

柴术宁肠方对肠易激综合征模型大鼠 5-羟色胺信号系统的影响

邱悦, 李怡, 胡浪, 李潇然, 朱嘉煜, 文瑞, 杨星昊*
(南京师范大学生命科学院, 新药研究中心, 南京 210023)

[摘要] **目的:**探讨柴术宁肠方对肠易激综合征(IBS)模型大鼠 5-羟色胺(5-HT)信号系统的影响。**方法:**60 只 SD 雄性大鼠随机分为正常组、模型组、匹维溴铵组($15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、柴术宁肠方低、中、高剂量组($2.5, 5, 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。采用复合应激法建立肠易激综合征(IBS)大鼠模型,造模成功后连续灌胃给药 1 周,每日 1 次,正常组及模型组给予等体积生理盐水,考察一般状态半定量积分、腹部撤回反射(AWR)评分及最小容量阈值;用酶联免疫法(ELISA)检测大鼠血清 5-HT 水平,结肠色胺酸羟化酶 1(TPH₁),5-羟色胺转运体(SERT),5-羟色胺 3 受体(5-HT₃R),5-羟色胺 4 受体(5-HT₄R)水平;RT-PCR 法检测结肠 TPH₁,SERT,5-HT₃R,5-HT₄R mRNA 的表达。**结果:**与正常组比较,模型组一般状态半定量积分、腹部撤回反射评分及最小容量阈值均有显著性差异($P < 0.01$);模型组血清 5-HT 和结肠的 TPH₁,5-HT₃R 水平及基因表达明显增高和上调($P < 0.01, P < 0.05$);结肠 SERT,5-HT₄R 水平及基因表达显著降低和下调($P < 0.05$)。与模型组比较,柴术宁肠方血清 5-HT 和结肠 TPH₁水平明显下调($P < 0.05, P < 0.01$);结肠 5-HT₃R 水平及基因表达显著下调($P < 0.05$);结肠 SERT,5-HT₄R 水平及基因表达显著上调($P < 0.05$)。**结论:**柴术宁肠方可能通过对 IBS 模型大鼠 5-HT 信号通路的多靶点调节,降低 IBS 大鼠内脏敏感性,缓解 IBS 症状。

[关键词] 柴术宁肠方;肠易激综合征;5-羟色胺

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)17-0121-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015170121

Effect of Chaizhu Ningchang Fang on 5-Hydroxytryptamine Signaling System of Irritable Bowel Syndrome Model Rats QIU Yue, LI Yi, HU Lang, LI Xiao-ran, ZHU Jia-yi, WEN Rui, YANG Xing-hao* (*New Drug Research Center, School of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China*)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Chaizhu Ningchang Fang (CZNCF) on 5-hydroxytryptamine (5-HT) signal system of irritable bowel syndrome (IBS) model rats. **Method:** Totally 60 male SD rats were randomly divided into the normal group, the model group, the dicetel group and CZNCF high, medium and low doses ($2.5, 5, 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) groups. The IBS rat model was established by means of composite stress. After the successful modeling, the rats were orally administered with drugs once a day for one week, and the normal group and the model group were given isovolumetric normal saline, in order to detect the semi-quantitative score in general state, abdominal withdrawal reflex (AWR) score and minimum volume threshold. The 5-HT level in rat serum, tryptophan hydroxylase 1 (TPH₁), 5-hydroxytryptamine transporter (SERT), 5-hydroxytryptamine 3 receptors (5-HT₃R) and 5-hydroxytryptamine 4 receptors (5-HT₄R) levels in colon were determined by ELISA. The mRNA expressions of TPH₁, SERT, 5-HT₃R and 5-HT₄R were detected by RT-PCR method. **Result:** Compared with the normal group, the model group showed significant differences in all of semi-quantitative score in general state, AWR score and minimum volume threshold increase ($P < 0.01$) and up-regulation in 5-HT in serum and TPH₁, 5-HT₃R in colon ($P < 0.05, P < 0.01$) and decrease in the levels and gene expressions of SERT and 5-HT₄R in colon ($P < 0.05$). Compared with the model group, CZNCF significantly decreased the concentrations

[收稿日期] 20150128(022)

[基金项目] 江苏省新药创制基金项目(20031226);江苏省高校科研成果产业化推进项目(JH10-21)

[第一作者] 邱悦,在读硕士,从事天然药物筛选研究,Tel:025-85891871,E-mail:qiuyue5180@163.com

[通讯作者] *杨星昊,博士,教授,从事中药物质基础研究,Tel:025-85891871,E-mail:yangxinh@126.com

of the 5-HT in serum, the level of TPH₁ in colon, 5-HT₃R level and gene expression in colon, and up-regulated SERT, 5-HT₄R level and gene expression in colon ($P < 0.05$). **Conclusion:** CZNCF may reduce the visceral sensitivity of IBS rats and relieve IBS symptoms by regulating multiple targets of the 5-HT signal pathway of IBS model rats.

[**Key words**] Chaizhu Ningchang Fang; irritable bowel syndrome; 5-hydroxytryptamine

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是临床常见病,以腹痛、腹泻、大便性状改变为主要临床表现。近年研究显示,内脏感觉异常和胃肠动力学异常是肠易激综合征发病的主要病理学基础,5-羟色胺(5-HT)与内脏感觉和胃肠功能关系最为密切,IBS的发病与5-HT信号通路的改变密切相关^[1]。5-HT受体拮抗剂或激动剂已作为肠易激综合征治疗的主流药物^[2]。中医药治疗肠易激综合征在总有效率、复发率、毒副作用等方面具有明显特色和优势^[3]。痛泻要方、四逆散是中医临床最常用的基础方。柴术宁肠方是在痛泻要方、四逆散基础上合方化裁而成的临床验方,由柴胡、白芍、白术、甘草、茯苓等中药组成,临床用于各种类型肠易激综合征效果显著。以柴术宁肠方为基础开发的中药新药已进入临床研究阶段。但该方对5-HT信号通路的调节作用尚不明确。本研究选择5-HT信号通路中重要标志物5-HT,色氨酸羟化酶1(TPH₁),5-HT转运体(SERT),5-HT₃受体(5-HT₃R),5-HT₄受体(5-HT₄R),从多靶点的角度研究柴术宁肠方对肠易激综合征模型大鼠5-HT信号通路调节作用,探索柴术宁肠方治疗肠易激综合征的机制。

1 材料

1.1 药物 按照柴术宁肠方(CZNCF)处方(柴胡9g,白芍9g,白术9g,甘草6g,茯苓9g,川芎6g,太子参6g),称取适量药材,加入8倍水浸泡2h,水煎煮提取3次,每次1h。合并提取液,60℃减压浓缩至相对密度为1.14,喷雾干燥制备成浸膏粉。每克浸膏含5g生药,指标成分芍药苷含量0.92%,水含量3.8%,临用前用蒸馏水配成所需浓度。匹维溴铵片(法国苏威制药公司,批号629736)以蒸馏水配成适当浓度备用。中药饮片均购自于南京市先声再康药店,由南京师范大学龚祝南教授鉴定。

1.2 动物 健康雄性SD大鼠60只,体重(200±20)g,由江苏大学实验动物中心提供,合格证号SCXK(苏)2013-0011。

1.3 试剂及仪器 大鼠酶联免疫分析试剂盒(均购自上海必畅生物有限公司,批号201410),RNA提取试剂盒(命码生物技术有限公司,批号

MBR1103),逆转录试剂盒(诺唯赞生物有限公司,批号R111-02),PCR试剂(南京百斯凯公司,批号AQ111-02,AQ101-02-02),引物(上海生工,批号HC-450599,HC-573868,HC-458559)。Nanodrop 2000C型荧光分光光度计(美国Thermo公司),Rotor-Gene Q型荧光定量PCR仪(美国Qiagen公司),Spectra Max M2型酶标仪(美国AB公司),5417R型高速离心机(德国Eppendorf公司),JJ100型精密电子天平(美国双杰兄弟有限公司)。

2 方法

2.1 造模 参照文献[4]进行改良,采用复合应激法建立IBS动物模型。除正常组自然饲养外,其余各组均造模。每天随机选取2种不同的应激刺激:食物剥夺(24h),饮水剥夺合并空瓶刺激(12h),超声刺激(1h),常温强迫游泳(1h),行为束缚(3h,置于自制圆筒内),连续刺激21d,平均每种刺激方法使用2~3次。

2.2 分组及给药 大鼠随机分为6组,每组10只,即正常组,模型组,匹维溴铵组(15mg·kg⁻¹),CZNCF低、中、高剂量组分别为生药2.5,5,10g·kg⁻¹。自造模成功后第2天开始*ig*给药,实验给药剂量分别为临床用量的0.5,1,2倍^[5],连续给药7d,每天1次。正常组和模型组均*ig*等量生理盐水。

2.3 模型评价指标

2.3.1 大鼠一般状态的观察 相应的评分标准参照文献[6]的方法,观察各项指标得到半定量的积分。根据以下各项指标观察得到半定量的积分:①行为状态,程度判定:扎堆、贴边1分,少动2分,一般3分,多动4分,过亢5分;②活跃程度,迟缓1分,减弱2分,一般3分,活泼4分,非常活泼5;③胡须,下垂0分,正常1分;④皮肤毛发,枯乱1分,不泽2分,一般3分,顺整但不润泽4分,顺整润泽5分;⑤睡眠状态,嗜睡1分,倦卧2分,正常3分,易惊4分,易醒5分;⑥大便状态,便稀1分,便溏2分,正常3分,便干4分,便干结5分。按各观察项目,每天对每组大鼠的各个项目的状态进行观察,分别评分和归入不同的等级:如模型组中10%的大鼠的行为状态为扎堆贴边,90%的大鼠为少动,则该组大鼠的最后均

值为 $10\% \times 1 + 90\% \times 2 = 1.9$, 一般状态观察仅为大鼠状态说明, 得分越低说明症状越明显。

2.3.2 内脏敏感性评价 观察大鼠的腹部撤回反射(AWR)评分和引起AWR的最小容量阈值作为敏感性的评价指标。实验前将大鼠12 h禁食不禁水, 在乙醚麻醉下, 将用橡胶手套制成的球囊插入肛门, 深度约为6 cm, 固定好气囊。导管经三通管连接血压计和注射器, 通过注射器注气增加球囊压力, 并通过血压计进行压力控制。大鼠适应30 min后, 依次按照20, 40, 60, 80 mmHg不同级别注气, 观察并参照标准进行AWR评分。观察到大鼠腹部抬起时, 出现身体呈弓形时的压力(单位为mmHg), 即为引起AWR的最小容量阈值。每只大鼠测定3次, 每次间隔5 min, 取平均值。AWR评分标准^[7]见表1。

表 1 腹部撤回反射(AWR)评分标准

Table 1 Abdominal withdrawal reflex scoring criteria

腹部撤回反射	得分/分
结直肠扩张刺激时大鼠情绪基本稳定	0
给予刺激时开始出现不稳定, 偶有扭动头部	1
刺激时腹背部肌肉轻微收缩但腹部不抬离地面	2
给予刺激时腹背部肌肉较强烈收缩并有腹部抬离地面情况	3
刺激时腹背部肌肉强烈收缩, 腹部呈弓形, 腹部、会阴部抬离地面	4

2.4 标本采集 造模结束后, 以10%的水合氯醛

表 2 TPH₁, SERT, 5-HT₃R, 5-HT₄R, β -actin 各组的前引物和后引物

Table 2 Forward primer and reverse primer of TPH₁, SERT, 5-HT₃R, 5-HT₄R, β -actin

基因	前引物	后引物
TPH ₁	5'-TCCGAAGCTCGACGCGGACCA-3'	5'-CTCCCTGCAGCGCTGGGTTG-3'
SERT	5'-AGGAGTTCTACTTGCGCCAT-3'	5'-AAGATGAGCAGCATGCAGAG-3'
5-HT ₃ R	5'-TGCATACCATCCAGGACATCA-3'	5'-CTCTGTGCCGACCTCACTTCTTC-3'
5-HT ₄ R	5'-GCTGGGTCATTTCCCATGTTT-3'	5'-CAACTATGCCGATGTTGTTC-3'
β -actin	5'-GTGGGGCGCCACGGACCA-3'	5'-CTTCCTTAATGTCACGCACCATTC-3'

2.7 统计分析 用SPSS 19.0统计软件处理, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间均数比较采用单因素方差分析。P < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 一般状态观察 与正常组相比, 造模后的大鼠形体消瘦, 少动易怒, 易醒倦卧, 毛色晦暗枯乱, 稀便明显增多, 一般状态符合IBS模型特征^[6]。见表3。

3.2 各组肠道AWR评分及最小容量阈值比较 与正常组相比, 模型大鼠在肠道压力20~80 mmHg时AWR评分均有显著性差异(P < 0.01), 最小容量阈值显著降低(P < 0.01)。与模型组比较, 匹维溴铵组在20, 60 mmHg压力时显著低于模型组(P < 0.05, P < 0.01), 最小容量阈值显著性升

高(P < 0.05)。柴术宁肠方各剂量组AWR评分显著降低, 且各组最小容量阈值显著高于模型组(P < 0.01)。见表4。

2.5 测定血清5-HT和结肠TPH₁, SERT, 5-HT₃R, 5-HT₄R的水平 各组结肠组织块用PBS洗净, 滤纸吸干, 加入适量生理盐水制备组织匀浆, 离心取上清。分别按照ELISA试剂盒说明操作, 应用全自动酶标仪在450 nm处测吸光度A, 采用CurveExpert1.3进行标准曲线的绘制, 并计算对应的浓度。

2.6 测定结肠组织TPH₁, SERT, 5-HT₃R, 5-HT₄R mRNA的表达 ①RNA提取: 采用Trizol一步法试剂盒提取结肠组织总RNA, 用荧光分光光度计测定总RNA的浓度和纯度, 以确保 $1.8 < A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}} < 2.0$ 。②合成cDNA: 以OligodT为引物, 反应体积20 μ L, 按说明书操作, -20 $^{\circ}$ C保存。③PCR扩增: 以一个样本的cDNA稀释后作为对照品做基因的定量PCR, 扩增条件为95 $^{\circ}$ C 20 min 预变性, 95 $^{\circ}$ C 15 s 变性, 60 $^{\circ}$ C 30 s 退火, 共40个循环。④使用qPCR仪进行实时定量PCR反应, 反应结束后, 根据测得的样品C_t值及标准曲线, 求出待测样品的相对起始浓度, 用目的基因的相对起始拷贝数除以相应的 β -actin内参的相对起始拷贝数得到目的基因mRNA表达的相对值。引物序列如表2。

高(P < 0.05)。柴术宁肠方各剂量组AWR评分显著降低, 且各组最小容量阈值显著高于模型组(P < 0.01)。见表4。

3.3 各组血清5-HT和结肠TPH₁, SERT, 5-HT₃R, 5-HT₄R水平变化 与正常组相比, 模型组血清5-HT水平显著增高(P < 0.01), 结肠TPH₁, 5-HT₃R水平明显升高(P < 0.05), 结肠SERT, 5-HT₄R水平显著降低(P < 0.05)。与模型组相比, 柴术宁肠方中、高剂量组可显著降低血清5-HT水平(P < 0.05, P < 0.01), 高剂量组TPH₁和5-HT₃R水平降低, SERT水平增高, 且有显著性差异(P < 0.05); 高剂量组5-HT₄R水平极显著增高(P < 0.01)。匹维溴铵组的5-HT水平和5-HT₃R水平较模型组显著降低(P < 0.05)。见表5。

表 3 正常组和模型组一般状态半定量积分情况比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Comparison of observation of semi-quantitative scores in normal group and model group of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	一般状态/分			
	造模前 1 周	造模后第 1 周	造模后第 2 周	造模后第 3 周
模型	34.8 ± 0.6	28.6 ± 0.3 ¹⁾	24.7 ± 0.5 ¹⁾	20.3 ± 0.6 ¹⁾
正常	34.5 ± 0.4	35.0 ± 0.1 ¹⁾	35.0 ± 0.2 ¹⁾	35.0 ± 0.6 ¹⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

表 4 柴术宁肠方对各组大鼠不同肠道压力 AWR 的评分及最小容量阈值的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of CZNCF on AWR score of different pressures and minimum capacity threshold in different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	腹部撤回反射/分				最小容量阈值 /mmHg
		20 mmHg	40 mmHg	60 mmHg	80 mmHg	
正常	-	0.55 ± 0.50	1.22 ± 0.42	1.83 ± 0.37	2.33 ± 0.37	48.33 ± 2.38
模型	-	1.89 ± 0.49 ¹⁾	2.78 ± 0.53 ¹⁾	3.33 ± 0.50 ¹⁾	3.72 ± 0.45 ¹⁾	20.83 ± 1.86 ¹⁾
匹维溴铵	1.5 × 10 ⁻²	0.82 ± 0.47 ³⁾	2.16 ± 0.46	2.69 ± 0.37 ²⁾	3.16 ± 0.36	32.86 ± 2.62 ²⁾
CZCNF	2.5	0.78 ± 0.42 ³⁾	1.83 ± 0.37 ³⁾	2.50 ± 0.50 ³⁾	3.54 ± 0.50	29.44 ± 2.30 ³⁾
	5	0.61 ± 0.49 ³⁾	1.83 ± 0.37 ³⁾	2.22 ± 0.42 ³⁾	3.00 ± 0.58 ³⁾	37.50 ± 2.50 ³⁾
	10	0.56 ± 0.50 ³⁾	1.11 ± 0.31 ³⁾	2.11 ± 0.31 ³⁾	2.27 ± 0.45 ³⁾	45.55 ± 2.30 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ 。

表 5 柴术宁肠方对大鼠血清 5-HT 结肠组织 TPH₁, SERT, 5-HT₃R, 5-HT₄R 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effects of CZNCF on level of TPH₁, SERT, 5-HT₃R, 5-HT₄R in colon of different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	5-HT/μg·L ⁻¹	TPH ₁ /ng·g ⁻¹	SERT/ng·g ⁻¹	5-HT ₃ R/ng·g ⁻¹	5-HT ₄ R/ng·g ⁻¹
正常	-	376.8 ± 51.4	7.6 ± 1.6	11.6 ± 1.5	18.7 ± 3.4	20.7 ± 3.2
模型	-	742.1 ± 86.7 ²⁾	19.8 ± 2.3 ¹⁾	6.4 ± 2.7 ¹⁾	39.2 ± 4.7 ¹⁾	9.6 ± 1.1 ¹⁾
匹维溴铵	1.5 × 10 ⁻²	493.6 ± 68.1 ³⁾	19.5 ± 6.6	6.9 ± 1.8	29.7 ± 4.6 ³⁾	11.0 ± 2.9
CZCNF	2.5	640.8 ± 77.4	15.3 ± 1.7	6.5 ± 1.9	33.7 ± 4.5 ³⁾	10.6 ± 2.0
	5	549.2 ± 46.6 ³⁾	18.0 ± 2.7	9.9 ± 3.1	31.8 ± 2.0 ³⁾	13.4 ± 2.4
	10	376.5 ± 40.8 ⁴⁾	11.7 ± 2.2 ³⁾	11.9 ± 2.9 ³⁾	22.2 ± 1.9 ³⁾	15.3 ± 3.1 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

3.4 各组大鼠结肠组织中 TPH₁, SERT, 5-HT₃R, 5-HT₄R mRNA 表达比较 与正常组比较,模型组结肠组织 TPH₁, 5-HT₃R mRNA 的表达显著升高 ($P < 0.05$), SERT, 5-HT₄R mRNA 的表达降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较,柴术宁肠方高剂量组

SERT 和 5-HT₄R mRNA 的表达显著升高 ($P < 0.05$),柴术宁肠方中、高剂量组 5-HT₃R mRNA 的表达显著降低 ($P < 0.05$)。匹维溴铵组 5-HT₃R mRNA 的表达较模型组显著降低 ($P < 0.05$)。见表 6。

表 6 柴术宁肠方对各组大鼠结肠组织 TPH₁, SERT, 5-HT₃R, 5-HT₄R mRNA/β-actin 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 6 Effects of CZNCF on expression of TPH₁, SERT, 5-HT₃R, 5-HT₄R mRNA/β-actin in colon of different groups of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	mRNA/β-actin			
		TPH ₁	SERT	5-HT ₃ R	5-HT ₄ R
正常	-	0.34 ± 0.05	1.19 ± 0.16	1.17 ± 0.25	1.41 ± 0.33
模型	-	1.11 ± 0.27 ¹⁾	0.55 ± 0.09 ¹⁾	1.97 ± 0.48 ¹⁾	0.71 ± 0.18 ¹⁾
匹维溴铵	1.5 × 10 ⁻²	0.91 ± 0.25	0.61 ± 0.10	1.07 ± 0.24 ²⁾	0.97 ± 0.26
CZCNF	2.5	1.12 ± 0.18	0.63 ± 0.11	1.74 ± 0.30	0.85 ± 0.23
	5	1.03 ± 0.26	0.59 ± 0.09	1.49 ± 0.46 ²⁾	0.82 ± 0.15
	10	0.82 ± 0.15	0.77 ± 0.11 ²⁾	0.95 ± 0.25 ²⁾	1.19 ± 0.30 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

复合应激肠易激综合征模型^[8-9]是在慢性不可预知性应激模型基础上予以急性束缚应激,该模型可以从多方面模拟 IBS 致病因素,目前在相关研究

中已被广泛使用^[10]。本实验给予复合应激后,模型大鼠的外观、行为、排便等多方面出现异常,一般状态评分,模型组 AWR 评分较正常组明显升高,最小容量阈值显著降低 ($P < 0.01$),说明实验应激导致

模型组大鼠内脏敏感性显著升高,符合IBS模型特征。柴术宁肠方组和匹维溴铵组大鼠的外观、行为较模型组明显好转,大部分大鼠稀便症状消失,粪便呈灰褐色颗粒状,一般状态评分显著改善。与模型组相比,柴术宁肠方各剂量组和匹维溴铵组均可显著降低AWR评分和升高模型大鼠的最小容量阈值($P < 0.01$),并呈一定的量效趋势,以上结果说明柴术宁肠方可改善模型大鼠的应激状态,降低内脏高敏感性。

5-HT信号系统在维持肠道蠕动,调节分泌功能,传递肠道中枢神经感觉信号中发挥重要作用。在5-HT信号传递过程中,生物合成、重摄取、与相应受体结合等环节出现异常均可导致胃肠道功能异常及内脏高敏感性的产生^[11]。本研究结果显示,外周5-HT信号系统的多个环节存在着异常。TPH₁直接影响色氨酸生物合成5-HT。SERT通过对释放的5-HT重摄取,调节膜间5-HT浓度^[12]。从本实验结果分析,TPH₁表达增强及SERT表达下降是引起外周5-HT水平升高的重要原因。提示柴术宁肠方通过降低模型组大鼠结肠TPH₁的蛋白含量和上调SERT蛋白含量和基因表达,改善了5-HT的合成和重摄取,调节模型大鼠外周5-HT异常水平。

在5-羟色胺受体家族中5-HT₃R和5-HT₄R与IBS发病机制关系最为密切^[13]。5-HT₃R主要调控肠道感觉神经元向中枢神经系统传递伤害信号,与内脏敏感性的调节密切相关。5-HT₄R通过开放电压敏感性钙通道,调控降钙素基因相关肽(CGRP)、P物质(SP)等重要神经递质的释放,影响胃肠道的运动与分泌,调节蠕动反射及内脏感觉^[14]。本实验中IBS模型大鼠结肠5-HT₃R表达显著增加($P < 0.05$),5-HT₄R显著表达降低($P < 0.01$),这一结果与文献报道结果相符^[15-17]。

5-HT通路中生物合成、重摄取、受体结合环节相互协同、相互制约,共同维持胃肠正常生理功能,这些环节失衡直接导致了5-HT信号传递异常和胃肠功能病理状态。本研究结果提示,对TPH₁,SERT,5-HT₃R,5-HT₄R的多靶点调节,可能是柴术宁肠方调控5-HT信号通路和降低内脏高敏感性、调节胃肠功能紊乱的重要机制。

[参考文献]

[1] 刘杰,顾竹影. 5-羟色胺信号系统与肠易激综合征[J]. 国际消化病杂志, 2008, 28(5):368-370.
[2] 何侠垠,戴宁. 5-羟色胺与肠易激综合征关系的研究

进展[J]. 国际消化病杂志, 2010, 30(1):1-3.

[3] 吴海波,甘淳,徐义勇,等. 肠易激综合征中医治疗进展[J]. 陕西中医, 2006, 27(7):890-891.
[4] Katz R, Roth K, Carrol B. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: Implications for a model of depression[J]. Neurosci Biobehav Rev, 1981, 5(2):247-251.
[5] 施新猷. 医学实验动物学[M]. 北京:人民军医出版社, 1999:380-383.
[6] 周晨,胡浪,李天雪,等. 应激所致肠功能紊乱大鼠模型的建立及内源性标志物的评价[J]. 中国实验动物学报, 2013, 21(6):13-17.
[7] Lawal A, Kern M, Sidhu H, et al. Novel evidence for hypersensitivity of visceral sensory neural circuitry in irritable bowel syndrome patients[J]. Gastroenterology, 2006, 130(1):26-33.
[8] Lü H, Qian J M, Jin G L, et al. The establishment of an animal model of gut-brain interaction in irritable bowel syndrome for the evaluation of visceral sensation, motility and psychological behavior[J]. Chin J Intern Med, 2009, 48(12):1035-1039.
[9] Mönnikes H, Ruter J, König M, et al. Different induction of c-fos expression in brain nuclei by noxious and mommoxious colonic distension: Role of afferent C fiber and 5-HT₃ receptors[J]. Brain Res, 2003, 966(2):253-264.
[10] 唐丽明,宋宁,袁红霞. 中药复方治疗肠易激综合征的实验研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(20):355-360.
[11] Kanazawa M, Hongo M, Fukudo S. Visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome[J]. J Gastroen Hepatol, 2011, 26(Z3):119-121.
[12] 王静,徐萍,诸琦. 5-羟色胺转运体在肠易激综合征腹痛机制中的研究[J]. 中华消化杂志, 2010, 30(6):398-401.
[13] 王静,诸琦. 5-羟色胺受体及转运体在肠易激综合征发病机制中的作用[J]. 上海交通大学学报:医学版, 2008, 28(8):1051-1054.
[14] 宋士一. 眼针对肠易激综合征模型大鼠结肠组织5-羟色胺代谢及受体表达影响的研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学, 2010.
[15] 李运红,朱晓蕾,徐肇敏. 腹泻型肠易激综合征患者结肠黏膜5-羟色胺和5-羟色胺3受体的研究[J]. 胃肠病学, 2006, 11(8):477-450.
[16] 石君杰,徐发莹,宋李亚,等. 逍遥散对肠易激综合征大鼠结肠5-HT受体的干预作用[J]. 浙江中西医结合杂志, 2012, 22(3):172-174.
[17] 林震群,张维波,周文博. 痛泻要方颗粒对腹泻型肠易激综合征的结肠黏膜5-HT₃受体表达的影响[J]. 福建中医药, 2011, 42(5):14-16.