联合用药具有显著治疗作用。免疫和



注: A 为假手术组, B 为模型组, C 为柴胡疏肝散组, D 为西药组, E 为联合用药组。

**图2 各组大鼠食管组织 TLR4、NF-κB p65 蛋白条带图**

3.6 柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠食管组织 TNF-α、IL-8、IL-6、IL-1β 水平的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠食管组织 TNF-α、IL-8、IL-6、IL-1β 水平升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 各给药组大鼠食管组织 TNF-α、IL-8、IL-6、IL-1β 水平降低 ( $P < 0.05$ ), 以联合用药组最显著 ( $P < 0.05$ ), 见表8。

3.7 柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠血清 IgA 和食管组织 SIgA 水平的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠血清 IgA 水平和食管组织 SIgA 水平降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 各给药组大鼠血清 IgA 水平和食管组织 SIgA 水平升高 ( $P < 0.05$ ), 以联合用药组最显著 ( $P < 0.05$ ), 见表9。

炎症指标检测结果表明, 与假手术组比较, 模型组大鼠食管黏膜单位面积内肥大细胞数量及其脱颗粒率升高, 同时 TNF-α、IL-8、IL-6、IL-1β 水平升高。此外, 血清 IgA 水平和食管组织 SIgA 水平降低。与模型组比较, 各给药组上述各项指标均改善, 其中联合用药组在改善程度上优于各单一用药组。这表明中西药联合治疗在调节免疫反应、减轻炎症和改善食管黏膜损伤方面可能更有效。IL-6、IL-8 是反映组织细胞损伤程度的关键指标, TNF-α 则在介导炎症反应、免疫应答中发挥重要作用。研究报道胃肠黏膜屏障的破坏与肥大细胞脱颗粒释放炎症介质间存在密切联系。兰菲等<sup>[18]</sup>研究也证实, 老年反流性食管炎患者食管下段黏膜肥大细胞数量、脱颗粒率的增加数量与炎症程度呈正相关。本研究结果显示, 柴胡疏肝散可以降低反流性食管炎模型大鼠食管黏膜肥大细胞数量和脱颗粒率, 升高血清 IgA 和食管黏膜组织 SIgA 水平, 降低炎症因子水平, 可能与柴胡疏肝散通过发挥抗炎、调节免疫等作用, 改善模型大鼠食管黏膜病理状态有关。与模型组比较, 各给药组大鼠食管组织 TLR4、NF-κB p65 mRNA 表达降低, 且联合用药组作用优于单用组, 提示柴胡疏肝散改善反流性食管炎大鼠食管黏膜病理状态, 可能是通过 TLR4/NF-κB 信号通路介导

的。TLR4在多种免疫细胞中广泛表达,是多种中药多糖抗炎和抗肿瘤活性作用的基础<sup>[19]</sup>。研究证实,TLR4可通过MyD88依赖途径和MyD88非依赖途径促进下游信号通路如MAPK和NF- $\kappa$ B通路的信号传导过程,从而介导TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、IL-1 $\beta$ 等多种炎性介质和趋化因子的分泌,从而促进机体先天性免疫系统的激活<sup>[20]</sup>。

本研究不仅验证了柴胡疏肝散联合雷贝拉唑与莫沙比利对反流性食管炎的治疗效果,还揭示了其可能的作用机制。这一发现为反流性食管炎的综合治疗提供了新的视角,有望为患者带来更为有效和安全的治疗选择。但本研究的局限性在于样本数量有限,未来研究需扩大样本量,并在临床上进行进一步验证。

#### 参考文献:

[ 1 ] Hoshino S, Momm E, Koed M, *et al.* In females, salivary secretion was significantly lower in patients with severe reflux esophagitis than in healthy controls[J]. *Esophagus*, 2024, 21(3): 383-389.

[ 2 ] Rodríguez de Santiago E, Albéniz E, Estremera-Arevalo F, *et al.* Endoscopic anti-reflux therapy for gastroesophageal reflux disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2021, 27(39): 6601-6614.

[ 3 ] Chapman T P, Tandon R, Brain O. Another case of reflux esophagitis[J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(2): 309-310.

[ 4 ] Xie W, An L, Liu X M J. Therapeutic effect of polaprezinc on reflux esophagitis in the rat model[J]. *Dig Dis Sci*, 2023, 68(8): 3283-3292.

[ 5 ] 江国华,黄静仪,何玲玲,等.柴胡疏肝散对反流性食管炎大鼠食管黏膜损伤及5-HT信号通路的影响[J].*中药药理与临床*, 2022, 38(2): 13-19.

[ 6 ] 栾炳玉.柴胡舒肝散合金左丸治疗肝胃郁热型反流性食管炎临床观察[J].*光明中医*, 2023, 38(11): 2130-2133.

[ 7 ] Nortunen M, Väkiparta N, Porvari K, *et al.* Pathophysiology of reflux oesophagitis; role of toll-like receptors 2 and 4 and Farnesoid X receptor[J]. *Virchows Arch*, 2021, 479(2): 285-293.

[ 8 ] Ruffner M A, Song L, Maurer K, *et al.* Toll-like receptor 2 stimulation augments esophageal barrier integrity[J]. *Allergy*, 2019, 74(12): 2449-2460.

[ 9 ] Gergen A K, Jarrett M J, Li A, *et al.* Toll-like receptor 4 mediates reflux-induced inflammation in a murine reflux model[J]. *Semin Thorac Cardiovasc*, 2022, 34(4): 1324-1335.

[ 10 ] 尹红,唐艳萍,杨磊,等.活血通降方对反流性食管炎大鼠肠道菌群及Caspase-3/GSDME通路的影响[J].*中国中西医结合消化杂志*, 2022, 30(10): 701-707; 712.

[ 11 ] 陆星华,张泰昌.反流性食管炎诊断及治疗指南(2003年)[J].*中华消化内镜杂志*, 2004, 21(4): 4-5.

[ 12 ] Osaga S, Nakada K, Iwakiri K, *et al.* Sex differences in risk factors for future onset of reflux esophagitis[J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2021, 69(1): 91-97.

[ 13 ] Habu Y, Hamasaki R, Maruo M, *et al.* Treatment strategies for reflux esophagitis including apotassium-competitive acid blocker: A cost-effectiveness analysis in Japan[J]. *J Gen Fam Med*, 2021, 22(5): 237-245.

[ 14 ] Miyazaki H, Igarashi A, Takeuchi T, *et al.* Vonoprazan versus proton-pump inhibitors for healing gastroesophageal reflux disease: A systematic review[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2019, 34(8): 1316-1328.

[ 15 ] 柳媛,刘菊,刘亚婷,等.旋覆代赭汤对RE模型大鼠NLRP3/Caspase-1的影响[J].*中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(20): 13-18.

[ 16 ] 董昀,金长娟,沈盛萍,等.食道通结颗粒联合奥美拉唑治疗食管癌术后反流性食管炎的临床研究[J].*现代肿瘤医学*, 2023, 31(19): 3588-3593.

[ 17 ] 于雪梅.柴胡舒肝散联合解方剂治疗消化内科疾病的临床观察[J].*中西医结合心血管病电子杂志*, 2017, 5(12): 97.

[ 18 ] 兰菲,杨杰.胃食管反流病患者食管功能与肥大细胞的研究进展[J].*中华胃食管反流病电子杂志*, 2019, 6(1): 34-39.

[ 19 ] Verbeek R E, Siersema P D, Ten Kate F J, *et al.* Toll-like receptor 4 activation in Barrett's esophagus results in a strong increase in COX-2 expression[J]. *J Gastroenterol*, 2014, 49(7): 1121-1134.

[ 20 ] Zhang P, Yang M R, Chen C H, *et al.* Toll-like receptor 4 (TLR4)/opioid receptor pathway crosstalk and impact on opioid analgesia, immune function, and gastrointestinal motility[J]. *Front Immunol*, 2020, 11(1): 1455.