

• XXXX •

以潞党参为君药的参苓白术散改善腹泻型肠易激综合征大鼠情绪状态

韩广卉, 武文玉, 柳佳宝, 张雪萍, 杨洋, 梁昆, 魏玮*
(中国中医科学院望京医院, 北京 100102)

[摘要] 目的:评价以潞党参为君药的参苓白术散改善腹泻型肠易激综合征(IBS-D)大鼠情绪状态的药理学效应,并探讨其潜在作用机制。方法:将48只1日龄SPF级雄性乳鼠分为空白组、模型组、参苓白术散组(10.08 g·kg⁻¹·d⁻¹)、参苓白术散去潞党参组(8.73 g·kg⁻¹·d⁻¹)、潞党参组(1.35 g·kg⁻¹·d⁻¹)和匹维溴铵组(0.013 5 g·kg⁻¹·d⁻¹),每组8只;除空白组外,其余组乳鼠采用“母婴分离+番泻叶颗粒剂灌胃+慢性不可预测应激”构建IBS-D大鼠模型,于大鼠8周龄给药,连续干预2周。记录各组大鼠体质量,观察各组大鼠的体质量增长情况;Bristol粪便性状评分和粪便含水量评估各组大鼠的腹泻情况;腹壁撤退反射(AWR)评估各组大鼠的腹痛;旷场实验(OFT)、强迫游泳实验(FST)和糖水偏好实验(SPT)评估各组大鼠焦虑、抑郁样情绪状态;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测各组大鼠结肠组织紧密连接蛋白1(Claudin1)、紧密连接蛋白(Occludin)和闭锁小带蛋白-1(ZO-1)的表达,并检测各组大鼠海马组织胶质纤维酸性蛋白(GFAP)、离子化钙结合衔接分子1(IBA1)及突触素1(Synapsin1)的表达;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测各组大鼠血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)及海马组织中脑源性神经营养因子(BDNF)的含量。结果:与空白组比较,模型组大鼠的体质量增长缓慢,体质量较低($P<0.01$),Bristol评分显著升高($P<0.01$),粪便含水量显著增多($P<0.01$),AWR评分明显升高($P<0.05$);与模型组大鼠比较,以潞党参为君药的参苓白术散可以显著改善IBS-D大鼠体质量增长缓慢的趋势($P<0.01$),Bristol评分、粪便含水量和内脏敏感性显著降低($P<0.01$),在各组治疗药物中的效果最优;行为学实验发现,与空白组大鼠比较,模型组大鼠的总路程显著缩短($P<0.01$)、活动次数显著减少($P<0.01$)、活动时间显著缩短($P<0.01$)、静止不动时间显著增加($P<0.01$)、对糖水的偏好程度显著下降($P<0.01$);经药物干预后,以潞党参为君药的参苓白术散展示出最佳的干预效果,其总路程显著延长($P<0.01$)、活动次数显著增加($P<0.01$)、活动时间显著增加($P<0.01$)、静止不动时间显著缩短($P<0.01$)、对糖水的偏好程度显著上升($P<0.01$);Western blot结果显示,模型组大鼠结肠紧密连接蛋白Claudin1、Occludin、ZO-1和海马组织Synapsin1的表达较空白组显著降低($P<0.01$),海马组织GFAP、IBA1的表达较空白组显著升高($P<0.01$);经以潞党参为君药的参苓白术散干预后其结肠紧密连接蛋白和海马Synapsin1的表达显著升高($P<0.01$),GFAP和IBA1的表达显著降低($P<0.01$);ELISA检测结果显示,与空白组比较,模型组大鼠血清中TNF- α 、IL-6的含量显著增多($P<0.01$),海马组织中BDNF水平显著下降($P<0.01$),经以潞党参为君药的参苓白术散干预后其血清中TNF- α 、IL-6的含量显著降低($P<0.01$),海马中BDNF的含量增多并接近于空白组。结论:以潞党参为君药的参苓白术散具有改善IBS-D大鼠腹痛、腹泻和焦虑、抑郁样行为的作用,其作用机制可能是通过修复受损的肠黏膜屏障,缓解低度炎症反应,抑制中枢胶质细胞的过度活化发挥治疗效果。

[关键词] 参苓白术散; 潞党参; 肠易激综合征; 情绪; 神经细胞

[中图分类号] R277;R285;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(XXXX)XX-0001-12

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20252245

[网络出版地址]

[网络出版日期] XXXX-XX-XX **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Improvement of Emotional State of Rats with Diarrhea-predominant Irritable Bowel Syndrome by Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as Monarch Drug

HAN Guanghui, WU Wenyu, LIU Jiabao, ZHANG Xueping, YANG Yang, LIANG Kun, WEI Wei*
(Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China)

[收稿日期] 2025-09-10

[基金项目] 国家自然科学基金项目(U22A20375);科技部国家重点研发计划项目(2023YFC3503601)

[第一作者] 韩广卉,在读博士,从事中医药防治脾胃(消化)系疾病研究,E-mail:hghui9966@163.com

[通信作者] *魏玮,博士,主任医师,从事中医药防治脾胃(消化)系疾病的研究,E-mail:sxxyy@sina.com

[Abstract] **Objective:** This paper aims to evaluate the pharmacological effect of Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as a monarch drug on improving the emotional state of rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) and explore its potential mechanism of action. **Methods:** 48 1-day-old SPF-grade male suckling rats were divided into six groups: blank group, model group, Shenling Baizhusan group ($10.08 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), Shenling Baizhusan group without Codonopsis Radix ($8.73 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), Codonopsis Radix group ($1.35 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), and pinaverium bromide group ($0.0135 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), with eight rats per group. Except for those in the blank group, rats in other groups received maternal separation, senna leaf granule gavage, and chronic unpredictable stress to establish a rat model with IBS-D. Drug administration was initiated when the rats were eight weeks old for two consecutive weeks of intervention. The body weight of rats in all groups was recorded to observe body weight gain. The diarrhea status was evaluated by the Bristol stool scale score and fecal water content. Abdominal pain was assessed via the abdominal withdrawal reflex (AWR). Anxiety- and depression-like emotional states were evaluated by using the open field test (OFT), forced swimming test (FST), and sucrose preference test (SPT). Western blot was used to detect the protein expression levels of tight junction proteins Claudin 1 and Occludin, as well as zonula occludens-1 (ZO-1) in the colonic tissues of rats. Meanwhile, it was also used to determine the expression levels of glial fibrillary acidic protein (GFAP), ionized calcium-binding adapter molecule 1 (IBA1), and Synapsin 1 in the hippocampal tissues of rats in all groups. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was employed to measure tumor necrosis factor α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) in the serum, as well as the content of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the hippocampal tissues of rats in all groups. **Results:** Compared with those in the blank group, the rats in model group showed slow body weight gain with lower body weight ($P<0.01$), increased Bristol stool scale scores ($P<0.01$), higher fecal water content ($P<0.01$), and elevated AWR scores ($P<0.05$). In contrast to those in blank group, Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as monarch drug significantly improved the slow body weight gain ($P<0.01$), reduced Bristol stool scale scores ($P<0.01$) and fecal water content ($P<0.01$), as well as decreased visceral sensitivity ($P<0.01$), exhibiting the optimal therapeutic effect among the drugs in all the groups. Behavioral test results reveal that, compared with those in the blank group, rats in the model group have a shorter total movement distance ($P<0.01$), fewer movement counts ($P<0.01$), shorter movement duration ($P<0.01$), longer immobility time ($P<0.01$), and lower sucrose preference ($P<0.01$). After drug intervention, Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as monarch drug demonstrated the best intervention effect, and it significantly increased the total movement distance ($P<0.01$), movement counts ($P<0.01$), and movement duration ($P<0.01$), while decreasing immobility time ($P<0.01$) and increasing sucrose preference ($P<0.01$) in the treated rats. Western blot analysis indicates that, compared with those in blank group, rats in model group have significantly downregulated expression levels of tight junction proteins Claudin 1 and Occludin, in colonic tissues ($P<0.01$), as well as Synapsin 1 in hippocampal tissues ($P<0.01$), along with significantly upregulated expression levels of GFAP and IBA1 in hippocampal tissues ($P<0.01$). After intervention with Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as the monarch drug, the expression levels of tight junction proteins in colonic tissues and Synapsin 1 in hippocampal tissues were significantly increased ($P<0.01$), while the expression levels of GFAP and IBA1 were significantly decreased ($P<0.01$). ELISA results show that, compared with those in the blank group, rats in the model group have higher contents of TNF- α and IL-6 ($P<0.01$) in serum and a significantly lower BDNF level in hippocampal tissues ($P<0.01$). After intervention with Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as the monarch drug, the contents of TNF- α and IL-6 were reduced ($P<0.01$), and the content of BDNF in hippocampal tissues was increased. **Conclusion:** Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as the monarch drug plays a role in improving abdominal pain, diarrhea, as well as anxiety- and depression-like behaviors in rats with IBS-D. Its potential mechanism of action may exert therapeutic effects by repairing the damaged intestinal mucosal barrier, alleviating low-grade inflammatory responses, and inhibiting the excessive activation of central glial cells.

[Keywords] Shenling Baizhusan; Codonopsis Radix; irritable bowel syndrome; emotion; nerve cell

肠易激综合征 (IBS) 是常见的肠-脑互作异常 (DGBI) 类疾病, 腹痛、腹胀、排便习惯改变、大便性状异常是其主要的临床表现^[1]。我国 IBS 的患病率已高达 10%~30%^[1-2]。其中, 腹泻型肠易激综合征 (IBS-D) 是临床中最常见的 IBS 亚型, 其发病率占 IBS 的 74.1%^[3-4]。IBS-D 属于非器质性疾病, 但是患者常受腹痛伴突发腹泻、腹胀、排便不尽感的困扰, 且症状常在应激或餐后状态下加剧, 其迁延不愈的症状严重影响患者的日常工作、社交活动和心理健康, 对患者及社会造成了巨大的医疗和经济负担^[1,5]。IBS-D 的发生与发展是遗传、环境、心理和

生物学等多因素互作的结果, 并非由单一因素导致^[1]。近年来随着多组学技术和转化医学研究的深入, IBS-D 发病机制的研究取得了突破性的进展, 逐步形成了以“肠-脑-微生物轴”为核心的病理生理学模型^[6-7]。肠道微生物及其代谢产物的改变可以直接影响肠道运动和分泌功能, 还可以通过影响神经递质和免疫因子的合成, 参与到肠-脑轴的信号传导中^[8-9]。

肠黏膜屏障是防止肠腔内有害物质进入体内的重要屏障, 该屏障受损使得肠道内抗原、内毒素、微生物抗原等易于穿过黏膜下层, 激活黏膜下层的

免疫系统,引发低度、持续的免疫炎症反应,促炎因子水平因此升高^[10]。肠道初级感觉神经末梢感知肠道内的炎症信号,通过迷走神经和脊髓-丘脑通路将异常信号上传至中枢神经系统(CNS)^[11]。作为CNS重要的免疫细胞,星形胶质细胞和小胶质细胞在收到外周的炎症信号后过度激活,释放大量促炎细胞因子,进一步加剧CNS炎症环境,抑制脑源性神经营养因子(BDNF)的表达,BDNF的减少导致突触功能的损伤,神经元功能出现异常,进而引起CNS出现焦虑、抑郁等反应^[10, 12-15]。胃肠道作为人体情绪的重要反应器官,焦虑、抑郁等负面情绪也可以通过“肠-脑轴”进一步影响肠道功能,导致内脏敏感性增加、粪便性状改变等,使患者对刺激更为敏感,形成身心交互影响的恶性循环^[16-17]。中医学将IBS-D归属于“泄泻”“脾虚”范畴,脾虚生浊为本病的重要病机,脑神逆乱、气结伤脾为本病之本,进而浊邪不清,壅阻肠道^[18],因此,IBS-D的治疗应当益气去浊,健脾养神,以复神机正常,脾气升清之功。

参苓白术散是出自《太平惠民和剂局方》的经典名方,由人参、茯苓、白术、白扁豆、山药、甘草、莲子、砂仁、薏苡仁、桔梗10味药物组成,具有健脾祛湿、养肺益气的功效。潞党参产自山西平顺上党区,是我国历代医家公认的质优效佳的山西省道地药材,又称为“上党人参”,具有补脾益肺、养血生津的功效。《本草从新》中记载潞党参可除烦止渴;《得配本草》中记载潞党参可以健脾益肺养心。既往研究发现潞党参可以降低心脾两虚证失眠患者的焦虑、抑郁评分,改善其失眠症状^[19]。成分研究发现潞党参中党参多糖、党参炔苷及党参苍术内酯Ⅲ的含量均高于其他党参^[20-22]。其中党参多糖可以调节机体的免疫反应,党参炔苷和苍术内酯Ⅲ可以抑制炎症反应,调节胃肠功能^[23-24]。目前尚无潞党参在IBS-D情绪障碍中的相关研究,其是否可以改善IBS-D中存在的焦虑、抑郁样行为及其内在机制尚不清楚。基于此,本研究将潞党参作为参苓白术散的君药,通过构建IBS-D大鼠模型,从肠黏膜屏障和炎症因子的角度出发,探讨以潞党参为君药的参苓白术散通过调节肠-脑轴中的胶质细胞活化与BDNF-突触素1(Synapsin1)通路,改善IBS-D大鼠情绪行为的作用机制,为道地药材潞党参和经典名方参苓白术散更好地应用于临床治疗IBS-D提供科学的参考依据。

1 材料

1.1 动物 1日龄SPF级SD乳鼠6窝,每窝含雄性乳鼠8只和母鼠1只,购于北京斯贝福实验动物技术有限公司,动物许可证号SYXK(京)2021-0017,合格证号SCXK(京)2024-0001。购买后将其饲养于中国中医科学院中医基础理论研究所实验动物中心SPF级动物房内,室温控制在(22±1)°C,相对湿度控制在(50±10)%,光照与黑暗各12h交替,给予其标准饲料和饮水自由饮用。

1.2 伦理 本实验已通过中国中医科学院中医基础理论研究所实验动物福利伦理审查委员会要求(IBTCMCACMS21-2401-04)。

1.3 药品与试剂 参苓白术散组成:潞党参15g、莲子9g、麸炒薏苡仁9g、砂仁6g、桔梗6g、炒白扁豆12g、茯苓15g、甘草10g、麸炒白术15g、山药15g,其中潞党参(批号24608135)由山西正来制药有限公司提供,砂仁(批号2407221)、山药(批号2409191)由北京盛世龙药业有限公司提供,莲子(批号24083102)、麸炒薏苡仁(批号24040902)、炒白扁豆(批号24021201)、茯苓(批号24071901)由北京四方中药饮片有限公司提供,甘草片(批号2407013)、麸炒白术(批号2410014)由河北百草康神药业有限公司提供,桔梗(批号75060501)由国药集团北京华邈药业有限公司提供。以上中药饮片均由中国中医科学院望京医院梁昆副主任药师鉴定,符合2020年版《中华人民共和国药典》第一部和第四部标准。上述药材除砂仁外于第1煎时加入10倍的纯净水浸泡30min后,武火煮沸后转文火煎煮40min;第2煎加入5倍纯净水文火煎煮30min后,加入砂仁文火煎煮10min,过滤药液,继续文火蒸馏药液将其浓缩至相当于生药质量浓度为1g·mL⁻¹中药液,于4°C冰箱中储存备用。将上述参苓白术散去潞党参得到去潞党参的参苓白术散,其煎煮与储备同参苓白术散,最后得到相当于生药质量浓度为0.9g·mL⁻¹中药液。15g潞党参加入10倍的纯净水浸泡30min后,武火煮沸后转文火煎煮40min;第二煎加入5倍纯净水文火煎煮30min后过滤药液,继续文火蒸馏药液将其浓缩至相当于生药质量浓度为0.15g·mL⁻¹潞党参水煎液,于4°C冰箱中储存备用。上述中药水煎剂均通过出膏率的测定与高效液相色谱法(HPLC)指纹图谱的建立对其进行质量控制。番泻叶颗粒剂(批号24078231)由四川新绿色药业科技发展有限公司提供,符合2021年版《中药配方颗粒质量控制与标准

制定技术要求》规定,1 g番泻叶颗粒剂可折合为7 g番泻叶生药,番泻叶颗粒剂与蒸馏水按照1:7的比例充分混合,最终合成折合生药质量浓度为 $1\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的番泻叶颗粒剂水溶液。匹维溴铵片(北京万生药业有限责任公司,国药准字H20133036,规格 $50\text{ mg}\times 20$ 片)。蔗糖(北京索莱宝科技有限公司,货号S8271)。

紧密连接蛋白1(Claudin1)、紧密连接蛋白(Occludin)、闭锁小带蛋白-1(ZO-1)、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)抗体、离子化钙结合衔接分子1(IBA1)抗体、Synapsin1抗体、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)(武汉三鹰生物技术有限公司,货号分别为13050-1-AP、27260-1-AP、21773-1-AP、81728-1-RR、16825-1-AP、20258-1-AP、60004-1-Ig、RGAR001);大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、BDNF酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(江苏酶免实业有限公司,货号分别为MM-0180R1、MM-0190R1、MM-0209R1)。

1.4 仪器 XR-XZ301型旷场实验视频分析系统(上海欣软信息科技有限公司);BS-224S型电子天平(德国赛多利斯公司);KZ-5F-3D型高速低温组织研磨仪(武汉塞维尔生物科技有限公司);5417R型低温高速离心机(德国艾本德股份公司);PowerPac HC型电泳仪、Trans-Blot SD型转膜仪(美国Bio-Rad公司);M5型酶标仪(美国Molecular Devices公司);Tanon 5200型全自动化学发光图像分析系统(上海天能科技有限公司)。

2 方法

2.1 大鼠分组、造模、给药及取材 随机将1日龄雄性乳鼠分为空白组、模型组、参苓白术散组、参苓白术散去潞党参组、潞党参组和匹维溴铵组,每组8只。参考既往文献[25-26],以母婴分离、番泻叶颗粒剂水溶液灌胃联合慢性不可预测应激构建IBS-D大鼠模型,并以Bristol粪便性状评分、粪便含水量和腹壁撤退反射(AWR)评分较空白组显著增加及体质量较空白组显著降低等表示造模成功[25-27]。除空白组乳鼠外,其他组乳鼠自出生第2天起与母鼠分离3 h,连续3周。3周后断奶,予常规自由饮食喂养1周。第5周起,除空白组外,其他组乳鼠给予番泻叶颗粒剂水溶液 $10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,1次/d,灌胃4周;于灌服番泻叶颗粒剂水溶液的第3~4周联合慢性不可预测应激构建IBS-D模型。慢性不可预测应激包括4种类型的刺激,具体方法为第1天

采用避水应激(在水深15 cm的水桶中浸泡10 min),第2天采用夹尾应激(使用夹子夹在鼠尾尖端1 cm处10 min),第3~4天禁食48 h,第5天采用避水应激,第6天采用夹尾应激,第7天禁水24 h;以上操作重复4周,期间空白组大鼠不予任何刺激,常规饲养。按照《药理学实验教程》[28]大鼠与人的系数折算大鼠的给药剂量,参苓白术散组剂量为 $10.08\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$;参苓白术散去潞党参组剂量为 $8.73\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$;潞党参组剂量为 $1.35\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$;匹维溴铵组剂量为 $0.0135\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$;于慢性不可预测应激的第3~4周进行药物干预,参苓白术散组以参苓白术散水煎液灌胃,参苓白术散去潞党参组以参苓白术散去潞党参水煎液灌胃,潞党参组以潞党参水煎液灌胃,匹维溴铵组以匹维溴铵片水溶液灌胃,空白组及模型组以蒸馏水灌胃, $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,1次/d,连续灌胃治疗2周。干预结束后于腹主动脉取血,血液样本经 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min(离心半径10 cm),取上层血清,与结肠、海马组织样本于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中储存备用。

2.2 药效学指标检测及方法

2.2.1 体质量检测 于模型制备后及药物干预后记录各组大鼠体质量,观察其体质量的变化情况。

2.2.2 Bristol评分法检测粪便性状 于模型制备后及药物干预后将每只大鼠单笼饲养4 h,并于饲养笼内放置滤纸,以观察大鼠粪便性状。根据Bristol粪便性状量表进行评分[29],1分:硬质颗粒状,似坚果;2分:香肠状但表面凹凸;3分:香肠状表面有裂痕;4分:光滑香肠状;5分:柔软团块,边缘清楚;6分:糊状,边缘不清;7分:水样便,无固状物。

2.2.3 粪便干湿比法检测粪便含水量 于模型制备后及药物干预后将每只大鼠单独放在铺有滤纸的饲养笼内,收集每只大鼠粪便2~3粒,即时称质量(湿重),隔夜风干,再次称质量(干重)。粪便含水量=(湿重-干重)/湿重 $\times 100\%$ 。

2.2.4 AWR评分检测内脏敏感性 于模型制备后及药物干预后采用自制结直肠测压计对大鼠进行内脏敏感性评价。实验前大鼠禁食不禁水18 h,并触其肛门使其排尽大便后,将球囊涂抹甘油塞入肛门内约7 cm,在肛门外将其固定在大鼠尾根部。随后将大鼠置于特制小笼($18\text{ cm}\times 8\text{ cm}\times 6\text{ cm}$)中,待其完全平静后向气囊内充气,观察大鼠腹壁对肠腔球囊扩张刺激的反应。采用20、40、60和80 mmHg 4个压力,每次扩张持续20 s,各压力连续测3次,间隔4 min,取评分均值。AWR评分标准,0分:给予刺

激时大鼠情绪基本稳定;1分:给予刺激时不稳定,偶尔扭动头部;2分:腹背部肌肉轻微收缩但腹部未抬离地面;3分:腹背部肌肉较强烈收缩并把腹部抬离地面;4分:腹部肌肉强烈收缩,腹部呈弓形并把腹部、会阴部抬离地面。

2.3 行为学指标检测及方法

2.3.1 旷场实验 采用上海欣软XR-XZ301型旷场实验箱(45 cm×100 cm×100 cm),内壁涂黑,正上方架摄像头,视野覆盖整个旷场,于实验室环境安静情况下进行测试。将大鼠统一由右下角放置,同时进行摄像和计时,时间为5 min。通过计算机示踪分析系统记录大鼠在规定时间内总路程、活动次数、活动时间。每只大鼠实验结束后用75%乙醇湿巾擦拭箱底和内壁,避免大鼠之间残留气味对后续实验产生不良影响^[29]。

2.3.2 强迫游泳实验 实验前1 d大鼠进行预游泳,时间为15 min。正式实验时将大鼠放入水深50 cm,水温为25 °C的水桶中游泳6 min,调整适应1 min,记录后5 min内的静止不动时间。静止不动的标准是大鼠停止在水中挣扎、漂浮或只有小的肢体运动来保持头部漂浮在水面上^[29]。

2.3.3 糖水偏好实验 正式实验开始前2 d进行糖水适应,将一瓶1.5%的蔗糖溶液和一瓶纯净水随机放入动物笼中,12 h后交换水瓶位置以促进大鼠适应糖水。糖水适应结束后大鼠禁食水24 h,随后给予每只大鼠1瓶1.5%蔗糖溶液和1瓶纯净水,位置随机,大鼠自由饮用瓶中液体6 h后,计算大鼠的糖水偏好值。糖水消耗量=实验前糖水质量-实验后糖水质量,纯净水消耗量=实验前纯净水质量-实验后纯净水质量,总液体消耗量=糖水消耗量+纯净水消耗量,糖水偏好值=糖水消耗量/总液体消耗量×100%^[29]。

2.4 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠结肠、海马组织相关蛋白表达 将组织从-80 °C冰箱

取出,剪碎后加入裂解液、苯甲基磺酰氟(PMSF)、研磨珠于组织研磨仪中研磨匀浆。蛋白定量法(BCA)检测蛋白浓度后,混匀于沸水中变性10 min。上样后依次进行电泳分离蛋白、转膜、奶粉封闭2 h后加入一抗,4 °C孵育过夜,一抗浓度分别为 Claudin1、Occludin、GFAP、IBA1、Synapsin1(1:1 000),ZO-1(1:600)、GAPDH(1:2 000);次日室温孵育二抗1 h,羊抗兔IgG-辣根过氧化物酶(HRP)和羊抗小鼠IgG-HRP二抗孵育浓度为(1:4 000),使用增强化学发光法(ECL)发光液显影后,使用Gelpro32软件分析条带灰度值。

2.5 ELISA检测大鼠血清TNF-α、IL-6和海马组织BDNF水平 采用大鼠ELISA试剂盒测定各组大鼠血清TNF-α、IL-6和海马组织BDNF水平。

2.6 统计学方法 数据采用SPSS 26.0软件进行统计学分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。数据呈正态分布,组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),方差齐时采用最小显著性差异法(LSD)检验,方差不齐时采用Dunnett's T3法检验;数据不符合正态分布时,采用非参数秩和检验或Kruskal-Wallis H检验。最后使用Graph prism 9.0软件绘制相关图表。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠体质量的影响 母婴分离结束后各组大鼠自由饮食。空白组大鼠的体质量呈正常增长趋势;与空白组比较,模型组大鼠的体质量增长趋势缓慢,差异有统计学意义($P < 0.01$);经药物干预后,各组大鼠的增长趋势均呈现出不同程度的快速增长状态,其中以参苓白术散改善IBS-D大鼠体质量增长缓慢的效果最为显著,并在药物干预2周后,与模型组比较,其体质量显著增加差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表1。

表1 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Effect of Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as monarch drug on body weight of IBS-D rats ($\bar{x} \pm s, n=8$) g

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	药物干预前体质量					药物干预后体质量	
		4周龄	5周龄	6周龄	7周龄	8周龄	9周龄	10周龄
空白组		103.72±15.94	151.52±13.73	211.40±18.76	264.18±23.31	317.27±32.64	358.80±37.18	381.03±32.25
模型组		94.55±13.76	123.07±20.87 ²⁾	162.09±34.75 ²⁾	161.68±32.91 ²⁾	191.27±40.70 ²⁾	262.82±28.80 ²⁾	282.31±31.33 ²⁾
参苓白术散组	10.08	96.52±4.58	128.23±2.53 ²⁾	165.66±19.43 ²⁾	197.70±12.15 ²⁾	228.61±14.13 ²⁾	312.48±15.26 ⁴⁾	344.87±18.99 ⁴⁾
参苓白术散去潞党参组	8.73	94.72±5.44	122.85±7.29 ²⁾	167.54±10.80 ²⁾	203.49±42.19 ²⁾	218.74±23.74 ²⁾	263.79±35.30	284.04±32.89
潞党参组	1.35	95.44±4.95	126.56±13.77 ²⁾	160.97±22.21 ²⁾	186.47±46.66 ²⁾	199.81±47.42 ²⁾	261.55±42.29	279.96±25.19
匹维溴铵组	0.013 5	94.71±5.98	125.30±27.90 ²⁾	162.18±30.56 ²⁾	191.17±28.57 ²⁾	201.43±36.49 ²⁾	242.70±23.68	277.03±20.60

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表2-表11同)

3.2 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠腹泻症状的影响 Bristol粪便性状评分与粪便含水量的结果显示,药物干预前,与空白组比较,各组大鼠的Bristol粪便性状评分、粪便含水量均显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$),均呈现出腹泻状

态;经药物干预后,各组大鼠的腹泻症状缓解,与模型组比较,参苓白术散组大鼠的Bristol评分和粪便含水量显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$),表明以潞党参为君药的参苓白术散可以发挥更好的止泻效果。见表2。

表2 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠腹泻症状的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 2 Effect of Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as monarch drug on diarrhea of IBS-D rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Bristol粪便性状评分/分		粪便含水量/%	
		药物干预前	药物干预后	药物干预前	药物干预后
空白组		2.38±0.74	2.50±0.76	49.03±5.39	44.52±5.07
模型组		4.50±0.76 ²⁾	5.50±0.76 ²⁾	65.61±5.38 ²⁾	70.53±6.89 ²⁾
参苓白术散组	10.08	5.00±0.93 ²⁾	2.75±0.71 ⁴⁾	64.72±5.22 ²⁾	44.23±4.62 ⁴⁾
参苓白术散去潞党参组	8.73	4.38±0.74 ²⁾	3.75±0.71 ⁴⁾	64.77±15.66 ²⁾	54.51±4.05 ³⁾
潞党参组	1.35	4.50±0.76 ²⁾	4.63±0.92 ³⁾	60.37±8.96 ¹⁾	61.92±2.61
匹维溴铵组	0.013 5	5.00±0.76 ²⁾	3.38±0.92 ⁴⁾	66.14±6.51 ²⁾	55.08±11.49

3.3 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠腹痛症状的影响 药物干预前,与空白组比较,各组大鼠的AWR评分明显增高($P<0.05$),内脏敏感性显著增加,并随压力的增加,AWR评分逐渐增加。见表3。经药物干预后,与模型组比较,以潞党参为

君药的参苓白术散在各级压力下IBS-D大鼠的AWR评分均显著降低($P<0.01$);而参苓白术散去潞党参组大鼠虽在20 mmHg的压力下可以缓解IBS-D大鼠的内脏高敏状态,但是随压力逐渐升高,其缓解腹痛的效果低于参苓白术散。见表4。

表3 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠AWR的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 3 Effect of Shenling Baizhusan with Ludangshen as monarch drug on AWR of IBS-D rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	AWR评分			
		20 mmHg	40 mmHg	60 mmHg	80 mmHg
空白组		0.00±0.00	0.00±0.00	0.75±1.04	1.25±1.28
模型组		1.00±1.07	1.88±1.36 ¹⁾	2.75±1.39	3.50±0.76 ¹⁾
参苓白术散组	10.08	1.38±0.74 ¹⁾	2.25±0.46 ²⁾	3.63±0.74 ²⁾	4.00±0.00 ²⁾
参苓白术散去潞党参组	8.73	1.13±0.83	2.00±1.31	2.88±1.25	3.50±0.76 ¹⁾
潞党参组	1.35	1.38±0.52 ¹⁾	2.13±0.83 ¹⁾	3.75±0.71 ²⁾	4.00±0.00 ²⁾
匹维溴铵组	0.013 5	1.75±0.89 ²⁾	2.75±1.04 ²⁾	3.75±0.71 ²⁾	3.75±0.71 ²⁾

表4 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠腹痛症状评分的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

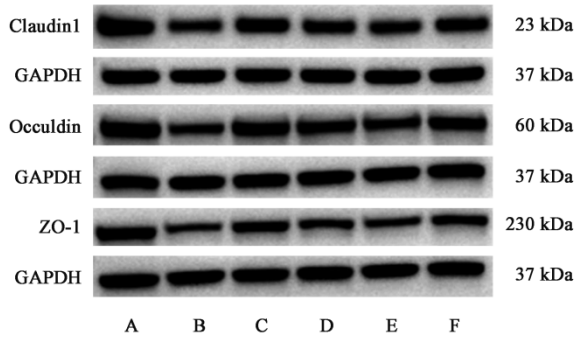
Table 4 Effect of Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as monarch drug on abdominal pain symptom score of IBS-D rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	腹痛症状评分			
		20 mmHg	40 mmHg	60 mmHg	80 mmHg
空白组		0.00±0.00	0.13±0.35	0.50±0.53	0.88±0.35
模型组		1.63±0.74 ¹⁾	3.25±0.89 ²⁾	3.75±0.71 ²⁾	4.00±0.00 ²⁾
参苓白术散组	10.08	0.00±0.00 ⁴⁾	0.25±0.46 ⁴⁾	0.88±0.83 ⁴⁾	1.25±0.71 ⁴⁾
参苓白术散去潞党参组	8.73	0.13±0.35 ⁴⁾	1.25±0.46	2.00±0.53	3.13±0.83
潞党参组	1.35	0.63±0.92	1.25±1.04	2.63±0.92	3.50±0.76
匹维溴铵组	0.013 5	0.63±0.74	1.50±0.93	2.75±0.71	3.50±0.53

3.4 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠结肠Claudin1、Occludin、ZO-1蛋白表达水平的影响 与空白组比较,模型组大鼠结肠组织中

Claudin1、Occludin和ZO-1的蛋白表达水平显著降低($P<0.01$);与模型组比较,参苓白术散、参苓白术散去潞党参及匹维溴铵组Claudin1、Occludin、ZO-1

的蛋白表达水平明显升高($P<0.05, P<0.01$),其中以潞党参为君药的参苓白术散增加IBS-D大鼠结肠黏膜蛋白的表达效果最显著。而潞党参单药对上述3种结肠黏膜蛋白的表达水平影响效果不显著。见图1、表5。



注:A.空白组;B.模型组;C.参苓白术散组;D.参苓白术散去潞党参组;E.潞党参组;F.匹维溴铵组(图2同)

图1 各组大鼠结肠 Claudin1, Occludin 和 ZO-1 蛋白表达电泳
Fig. 1 Electrophoresis of Claudin1, Occludin, and ZO-1 protein expression in rats of each group

表5 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠结肠 Claudin1、Occludin、ZO-1 蛋白表达水平的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 5 Effect of Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as monarch drug on expression levels of colonic Claudin1, Occludin, and ZO-1 proteins of IBS-D rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Claudin1 /GAPDH	Occludin /GAPDH	ZO-1 /GAPDH
空白组		0.44±0.01	0.40±0.00	0.44±0.00
模型组		0.22±0.02 ²⁾	0.20±0.02 ²⁾	0.23±0.02 ²⁾
参苓白术散组	10.08	0.33±0.03 ⁴⁾	0.31±0.01 ⁴⁾	0.34±0.02 ⁴⁾
参苓白术散去潞党参组	8.73	0.26±0.03 ³⁾	0.25±0.03 ³⁾	0.27±0.03 ³⁾
潞党参组	1.35	0.23±0.01	0.21±0.01	0.24±0.01
匹维溴铵组	0.013 5	0.31±0.03 ⁴⁾	0.29±0.02 ⁴⁾	0.32±0.03 ⁴⁾

3.5 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠血清TNF-α、IL-6含量的影响 与空白组比较,模型组大鼠血清中TNF-α和IL-6的含量显著升高($P<0.01$);经药物干预后,与模型组大鼠比较,各组大鼠血清中IL-6的含量均显著降低($P<0.01$),以潞党参为君药的参苓白术散组大鼠血清中TNF-α的含量显著降低($P<0.01$),而参苓白术散去潞党参、潞党参单药及匹维溴铵片虽然也可以降低IBS-D大鼠血清中TNF-α含量,但是差异无统计学意义。见表6。

3.6 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠情绪状态的影响

3.6.1 旷场实验 药物干预前,与空白组比较,各

表6 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠血清TNF-α、IL-6含量的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 6 Effect of Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as monarch drug on serum TNF-α and IL-6 levels of IBS-D rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TNF-α	IL-6
空白组		227.78±37.78	30.64±4.95
模型组		357.35±29.06 ²⁾	63.45±5.15 ²⁾
参苓白术散组	10.08	237.57±41.26 ⁴⁾	30.88±5.33 ⁴⁾
参苓白术散去潞党参组	8.73	315.73±41.06	47.22±4.38 ⁴⁾
潞党参组	1.35	328.34±39.80	49.56±3.57 ⁴⁾
匹维溴铵组	0.013 5	347.38±34.83	50.56±5.65 ⁴⁾

组大鼠的总路程显著缩短($P<0.01$),活动时间、次数显著减少($P<0.01$),见表7-表9、图2,表明在药物干预前模型大鼠存在较高的焦虑状态,在新环境中的活动范围缩短,以避免活动暴露自己。经药物干预后,与模型组比较,以潞党参为君药的参苓白术散IBS-D大鼠的总路程显著延长($P<0.01$),活动次数与活动时间显著增加($P<0.01$),改善其焦虑状态;潞党参组大鼠的活动次数较模型组出现增加,但对于其总路程和活动时间的改善作用不明显;参苓白术散去潞党参和匹维溴铵片则对IBS-D大鼠焦虑状态的改善效果不显著。见表7及增强出版附加材料。

3.6.2 强迫游泳实验 药物干预前,空白组大鼠主动活动意愿强烈,为避免溺水,不断游泳;与空白组大鼠比较,各组大鼠主动活动意愿消极,游泳时间缩短,静止不动时间均显著延长($P<0.01$)。药物干预后,与模型组比较,参苓白术散组大鼠与潞党参组大鼠的主动活动意愿增强,游泳时间延长,静止不动时间显著缩短($P<0.01$)。见表8。

3.6.3 糖水偏好实验 与空白组比较,模型组大鼠的糖水偏好程度降低($P<0.01$),表现出不喜糖水。经药物干预后,与模型组比较,各组大鼠对糖水的偏好程度均明显升高($P<0.05, P<0.01$),但以潞党参为君药的参苓白术散和潞党参组改善IBS-D大鼠糖水偏好程度的效果最为显著。见表9。

3.7 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠海马GFAP、IBA1、Synapsin1蛋白表达水平的影响

与空白组比较,模型组大鼠海马GFAP、IBA1的蛋白表达水平显著升高($P<0.01$),Synapsin1的蛋白表达水平显著降低($P<0.01$);经药物干预后,与模型组比较,参苓白术散组和潞党参组大鼠海马GFAP、IBA1的蛋白表达水平明显降低($P<0.05, P<0.01$),Synapsin1的蛋白表达水平显著增加($P<0.01$),其中

表7 旷场实验中以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠活动总路程、活动次数、活动时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 7 Effect of Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as monarch drug on total distance, activity counts and activity time of IBS-D rats in open field test ($\bar{x} \pm s, n=8$) mm

组别	剂量/g·kg ⁻¹	活动总路程/mm		活动次数/次		活动时间/s	
		药物干预前	药物干预后	药物干预前	药物干预后	药物干预前	药物干预后
空白组		22 366.87±1 480.64	22 444.44±1 072.09	62.00±3.00	59.00±3.00	286.15±12.09	292.70±5.04
模型组		12 141.03±1 402.11 ²⁾	11 349.95±660.32 ²⁾	38.00±7.00 ²⁾	32.00±7.00 ²⁾	147.72±23.54 ²⁾	162.21±39.29 ²⁾
参苓白术散组	10.08	12 036.20±808.12 ²⁾	20 361.60±876.66 ⁴⁾	29.00±7.00 ²⁾	58.00±3.00 ⁴⁾	152.06±24.26 ²⁾	294.67±5.34 ⁴⁾
参苓白术散去潞党参组	8.73	12 395.56±2 601.08 ²⁾	11 763.06±1 041.91	33.00±4.00 ²⁾	33.00±5.00	166.80±25.48 ²⁾	199.01±28.53
潞党参组	1.35	13 208.06±1 551.74 ²⁾	15 025.66±2 445.12	37.00±7.00 ²⁾	49.00±9.00 ³⁾	149.97±28.80 ²⁾	172.38±20.55
匹维溴铵组	0.013 5	11 672.37±1 016.51 ²⁾	11 773.00±1 779.50	35.00±6.00 ²⁾	34.00±7.00	200.34±27.48 ²⁾	204.86±39.16

表8 强迫游泳实验中以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠静止不动时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 8 Effect of Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as monarch drug on immobility time of IBS-D rats in forced swimming test ($\bar{x} \pm s, n=8$) s

组别	剂量/g·kg ⁻¹	药物干预前	药物干预后
空白组		26.88±30.92	76.75±65.02
模型组		167.63±36.80 ²⁾	203.50±24.94 ²⁾
参苓白术散组	10.08	157.38±44.25 ²⁾	91.25±35.30 ⁴⁾
参苓白术散去潞党参组	8.73	171.13±18.89 ²⁾	190.00±30.83
潞党参组	1.35	170.63±29.31 ²⁾	107.13±22.14 ⁴⁾
匹维溴铵组	0.013 5	128.75±56.80 ²⁾	239.13±32.03

表9 糖水偏好实验中以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠糖水偏好的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 9 Effect of Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as monarch drug on sucrose preference of IBS-D rats in sugar preference test ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	药物干预后/%
空白组		96.30±0.73
模型组		37.86±1.75 ²⁾
参苓白术散组	10.08	90.91±2.02 ⁴⁾
参苓白术散去潞党参组	8.73	40.78±1.21 ³⁾
潞党参组	1.35	91.83±2.13 ⁴⁾
匹维溴铵组	0.013 5	51.68±5.10 ⁴⁾

参苓白术散的改善效果更为显著,趋近于空白组;匹维溴铵组IBS-D大鼠海马组织中Synapsin1的蛋白表达水平显著升高($P<0.01$)。见图2、表10。

3.8 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠海马BDNF含量的影响 与空白组比较,模型组大鼠海马BDNF的含量显著降低($P<0.01$);经药物干预后,与模型组比较,以潞党参为君药的参苓白术散组、参苓白术散去潞党参组及潞党参组IBS-D大鼠海马BDNF的含量明显增加($P<0.05, P<0.01$),其

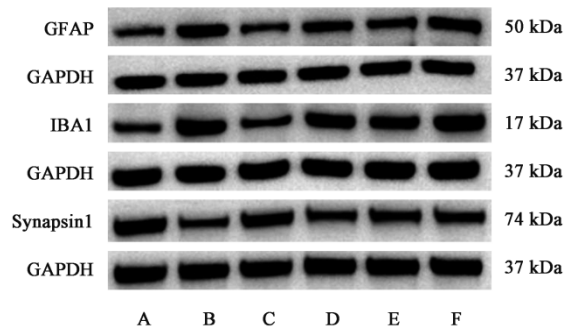


图2 各组大鼠海马GFAP、IBA1和Synapsin1蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of hippocampal GFAP, IBA1, and Synapsin1 protein expression in rats of each group

表10 以潞党参为君药的参苓白术散对IBS-D大鼠海马GFAP、IBA1、Synapsin1蛋白表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 10 Effect of Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as monarch drug on expression levels of hippocampal GFAP, IBA1, and Synapsin1 proteins in IBS-D rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	GFAP /GAPDH	IBA1 /GAPDH	Synapsin1 /GAPDH
空白组		0.24±0.03	0.23±0.04	0.41±0.03
模型组		0.49±0.03 ²⁾	0.48±0.06 ²⁾	0.21±0.02 ²⁾
参苓白术散组	10.08	0.26±0.02 ⁴⁾	0.26±0.03 ⁴⁾	0.37±0.03 ⁴⁾
参苓白术散去潞党参组	8.73	0.43±0.02	0.42±0.04	0.21±0.02
潞党参组	1.35	0.41±0.03 ³⁾	0.39±0.05 ³⁾	0.28±0.03 ⁴⁾
匹维溴铵组	0.013 5	0.48±0.02	0.47±0.05	0.28±0.02 ⁴⁾

中参苓白术散的改善效果更为显著,趋近于空白组。见表11。

4 讨论

历代医家根据IBS-D的临床表现将其纳入“泄泻”“腹泻”“腹痛”的范畴。《黄帝内经》中记载“怒则气逆,甚则呕血及飧泄”,最早阐述了泄泻与情绪之间的关系。IBS-D并非单纯的腹泻性疾病,其发病机制与肠脑互动异常密切相关,受肠黏膜屏障损伤等多种因素影响^[2]。以潞党参为君药的参苓白术散

表 11 以潞党参为君药的参苓白术散对 IBS-D 大鼠海马 BDNF 含量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 11 Effect of Shenling Baizhusan with Codonopsis Radix as monarch drug on hippocampal BDNF levels in IBS-D rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	BDNF/ng·L ⁻¹
空白组		815.63±67.13
模型组		386.63±56.54 ²⁾
参苓白术散组	10.08	784.64±52.21 ⁴⁾
参苓白术散去潞党参组	8.73	504.96±50.52 ³⁾
潞党参组	1.35	619.98±42.50 ⁴⁾
匹维溴铵组	0.013 5	421.92±54.71

其方中潞党参、白术、茯苓健脾养神,益气化浊,增强机体免疫功能,改善机体情绪状态;山药、莲子补脾止泻,顾护脾胃,改善腹泻情况;白扁豆、薏苡仁健脾渗湿,兼顾祛除湿邪;桔梗则宣利肺气,通调水道,助药上行养神;甘草调和诸药,砂仁则行气化湿,防止诸药壅滞。诸药合用可于健脾之中濡养脑神,益气之中兼顾化浊,综合改善 IBS-D 的消化与中枢神经系统症状。

本研究基于 IBS-D 的病因与发病机制,运用母婴分离法模拟 IBS-D 患者早期生活不良事件,并结合番泻叶颗粒剂灌胃与慢性不可预测应激模拟 IBS-D 患者后期生活应激事件构建 IBS-D 大鼠模型。该模型与 IBS-D 为身心类疾病的认知相符,是当前研究 IBS-D 发病机制及相关治疗方法较理想的实验动物模型。匹维溴铵是国内外指南中指出的治疗 IBS-D 的一线药物^[30-31],其临床疗效确切,作用靶点单一,可抑制平滑肌的过度收缩缓解痉挛和腹痛,延缓肠道传输改善腹泻^[32]。中药复方强调整体调节,其机制可能涉及多靶点、多途径的协同作用,故本研究选择匹维溴铵为阳性对照药,结果发现以潞党参为君药的参苓白术散在改善腹痛、腹泻等症状上表现出较匹维溴铵更优的疗效,并且可以同时改善 IBS-D 大鼠焦虑、抑郁样症状,表明中药复方可以通过不同于单纯解痉的,且更为综合的途径达到治疗效果,凸显了中药复方多途径、整体调节的治疗优势和科学价值。

本研究发现以潞党参为君药的参苓白术散可以改善 IBS-D 大鼠体重增长缓慢的趋势,降低其粪便含水量,使其 Bristol 粪便性状评分恢复正常;同时根据 AWR 评分发现以潞党参为君药的参苓白术散还可以降低 IBS-D 大鼠的内脏敏感性,改善其腹痛症状。而匹维溴铵片、参苓白术散去潞党参及潞

党参单药虽可以在一定程度上缓解 IBS-D 大鼠的腹部症状,但其效果不及参苓白术散全方效果显著,其原因可能在于中药复方的整体配伍及其方中各药物有效活性成分的相互作用。

肠黏膜屏障是维持肠道内外免疫微环境稳态的重要屏障,可以保护肠内环境免受病原体等物质的入侵,也可以避免肠腔内的病原体进入体内^[33],其结构与功能异常是 IBS-D 发病的始动或加重因素^[34]。肠黏膜屏障蛋白表达下调引起肠道通透性增加^[35],使肠道内微环境发生变化,影响有益菌的定植,促进条件致病菌的扩张^[36]。增多的条件致病菌释放脂多糖等内毒素,通过受损的肠黏膜屏障进入血液循环,激活全身免疫系统,引起 TNF- α 、IL-6 等促炎因子的大量产生,引起全身性的低度炎症反应,同时这些炎症信号可以通过神经、体液等途径激活脑内的免疫细胞,引起中枢神经炎症^[36-37]。作为 CNS 的免疫细胞,在受到刺激时,小胶质细胞会被激活转化为促炎表型,释放大量促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6 等^[38]。这些炎症因子进一步激活周围的星形胶质细胞,使其转化为反应性星形胶质细胞分泌促炎介质,加剧神经元的炎性微环境^[39]。BDNF 是维持神经元存活、分化及突触可塑性的关键神经营养因子,而促炎因子的异常累积可以显著抑制 BDNF 的表达^[40],降低其对神经元的支持作用,导致神经营养与炎症因子之间的平衡破坏,使神经元更容易受到炎症反应的损伤^[40]。神经元是突触的关键结构,其完整性高度依赖于 Synapsin1 的正常表达。作为突触传递的调控因子, Synapsin1 的异常表达可以诱导海马和皮层突触可塑性异常^[41-42],其与 BDNF 的相互作用也是引发抑郁症中突触可塑性失衡的关键。当炎症引起 BDNF 的含量显著减少时,可以引起 Synapsin1 的表达降低,进而使突触传递异常、神经递质释放障碍等^[40]。而 BDNF 则可以通过激活磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 等信号通路,维持 Synapsin1 在 CNS 中的正常表达^[43],恢复突触可塑性。为了进一步研究以潞党参为君药的参苓白术散治疗 IBS-D 的具体机制,本研究使用 Western blot、ELISA 技术对各组大鼠的结肠紧密连接蛋白、海马胶质细胞活化蛋白及血清 TNF- α 、IL-6 和海马组织 BDNF 的表达情况进行了测定。结果发现以潞党参为君药的参苓白术散可以增加 IBS-D 大鼠结肠组织中紧密连接蛋白 Claudin1、Occludin 和 ZO-1 的表达,降低炎症因子 TNF- α 、IL-6 在 IBS-D 大鼠血清中的含量,说明

该复方可以通过上调肠道紧密连接蛋白的表达,修复受损的肠黏膜屏障,抑制异常激活的炎症反应,发挥治疗IBS-D的作用。进一步的研究结果发现,IBS-D大鼠海马组织中的GFAP和IBA1的表达显著增加,BDNF和Synapsin1的表达降低,经以潞党参为君药的参苓白术散干预后两种胶质细胞活化的标志物表达降低,Synapsin1、BDNF含量的异常降低得到纠正,表明以潞党参为君药的参苓白术散可能通过调节PI3K/Akt/BDNF、Toll样受体4(TLR4)/核转录因子- κ B(NF- κ B)等信号通路,缓解CNS的炎症反应,抑制胶质细胞的异常活化,改善Synapsin1、BDNF的异常降低,恢复突触可塑性,进而改善IBS-D大鼠的焦虑、抑郁样不良情绪状态,增加他们在旷场实验中的活动路程、时间及次数,缩短他们在强迫游泳实验中的静止不动时间,降低对糖水的偏好程度。

本研究验证了以潞党参为君药的参苓白术散可以综合改善IBS-D大鼠的肠道症状和焦虑、抑郁样行为,其核心在于从“脑肠同调”的视角深入挖掘道地药材潞党参作为君药在介导复方调节情绪障碍中的关键作用。通过君药配伍对比实验,证明去除潞党参后,参苓白术散在改善大鼠焦虑、抑郁样行为及调控神经细胞蛋白表达方面的效应显著减弱,为中药复方配伍理论提供了现代药理学证据。现有文献关于潞党参调节中枢神经系统的研究较少,本研究发现潞党参可以参与调节神经细胞蛋白和神经营养因子的表达,改善IBS-D大鼠的不良情绪,证明了道地药材在复方中的效价优势,也为临床选择优质饮片提供了直接的实验依据。此外,本研究的结果发现潞党参单药对结肠紧密连接蛋白的改善效果不显著,但是可以改善海马组织中神经细胞蛋白的表达,这可能与中药复方多成分、多靶点、整体调节的特点有关,潞党参可能更侧重于“脑-肠”自上而下的调节,而非“肠-脑”自下而上通路。而潞党参中党参多糖等活性成分也可能更倾向于免疫调节和神经调节,而非直接靶向肠上皮细胞。参苓白术散全方中,修复肠黏膜屏障的可能更多地由茯苓、白术、山药、莲子等药物协同完成,故潞党参单药对结肠紧密连接蛋白的改善效果不显著。

综上所述,本研究证实以潞党参为君药的参苓白术散可以通过增加结肠紧密连接蛋白的表达修复肠黏膜屏障,降低肠道通透性,减轻炎症反应,改善IBS-D大鼠腹泻、腹痛症状。并且还可以通过抑制IBS-D大鼠CNS胶质细胞的活化,调节突触传

递,增加BDNF,改善IBS-D大鼠焦虑、抑郁的情绪异常状态,为中药复方及道地药材的研究提供了证据。后续研究可结合肠道菌群分析等组学的研究以期更深入地揭示中药复方整体效应的量效关系及其调控肠-脑轴的关键分子靶点。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] MOSHIREE B, HEIDELBAUGH J J, SAYUK G S. A narrative review of irritable bowel syndrome with diarrhea: A primer for primary care providers[J]. *Adv Ther*, 2022, 39(9): 4003-4020.
- [2] 李彦楠,杨丽旋,赵钟辉,等.《2020年中国肠易激综合征专家共识意见》解读[J]. *中国临床医生杂志*, 2021, 49(10): 1151-1155.
LI Y N, YANG L X, ZHAO Z H, et al. Interpretation of expert consensus on irritable bowel syndrome in China (2020)[J]. *Chin J Clin Doctors*, 2021, 49(10): 1151-1155.
- [3] 陈迎龙,尚雪梅,喻华梅,等.基于干细胞生长因子/酪氨酸激酶受体信号通路探讨温和灸对肝脾虚证腹泻型肠易激综合征大鼠内脏高敏感的影响[J]. *针刺研究*, 2024, 49(9): 924-932.
CHEN Y L, SHANG X M, YU H M, et al. Effect of mild moxibustion on visceral hypersensitivity in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome rats with liver stagnation and spleen deficiency based on stem cell factor/tyrosine kinase receptor signaling pathway [J]. *Acup Res*, 2024, 49(9): 924-932.
- [4] 冯文林,伍海涛,洪睦铿,等.中国国内肠易激综合征流行病学调查研究的现状[J]. *浙江中医药大学学报*, 2017, 41(8): 685-687, 691.
FENG W L, WU H T, HONG M K, et al. Current status of epidemiological investigation and research on irritable bowel syndrome in China [J]. *J Zhejiang Chin Med Univ*, 2017, 41(8): 685-687, 691.
- [5] KURIN M, COOPER G. Irritable bowel syndrome with diarrhea: Treatment is a work in progress [J]. *Cleve Clin J Med*, 2020, 87(8): 501-511.
- [6] 彭金婵,韦金秀,刘柱,等.基于“肠-脑轴”探讨中医药干预腹泻型肠易激综合征的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(8): 311-319.
PENG J C, WEI J X, LIU Z, et al. Research progress of traditional Chinese medicine intervention in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome based on gut-brain axis [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2025, 31(8): 311-319.
- [7] 戎新倩,舒青龙.基于脑-肠-微生物轴的肠易激综合征机制与治疗研究进展[J]. *微生物学通报*, 2023, 50(9): 4190-4205.
RONG X Q, SHU Q L. Research progress on mechanism and treatment of irritable bowel syndrome based on brain-gut-microbiota axis [J]. *Microbiol China*, 2023, 50(9): 4190-

- 4205.
- [8] LAVELLE A, SOKOL H. Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(4):223-237.
- [9] 李旗, 田福玲, 郭振宇, 等. 浮针疗法对轻中度腹泻型肠易激综合征患者内脏敏感性、胃肠动力、肠道菌群及肠黏膜屏障功能的影响研究 [J]. *中国全科医学*, 2021, 24(9): 1111-1115, 1130.
- LI Q, TIAN F L, GUO Z Y, et al. Effect of Fu's subcutaneous needling on visceral sensitivity, gastrointestinal motility, gut microbiota and intestinal mucosal barrier function in patients with mild to moderate diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. *Chin Gen Pract*, 2021, 24(9): 1111-1115, 1130.
- [10] BERUMEN A, EDWINSON A L, GROVER M. Post-infection irritable bowel syndrome [J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2021, 50(2): 445-461.
- [11] DE PALMA G, COLLINS S M, BERCIK P. The microbiota-gut-brain axis in functional gastrointestinal disorders [J]. *Gut Microbes*, 2014, 5(3): 419-429.
- [12] XU X J, LIU L, YAO S K. Nerve growth factor and diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D): A potential therapeutic target? [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2016, 17(1): 1-9.
- [13] BARBARA G, BARBARO M R, FUSCHI D, et al. Inflammatory and microbiota-related regulation of the intestinal epithelial barrier [J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 718356.
- [14] YU X X, XU D, CHEN S, et al. Correlation between metabolism and neuroinflammation of astrocytes in drug-resistant epilepsy [J]. *J Neurol*, 2025, 272(9): 624.
- [15] SHI L, LU L, HU J, et al. Repopulating microglia suppress peripheral immune cell infiltration to promote poststroke recovery [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2025, 31(9): e70565.
- [16] RUPP S K, STENGEL A. Bi-directionality of the microbiota-gut-brain axis in patients with functional dyspepsia: Relevance of psychotherapy and probiotics [J]. *Front Neurosci*, 2022, 16: 844564.
- [17] HOLTSMANN G J, FORD A C, TALLEY N J. Pathophysiology of irritable bowel syndrome [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2016, 1(2): 133-146.
- [18] 王馨禾, 徐云生. 王新陆教授基于“脑血理论”治疗腹泻型肠易激综合征经验 [J]. *时珍国医国药*, 2025, 36(20): 3965-3969.
- WANG X H, XU Y S. Professor WANG Xinlu's experience in treating diarrhea-predominant irritable bowel syndrome based on 'brain blood theory' [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2025, 36(20): 3965-3969.
- [19] 韩玲, 马琳, 吴景东, 等. 潞党参联合人参归脾丸治疗失眠(心脾两虚)临床疗效 [J]. *实用中医内科杂志*, 2020, 34(11): 81-84.
- HAN L, MA L, WU J D, et al. Clinical efficacy of Lu Codonopsis pilosula combined with Renshen Guipi pill in treating insomnia (heart-spleen deficiency) [J]. *J Pract Tradit Chin Intern Med*, 2020, 34(11): 81-84.
- [20] 针娴, 高建平, 曹玲亚. 潞党参多糖含量测定 [J]. *中华中医药学刊*, 2014, 32(3): 498-500.
- ZHEN X, GAO J P, CAO L Y. Determination of polysaccharide content in Lu Codonopsis pilosula [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2014, 32(3): 498-500.
- [21] 针娴. 潞党参质量标准的研究 [D]. 太原: 山西医科大学, 2013.
- ZHEN X. Study on quality standard of Lu Codonopsis pilosula [D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2013.
- [22] 刘文生, 薛卫萍. 潞党参多糖的提取及含量测定 [J]. *安徽中医学院学报*, 2005, 24(1): 42-43.
- LIU W S, XUE W P. Extraction and content determination of polysaccharides from Lu Codonopsis pilosula [J]. *J Anhui Tradit Chin Med Coll*, 2005, 24(1): 42-43.
- [23] 肖瑞瑶, 滕攀攀, 綦世金, 等. 党参多糖对肠道微生态及肠道疾病作用研究进展 [J]. *微生物学通报*, 2023, 50(2): 687-696.
- XIAO R Y, TENG P P, QI S J, et al. Research progress of *Codonopsis pilosula* polysaccharides on intestinal microecology and intestinal diseases [J]. *Microbiol China*, 2023, 50(2): 687-696.
- [24] 杨光, 惠越, 陈奎, 等. 苍术内酯 II 对骨关节炎大鼠软骨损伤、血清炎症因子和氧化应激的调节作用及机制研究 [J]. *中医学报*, 2021, 36(3): 601-607.
- YANG G, HUI Y, CHEN K, et al. Regulatory effect and mechanism of atractylenolide II on cartilage injury, serum inflammatory factors and oxidative stress in osteoarthritis rats [J]. *J Chin Med*, 2021, 36(3): 601-607.
- [25] ZHANG M, ZHENG Y, LI X, et al. Tong-Xie-Yao-Fang alleviates diarrhea-predominant irritable bowel syndrome in rats via the GCN2/PERK-eIF2alpha-ATF4 signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2022, 107: 154350.
- [26] 刘倩, 韩博宇, 苏晓兰, 等. 三种脾肾阳虚证腹泻型肠易激综合征大鼠模型的比较 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2021, 41(8): 959-965.
- LIU Q, HAN B Y, SU X L, et al. Comparison of three rat models of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome with spleen-kidney Yang deficiency syndrome [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2021, 41(8): 959-965.
- [27] 李依洁, 苏晓兰, 杨晨, 等. 脾肾阳虚型肠易激综合征大鼠模型的建立与评价 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2017, 37(8): 950-954.
- LI Y J, SU X L, YANG C, et al. Establishment and evaluation of a rat model of irritable bowel syndrome with spleen-kidney yang deficiency syndrome [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2017, 37(8): 950-954.
- [28] 柯友兰, 岳滢滢, 王子成, 等. 加味四逆散调控短链脂肪酸代谢抑制 HMGB1/RAGE 通路改善慢性应激大鼠肠黏膜屏障的作用及机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, doi: 11.3495. R. 20250421. 1014. 008.
- KE Y L, YUE Y Y, WANG Z C, et al. Effect of Jiawei Sini

- powder on regulating short-chain fatty acid metabolism and inhibiting HMGB1/RAGE pathway to improve intestinal mucosal barrier in chronic stress rats [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2025, doi: 11. 3495. R. 20250421. 1014. 008.
- [29] 侯晓华,刘劲松,熊理守,等. 2020年中国肠易激综合征专家共识意见[J]. *中华消化杂志*, 2020, 40(12): 803-818.
HOU X H, LIU J S, XIONG L S, et al. Expert consensus on irritable bowel syndrome in China (2020) [J]. *Chin J Dig*, 2020, 40(12): 803-818.
- [30] LACY B E, PIMENTEL M, BRENNER D M, et al. ACG clinical guideline: Management of irritable bowel syndrome [J]. *Am J Gastroenterol*, 2021, 116(1): 17-44.
- [31] 陈雪娥,王承党. 解痉剂在肠易激综合征治疗中的应用[J]. *国际消化病杂志*, 2015, 35(5): 317-320.
CHEN X E, WANG C D. Application of antispasmodics in the treatment of irritable bowel syndrome [J]. *Int J Dig Dis*, 2015, 35(5): 317-320.
- [32] MAYNARD C L, ELSON C O, HATTON R D, et al. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system [J]. *Nature*, 2012, 489(7415): 231-241.
- [33] GAO J, LEE A A, ABTAHI S, et al. Low fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides, and polyols diet improves colonic barrier function and mast cell activation in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome: A mechanistic trial [J]. *Gastroenterology*, 2025, 170(1): 132-147.
- [34] FOUAD M R, RABIE M A, ZAKI H F, et al. Ertugliflozin ameliorates experimentally-induced colitis in rats by regulating the interplay between M1/M2 macrophage polarization, tight junction proteins, and microRNA 155 expression [J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 165: 115505.
- [35] DE CILLIS F, PETRILLO G, D'APRILE I, et al. Prenatal stress rewires the gut-brain axis: Long-term, sex-specific effects on microbiota, intestinal barrier, and hippocampal inflammation [J]. *Nutrients*, 2025, 17(17): 2812.
- [36] LI X, LIN D, HU X, et al. *Akkermansia muciniphila* modulates central nervous system autoimmune response and cognitive impairment by inhibiting hippocampal NLRP3-mediated neuroinflammation [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2025, 31(3): e70320.
- [37] CHERRY J D, OLSCHOWKA J A, O'BANION M K. Neuroinflammation and M2 microglia: The good, the bad, and the inflamed [J]. *J Neuroinflammation*, 2014, 11: 98.
- [38] LIDDELOW S A, GUTTENPLAN K A, CLARKE L E, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia [J]. *Nature*, 2017, 541(7638): 481-487.
- [39] TONG L, PRIETO G A, KRAMAR E A, et al. Brain-derived neurotrophic factor-dependent synaptic plasticity is suppressed by interleukin-1beta via p38 mitogen-activated protein kinase [J]. *J Neurosci*, 2012, 32(49): 17714-17724.
- [40] CHIN L S, LI L, FERREIRA A, et al. Impairment of axonal development and of synaptogenesis in hippocampal neurons of Synapsin I-deficient mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(20): 9230-9234.
- [41] WU L M, HAN H, WANG Q N, et al. Mifepristone repairs region-dependent alteration of Synapsin I in hippocampus in rat model of depression [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2007, 32(12): 2500-2510.
- [42] JOVANOVIC J N, CZERNIK A J, FIENBERG A A, et al. Synapsins as mediators of BDNF-enhanced neurotransmitter release [J]. *Nat Neurosci*, 2000, 3(4): 323-329.

[责任编辑 孙丛丛]