DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.05.015

# 加味归脾合剂通过JAK2/STAT3信号通路对免疫性血小板减少症小鼠免疫平衡的影响

田华捷,杨辉,胡晓莹,瞿玮颖,封舟,陆颖佳,黄中迪,陈珮,赵琳,朱小勤
(上海中医药大学附属曙光医院,上海 200021)

**摘要**:目的 探讨加味归脾合剂调控Janus激酶2(Janus inases 2,JAK2)/信号传导及转录激活蛋白3(Signal transducer and activator of transcription 3,STAT3)信号通路,改善免疫性血小板减少症(Primary immune thrombocytopenia,ITP)小鼠辅助性T细胞17(T helper cell 17,Th17)/调节性T细胞(Regulatory T cells,Treg)免疫平衡的作用机制。方法 BALB/c雌性小鼠60只,随机分为正常组,模型组,加味归脾合剂低、中、高剂量组及泼尼松组,每组10只。除正常组外,其余5组均采用腹腔注射MWReg30抗体的方法构建ITP小鼠模型。造模成功后分别给予相应的药物,加味归脾合剂低、中、高剂量分别按13.49、26.99、53.97 g/(kg·d)给小鼠灌胃,泼尼松组按9.25 g/(kg·d)给小鼠灌胃,正常组、模型组予等量无菌饮用水灌胃,14 d后取材。观察加味归脾合剂对ITP小鼠血小板计数,脾脏病理,外周血及脾脏Th17、Treg细胞数量,外周血白细胞介素(Interleukin,IL)-17、IL-21、IL-22、IL-10的表达及脾脏p-JAK2、p-STAT3、维A酸相关孤儿受体γt(Retinoic acid receptor-related orphan receptorγt,RORγt)、叉头转录因子(Forkhead transcription factor p3,Foxp3)蛋白表达的影响。结果 与正常组比较,模型组小鼠外周血血小板计数明显降低,脾脏组织病理明显改变,外周血和脾脏Treg细胞数量降低、Th17细胞数量升高,脾脏p-JAK2、p-STAT3及RORγt蛋白表达显著升高,外周血IL-17、IL-21、IL-22含量显著升高,IL-10含量显著降低($P<0.01$)。与模型组相比,各用药组可以明显升高ITP小鼠外周血血小板计数,改善脾脏病理状态,显著降低外周血和脾脏Th17细胞数量,升高外周血和脾Treg细胞数量,明显降低外周血IL-17、IL-21、IL-22的含量,升高IL-10的含量($P<0.05$,$P<0.01$),且加味归合剂高剂量组优于低、中剂量组和泼尼松组($P<0.05$)。此外,加味归脾合剂可以显著降低ITP模型小鼠脾脏p-JAK2、p-STAT3和RORγt蛋白表达水平($P<0.05$,$P<0.01$),升高Foxp3蛋白表达水平($P<0.05$,$P<0.01$),且高剂量组降低脾脏p-JAK2、p-STAT3和RORγt蛋白表达优于低剂量组($P<0.05$)。结论 加味归脾合剂治疗ITP小鼠疗效显著,其机制可能通过抑制JAK2/STAT3信号通路活化,调节RORγt和Foxp3蛋白表达水平,进而调控Th17/Treg平衡发挥作用。

**关键词**:加味归脾合剂;免疫性血小板减少症;JAK2/STAT3信号通路;辅助性T细胞17;调节性T细胞
**中图分类号**:R289.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)05-0073-08

## Effect of Jiawei Guipi Decoction(加味归脾合剂) on Immune Balance in Immune Thrombocytopenia Mice via JAK2/STAT3 Signaling Pathway

TIAN Huajie, YANG Hui, HU Xiaoying, QU Weiying, FENG Zhou, LU Yingjia,
HUANG Zhongdi, CHEN Pei, ZHAO Lin, ZHU Xiaoqin
(Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China)

**Abstract**: *Objective* To investigate the mechanism of Jiawei Guipi Decoction(加味归脾合剂) in regulating the Janus inases 2(JAK2)/ signal transducer and activator of transcription 3(STAT3) signaling pathway to improve T helper cell 17(Th17)/regulatory T cells(Treg) immune balance in primary immune thrombocytopenia(ITP) mice. *Methods* Sixty female BALB/c mice were randomly assigned to six groups: normal group, model group, Jiawei Guipi Decoction low, medium and high dose groups, and prednisone group, with 10 mice in each group. Except for the normal group, the other five groups were administered intraperitoneal injection of MWReg30 antibody to establish the ITP model. After successful modeling, the corresponding treatments were administered. The blank control and model groups were given an equivalent volume of sterile drinking water by gavage, while the Jiawei Guipi Decoction low, medium and high dose groups received the administration with the corresponding doses[13.49, 26.99, 53.97 g/(kg·d), respectively]. The prednisone group was administered prednisone 9.25 g/(kg·d). The treatments lasted for 14 consecutive days, and after this period, the samples were collected. The effects of Jiawei Guipi Decoction on platelet

**基金项目**:国家中医药管理局第五批全国中医临床优秀人才研修项目(国中医药人教函〔2022〕178号);中华中医药学会血液病创新研究与转化平台项目(2024XS-009);上海市卫生健康委员会科研项目(20224Y0226);上海中医药大学科技发展项目(24YGZX07);上海中医药大学附属曙光医院"四明青年基金"项目(SJKG-202103)

**作者简介**:田华捷(1990-),女,河南南阳人,主治医师,博士,研究方向:中医药治疗血液病。
**通讯作者**:朱小勤(1981-),女,上海人,副主任医师,硕士研究生导师,硕士,研究方向:中医药治疗血液病。E-mail:pangxie1234.love@163.com。

count, splenic pathology, the number of Th17 and Treg cells in peripheral blood and spleen, the expression levels of interleukin (IL) -17, IL-21, IL-22, IL-10 in peripheral blood, and the protein expressions of p-JAK2, p-STAT3, retinoic acid receptor-related orphan receptor γt (RORγt) and forkhead transcription factor p3 (Foxp3) in the spleen were evaluated. *Result* Compared with those in the normal group, the mice in the model group exhibited a significant decrease in peripheral blood platelet count, marked histopathological alterations in splenic tissue, a reduced number of Treg cells and an increased number of Th17 cells in both peripheral blood and spleen. Furthermore, the expression levels of splenic p-JAK2, p-STAT3 and RORγt protein were significantly up-regulated, accompanied by elevated concentrations of IL-17, IL-21 and IL-22, and a decreased level of IL-10 in peripheral blood ($P<0.01$). Compared with the model group, all treatment groups significantly increased the peripheral blood platelet count, improved the pathological status of the spleen, markedly reduced the number of Th17 cells, and elevated the number of Treg cells in both peripheral blood and spleen, substantially decreased the levels of IL-17, IL-21 and IL-22 in peripheral blood and increased the level of IL-10 ($P<0.05$, $P<0.01$). Among the treatment groups, the high-dose group showed superior efficacy compared to the low-dose, medium-dose as well as the prednisone groups ($P<0.05$). Moreover, Jiawei Guipi Decoction significantly down-regulated the protein expression levels of splenic p-JAK2, p-STAT3 and RORγt ($P<0.05$, $P<0.01$), while up-regulated the protein expression of Foxp3 ($P<0.05$, $P<0.01$). The high dose group exhibited a more pronounced reduction in the protein expressions of p-JAK2, p-STAT3 and RORγt compared with the low dose group ($P<0.05$). *Conclusion* Jiawei Guipi Decoction exhibits significant therapeutic effects in ITP mice. The mechanism may involve the inhibition of the JAK2/STAT3 signaling pathway, regulation of RORγt and Foxp3 protein expression and modulation of the Th17/Treg balance.

**Keywords**: Jiawei Guipi Decoction (加味归脾合剂); primary immune thrombocytopenia; JAK2/STAT3 signaling pathway; T helper cell 17; regulatory T cells

原发免疫性血小板减少症(primary immune thrombocytopenia, ITP)是一种获得性自身免疫介导的出血性疾病,临床表现为无症状性血小板减少、皮肤黏膜出血、严重者可因内脏出血或颅内出血而危及生命[1-2]。成人发病率为2/10万~10/10万,60岁以上老人是本病的高发人群,育龄女性略高于同龄男性[3]。目前西医多使用糖皮质激素、静脉输注人免疫球蛋白、血小板生成素受体激动剂等治疗ITP,虽然短期内能有效提高血小板计数,但存在不良反应大、易复发、费用高等问题[4-5]。加味归脾合剂是根据上海中医药大学附属曙光医院吴翰香教授治疗ITP多年临床经验而研制的院内制剂,临床已运用30余年,对慢性ITP患者疗效显著,能降低血小板抗体,提高血小板计数,显著改善中医临床证候和出血症状,治疗200例,总有效率89.94%,优于泼尼松对照组,且没有泼尼松治疗的不良反应[6]。本研究采用被动免疫造模法复制了ITP动物模型,通过观察加味归脾合剂对ITP模型小鼠血小板计数,脾脏病理,Janus激酶2(Janus inases 2, JAK2)/信号传导及转录激活蛋白3(Signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)信号通路及辅助性T细胞17(T helper cell 17, Th17)/调节性T细胞(Regulatory T cells, Treg)细胞数量及相关的细胞因子表达水平影响,以期阐明加味归脾合剂治疗ITP的部分疗效机制。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

SPF级雌性BALB/c小鼠60只,4周龄,体质量18~20 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,生产许可证号:SCXK(沪)2022-0004,饲养于上海中医药大学实验动物中心,许可证号:SCXK(沪)2020-0009,SPF级实验室独立通气笼盒(IVC)中饲养,温度(23±3)℃,相对湿度(60±10)%,光照周期12 h,普通饲料喂养,自由进食和饮水。本次实验动物研究获上海中医药大学动物研究伦理委员会审查批准,批件编号:PZSHUTCM2305260006。

### 1.2 药物

加味归脾合剂(院内制剂,购自上海中医药大学附属曙光医院,批号:230402,规格:500 mL/瓶)药物组成:党参30 g,黄芪20 g,白术(麸炒)12 g,大枣5枚,当归10 g,熟地黄12 g,甘草6 g,茯苓12 g,仙鹤草12 g,槐花12 g,酸枣仁(炒)10 g,木香9 g;醋酸泼尼松(天津信谊津津药业有限公司,国药准字:H31020675,生产批号:505221108,规格5 mg/片)。

### 1.3 主要试剂

抗小鼠血小板特异性CD41单抗(MWRg30)(美国BD Pharmingen公司,批号553847);苏木精和伊红染色(Hematoxylin-Eosin staining, HE)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号:D006-1-3);Anti-mouse CD4-APC, Anti-mouse CD25-FITC, Anti-mouse Foxp3-PE, Anti-mouse IL-17A-PE(美国Biolegend公司,批号:B237270、B205339、B246346、B201752);红细胞裂解液、佛波酯/离子霉素混合物(250×)、布雷菲德菌素A/莫能霉素混合物(250×)(联科生物,批号:LSC01、CS1001、CS1002);Mouse IL-10、IL-17A、IL-21、IL-22 ELISA Kit检测试剂盒(杭州联科生物,批号:EK217、EK221、EK 222、EK210);p-JAK2抗体、JAK2抗体、p-STAT3抗体、STAT3抗体(美国Cell Signaling Technology公司,批号:8082S、3230S、9145S、4904S);Anti-Foxp3抗体[221D]、Anti-ROR gamma抗体[EPR20006](美国abcam公司,批号:ab253297、ab207082);β-actin抗体(美国Proteintech公司,批号:66009-1-lg);RIPA裂解液(强)(上海司鼎生物科技有限公司,批号:SD0005);SDS-PAGE梯度凝胶试剂盒(上海雅酶生物医药科技有限公司,批号:PG110);超敏ECL化学发光试剂盒(上海碧云天生物技术股份有限公司,批号:P0018M)。

### 1.4 主要仪器

ACSVerse流式细胞仪(美国BD Pharmingen公司);MindrayBC-2800血细胞分析仪(深圳迈瑞医疗有限公司);多功能酶标仪(瑞士TECAN公司);台式高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司);漩涡振荡混悬器(海门其林贝尔仪器制造有限公司);石蜡切片机、烤片机、扫片机(德国LEICA公司)。

## 2 方法

### 2.1 动物造模与鉴定

本研究采用被动免疫法构建ITP小鼠模型[7]，具体操作如下：模型组小鼠每日经腹腔给予200 μL磷酸盐缓冲液（Phosphate buffered saline，PBS）配制的MWReg30，给药方案采用剂量递增方式，即第1天68 μg/kg，第2天102 μg/kg，第3天136 μg/kg，自第4天起每日维持136 μg/kg剂量。对照组小鼠则给予等体积（200 μL）PBS腹腔注射。在模型构建前及抗体注射后第1、3、5、7天，分别采集小鼠外周血进行血小板计数检测。以血小板计数降至正常参考值下限的50%以下作为模型构建成功的判定标准[8]。

### 2.2 分组与给药

BALB/c雌性小鼠60只，适应性饲养1周后，随机分为正常组、模型组、加味归脾合剂低剂量组（低剂量组）、加味归脾合剂中剂量组（中剂量组）、加味归脾合剂高剂量组（高剂量组）及泼尼松组，每组10只。各用药组按照成人（70 kg）与动物等效剂量系数折算，灌胃相应药物：加味归脾合剂低、中、高剂量组分别为13.49、26.99、53.97 g/（kg·d），泼尼松组为9.25 g/（kg·d），灌胃体积为10 mL/kg。正常组、模型组予等体积无菌饮用水灌胃。每天定点灌胃1次，连续14 d。

### 2.3 样本采集与指标检测

**2.3.1 小鼠外周血小板计数** 末次给药后2 h，尾静脉取外周血20 μL，快速混入使用PBS配制的0.02% EDTA－K2抗凝剂中，按1∶9稀释，使用Mindary BC－2800全自动血细胞分析仪检测血小板计数。

**2.3.2 HE染色法观察小鼠脾脏病理变化** 每组随机选取5只小鼠，采用颈椎脱位法处死后，完整取出小鼠脾脏，留取脾脏中部1块大小适中的组织（约1 cm×1 cm）置于10%中性福尔马林溶液中固定，48 h后依次进行梯度乙醇脱水、石蜡包埋等标准化处理后，切成4 μm厚度的切片，进行HE染色处理。

**2.3.3 流式细胞术检测小鼠外周血Treg、Th17细胞数量** 每组随机选取5只小鼠，通过小鼠眼眶静脉丛采集1 mL全血样本，经0.2%肝素钠抗凝处理后以等体积PBS稀释，采用密度梯度离心法（2000 r/min，20 min）分离单个核细胞，收集白膜层细胞经PBS洗涤后调整浓度至$2\times10^3$ cells/mL，分装至流式管（100 μL/管）。对于Treg检测，依次加入APC－CD4、FITC－CD25抗体（各5 μL）进行表面标记，经固定破膜处理后加入PE－Foxp3进行核内染色；对于Th17细胞检测，先采用佛波酯（50 ng/mL）/离子霉素（1 μg/mL）联合蛋白转运抑制剂（布雷非德菌素A 10 μg/mL＋莫能霉素1×）刺激培养60 min，随后进行APC－CD4表面标记和PE－IL－17A胞内染色。所有样本均采用流式细胞仪检测，应用FlowJo软件（v10.6.2）分析$CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg和$CD4^+IL-17A^+$ Th17细胞比例。

**2.3.4 流式细胞术检测脾脏Treg、Th17细胞数量** 剩余5只小鼠采用颈椎脱位法处死后，无菌取脾脏放入预冷的PBS转运至超净工作台，用75 μm滤器研磨，红细胞裂解液处理后制得脾脏单个核细胞悬液，调整细胞浓度不低于$1\times10^6$/mL，后续流式细胞术检测步骤同前所述。

**2.3.5 蛋白免疫印记法（Western blot）检测小鼠脾脏JAK2/STAT3信号通路蛋白表达** 取50 mg小鼠脾脏组织，加入由RIPA裂解缓冲液、磷酸酶抑制剂、蛋白酶抑制剂按照50∶1∶1比例配制的混合液中，提取总蛋白，后采用BCA法测定小鼠脾脏组织蛋白浓度。通过SDS－PAGE凝胶分离蛋白，并将蛋白质转移到聚偏二氟乙烯（PVDF）膜上，封闭后加入p－JAK2（1∶1000）、JAK2（1∶1000）、p－STAT3（1∶1000）、STAT3（1∶1000）、RORγt（1∶1000）、Foxp3（1∶2000）一抗4 ℃孵育过夜。隔日TBST缓冲液洗去未结合的一抗后，加入辣根过氧化物酶标记的二抗（1∶5000）室温孵育1 h，再用TBST洗去未结合的二抗，最后使用超敏ECL化学发光试剂盒显色。使用ImageJ软件测量各条带蛋白灰度值，蛋白表达水平以目的蛋白的灰度值与β－actin灰度值的比值表示。

**2.3.6 酶联免疫吸附法（Enzyme－linked immunosorbent assay，ELISA）检测外周血IL－17、IL－21、IL－22、IL－10含量** 剩余5只小鼠通过小鼠眼眶静脉丛采集0.5～0.8 mL全血样本至1.5 mL EP管中，室温静置4 h后，4 ℃、3500 r/min离心15 min，取上清，严格按照ELISA试剂盒说明书检测外周血IL－17、IL－21、IL－22、IL－10含量。

### 2.4 统计学分析

对所得的数据使用SPSS 20.0软件进行统计学的分析。对于计量资料，应以平均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）格式表示。对于数据经检验后符合正态性和方差齐性的，使用$t$检验进行两组间比较，使用单因素方差分析（One－Way ANOVA）进行多组间比较，并使用LSD进行两两比较，对于不符合正态性或方差齐性的数据使用非参数检验。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 各组小鼠外周血血小板计数比较

与正常组比较，模型组小鼠外周血血小板计数明显降低，组间比较有统计学意义（$P<0.01$）；与模型组比较，加味归脾合剂低、中、高剂量组和泼尼松组外周血血小板计数均升高，具有统计学意义（$P<0.01$），且高剂量组优于低剂量组和中剂量组（$P<0.05$）。结果见表1。

表1 各组小鼠外周血血小板计数变化（$\bar{x}\pm s$）

| 组别 | $n$ | 血小板计数/（$\times10^9$/L） |
|---|---|---|
| 正常组 | 10 | 1024±70.01 |
| 模型组 | 10 | 271±35.08** |
| 低剂量组 | 10 | 605±54.78△△▲ |
| 中剂量组 | 10 | 656±71.6△△▲ |
| 高剂量组 | 10 | 735±54.78△△ |
| 泼尼松组 | 10 | 783±49.53△△ |

注：**与正常组比较，$P<0.01$；△△与模型组比较，$P<0.01$；▲与高剂量组比较，$P<0.05$。

### 3.2 各组小鼠脾脏病理比较

HE染色结果显示：正常组脾脏结构清晰，红髓白髓相间分布，红髓充血，脾内可见少量巨核细胞，出现生发中心。模型组脾脏结构清晰，红髓白髓相间分布，红髓充血，边界线欠清，可见较多髓外造血，生发中心形成，周边带增亮。有吞噬后形成“星空”现象。加味归脾合剂低剂量组脾脏结构清晰，红髓白髓相间分布，红髓充血，可见较多髓外造血，生发中心形成。加味归脾合剂中、高剂量组和泼尼松组脾脏结构清晰，红髓白髓相间分布，红髓充血，可见较多髓外造血，生发中心形成。有吞噬后形成“星空”现象。结果见插页Ⅻ图1。

### 3.3 各组小鼠外周血与脾脏Treg、Th17细胞数量比较

外周血流式结果显示：与正常组比较，模型组小鼠外周血Treg细胞数量降低（$P<0.01$），Th17细胞数量升高（$P<0.01$）；与模型组比较，加味归脾合剂低、中、高剂量组和泼尼松组Treg细胞数量均升高（$P<0.05$，$P<0.01$），Th17细胞数量

均降低($P<0.05$,$P<0.01$),其中,加味归脾合剂高剂量组效果优于加味归脾合剂低剂量组和泼尼松组($P<0.05$)。结果见插页Ⅻ图 2、表 2。

脾脏流式结果显示:与正常组比较,模型组小鼠脾脏 Treg 细胞数量降低($P<0.01$),Th17 细胞数量升高($P<0.01$);与模型组比较,加味归脾合剂低、中、高剂量组和泼尼松组 Treg 细胞数量均升高($P<0.05$,$P<0.01$),Th17 细胞数量均降低($P<0.05$,$P<0.01$),其中,加味归脾合剂高剂量组效果优于低剂量组和泼尼松组($P<0.05$)。结果见插页ⅩⅪ图 3、表 2。

表 2 各组外周血与脾脏 Treg、Th17 细胞数量变化($\bar{x}\pm s$)

单位:%

| 组别 | $n$ | 外周血 | | 脾脏 | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Treg/CD4$^+$ | Th17/CD4$^+$T | Treg/CD4$^+$ | Th17/CD4$^+$T |
| 正常组 | 5 | 2.81±0.54 | 2.43±0.53 | 2.18±0.53 | 4.23±0.56 |
| 模型组 | 5 | 0.76±0.23$^{**}$ | 7.27±0.58$^{**}$ | 0.95±0.23$^{**}$ | 10.7±1.34$^{**}$ |
| 低剂量组 | 5 | 1.56±0.38$^{\triangle\blacktriangle}$ | 5.94±0.59$^{\triangle\blacktriangle}$ | 1.12±0.45$^{\blacktriangle}$ | 9.34±1.28$^{\blacktriangle}$ |
| 中剂量组 | 5 | 1.78±0.42$^{\triangle\triangle}$ | 5.45±0.48$^{\triangle\blacktriangle}$ | 1.82±0.59$^{\triangle}$ | 5.11±0.78$^{\triangle\triangle}$ |
| 高剂量组 | 5 | 2.45±0.36$^{\triangle\triangle}$ | 4.16±0.36$^{\triangle\triangle}$ | 2.58±0.41$^{\triangle\triangle}$ | 4.56±0.56$^{\triangle\triangle}$ |
| 泼尼松组 | 5 | 1.63±0.41$^{\triangle\blacktriangle}$ | 5.51±0.42$^{\triangle\blacktriangle}$ | 1.47±0.41$^{\triangle\blacktriangle}$ | 6.11±1.12$^{\triangle\blacktriangle}$ |

注:$^{**}$与正常组比较,$P<0.01$;△与模型组比较,$P<0.05$;△△与模型组比较,$P<0.01$;▲与高剂量组比较,$P<0.05$。

3.4 各组小鼠脾脏信号通路 JAK2/STAT3 检测结果

与正常组比较,模型组小鼠脾脏 p-JAK2、p-STAT3 及 RORγt 蛋白表达显著升高($P<0.01$),Foxp3 蛋白表达显著降低($P<0.01$);与模型组相比,加味归脾合剂各剂量组和泼尼松组小鼠脾脏 p-JAK2、p-STAT3 及 RORγt 蛋白表达显著降低($P<0.05$,$P<0.01$),Foxp3 蛋白表达显著升高($P<0.05$,$P<0.01$);且加味归脾合剂高剂量组降低脾脏 p-JAK2、p-STAT3 及 RORγt 蛋白表达优于低剂量组($P<0.05$)。结果见图 4。

3.5 各组小鼠血浆 IL-17、IL-21、IL-22、IL-10 含量比较

与正常组比较,模型组小鼠外周血 IL-17、IL-21、IL-22 含量显著升高($P<0.01$),IL-10 含量显著降低($P<0.01$);与模型组相比,加味归脾合剂各剂量组和泼尼松组小鼠血浆中 IL-17、IL-21、IL-22 含量显著降低($P<0.05$,$P<0.01$),IL-10 含量显著升高($P<0.05$,$P<0.01$)且加味归脾合剂高剂量组降低小鼠血浆IL-17、IL-21、IL-22含量及升高小鼠血浆 IL-10 含量的作用优于加味归脾合剂低、中剂量组和泼尼松组($P<0.05$)。结果见表 3。

表 3 各组小鼠血清 IL-17、IL-21、IL-22、IL-10 含量的变化($\bar{x}\pm s$)

单位:pg/mL

| 组别 | $n$ | IL-17 | IL-21 | IL-22 | IL-10 |
|---|---|---|---|---|---|
| 正常组 | 5 | 69.18±7.34 | 64.87±9.94 | 65.34±8.56 | 156.29±17.33 |
| 模型组 | 5 | 277.49±18.59$^{**}$ | 284.12±14.35$^{**}$ | 282.85±12.43$^{**}$ | 32.34±3.66$^{**}$ |
| 低剂量组 | 5 | 181.61±16.55$^{\triangle\blacktriangle}$ | 187.65±13.56$^{\triangle\blacktriangle}$ | 182.53±12.67$^{\triangle\blacktriangle}$ | 45.24±2.96$^{\triangle\blacktriangle}$ |
| 中剂量组 | 5 | 134.59±14.45$^{\triangle\blacktriangle}$ | 136.16±13.67$^{\triangle\blacktriangle}$ | 138.75±12.12$^{\triangle\blacktriangle}$ | 67.73±6.14$^{\triangle\blacktriangle}$ |
| 高剂量组 | 5 | 80.45±7.06$^{\triangle\triangle}$ | 83.06±7.37$^{\triangle\triangle}$ | 82.53±5.59$^{\triangle\triangle}$ | 91.16±10.89$^{\triangle\triangle}$ |
| 泼尼松组 | 5 | 127.58±12.34$^{\triangle\blacktriangle}$ | 124.33±13.35$^{\triangle\blacktriangle}$ | 130.45±12.43$^{\triangle\blacktriangle}$ | 64.13±6.53$^{\triangle\blacktriangle}$ |

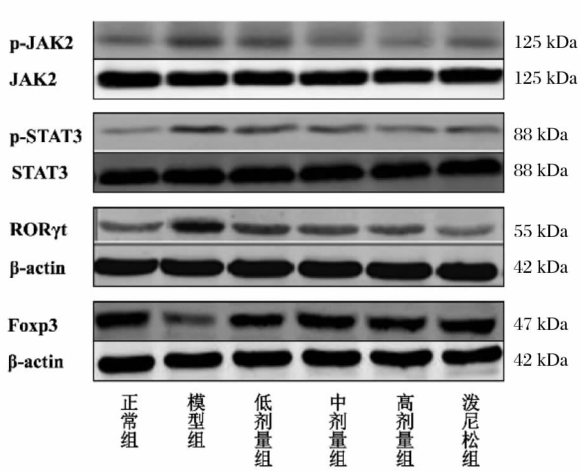
注:$^{**}$与正常组比较,$P<0.01$;△与模型组比较,$P<0.05$,△△与模型组比较,$P<0.01$;▲与高剂量组比较,$P<0.05$。

## 4 讨论

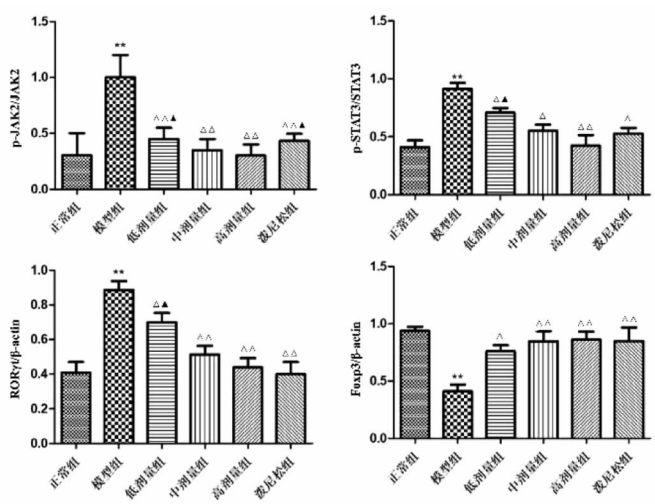
ITP 以皮肤、黏膜出血为主要临床表现,中医据此将其纳入“紫癜病”范畴[9]。中医理论认为出血性疾病与脾密切相关。《景岳全书·血证》曰:“盖脾统血,脾气虚则不能收摄;脾化血,脾气虚则不能运化,是皆血无所主,因而脱陷妄行。”唐容川在《血证论》中明确提出血证的病位主要在脾,其治亦在脾,强调:“治血者以脾为主,乃为有要,至于治气,亦以脾为主。”对于慢性 ITP 脾不摄血是其病机之关键,在治疗反复发作的 ITP 患者,应从“脾”着眼治其本[10-11]。中医药作为 ITP 的药物治疗途径之一,对改善临床症状和提高血小板计数行之有效,但药理机制值得深入研究[12]。

加味归脾合剂是根据上海中医药大学附属曙光医院吴翰香教授治疗 ITP 多年临床经验而研制的院内制剂,由党参、黄芪、炒白术、当归、熟地黄、茯苓、仙鹤草、槐花、酸枣仁、木香、大枣、甘草组成。方中党参、黄芪、白术、茯苓健脾补中,熟地黄、当归、大枣补血,酸枣仁宁心安神,木香健脾理气,仙鹤草、槐花补虚止血,甘草调和诸药。通过前期实验研究已证实加味归脾合剂具有提升血小板计数、改善血小板功能、抑制血小板抗体、加速骨髓巨核细胞分化与成熟的作用,有效调节异常 T 细胞免疫功能,增强 CD4$^+$CD25$^+$Treg 的免疫抑制功能[6]。然而,由于 ITP 复杂的发病机制,加味归脾合剂纠正机体免疫失耐受的具体机制仍未明确。

虽然ITP的确切病因仍未完全阐明,但其主要发病机制在




(A) 免疫印记




(B) 蛋白积分

注:$^{**}$与正常组比较,$P<0.01$;△与模型组比较,$P<0.05$,△△与模型组比较,$P<0.01$;▲与高剂量组比较,$P<0.05$。

图 4 各组小鼠脾脏 p-JAK2、p-STAT3、RORγt 和 Foxp3 蛋白表达变化

于机体对血小板自身抗原的免疫耐受失衡，这种失衡引发体液免疫和细胞免疫的异常激活，共同介导血小板破坏增多和巨核细胞血小板生成不足[13]。近年来，越来越多研究表明，ITP的发生发展过程与T淋巴细胞亚群异常及免疫失衡密切相关，特别是Th17与Treg的比例失调在其中起着重要作用[14-16]。从分子机制来看，Foxp3作为Treg细胞的特异性转录调控因子，对其分化成熟及免疫抑制功能具有决定性影响[17-18]；而Th17细胞的分化则受核受体RORγt的调控，并分泌大量促炎因子如IL-17、IL-21、IL-22等[19-20]。本实验结果显示，ITP模型组小鼠外周血及脾脏组织中Th17细胞数量显著升高，同时伴有Treg细胞比例的明显下降，这一发现与ITP自身免疫发病机制高度一致。而加味归脾合剂干预后，ITP小鼠外周血及脾脏中Th17细胞比例、RORγt蛋白表达水平显著下降，Treg细胞比例、Foxp3蛋白表达水平明显升高，提示其可能通过抑制Th17分化或促进Treg扩增恢复免疫平衡。此外，Th17细胞相关细胞因子IL-17、IL-21、IL-22水平降低，而Treg相关因子IL-10升高，进一步支持该方对免疫偏移的纠正作用。

JAK2/STAT3信号通路在免疫细胞分化及炎症反应中发挥关键作用[21-22]。STAT3的持续磷酸化激活可双向调节T细胞亚群平衡：一方面，STAT3是Th17细胞分化的关键转录因子，它可以被IL-6等细胞因子激活，从而诱导RORγt等基因的表达，促进Th17细胞的产生；另一方面，STAT3也可以抑制Treg的分化，Treg细胞可以通过分泌IL-10等抗炎因子，抑制自身免疫反应[23]。在ITP中，JAK2/STAT3通路的异常活化已被多项研究证实，其下游效应分子IL-21可进一步放大Th17反应，形成恶性循环[24-25]。本研究发现，ITP小鼠脾组织JAK2、STAT3磷酸化水平显著升高，与Th17/Treg失衡呈正相关。而加味归脾合剂治疗后，p-JAK2、p-STAT3表达降低，提示该方可能通过抑制JAK2/STAT3通路调控T细胞亚群分化。

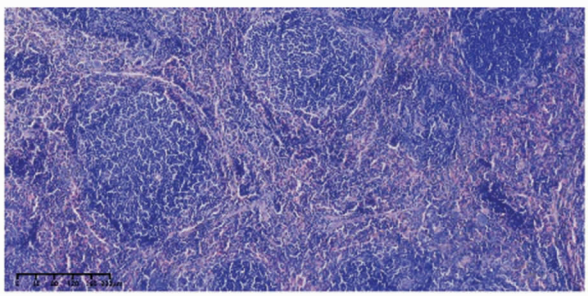
综上所述，加味归脾合剂治疗ITP小鼠疗效显著，其机制可能通过抑制JAK2/STAT3信号通路活化，调节RORγt和FOXP3蛋白表达水平，进而调控Th17/Treg平衡发挥作用。本研究初步揭示了加味归脾合剂通过调节免疫耐受机制发挥治疗作用的药效学基础，为阐释中医药治疗ITP的作用靶点提供了实验依据。鉴于中药复方多成分、多靶点、多通路的作用特点，后续研究需进一步深入探讨加味归脾合剂对ITP关键信号通路的调控机制，以及其活性成分与特定分子靶点的相互作用关系，从而系统阐明其治疗ITP的分子药理学机制。这一研究方向对于推动中医药现代化研究及临床合理应用具有重要意义。

**参考文献**

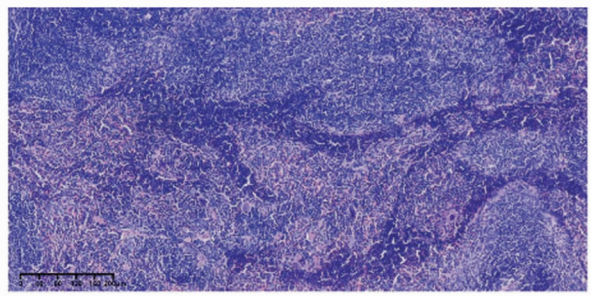
[1] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组. 成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国指南(2020年版)[J]. 中华血液学杂志, 2020, 41(8): 617-623.
[2] ALI MADKHALI M. Recent advances in the management of immune thrombocytopenic purpura (ITP): a comprehensive review[J]. Medicine, 2024, 103(3): e36936.
[3] MOULIS G, COMONT T, ADOUE D. New insights into the epidemiology of immune thrombocytopenia in adult patients: Impact for clinical practice[J]. Rev Med Interne, 2021, 42(1): 11-15.
[4] BOLTON-MAGGS P H B, GEORGE J N. Immune thrombocytopenia treatment[J]. N Engl J Med, 2021, 385(10): 948-950.
[5] GONZÁLEZ-LÓPEZ T J, PROVAN D. The new era of primary immune thrombocytopenia management in adults: a narrative review of current and emerging treatments[J]. Blood Rev, 2025, 73: 101300.
[6] 朱小勤, 黄中迪, 邱仲川, 等. 加味归脾合剂治疗慢性免疫性血小板减少症气虚证临床研究[J]. 山东中医杂志, 2017, 36(12): 1018-1021, 1054.
[7] 徐静, 鲍计章, 周永明. 原发免疫性血小板减少症动物模型建立研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(12): 2879-2883.
[8] 徐皓, 鲍计章, 朱文伟, 等. 健脾滋肾泻火方对免疫性血小板减少症小鼠脾脏树突状细胞、CD86表达和外周血IL-12p70的影响[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(3): 107-110, 268.
[9] 蓝海, 侯丽, 郎海燕, 等. 常见血液病的中医分类与命名[J]. 中医杂志, 2019, 60(9): 750-753, 778.
[10] 严香, 赵倩, 陈信义, 等. 基于血小板活化功能探讨从脾论治原发性免疫性血小板减少症止血机制[J]. 世界中西医结合杂志, 2023, 18(3): 516-520, 534.
[11] 苗璐, 田劭丹, 王志刚, 等. 陈信义运用脾主统血分型论治原发性免疫性血小板减省症经验[J]. 中医药导报, 2024, 30(2): 123-125, 140.
[12] 胡旭辉, 白玉盛. 中医药论治原发免疫性血小板减少症的进展概述[J]. 新疆中医药, 2024, 42(6): 136-138.
[13] AUDIA S, MAHÉVAS M, NIVET M, et al. Immune thrombocytopenia: recent advances in pathogenesis and treatments[J]. Hemasphere, 2021, 5(6): e574.
[14] LI Q Z, MARCOUX G, HU Y F, et al. Autoimmune effector mechanisms associated with a defective immunosuppressive axis in immune thrombocytopenia (ITP)[J]. Autoimmun Rev, 2024, 23(12): 103677.
[15] BU S Y, LIU M, YANG L, et al. The function of T cells in immune thrombocytopenia[J]. Front Immunol, 2025, 16: 1499014.
[16] KARGAR M, TORABIZADEH M, PURRAHMAN D, et al. Regulatory factors involved in Th17/Treg cell balance of immune thrombocytopenia[J]. Curr Res Transl Med, 2023, 71(2): 103389.
[17] LENG F W, MERINO-URTEAGA R, WANG X, et al. Ultrastable and versatile multimeric ensembles of FoxP3 on microsatellites[J]. Mol Cell, 2025, 85(8): 1509-1524.
[18] LIU Z, LEE D S, LIANG Y Q, et al. Foxp3 orchestrates reorganization of chromatin architecture to establish regulatory T cell identity[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 6943.
[19] WU B, WAN Y S. Molecular control of pathogenic Th17 cells in autoimmune diseases[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 80: 106187.
[20] CHI X X, JIN W, ZHAO X H, et al. RORγt expression in mature $T(H)_{17}$ cells safeguards their lineage specification by inhibiting conversion to $T(H)_2$ cells[J]. Sci Adv, 2022, 8(34): eabn7774.
[21] PHILIPS R L, WANG Y X, CHEON H, et al. The JAK-STAT pathway at 30: Much learned, much more to do[J]. Cell, 2022, 185(21): 3857-3876.
[22] SAMRA S, BERGERSON J R E, FREEMAN A F, et al. JAK-STAT signaling pathway, immunodeficiency, inflammation, immune dysregulation, and inborn errors of immunity[J]. J Allergy Clin Immunol, 2025, 155(2): 357-367.
[23] QIN Z, WANG R N, HOU P, et al. TCR signaling induces STAT3 phosphorylation to promote TH17 cell differentiation[J]. J Exp Med, 2024, 221(3): e20230683.
[24] ZHANG Z K, SHANG G B, LU Z, et al. Daucosterol regulates JAK2-STAT3 signaling pathway to promote megakaryocyte differentiation[J]. Blood Cells Mol Dis, 2024, 107: 102858.
[25] ZHANG Q, BAI H, YU X H, et al. Changes of IL-21 and its mediated JAK/STAT signaling pathway in patients with immune thrombocytopenia[J]. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi, 2018, 26(3): 859-865.

# 加味归脾合剂通过 JAK2/STAT3 信号通路对免疫性血小板减少症小鼠免疫平衡的影响

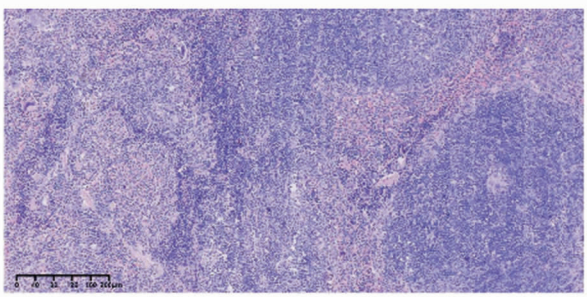
（正文见 73－77 页）



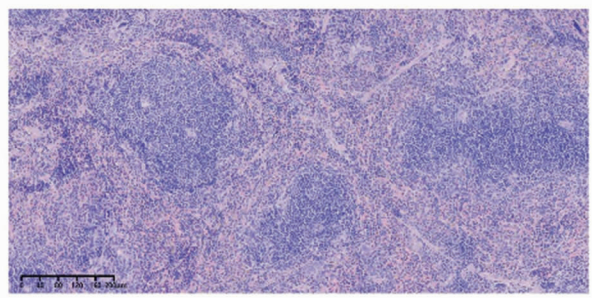
正常组



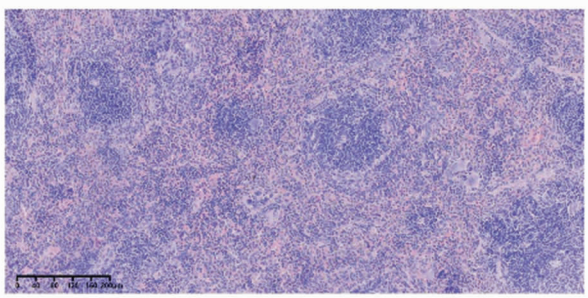
模型组



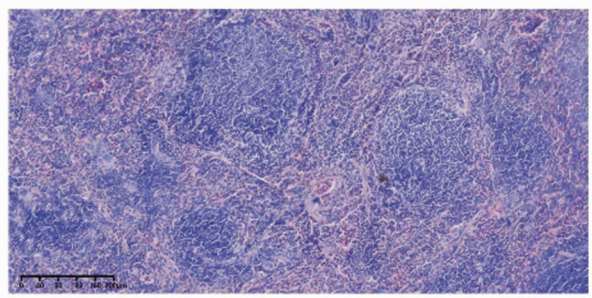
低剂量组



中剂量组

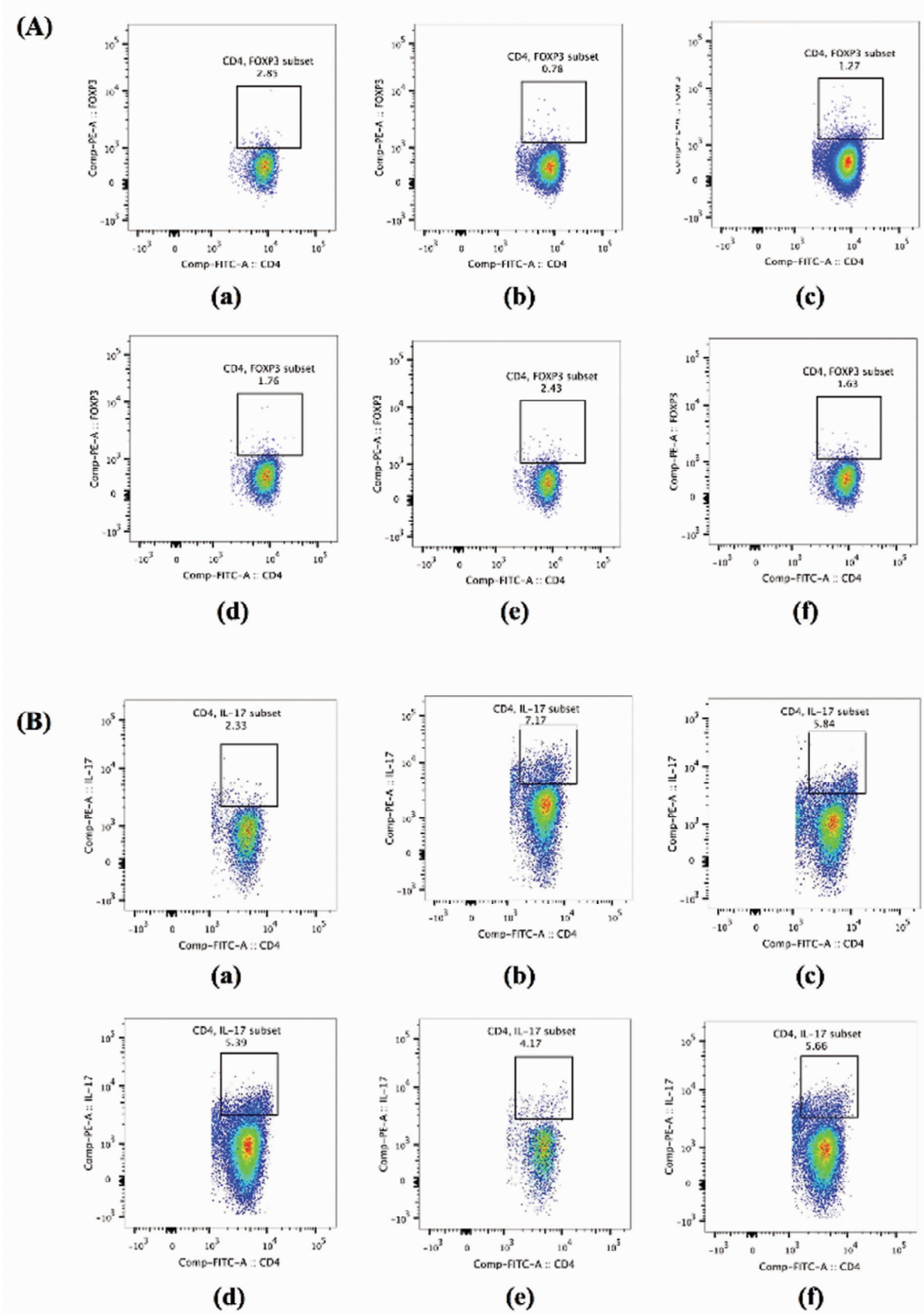


高剂量组



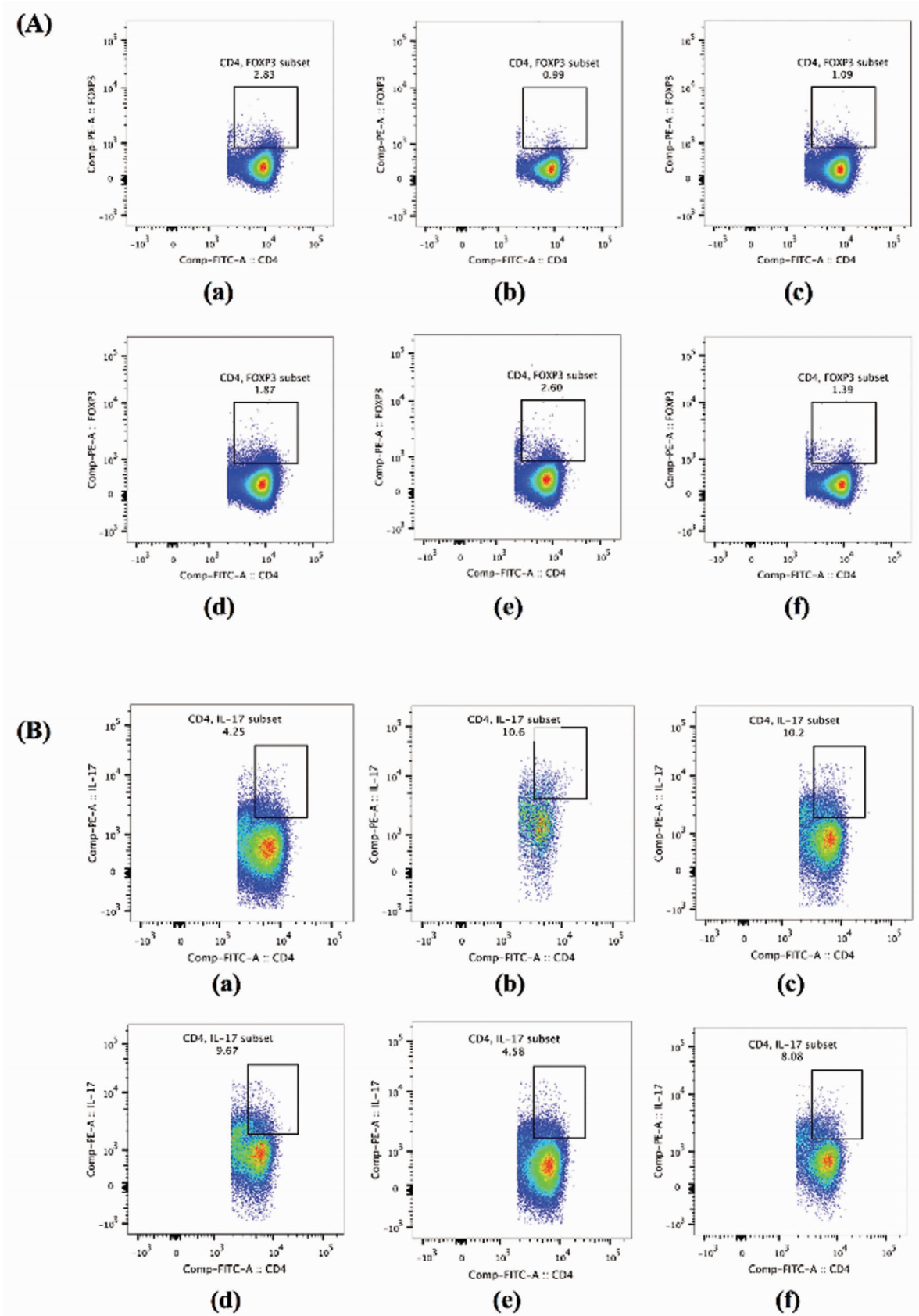
泼尼松组

图 1　各组小鼠脾脏病理变化（HE 染色，×200）




注：(A)Treg；(B)Th17。(a)正常组；(b)模型组；(c)低剂量组；(d)中剂量组；(e)高剂量组；(f)泼尼松组。

图2 各组小鼠外周血流式细胞图




注:(A)Treg;(B)Th17。(a)正常组;(b)模型组;(c)低剂量组;(d)中剂量组;(e)高剂量组;(f)泼尼松组。

图 3 各组小鼠脾脏流式细胞图