

论著·临床研究

健脾化湿颗粒对实验性 IBS-D 大鼠结肠黏膜 5-HT 表达的影响*

赵立波¹,王迎寒²,刘玉玲²,张晓峰²,董岫岩³,郭洪杰^{3△},赵淑艳¹

(1. 河北承德护理职业学院涉外护理系,河北承德 067000;2. 河北省中药研究与开发重点实验室,河北承德 067000;3. 承德医学院附属肛肠医院中医内科,河北承德 067000)

摘要:目的 观察健脾化湿颗粒对腹泻型肠易激综合征(IBS-D)大鼠结肠黏膜 5-羟色胺(5-HT)表达的影响。方法 60 只清洁级 Wistar 大鼠,分为 6 组,每组 10 只。采用番泻叶灌胃配合束缚应激造模。造模成功后,健脾化湿颗粒低、中、高剂量组给药浓度分别为 1.5、2.5、4.0 g/mL(生药),得舒特组给药浓度 3 mg/mL 灌胃给药。每日 1 次,连续 2 周,另外两组为不经任何处理的正常组和造模成功的模型组。实验结束免疫组织化学观察结肠标本 5-HT 水平的变化。结果 IBS-D 模型大鼠结肠组织 5-HT 的水平显著高于正常组($P < 0.01$);除健脾化湿低剂量组外,各治疗组大鼠结肠组织中 5-HT 的水平显著低于模型组($P < 0.01$)。其中,健脾化湿高剂量组效果明显,与得舒特组差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 健脾化湿颗粒可抑制 IBS-D 模型大鼠结肠黏膜 5-HT 过高表达,明显改善 IBS-D 模型大鼠胃肠功能。

关键词:肠易激综合征;血清素;健脾化湿颗粒,5-HT

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.14.011

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)14-1713-03

Effect of JPHSKL on the quantity of 5-Hydroxytryptamine of colonic mucosa of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome rats*

Zhao Libo¹, Wang Yinghan², Liu Yuling², Zhang Xiaofeng², Dong Youyan³, Guo Hongjie^{3△}, Zhao Shuyan¹

(1. Oversea Nursing Department of Chengde Nursing Vocational College, Chengde, Hebei 067000, China;

2. Hebei Key Laboratory of Reaserch and Development of Chinese Herbs, Chengde, Hebei 067000, China;

3. Chinese Medicine Department in Affiliated Anorectal Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei 067000, China)

Abstract: Objective To observe the effect of Jian Pi Hua Shi Ke Li(JPHSKL) on IBS-D, gastrointestinal peptide hormones of rats 5-HT, and explore the therapeutic mechanism. **Methods** 60 clean-level Wistar rats were used in the experiment. The rats were randomly divided into normal group, model group, JPHS low, middle, high and Deshute group(10 rats in each group). Used gavage senna and restraint stress to establish D-IBS rat model. The drug contractions of JPHSKL low, middle, high group were 1.5, 2.5, 4.0 g/mL, 3 mg/mol in Deshute group. Once each day, for 2 weeks, the other groups were nomol group without any treatment and model group which building successful. Immunohistochemical SABC method to observe 5-HT level of colonic specimens. **Results** The 5-HT level in colonic tissue of the rats in IBS-D model were obviously higher than the normal group($P < 0.01$), and the 5-HT level in colonic tissue in JPHSKL treated group were obviously lower than the model group($P < 0.05$). Among them, the JPHSKL high group had significant effect and there was no obviously difference with Deshute group($P > 0.05$). **Conclusion** JPHSKL can improve gastrointestinal function of IBS-D model rats, effect mechanism is relating to decrease the level of 5-HT in colonic mucosa.

Key words: irritable bowel syndrome; serotonin; Jian Pi Hua Shi Ke Li, 5-HT

肠易激综合征(Irritable bowel syndrome, IBS)是一种以腹痛、腹胀伴有大便性状改变和排便习惯改变为特征的症候群,是一种功能性胃肠紊乱性疾病^[1]。临床以腹泻型肠易激综合征(IBS-D)最为常见^[2]。其发病机制尚不明确,临床越来越多的研究表明脑-肠轴^[3]及胃肠肽类激素^[4]与 IBS 密切相关,5-羟色胺(5-HT)^[5-6]作为重要的胃肠肽激素在 IBS 发生发展中起重要作用。本实验从实验大鼠结肠组织 5-HT 表达水平的变化,探讨健脾化湿颗粒治疗 IBS-D 可能的作用机制,现将结果报道如下。

1 材料与方

1.1 材料 60 只清洁级 Wistar 大鼠,雌雄各半[体质量(170±20)g,合格证编号:Scxk(冀)2009-0004];番泻叶(批号:0120420);健脾化湿颗粒,由承德医学院中药研究所分析室制

备;得舒特(批号:624065,法国苏威制药公司生产);5-HT 免疫组织化学试剂盒、DAB 显色试剂盒(购自德国博士德生物工程有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 IBS-D 模型鼠制备 适应性饲养 1 周,分为正常组(不作任何处理)、模型组、健脾化湿低、中、高剂量组和得舒特组,每组 10 只。IBS-D 动物模型采用乔氏法造模^[7]:除正常组,各组大鼠实验前 10 h 禁食,自由饮水,分别给予番泻叶煎剂(0.6 g/mL 生药)灌胃,每日 1 次。灌服完番泻叶煎剂 1 h 后即粗制棉绳束缚大鼠的后肢,使之行动不便,烦躁不安,造成一定应激刺激,每天束缚 2 h,持续 2 周,正常组全程只予以生理盐水灌胃,均按每只 10 mL/kg 剂量灌胃。每日观察大鼠大便、饮食、毛色等情况。正常组大鼠大便成型、便次少、进食稳

* 基金项目:2010 年河北省科技支撑计划基金资助项目(10276105D-45);2013 年河北省科技支撑基金资助项目(13277797D)。作者简介:赵立波(1973-),高级讲师,硕士,主要从事中医药治疗消化系统疾病的研究。△ 通讯作者:Tel:(0314)2291206;E-mail:guohongjie2@163.com。

定、毛色光亮。而模型组大鼠皮毛松弛、便质稀、便次多、进食量下降、饮水增多。上述模型鼠情况与文献记载及临床 IBS-D 患者症状一致,且上述症状持续存在,提示 IBS-D 动物模型成功。

1.2.2 治疗方法 造模成功后,健脾化湿颗粒高、中、低剂量组给药浓度分别为 4.0、2.5、1.5 g/mL(生药),得舒特组给药浓度 3 mg/mL,均以每只 10 mL/kg 灌胃给药。模型组和正常组给予等容量生理盐水。每日 1 次,连续 2 周。

1.2.3 结肠中 5-HT 水平测定方法 实验结束前 1 d,大鼠禁食不禁水,乙醚麻醉,大鼠处死后截取近端结肠(距回结肠连接处 2 cm)1 cm,10% 中性甲醛固定 24 h 后石蜡包埋,切片,片厚 5 μ m,常规脱蜡和水化,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗,DAB 显色,中性树胶封片等严格按试剂盒说明完成。阳性表达为胞质或胞膜呈棕褐色颗粒,使用医学图像定量分析软件分析结肠黏膜中 5-HT 阳性指数,每组分析 6 个标本,每张切片分析 3 个视野。即在 400 倍高倍镜视野下摄取切片图像,选定摄取图像的黏膜层、黏膜下层,全视场测量,得出免疫组织化学图像中 5-HT 阳性面积和光密度(OD)值。阳性面积 \times OD 值,即为 5-HT 免疫组织化学阳性指数。OD 值代表组织染色强度,即 OD 值越大,染色越强。

1.3 统计学处理 采用 SPSS11.5 软件对数据进行统计分

析。计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,统计方法采用方差分析和 q 检验比较各组的差别,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

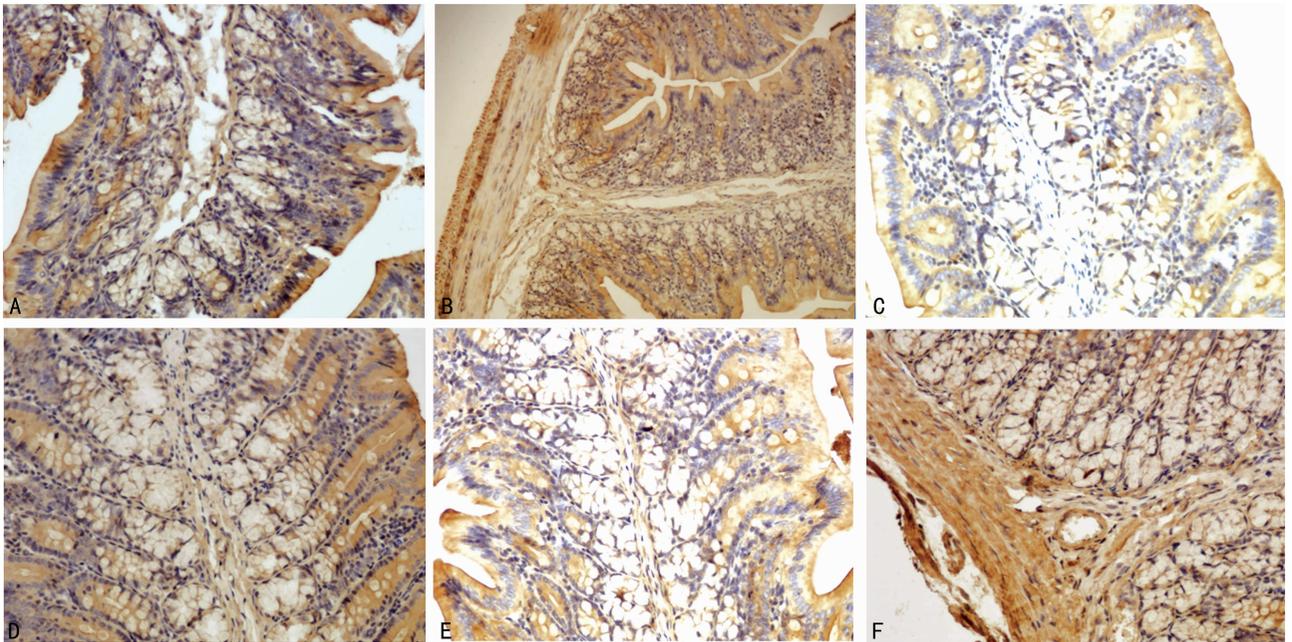
2 结果

经 2 周治疗后,IBS-D 模型大鼠结肠组织中 5-HT 的水平显著高于正常组($P<0.01$);除健脾化湿颗粒低剂量组外,各治疗组大鼠结肠组织中 5-HT 的水平显著低于模型组($P<0.05$)。其中,健脾化湿颗粒高剂量组效果明显,与得舒特组差异无统计学意义($P>0.05$),而健脾化湿颗粒低、中剂量组效果较差($P<0.01$),结果见表 1、图 1。

表 1 健脾化湿颗粒对 IBS-D 大鼠结肠黏膜 5-HT 水平的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	5-HT 光密度
正常组	10	0.198 8 \pm 0.054 ^a
模型组	10	0.497 3 \pm 0.071 ^b
得舒特组	10	0.301 8 \pm 0.038
健脾化湿颗粒低剂量组	10	0.446 4 \pm 0.063
健脾化湿颗粒中剂量组	10	0.361 7 \pm 0.086 ^b
健脾化湿颗粒高剂量组	10	0.322 3 \pm 0.056 ^b

^a: $P<0.01$,与模型组比较;^b: $P<0.01$,与正常组比较。



A: 正常组; B: 模型组; C: 得舒特组; D: 健脾化湿颗粒中剂量组; E: 健脾化湿颗粒高剂量组; F: 健脾化湿颗粒低剂量组。

图 1 健脾化湿颗粒对 IBS-D 模型大鼠结肠组织中 5-HT 水平的影响(免疫组织化学 $\times 400$)

3 讨论

IBS 发病机制不明确,越来越多的研究表明胃肠激素在 IBS 发病中起重要作用^[8]。胃肠激素是指分布在胃肠道管壁上和胰腺内的嗜银细胞分泌的一组小分子或肽类高效能生物活性物质^[9]。5-HT 是重要的胃肠激素之一,广泛存在于中枢神经系统和胃肠道^[10],其对肠道运动、内脏感觉、肠道吸收和分泌均有重要作用。研究发现结肠内压力升高,可促使嗜铬细胞释放 5-HT,与 5-HT 受体结合,调节蠕动反射,引起对疼痛感觉的调节^[11]。有学者在研究中发现 IBS-D 模型大鼠结肠黏膜肌层、黏膜下层 5-HT 阳性表达显著增强^[12]。提示 5-HT 可能是 IBS-D 发生的重要生物活性因子。詹丽杏等^[13]的研究发

现 IBS 患者血浆 5-HT 水平较正常者显著升高,且活动期水平高于缓解期,提示 5-HT 的合成、分泌与 IBS 症状发作相关。还有学者报道大鼠血清 5-HT 含量增加能加快结肠推进速度,增加排便次数。

本实验结果显示,IBS-D 模型大鼠结肠组织中 5-HT 的含量明显增高,与正常组比较差异有统计学意义($P<0.01$),经 2 周治疗后,健脾化湿颗粒高剂量组及得舒特组大鼠结肠组织中 5-HT 的含量显著低于模型组($P<0.01$),提示结肠组织 5-HT 高表达在 IBS-D 发病中有一定作用。

IBS-D 属中医“泄泻”、“痛泄”、“久泄”等的范畴^[14]。基本病机为肝郁脾虚^[15]、脾虚湿胜。健脾化湿颗粒在传统经验方

健脾化湿汤基础上改变剂型,既保存该方原有疗效,又适应现代社会的用药理念。方中炙黄芪、益智仁,辅以炒白术、砂仁补气健脾和芳香化湿;陈皮、茯苓行气健脾,燥湿和胃;白芍养血柔肝;乌药行气止痛;防风辛能散肝,香能舒脾,风能胜湿止泻,理脾引经。全方紧紧抓住脾虚湿盛和肝气郁结环节,健脾化湿,疏肝解郁,从而使肝气条达,脾胃升降功能恢复正常而腹痛、便溏症状消除。经本实验研究发现,健脾化湿颗粒可改善 IBS-D 5-HT 的高表达,减弱神经介导的胃肠道运动与分泌,提高内脏痛阈,消除肠道过敏,从而有效改善 IBS-D 临床症状。

参考文献:

- [1] 胡品津,潘国宗. 肠易激综合症的共识意见[J]. 中华内科杂志,2003,42(9):669-670.
- [2] 熊理守,陈旻湖,陈惠新,等. 广东省社区人群肠易激综合症的流行病学研究[J]. 中华医学杂志,2004,84(4):278-281.
- [3] Mayer EA, Collins SM. Evolving pathophysiologic models of functional gastrointestinal disorders[J]. Gastroenterology,2002,122(7):2032-2048.
- [4] 胡俊,胡团敏,何文钦,等. 黄术灌肠液对腹泻型肠易激综合症大鼠 IL-1 β 、IL-10 表达的影响[J]. 世界华人消化杂志,2009,17(21):2188-2191.
- [5] 刘春,叶柏. 调肝运脾汤治疗腹泻型肠易激综合症的实验研究[J]. 南京中医药大学学报,2011,27(2):151-154.
- [6] 徐海珍,谢建群,吴大正,等. 温中健脾方对腹泻型肠易激综合症大鼠下丘脑及结肠黏膜 5-HT 表达的影响[J]. 上

海中医药大学学报,2009,23(3):29-32.

- [7] 乔明琦,张珍玉. 肝气逆、肝气郁两证客观指标实验研究[J]. 山东中医学院学报,1992,22(3):23-26.
- [8] 武蕾蕾,何志鹏. 山楂水提物对肠易激综合症大鼠结肠黏膜 5-HT 和 5-HT_{3R} 表达的影响[J]. 牡丹江医学院学报,2011,32(4):6-9.
- [9] 吕妍,李丹,唐方. 藿香单品对腹泻型肠易激综合症大鼠胃肠激素的影响[J]. 中医杂志,2010,51(S1):237-239.
- [10] 徐俊荣,罗金燕,尚磊,等. 5-羟色胺受体可塑性在大鼠肠易激综合症中的作用[J]. 西安交通大学学报:医学版,2008,29(2):155-159.
- [11] 丛军,蔡淦,张正利,等. 肠吉泰对腹泻型肠易激综合症大鼠结肠肥大细胞变化和 5-羟色胺表达的影响[J]. 安徽中医学院学报,2010,29(6):47-51.
- [12] 邹丹. 易激胶囊对腹泻型肠易激综合症大鼠治疗作用机理的研究[D]. 武汉. 湖北中医学院,2009.
- [13] 詹丽杏,许国铭,李兆申,等. 肠易激综合症患者活动期和缓解期血浆 5-HT、5-HIAA 的变化[J]. 第二军医大学学报,2003,24(2):152-154.
- [14] 田力男. 浅论腹泻型肠易激综合症的中医治疗[J]. 中国中医药现代远程教育,2011,9(10):139-140.
- [15] 何仙泉. 中西医结合治疗肠易激综合症的临床疗效观察[J]. 中医临床研究,2011,3(8):47.

(收稿日期:2013-11-19 修回日期:2014-02-26)

(上接第 1712 页)

参考文献:

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics 2009 [J]. CA Cancer J Clin,2009,59(4):225-249.
- [2] 万德森,陈功. 结直肠癌的流行病学及其危险因素研究近况[J]. 实用癌症杂志,2000,15(2):220-222.
- [3] Perkins GL, Evan D. Serum tumor markers[J]. Am Fam Physician,2003,68(6):1075-1082.
- [4] Tong LL, Gao P, Wang ZN, et al. Is the seventh edition of the UICC/AJCC TNM staging system reasonable for patients with tumor deposits in colorectal cancer? [J]. Ann Surg,2012,255(2):208-213.
- [5] Edwards BK, Ward E, Kohler BA, et al. Annual report to the nation on the status of cancer,1975-2006,featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates [J]. Cancer,2010,116(3):544-573.
- [6] Twelves C, Wong A, Nowacki MP, et al. Capecitabine as adjuvant treatment for stage III colon cancer[J]. N Engl J Med,2005,352(26):2696-2704.
- [7] Tol J, Koopman M, Cats A, et al. Chemotherapy, bevacizumab, and cetuximab in metastatic colorectal cancer[J]. N Engl J Med,2009,360(6):563-572.
- [8] Wolpin BM, Mayer RJ. Systemic treatment of colorectal

cancer[J]. Gastroenterology,2008,134(5):1296-1310.

- [9] Verberne C, Jong HD, Grossmann I, et al. Tumor markers in finding recurrent disease in colorectal cancer: a diagnostic review[J]. J Mol Biochem,2013,2(1):56-68.
- [10] Nicolini A, Ferrari P, Duffy MJ, et al. Intensive risk-adjusted follow-up with the CEA, TPA, CA19-9, and CA72.4 tumor marker panel and abdominal ultrasonography to diagnose operable colorectal cancer recurrences: effect on survival[J]. Arch Surg,2010,145(12):1177-1183.
- [11] Polat E, Duman U, Duman M. Diagnostic value of preoperative serum carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 in colorectal cancer[J]. Curr Oncol,2014,21(1):e1-7.
- [12] Ballesta AM, Molina R, Filella X, et al. Carcinoembryonic antigen in staging and follow-up of patients with solid tumors[J]. Tumour Biol,1995,16(1):32-41.
- [13] Kouri M, Pyrhönen S, Kuusela P. Elevated CA19-9 as the most significant prognostic factor in advanced colorectal carcinoma[J]. J Surg Oncol,1992,49(2):78-85.
- [14] Park IJ, Choi GS, Jun SH. Prognostic value of serum tumor antigen CA19-9 after curative resection of colorectal cancer[J]. Anticancer Res,2009,29(10):4303-4308.

(收稿日期:2013-11-27 修回日期:2014-02-22)