

DOI:10.16305/j.1007-1334.2022.2011049

# 吴茱萸汤对化疗性异食癖恶心呕吐模型大鼠干预效果与作用机制的初步研究

李 甜<sup>1</sup>, 陈 飞<sup>2</sup>, 吴叶晨<sup>1</sup>, 王晓婷<sup>1</sup>, 张卫红<sup>1</sup>

1. 上海中医药大学附属曙光医院宝山分院乳腺外科(上海 201900); 2. 上海中医药大学附属曙光医院乳腺外科(上海 201203)

**【摘要】 目的** 研究不同剂量吴茱萸汤对顺铂诱导的大鼠化疗相关呕吐及肠道黏膜炎症的药效并初步探讨其作用机制。**方法** 灌胃复方(吴茱萸汤)使用飞行时间高分辨质谱法对其活性成分进行定性。48 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、不同剂量吴茱萸汤组(5、10、20 mL/kg)以及阳性对照组(托烷司琼), 每组 8 只。观察造模后 1、3、5、7 d 大鼠异嗜高岭土情况; 液质联用方法定量检测各组大鼠血清中 5-羟色胺(5-HT)的浓度; HE 染色和免疫荧光观察大鼠结肠组织变化以及磷酸化组蛋白 H2AX( $\gamma$ -H2AX)、白细胞共同抗原(CD45)的表达。**结果** 吴茱萸碱、吴茱萸次碱为吴茱萸汤的主要成分。治疗后, 与模型组比较, 吴茱萸汤高、中剂量组大鼠异嗜高岭土的量明显减少、血清 5-HT 浓度显著降低( $P<0.01$ ); 病理形态学观察可见, 吴茱萸汤高、中剂量组对大鼠结肠黏膜具有保护作用, 并降低了  $\gamma$ -H2AX 及 CD45 的表达( $P<0.01$ )。**结论** 吴茱萸汤能治疗顺铂诱导的大鼠化疗后呕吐, 并能减轻其肠道炎症反应, 其作用机制可能与降低血清中 5-HT 的浓度, 抑制肠道  $\gamma$ -H2AX 及 CD45 的表达有关。

**【关键词】** 吴茱萸汤; 化疗相关恶心呕吐; 5-羟色胺; 磷酸化组蛋白 H2AX; 白细胞共同抗原; 模型大鼠; 中药研究

## Effect and mechanism of Wuzhuyu Formula on nausea and vomiting of modeling rats with Chemotherapy-induced Pica

LI Tian<sup>1</sup>, CHEN Fei<sup>2</sup>, WU Yechen<sup>1</sup>, WANG Xiaoting<sup>1</sup>, ZHANG Weihong<sup>1</sup>

1. Breast Surgery Department, Baoshan Branch of Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201900, China; 2. Breast Surgery Department, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

**Abstract: Objective** Study the effect of different doses of Wuzhuyu Decoction on cisplatin induced chemotherapy-related vomiting and intestinal mucositis in rats, and further explore its mechanism. **Methods** The active components of Wuzhuyu Decoction were identified by time-of-flight high-resolution mass spectrometry. Totally 48 SD rats were randomly divided into the control group, the model group, the different concentrations of Wuzhuyu Decoction groups (5, 10, 20 mL/kg) and the positive control group (tolansetron group), with 8 rats in each group. The heterophilic kaolin rats was observed on the 1st, 3rd, 5th and 7th day after modeling. The concentration of serum 5-hydroxytryptamine (5-HT) rats in each group was quantified by liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS), and the changes of colonic tissue and the expression of  $\gamma$ -H2AX and CD45 were observed by HE staining and immunofluorescence. **Results** Evodiamine and rutaecarpine are the main components of Wuzhuyu Decoction. After treatment, compared with the model group, the amount of heterophilic kaolin and the concentration of serum 5-HT in the high and medium dose

groups of Wuzhuyu Decoction decreased significantly ( $P<0.01$ ), and the pathomorphological observation showed that the high and medium dose groups of Wuzhuyu Decoction had protective effect on rat colonic mucosa and decreased the expression of  $\gamma$ -H2AX and CD45 ( $P<0.01$ ). **Conclusion** Wuzhuyu Decoction can treat cisplatin-induced vomiting and reduce intestinal inflammation in rats, and its mechanism may be related to reducing the concentration of 5-HT in serum and inhibiting the expression of  $\gamma$ -H2AX and CD45 in intestinal tract.

**Keywords:** Wuzhuyu Decoction; chemotherapy induced nausea and vomiting; 5-HT;  $\gamma$ -H2AX; CD45; model rat; traditional Chinese herbal medicine research

[基金项目] 上海市卫健委中医药传承和科技创新项目(ZYCC2019020); 上海市卫健委进一步加快中医药事业发展三年行动计划(2018年-2020年)项目(中医重点专科培育项目); 宝山区名中医传承工作室项目(BSMZYGZS-201909); 上海市卫健委卫生行业临床研究专项(202140239); 上海市自然科学基金项目(21ZR1447800)

[作者简介] 李甜, 女, 硕士, 主治医师, 主要从事中西医结合乳腺疾病的基础与临床研究工作

[通信作者] 张卫红, 主任医师, 硕士研究生导师;

E-mail: hongwz1022@sina.com

化疗相关恶心呕吐(chemotherapy induced nausea and vomiting, CINV)指肿瘤患者化疗所引起的恶心和呕吐症状,其带来的痛苦严重影响到患者的生活质量<sup>[1-2]</sup>。顺铂是一种化学治疗药物,因其有效性和广谱性被广泛用于恶性肿瘤的治疗,但其又有胃肠道毒性,易导致恶心呕吐、腹泻等不良反应<sup>[3-4]</sup>。目前临床上缺乏有效的止吐预防措施,顺铂导致超过 90% 的患者发生呕吐<sup>[5]</sup>。尽管止呕吐药物如阿瑞匹坦、奥氮平等新药的应用使 CINV 得到较大改善,但仍有约 40% 患者的症状无法缓解<sup>[6-7]</sup>。此外,长时间使用抗 CINV 药物所产生的副作用及耐药性仍是临床关注的问题<sup>[8]</sup>。因此,迫切需要探索有效的抗 CINV 的药物。

中医药因其确切的疗效,在围化疗期的使用越来越普遍。根据已有的文献报道,目前使用的方法包括外治的针刺、隔姜灸、脐疗、中药足浴法、耳穴埋豆法等<sup>[9-10]</sup>,还有一些中药方剂,如香砂六君子汤、旋覆代赭汤、吴茱萸汤、小半夏加茯苓汤、小柴胡汤、蒿芩清胆汤等<sup>[11-13]</sup>。

吴茱萸汤来源于汉代张仲景的《伤寒杂病论》,该方在阳明病、少阴病、厥阴病三篇中均有载述,是治疗呕吐的经典方<sup>[14]</sup>,临床常用来治疗急慢性呕吐等消化系统疾病和其他内外科杂病<sup>[15-16]</sup>,其对 CINV 是否有效,机制如何,尚待研究。有文献报道,CINV 主要由化疗药物损伤到胃肠道的黏膜,导致细胞过量释放 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT),并刺激黏膜下神经丛引起<sup>[17-18]</sup>。临床上使用 5-HT 拮抗剂能够有效控制 CINV<sup>[19-20]</sup>。本研究拟构建顺铂诱导大鼠呕吐模型,观察吴茱萸汤止呕效果和肠道保护情况,并探究吴茱萸汤是否通过降低 5-HT 水平发挥止呕作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 6 周龄雌性 SD 大鼠 48 只,SPF 级,体质量 180~200 g,购买并饲养于上海南方模式生物中心,专业动物饲养员严格按照动物饲养标准喂食。动物生产合格证号:20180006015136。动物使用合格证号:SCXK(沪)2019-0002。实验方案根据美国国立卫生研究院关于实验动物的护理和使用的指南执行,该方案已由南方模式生物中心的实验动物护理和使用委员会批准(批准号:2020-0023-06)。

1.1.2 药物与试剂 吴茱萸、生晒参、大枣、生姜药材均购自上海中医药大学附属曙光医院宝山分院药剂科。

吴茱萸汤参照《方剂学:案例版》<sup>[21]</sup>制备,将吴茱萸 9 g、生晒参 9 g、大枣 12 g、生姜 18 g,加水煎煮,过滤、浓缩至吴茱萸汤母液终浓度含生药 0.125 g/mL。并通过

飞行时间高分辨质谱,测定吴茱萸汤主要成分。

顺铂,美国 Sigma 公司(批号:15663-27-1);高岭土,国药控股化学试剂有限公司(批号:20190226);盐酸托烷司琼注射液,江苏恒瑞制药有限公司(批号:210217CA);磷酸化组蛋白 H2AX( $\gamma$ -H2AX),美国 Trevigen 公司(批号:4411-PC-100);白细胞共同抗原(CD45),英国 Abcam 公司(批号:ab23910);5-羟色胺盐酸盐,北京索莱宝科技有限公司(批号:153-98-0);乙腈、甲醇、甲酸,上海阿拉丁生化科技股份有限公司(批号分别为 75-05-8、67-56-1、64-18-6)。

1.1.3 仪器 超净工作台,新加坡 ESCO OptiMair 公司(型号:ACB-4A1);-80℃超低温冰箱,美国 Thermo 公司(型号:Forma-86);荧光倒置显微镜,日本 Olympus 株式会社;电子分析天平,瑞士 Mettler Toledo 公司(型号:AX204-DR);恒温水浴锅,上海精宏实验设备有限公司(型号:DKB-8A);水平脱色摇床,海门市其林贝尔仪器制造有限公司(型号:ZD9556);通风橱,广州赛福斯实验设备科技有限公司(型号:SFS-FH-001);微量冷冻离心机,北京大龙兴创实验仪器有限公司(型号:D3024R);多管涡旋混合仪,杭州奥盛仪器有限公司(型号:MTV-100);色谱仪,赛默飞世尔科技中国有限公司(型号:UltiMate 3000 RS);病理组织脱水机(型号:TP1020)、组织包埋机(型号:EG1150C)、组织切片机(型号:RM2235),均购自德国 Leica 公司。

1.2 分组与造模 48 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、吴茱萸汤高、中、低剂量组以及阳性对照组(托烷司琼),每组 8 只。在适应性饲养 7 d 后造模:注射顺铂注射液(3 mg/kg)1 次,观察各组大鼠造模后高岭土摄入情况。异嗜高岭土行为是呕吐检测的重要指标<sup>[22]</sup>。

1.3 干预方法 吴茱萸汤各组大鼠均给予吴茱萸汤,其中吴茱萸汤高剂量组为 20 mL/kg,吴茱萸汤中剂量组为 10 mL/kg,吴茱萸汤低剂量组为 5 mL/kg。对照组:0.9%NaCl 溶液,20 mL/kg。阳性对照组:托烷司琼溶于 0.9%NaCl 溶液,浓度为 0.13 mg/mL,剂量为 1.3 mg/kg。各组均灌胃给药,2 次/d,共干预 7 d。观察造模后 1、3、5、7 d 大鼠异嗜高岭土情况,7 d 后眼内眦采血并取结肠,0.9%NaCl 溶液清洗后放入含有 4%多聚甲醛溶液的 EP 管固定。

### 1.4 检测指标与方法

1.4.1 飞行时间高分辨质谱检测吴茱萸汤主要活性成分 色谱条件-色谱仪器为岛津 LC-30A。色谱柱为 C<sub>18</sub>(1.8  $\mu$ m, 2.1 mm×100 mm);柱温为 35℃;流速为 0.1 mL/min;进样量为 3  $\mu$ L;流动相采用乙腈-0.1%甲酸水溶液。质谱条件-质谱仪器为 AB Sciex Triple TOF 5600+。离子化模式为电喷雾正离子模式,离子源电压分别为 5 500 V,离子源温度为 600℃,去簇电压

(DP)分别为 100 V,碰撞能量(CE)分别为 40 eV,碰撞能量扩展(CES)分别为 15 eV。雾化气体为氮气,辅助气 1 为 0.41 MPa,辅助气 2 为 0.34 MPa,气帘气为 0.28 MPa。

1.4.2 大鼠高岭土摄入量记录 每日定时在 9:00~11:00 观察大鼠的一般状况,称量并记录各组高岭土摄入量。

1.4.3 病理形态 HE 染色和免疫荧光 结肠组织用 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,切成 5  $\mu\text{m}$  切片。切片用 HE 染色进行组织学分析。

结肠组织脱蜡并抗原修复,封闭后加一抗孵育  $\gamma\text{-H2AX}$ 、CD45 之后加不同荧光二抗,荧光显微镜拍摄并分析。

1.4.4 血清 5-HT 水平 采用液质联用方法定量测定血清样本中 5-HT 水平。5-羟色胺盐酸盐:纯度 $\geq 98\%$ ;乙腈:色谱纯;甲醇:色谱纯;甲酸:色谱纯。

(1)质谱条件。离子源:电喷雾电离源(ESI);扫描方式:正负离子切换扫描;检测方式:选择反应监测(SRM);电喷雾电压(spray voltage):4 000 V(positive);毛细管温度(capillary temperature):350  $^{\circ}\text{C}$ ;碰撞气:高纯氩气(纯度 $\geq 99.999\%$ );鞘气:氮气(纯度 $\geq 99.999\%$ ),60 Arb;辅助气(Aux Gas Pressure):氮气(纯度 $\geq 99.999\%$ ),20 Arb。

(2)色谱条件。色谱柱:Welch XB C18 150 mm $\times$ 4.6 mm,5  $\mu\text{m}$ ;流速:1.0 mL/min;水相:0.1% 甲酸水溶液;有机相:0.1% 甲酸乙腈;洗针液:甲醇;柱温箱温度:40  $^{\circ}\text{C}$ ;自动进样器温度:10.0  $^{\circ}\text{C}$ ;自动进样器进样体积:5.00  $\mu\text{L}$ 。精密量取 50  $\mu\text{L}$  样本,加入 150  $\mu\text{L}$  甲醇沉淀蛋白,漩涡震荡 1 min,12 000 r/min 高速离心 10 min,取上清稀释 10 倍后进样分析。5-HT 的色谱图采集和积分由软件 Xcalibur 3.0(Thermo)进行处理,以  $1/X^2$  为加权系数进行线性回归。

1.5 统计学方法 实验数据采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。计量资料用  $\bar{x}\pm s$  表示,多组均数间比较采

用单因素方差(One-way ANOVA)分析,组间多重比较采用 LSD 法。采用 GraphPad Prism 8.0 作图。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 吴茱萸汤活性成分定性研究 吴茱萸汤提取物正负离子模式下共检测到 51 种活性成分,按质谱响应强度排序前 20 位情况见表 1。

表 1 吴茱萸汤提取物成分排序表(前 20 位)

| 编号 | 成分             | 编号 | 成分            |
|----|----------------|----|---------------|
| 1  | 吴茱萸苦素          | 11 | 阿塔宁 I         |
| 2  | 柠檬苦素           | 12 | 6-姜辣醇         |
| 3  | 吴茱萸碱           | 13 | 6-姜辣二醇        |
| 4  | 吴茱萸次碱          | 14 | 10-去氢姜辣二酮     |
| 5  | 3-(2-羟基乙酰基)-吡啶 | 15 | 2-哌啶酸         |
| 6  | N-反式对羟基肉桂酰基    | 16 | 槲皮素           |
| 7  | 白鲜碱            | 17 | 槲皮素-3-半乳糖苷    |
| 8  | 吴茱萸春           | 18 | 槲皮素-3-芸香糖苷    |
| 9  | 烟芋碱            | 19 | 山柰酚-葡萄糖基-鼠李糖苷 |
| 10 | 7-羟基吴茱萸次碱      | 20 | 原花素 B2        |

2.2 对大鼠高岭土摄入量的影响 造模后,以不同剂量吴茱萸汤进行干预比较,时间节点分别为造模后 1、3、5、7 d。观察对照组、模型组、吴茱萸汤各剂量组以及阳性对照组(托烷司琼)大鼠高岭土摄入情况。造模前,各组大鼠高岭土摄入量差异无统计学意义( $P>0.05$ )。造模后,模型组高岭土摄入量相较于对照组明显增加( $P<0.05$ )。造模后 7 d,与模型组比较,吴茱萸汤低剂量组无明显改善,差异无统计学意义( $P>0.05$ );与模型组比较,吴茱萸汤中、高剂量组及阳性对照组均能明显改善大鼠高岭土摄入量,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。造模后 7 d,与阳性对照组比较,吴茱萸汤中、高剂量组的高岭土摄入量差异无统计学意义( $P>0.05$ ),而吴茱萸汤低剂量组的高岭土摄入量较阳性对照组差异有统计学意义( $P<0.01$ )。见表 2。

表 2 各组大鼠高岭土摄入量比较( $n=8,\bar{x}\pm s,\text{g}$ )

| 组别       | 造模前 2 d         | 造模后 1 d                 | 造模后 3 d                 | 造模后 5 d                 | 造模后 7 d                        |
|----------|-----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------------|
| 对照组      | 1.79 $\pm$ 0.82 | 2.34 $\pm$ 0.37         | 2.15 $\pm$ 0.21         | 1.81 $\pm$ 0.20         | 1.57 $\pm$ 0.55                |
| 模型组      | 1.82 $\pm$ 0.18 | 4.67 $\pm$ 0.30*        | 5.39 $\pm$ 0.53*        | 7.20 $\pm$ 0.47*        | 5.76 $\pm$ 0.51*               |
| 吴茱萸汤低剂量组 | 1.80 $\pm$ 0.20 | 4.62 $\pm$ 0.27         | 4.62 $\pm$ 0.19         | 5.96 $\pm$ 0.18         | 5.77 $\pm$ 0.61 $\Delta\Delta$ |
| 吴茱萸汤中剂量组 | 1.79 $\pm$ 0.29 | 4.64 $\pm$ 0.40         | 4.06 $\pm$ 0.21         | 2.53 $\pm$ 0.46         | 1.62 $\pm$ 0.39 $^{##}$        |
| 吴茱萸汤高剂量组 | 1.91 $\pm$ 0.12 | 4.70 $\pm$ 0.42         | 4.40 $\pm$ 0.64         | 2.58 $\pm$ 0.12         | 1.64 $\pm$ 0.28 $^{##}$        |
| 阳性对照组    | 1.91 $\pm$ 0.13 | 3.78 $\pm$ 0.26 $^{##}$ | 4.06 $\pm$ 0.03 $^{##}$ | 2.67 $\pm$ 0.10 $^{##}$ | 1.71 $\pm$ 0.38 $^{##}$        |

注:与对照组同期比较,\* $P<0.05$ ;与模型组同期比较,## $P<0.01$ ;与阳性对照组同期比较, $\Delta\Delta P<0.01$ 。

2.3 各组结肠 HE 染色及免疫荧光染色情况 HE 染色结果显示,对照组结肠黏膜表面完整,腺体排列整齐,杯状细胞相对完整。而模型组可见炎性细胞浸润,表面上皮

脱落和黏膜正常结构丧失,吴茱萸汤低剂量组虽有减轻,但炎症仍可见。吴茱萸汤高、中剂量组和阳性对照组能明显改善由顺铂引起的肠道损伤和炎症反应。见图 1。

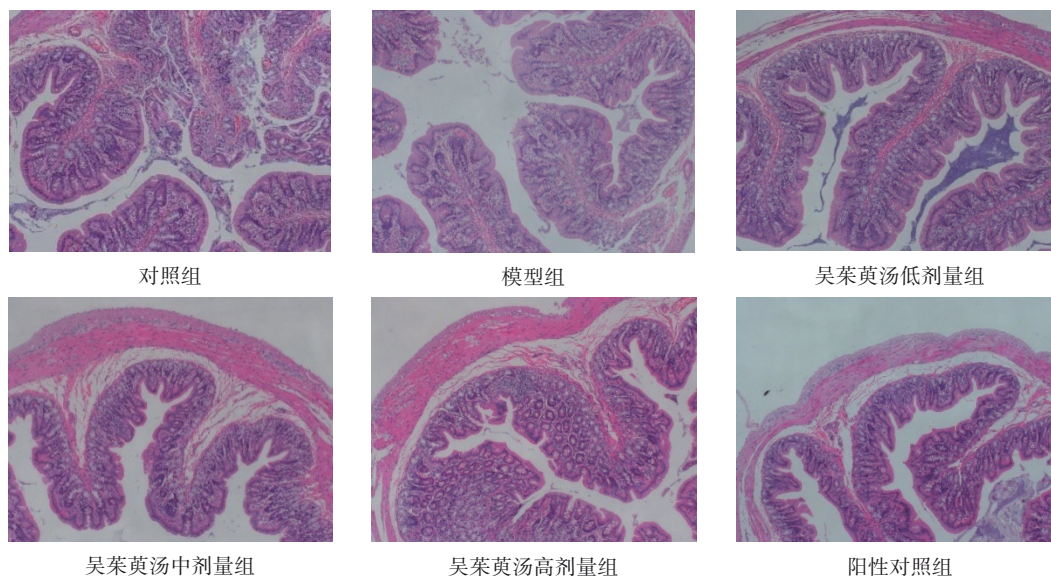
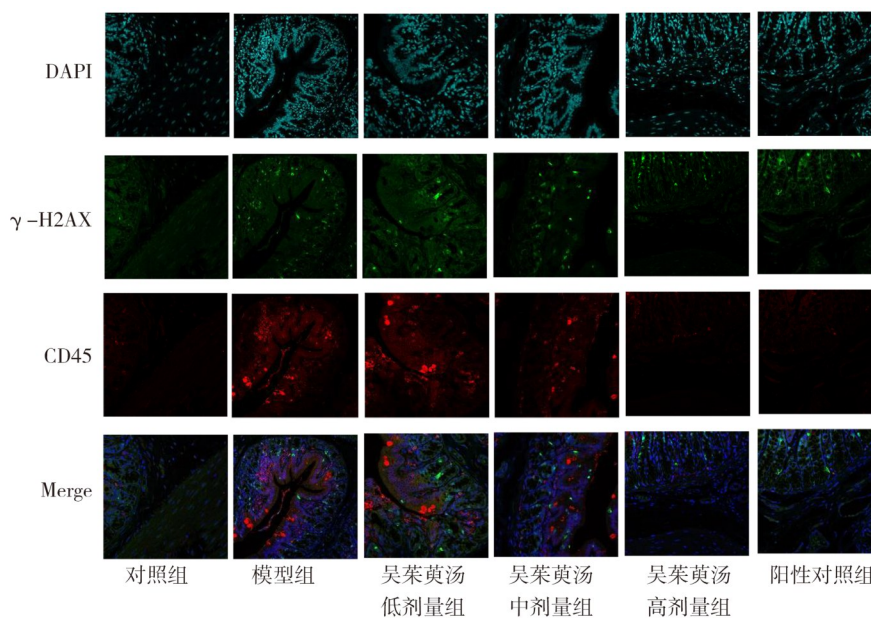


图1 各组大鼠结肠病理情况(HE 染色,×100)

免疫荧光染色结果显示,与对照组比较,模型组炎症明显, $\gamma$ -H2AX 和 CD45 表达升高( $P<0.01$ )。与模型组比较,吴茱萸汤高、中剂量组和阳性对照组肠道损伤改善, $\gamma$ -H2AX 和 CD45 表达降低( $P<0.01$ ),吴茱萸汤低

剂量组  $\gamma$ -H2AX 和 CD45 表达差异无统计学意义( $P>0.05$ )。与阳性对照组比较,吴茱萸汤低剂量组  $\gamma$ -H2AX 和 CD45 表达较高,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。见图 2、表 3。



注: $\gamma$ -H2AX 为磷酸化组蛋白,CD45 为白细胞共同抗原。

图2 各组大鼠结肠  $\gamma$ -H2AX 和 CD45 表达(免疫荧光染色,×100)

表3 各组大鼠结肠  $\gamma$ -H2AX 和 CD45 表达免疫荧光染色结果比较( $n=3, \bar{x} \pm s, \times 10^{-2}$ )

| 组别       | $\gamma$ -H2AX 平均光密度值    | CD45 平均光密度值              |
|----------|--------------------------|--------------------------|
| 对照组      | 0.34±0.03                | 0.77±0.30                |
| 模型组      | 2.21±0.07**              | 1.67±0.05**              |
| 吴茱萸汤低剂量组 | 2.13±0.05 $\Delta\Delta$ | 1.58±0.05 $\Delta\Delta$ |
| 吴茱萸汤中剂量组 | 1.69±0.12##              | 0.70±0.05##              |
| 吴茱萸汤高剂量组 | 1.76±0.12##              | 0.64±0.03##              |
| 阳性对照组    | 1.89±0.03##              | 0.62±0.02##              |

注:与对照组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,## $P<0.01$ ;与阳性对照组比较, $\Delta\Delta$  $P<0.01$ 。

2.4 对血清中 5-HT 水平的影响 与对照组比较,模型组大鼠血清中 5-HT 水平升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与模型组比较,吴茱萸汤高、中剂量组及阳性对照组均能够显著降低 5-HT 表达,差异有统计学意义( $P<0.01$ );吴茱萸汤低剂量组无明显降低,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。与阳性对照组比较,吴茱萸汤低剂量组 5-HT 水平差异有统计学意义( $P<0.01$ )。见表 4。

### 3 讨论

化疗占据肿瘤治疗的重要地位,而化疗最常见的

表 4 各组大鼠血清中 5-HT 水平比较 ( $n=8, \bar{x} \pm s, \text{mg/L}$ )

| 组别       | 5-HT                                 |
|----------|--------------------------------------|
| 对照组      | 2 368.29 $\pm$ 394.99                |
| 模型组      | 5 331.92 $\pm$ 57.98**               |
| 吴茱萸汤低剂量组 | 4 687.76 $\pm$ 210.30 $\Delta\Delta$ |
| 吴茱萸汤中剂量组 | 3 802.65 $\pm$ 426.75##              |
| 吴茱萸汤高剂量组 | 3 742.70 $\pm$ 640.69##              |
| 阳性对照组    | 3 096.02 $\pm$ 448.34##              |

注:5-HT 为 5-羟色胺。与对照组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,## $P<0.01$ ;与阳性对照组比较, $\Delta\Delta P<0.01$ 。

副反应为胃肠道的反应,表现为恶心呕吐。频繁呕吐不仅会影响患者的食欲及体力,还会影响机体的稳态。因此,一些患者会对化疗产生抵触心理,影响患者对化疗的依从性和肿瘤治疗的效果。顺铂作为临床常用化疗药之一,毒副作用较大,呕吐发生率高达 90%<sup>[22]</sup>,临床常与止呕药联合使用。但研究发现,高致吐化疗方案中化疗恶心、呕吐的有效预防率仅 40%左右,而且迟发性恶心极为频繁且难以控制,临床上能够获得最佳预防效果的病例数甚至少于 14%<sup>[24]</sup>。

上海中医药大学附属曙光医院宝山分院乳腺外科长期使用吴茱萸汤治疗化疗后呕吐,效果明显。从中医角度,化疗药物属于寒凉之品,为“药毒”范畴<sup>[25]</sup>。肿瘤患者化疗后,伤及中阳,使正气更虚,胃气衰败,胃中虚冷、水气内停、寒水相搏而致清阳不升,水谷不别而下注,胃气不降,浊气上逆,病机与吴茱萸汤证相符。吴茱萸汤来源于张仲景《伤寒杂病论》,其中吴茱萸一升为君药,生姜六两(切)为臣药,人参三两为佐药,大枣十二枚(擘)为使药。吴茱萸汤功用为温中补虚,降逆止呕。吴茱萸辛热,归肝、肾、脾胃经,温肝胃而祛寒,降逆止呕。人参益气健脾,配合吴茱萸温补结合。生姜温胃祛寒,降逆止呕,宣散水气。大枣补益脾胃之气,调和脾胃。

尽管吴茱萸汤临床研究报道较多且效果显著,但其作用机制尚不明确。近年来,有文献基于 UPLC-MS 技术探究吴茱萸汤对呕吐模型大鼠血清、尿液的影响,发现其改善呕吐的机制和氨基酸代谢、能量代谢、脂代谢等相关<sup>[26-27]</sup>。李文兰等<sup>[28]</sup>观察吴茱萸汤治疗呕吐的效果,并构建了苦寒中药和顺铂诱导两种模型,从方证角度阐述其疗效的合理性。相关基础研究较少,且研究普遍集中于代谢靶标预测以及病证指标改善等表型上,缺乏机制上的探讨。本研究发现,吴茱萸汤改善症状主要与降低血清中 5-HT 的浓度、抑制肠道  $\gamma$ -H2AX (DNA 损伤标志物)及 CD45 (肠道炎症标志物)表达相关。

本研究以腹腔注射顺铂为催吐剂,建立大鼠化疗性异食癖恶心呕吐模型。其中,摄入高岭土的量作为

评判恶心呕吐发生程度的重要指标。高岭土摄入量越多,代表恶心程度越严重。同时,恶心呕吐程度越严重,则正常饲料摄入量越少。不同研究表明,顺铂诱导恶心呕吐模型,在诱导后 1~3 d 症状表现最为强烈,实验研究中普遍采用观察 3 d<sup>[29]</sup>。考虑中药复方发挥作用缓慢持久,因此选择观察 7 d。在 3 d 时能明显看到改善的迹象,相比较 3 d,研究发现治疗 7 d 的效果更加明显。吴茱萸汤高、中剂量组能够有效降低呕吐症状,与临床情况相符。此外,通过 HE 染色和免疫荧光观察肠道炎症与损伤情况,可见吴茱萸汤高、中剂量组能够有效减轻肠道损伤,减少炎症发生。前期已有文献报道吴茱萸汤能明显抑制硫酸铜灌胃引起的家鸽呕吐,提高小鼠胃残留率,抑制大鼠胃窦的自主活动,对抗 Ach 和 BCI-2 引起的胃痉挛,吴茱萸碱和吴茱萸次碱可能为有效成分<sup>[30]</sup>。5-HT 是介导化疗后呕吐的神经递质之一,也是呕吐治疗的关键分子之一。化疗药物刺激胃肠道嗜铬细胞释放 5-HT 等神经递质,从而兴奋肠壁内迷走神经和内脏神经,进而传入纤维,并进一步将神经冲动传导至呕吐中枢。为验证吴茱萸汤发挥止呕的作用机制是否是通过降低该分子水平,本研究通过液质联用的方法检测了血清中 5-HT 的表达,发现吴茱萸汤能够显著降低该分子表达水平。同时,飞行时间质谱实验证实,该复方中主要活性成分为吴茱萸碱、吴茱萸次碱等单体,该结果可为后续深入研究吴茱萸汤的止呕机制提供参考。

综上所述,吴茱萸汤可有效防治顺铂导致的化疗性呕吐,作用机制主要是通过抑制 5-HT 合成,并与促进其代谢有关。

参考文献:

[1] SHAPIRO C L. Highlights of recent findings on quality-of-life management for patients with cancer and their survivors [J]. JAMA Oncol, 2016, 2(11): 1401-1402.

[2] ZHANG Q Y, WANG F X, JIA K K, et al. Natural product interventions for chemotherapy and radiotherapy-induced side effects [J]. Front Pharmacol, 2018(9): 1253.

[3] HERRSTEDT J, SUMMERS Y, JORDAN K, et al. Amisulpride prevents nausea and vomiting associated with highly emetogenic chemotherapy: a randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging trial [J]. Support Care Cancer, 2019, 27(7): 2699-2705.

[4] QI L, LUO Q, ZHANG Y, et al. Advances in toxicological research of the anticancer drug cisplatin [J]. Chem Res Toxicol, 2019, 32(8): 1469-1486.

[5] BERGER M J, ETTINGER D S, ASTON J, et al. NCCN guidelines insights: antiemesis, version 2.2017 [J]. J Natl Compr Canc Netw, 2017, 15(7): 883-893.

[6] DRANITSARIS G, MOLASSIOTIS A, CLEMONS M, et al. The development of a prediction tool to identify cancer patients at high risk

- for chemotherapy-induced nausea and vomiting [J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(6): 1260-1267.
- [7] 许辉. 肿瘤化疗病人恶心、呕吐健康教育需求调查[J]. *护理研究*, 2017, 31(33): 4278-4280.
- [8] RAZVI Y, CHAN S, MCFARLANE T, et al. ASCO, NCCN, MASCC/ESMO: a comparison of antiemetic guidelines for the treatment of chemotherapy-induced nausea and vomiting in adult patients[J]. *Support Care Cancer*, 2019, 27(1): 87-95.
- [9] 濮忠建, 马小平, 王亚军, 等. 不同针灸方法治疗化疗所致恶心呕吐临床研究[J]. *中国中医药信息杂志*, 2017, 24(3): 34-37.
- [10] 宋宸宇. 针刺背俞穴治疗化疗所致顽固性呃逆[J]. *中西医结合心血管病电子杂志*, 2019, 7(3): 131-133.
- [11] 张林英, 林才志, 陈漫, 等. 加味香砂六君子汤联合 5-HT<sub>3</sub> 受体拮抗剂止吐药治疗肿瘤化疗呕吐的系统评价[J]. *湖南中医杂志*, 2016, 32(1): 147-152.
- [12] 龚自坤, 郑秋惠, 梅凯雁. 肿瘤化疗后恶心呕吐的中医治疗研究进展[J]. *亚太传统医药*, 2020, 16(9): 200-205.
- [13] 郭琪, 马乐, 王好函, 等. 中医外治法治疗化疗后相关性恶心呕吐的临床研究进展[J]. *新疆中医药*, 2019, 37(5): 79-81.
- [14] 王洪杰, 吕冠华. 吴茱萸汤临床应用[J]. *中医药临床杂志*, 2016, 28(9): 1252-1254.
- [15] 谢相智, 许国磊, 吴欣芳, 等. 参赭培气合吴茱萸汤治疗肝胃虚寒型反流性食管炎的临床观察[J]. *世界中医药*, 2017, 12(6): 1291-1293.
- [16] LIU H W, ZOU Y H, CAO K G, et al. Efficacy of modified Wuzhuyu Decoction Granule for migraine patients with cold and stasis obstructing meridian syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Chin J Integr Med*, 2018, 24(6): 409-414.
- [17] JOHNSTON K D, LU Z, RUDD J A. Looking beyond 5-HT<sub>3</sub> receptors: a review of the wider role of serotonin in the pharmacology of nausea and vomiting[J]. *Eur J Pharmacol*, 2014(722): 13-25.
- [18] AL KURY L T, MAHGOUB M, HOWARTH F C, et al. Natural negative allosteric modulators of 5-HT<sub>3</sub> receptors [J]. *Molecules*, 2018, 23(12): 3186.
- [19] SIMINO G P, MARRA L P, ANDRADE E I, et al. Efficacy, safety and effectiveness of ondansetron compared to other serotonin-3 receptor antagonists (5-HT<sub>3</sub>RA) used to control chemotherapy-induced nausea and vomiting: systematic review and meta-analysis [J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2016, 9(9): 1183-1194.
- [20] 郭宇, 苏晓兰, 李依洁, 等. 温脾健肾方对腹泻型肠易激综合征大鼠结肠黏膜 5-羟色胺及其受体的影响[J]. *上海中医药杂志*, 2016, 50(10): 86-91.
- [21] 连建伟, 李冀. 方剂学: 案例版[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [22] 聂克, 马素起. 化疗性大鼠异食癖恶心呕吐模型建立的考察[C]// 中国抗癌协会. 2007 医学前沿论坛暨第十届全国肿瘤药理与化疗学术会议论文集. 青岛: 中国工程院医药卫生学部, 中国抗癌协会抗癌药物专业委员会, 中国药理学会肿瘤药理专业委员会. 2007: 198.
- [23] ROILA F, HESKETH P J, HERRSTEDT J. Prevention of chemotherapy- and radiotherapy-induced emesis: results of the 2004 Perugia International Antiemetic Consensus Conference [J]. *Ann Oncol*, 2006, 17(1): 20-28.
- [24] PARATHODUVIL A A, SISUPALAN A, REMA P L. Comparison of antiemetic effectiveness of palonosetron versus ondansetron in patients on cancer chemotherapy: a prospective observational study in South Indians[J]. *J Clin Diagn Res*, 2017, 11(5): FC10-FC14.
- [25] 廖天华, 余昭胜, 刘俊波, 等. 对常见化疗药物的中药药性探析[J]. *广西中医药*, 2013, 36(2): 40-41.
- [26] 康辉, 陈天朝, 姬海南, 等. 基于 UPLC-MS 的吴茱萸汤对虚寒呕吐大鼠血清代谢谱的影响[J]. *中草药*, 2020, 51(23): 6006-6014.
- [27] 姬海南, 王朋倩, 吴茵, 等. 基于 UHPLC-MS 的吴茱萸汤影响虚寒呕吐大鼠尿液代谢谱的研究[J]. *中草药*, 2019, 50(18): 4352-4363.
- [28] 李文兰, 姬海南, 王朋倩, 等. 虚寒呕吐模型的复制和吴茱萸汤的止呕作用研究[J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(5): 1066-1069.
- [29] LI Y Q, YANG Y H, ZHANG G L, et al. RNA-Seq reveals inflammatory mechanisms of Xiao-Ban-Xia-Tang decoction to ameliorate cisplatin-induced emesis in a rat pica model [J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2020 [2020-11-01]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332220308921? via%3Dihub>.
- [30] 李君, 陈永灿. 吴茱萸汤临床及实验研究进展[J]. *浙江中医杂志*, 2013, 48(7): 537-539.

编辑: 季春来

收稿日期: 2020-11-09