

疏肝健脾法肠激安方对 IBS-D 大鼠免疫功能的影响

柴玉娜¹, 黄育生¹, 唐洪梅^{2*}, 王婷¹, 刘媛¹, 钟如帆¹

(1. 广州中医药大学, 广州 510405;

2. 广州中医药大学第一附属医院, 广州 510405)

[摘要] **目的:**考察疏肝健脾法肠激安方对腹泻型肠易激综合征(IBS-D)大鼠免疫系统的影响,探讨其调控 IBS-D 脑-肠轴异常的免疫学机制。**方法:**取正常 SD 大鼠采用母子分离、乙酸刺激结合束缚应激的方法制造 IBS-D 模型,造模成功后将大鼠随机分为模型组,匹维溴铵组($0.018\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),疏肝健脾中药肠激安高、中、低剂量组($33.48, 16.74, 8.37\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),每组 6 只,连续 ig 14 d,另取同批次正常大鼠 6 只作为正常组,同法给予生理盐水。给药结束后观察各组大鼠的日进食量、糖水偏好情况、自主活动 3 种行为学特征,酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清中炎症因子白细胞介素-8(IL-8)和 IL-10 的含量,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)法检测结肠中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及 IL-1 β mRNA 的表达,并测定胸腺系数和脾系数的变化。**结果:**与正常组比较,IBS-D 模型组大鼠的日均进食量、糖水偏好率及自主活动均减少,血清 IL-8 含量及结肠中 TNF- α , IL-1 β mRNA 表达量明显升高,血清 IL-10 含量明显降低,胸腺系数和脾系数明显增高($P < 0.05$);与模型组比较,各给药组日均进食量、糖水偏好率及自主活动回升,结肠中 TNF- α mRNA 水平降低,血清 IL-10 含量升高($P < 0.05$),匹维溴铵组和肠激安高、中剂量组 IL-8 含量和结肠中 IL-1 β mRNA 水平显著降低($P < 0.05$),而低剂量无统计学差异,各组胸腺系数显著降低($P < 0.05$),脾系数呈降低趋势,但无统计学差异。**结论:**疏肝健脾法能够改善 IBS-D 大鼠的肝郁脾虚状态,并能够调节炎症因子的表达和一定程度地改善免疫器官功能,这可能是其调控 IBS-D 脑-肠轴功能异常、治疗 IBS-D 的作用途径之一。

[关键词] 腹泻型肠易激综合征;疏肝健脾法;肠激安方;免疫功能;脑-肠轴异常

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)21-0093-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20161210093

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160906.0927.052.html>

[网络出版时间] 2016-09-06 9:27

Effect of Shugan Jianpi Method (Changji'an Fomulation) on IBS-D Immune Function

CHAI Yu-na¹, HUANG Yu-sheng¹, TANG Hong-mei^{2*}, WANG Ting¹, LIU Yuan¹, ZHONG Ru-fan¹

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

2. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To examine the effects and immunological mechanism of Shugan Jianpi method on diarrhoea-irritable bowel syndrome (IBS-D) brain-gut axis dysfunction. **Method:** SD rats were treated with mother-child separation, acetic acid stimulation combined with restraint stress method to establish the IBS-D model. The model rats were randomly divided into five groups: model control group, pinaverium bromide group ($0.018\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), Changji'an high, medium and low-dose groups ($33.48, 16.74, 8.37\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), with six in each group. They were continuously administered by gavage for two weeks. At the same time, six normal rats were given normal saline as a normal control group. After administration, average daily food intake, percentage of sugar preferences and automatic activity were observed. ELISA assay was used to detect content of interleukin-8 (IL-8) and IL-10 in

[收稿日期] 20151115(032)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81073160);广东省自然科学基金项目(S2012010010539);广州中医药大学第一临床医学院优秀博士论文培育项目(YB201402)

[第一作者] 柴玉娜,博士,从事中药新药开发与安全性与评价工作,Tel:15920581239,E-mail:yuna999@126.com

[通讯作者] *唐洪梅,主任中药师,从事中药新药开发与安全性评价工作,Tel:020-36588708,E-mail:tanghongmei2000@163.com

serum, real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect tumor necrosis factor- α (TNF- α) and IL-1 β mRNA expressions in colon, and determinate changes in thymus and spleen coefficients. **Result:** Compared with normal control group, average daily food intake, percentage of sugar preferences and automatic activity of rats in IBS-D model group were reduced, IL-8, TNF- α , IL-1 β expressions were increased, IL-10 reduced, thymus and spleen coefficient significantly increased ($P < 0.05$); and compared with model group, in each treatment group, average daily food intake, percentage of sugar preferences and automatic activity significantly rebounded, TNF- α level was reduced in colon, and IL-10 increased ($P < 0.05$); IL-8 and IL-1 β expressions of pinaverium ammonium group and Changji'an high and median-dose groups were significantly lower ($P < 0.05$), while low-dose group showed no significant statistical difference; In each group, thymus coefficient was significantly lower ($P < 0.05$), and spleen coefficient was decreased, but with no statistical significance. **Conclusion:** Shugan Jianpi method can improve stagnation of liver and deficiency spleen in IBS-D rats, regulate the expression of inflammatory cytokines and enhance the function of immune organs to a certain degree, which may contribute to the improvement of brain-gut axis dysfunction and the treatment of IBS-D.

[**Key words**] diarrhoea-irritable bowel syndrome; Shugan Jianpi method; Changji'an fomulation; immune function; brain-gut axis

腹泻型肠易激综合征 (IBS-D) 是一种慢性功能性疾病,以腹痛、腹泻为主要临床症状,该病发作与环境、心理、胃肠道、遗传等相关,涉及神经、内分泌、免疫等多个系统,脑-肠轴异常是肠易激综合征目前公认的发病机制^[1]。神经递质、胃肠激素作为脑-轴信号传导的重要介质一直是 IBS-D 研究的重点,而近些年的研究认为 IBS-D 患者肠道内环境的炎症信号同样也是脑-肠轴异常的重要促成因素^[2]。肝郁脾虚是 IBS-D 的中医学病机,运用疏肝健脾止泻法治疗 IBS-D 也已取得了明显成效,多项研究证明其能够改善 IBS-D 内脏敏感性、肠道动力,并能够调节肠道激素和神经递质如 5-羟色胺 (5-HT),神经肽 Y (NPY),P 物质等的表达^[3-5],但在免疫方面的报道尚不多见。课题组前期初步发现,IBS-D 模型大鼠存在炎症因子的表达异常,并且与脑-肠轴相关^[6]。疏肝健脾是 IBS-D 的重要治则。本研究采用以疏肝健脾、止泻止痛为主要功效的肠激安方由四逆散、四君子汤和痛泻要方加减组成,是广州中医药大学第一附属医院临床使用多年、用于治疗 IBS-D 有显著疗效的验方,已经开发为院内制剂,并获得发明专利(专利号 ZL201110075802.5)。方中白术、白芍补脾燥湿,柔肝缓急止痛;黄芪、茯苓、枳壳等有行气止痛作用。前期多项研究证明该方能够改善 IBS-D 大鼠的脑肠轴异常情况,而能否改善其免疫系统功能尚不明确。疏肝健脾法是否对 IBS-D 的免疫系统功能具有调节作用,本研究在前期研究的基础上进一步对该问题进行探讨,为疏肝健脾法改善 IBS-D 脑-肠轴异常学说提供新的免疫

学证据。

1 材料

1.1 动物 新生 SD 大鼠窝鼠,SPF 级,购于广州中医药大学实验动物中心,动物合格证号 SCXK(粤)2013-0034。乳鼠与哺乳母鼠同窝饲养,饲养于含 2.5 cm 木屑垫料的塑料笼中,保持昼夜节律各 12 h。哺乳母鼠自由进食与饮水,饲养环境温度 18 ~ 24 °C,相对湿度 50% ~ 70%。动物实验地点广州中医药大学第一附属医院实验动物中心,许可证号 SYXK(粤)2013-0092。

1.2 药物及试剂 肠激安方(为治疗 IBS-D 的临床实验方,由土炒白术、白芍、茯苓、黄芪、枳壳、陈皮等 13 味中药组成),药材购自广州中医药大学第一附属医院中药房。匹维溴铵(法国 Abbott Healthcare 公司,批号 630698),研钵研成细粉,用蒸馏水配至所需浓度。大鼠白细胞介素-10(IL-10),IL-8 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(上海西塘公司,批号分别为 1412283,1412182);总 RNA 提取,逆转录试剂盒及 SYBR 染料(日本 TaKaRa 公司,批号分别为 AK501,AK3101,AK6004);DEPC 处理水(广州捷倍斯生物,批号 1411GB012)。

1.3 仪器 1510 型多功能酶标仪(美国 Thermo 公司),DHP-9162 型 37 °C 恒温箱(上海一恒科技),T100 型逆转录仪及 CFX96 型荧光定量 PCR 仪器(美国 Bio Rad 公司),5804R 型冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)。

2 方法

2.1 药物配置 按组方称取药材,加入 10 倍量水煎

煮高火煮沸后小火再煎 0.5 h, 倒出滤液后加入 3 倍量同法 2 次煎煮, 合并 2 次煎液滤过, 减压浓缩至含生药量 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 药液, 用时蒸馏水稀释至所需浓度。

2.2 造模及药物治疗^[3] 取新生 SD 大鼠 10 窝, 饲养员协助剔除雌性乳鼠, 得雄性乳鼠 50 只(由于雌性动物的痛敏感性要高于雄性动物, 痛阈值波动较大且受到性周期的影响, 易干扰实验结果)。按照文献方法采用三因素法(母婴分离乙酸刺激束缚应激)制造肝郁脾虚模型大鼠, 同时取一窝设为正常。造模结束后, 参照文献[7]用腹部回缩反射(AWR)方法进行模型的评估, 评估标准为 0 分, 给予球囊扩张刺激时, 大鼠无明显变化; 1 分, 给予球囊扩张刺激时大鼠情绪不稳定, 身体静止不动, 头部偶尔扭动或上下运动; 2 分, 给予球囊扩张刺激时腹部肌肉回缩, 但腹肌未离开桌面; 3 分, 给予球囊扩张刺激时大鼠腹部肌肉强烈收缩并抬离桌面; 4 分, 给予球囊扩张刺激时大鼠腹部强烈收缩并呈弓形, 盆骨抬起。以评分在 2 分及以上者为模型成功。将造模成功的大鼠分为模型组, 阳性药组(匹维溴铵)、肠激安高、中、低剂量组。按成人公斤体重的临床用药剂量以人鼠比例换算后的临床等效剂量 ig (参照文献[8]), 分别给予匹维溴铵($18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 肠激安高、中、低剂量($33.48, 16.74, 8.37 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$); 正常组和模型组同法给予生理盐水。每日 1 次, 连续 ig 14 d。

2.3 指标检测

2.3.1 反映肝郁脾虚的行为学指标检测 从进食量、糖水偏好率(依据《中医肝郁证动物模型评价指标概述》, 郭建丽, 2011 年)、自主活动情况进行行为学评分。进食量: 给药 1 周后开始对各组大鼠分别进行进食量测量: 每天上午添加饲料 30 g, 24 h 后称取剩余饲料量。进食量 = 添加饲料量 - 剩余饲料量。连续测 7 d, 求均值。糖水偏好率: 给药结束后, 取各组大鼠, 禁食禁水 24 h, 分别给予一瓶 1% 的 200 mL 蔗糖水, 一瓶为 200 mL 灭菌自来水, 24 h 后各自测量消耗量。自主活动情况: 实验前一天将大鼠放入旷场箱中, 令其适应环境。实验开始时将大鼠分别放入实验箱的正中央格, 在安静环境下记录 5 min 大鼠移动格子数。以移动总格子数反映大鼠的自主活动程度。

$$\text{糖水偏好率} = \frac{\text{糖水摄入量}}{\text{糖水摄入量} + \text{自来水摄入量}} \times 100\%$$

2.3.2 胸腺系数和脾系数的测量 给药结束后, 按照 $3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量 ip 水合氯醛, 麻醉处死大鼠, 分

离出脾和胸腺, 用生理盐水洗净表面血迹, 剔除脏器表面筋膜后用吸水纸吸干水分后称质量, 并计算脾脏和胸腺脏器系数。

$$\text{脏器系数} = \frac{\text{脏器湿重}}{\text{体重}} \times 100\%$$

2.3.3 双抗体夹心 ELISA 法检测 IL-10 和 IL-8 的表 达量 给药结束后大鼠在麻醉状态下, 用无抗凝剂负压管腹主动脉取血, $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上层血清, 于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存; 按照说明书步骤检测 540 nm 波长下吸光度 A , 通过标准曲线计算各样本的含量。

2.3.4 实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)法检测 TNF- α 和 IL-1 β 的相对表达量 给药结束后, 麻醉处死大鼠, 分离远端结肠 2 cm, 生理盐水洗去粪便, 迅速放于液氮中, 后转至 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存。总 RNA 的提取: 用电子天平称取结肠组织 100 mg, 液氮研成细粉。加入裂解液, 充分混匀后, 用 70% 乙醇沉淀, 后转入 RNA 吸附柱, $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 1 min, 用试剂盒中洗液充分洗涤柱子后, 用无 RNA 酶水洗脱 RNA, 分装于 20 μL 离心管保存。用微量核酸测定仪检测 A , 以 $A_{260 \text{ nm}}/A_{280 \text{ nm}}$ 在 1.8 ~ 2.2 为标准控制 RNA 的纯度, 用琼脂糖横电泳检测总 RNA 的完整性。逆转录成 C-DNA 采用以下逆转录体系: $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 15 min, $85 \text{ }^\circ\text{C}$ 5 s。扩增反应: 以 SYBR Premix ExTaq 为荧光染料, 按 25 μL 体系进行如下反应: $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 30 s, $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 5 s, $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 30 s, 40 个循环, 以无酶水做阴性对照孔, 每个样本 3 个技术性重复。IL-1 β 引物序列上游为 5'-CCCTGAACTCAACTGTGAAATAGCA, 下游为 5'-CCCAAGTCAAGGGCTTGAA-3'; TNF- α 引物序列上游为 5'-GGCGTGTTCATCCGTTCTC-3', 下游为 5'-CTTCAGCGTCTCGTGTGTTTCT-3'; β -actin 引物序列上游为 5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3', 下游为 5'-TTTAATGTACGCACGATTTC-3', 扩增结果用 C_t 值表示, 以 β -actin 为内参照, 通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算相对表达量。

2.4 统计学分析 采用 SPSS 13.0 软件进行数据处理和分析, 计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验; 方差齐时, 整体组间均数比较采用方差分析, 进一步多重比较采用 LSD 法; 方差不齐, 应用近似的稳健方差分析进行整体组间比较, 多重比较采用 Dunnett's T3 法, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 IBS-D 大鼠日均进食量、糖水偏好百分比及自主活动的影响 模型组大鼠的日均进食量、糖水

偏好率及自主活动频率较正常组降低 ($P < 0.05$) ; 给药后, 各给药剂量组的行为学指标和模型组比较均明显升高 ($P < 0.05$)。见表 1。

3.2 对 IBS-D 大鼠脾系数及胸腺系数的影响 与

正常组比较, IBS-D 模型大鼠的脾系数及胸腺系数明显升高 ($P < 0.05$) ; 与模型组比较, 各给药组的胸腺系数明显下降 ($P < 0.05$) , 脾系数有下降趋势, 但无统计学差异。见表 2。

表 1 肠激安方对 IBS-D 大鼠日均进食量、糖水偏好率及自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of Changji'an fomulation on average daily food intake, percentage of sugar preferences and freely moving scores of IBS-D rats

($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	日均进食量/g	糖水偏好率/%	自主运动穿越格子数/个
正常	-	22.985 ± 0.737	83.078 ± 1.511	140.833 ± 28.659
模型	-	21.134 ± 0.284 ¹⁾	68.398 ± 0.781 ¹⁾	57.500 ± 9.289 ¹⁾
匹维溴铵	0.018	23.283 ± 0.400 ²⁾	80.679 ± 1.704 ²⁾	100.666 ± 13.894 ²⁾
肠激安方	33.48	22.830 ± 0.331 ²⁾	76.000 ± 1.445 ²⁾	92.166 ± 8.109 ²⁾
	16.74	22.793 ± 0.173 ²⁾	74.694 ± 1.652 ²⁾	79.666 ± 3.777 ²⁾
	8.37	22.383 ± 0.394 ²⁾	71.856 ± 1.897 ²⁾	75.500 ± 6.411 ²⁾

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

表 2 肠激安方对 IBS-D 大鼠脾系数及胸腺系数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect of Changji'an fomulation on thymus and spleen coefficient of IBS-D rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$) %

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	胸腺系数	脾系数
正常	-	0.28 ± 0.01	0.34 ± 0.26
模型	-	0.33 ± 0.19 ¹⁾	0.41 ± 0.23 ¹⁾
匹维溴铵	0.018	0.27 ± 0.02 ²⁾	0.38 ± 0.02
肠激安方	33.48	0.28 ± 0.01 ²⁾	0.39 ± 0.04
	16.74	0.29 ± 0.02 ²⁾	0.39 ± 0.02
	8.37	0.29 ± 0.02 ²⁾	0.39 ± 0.01

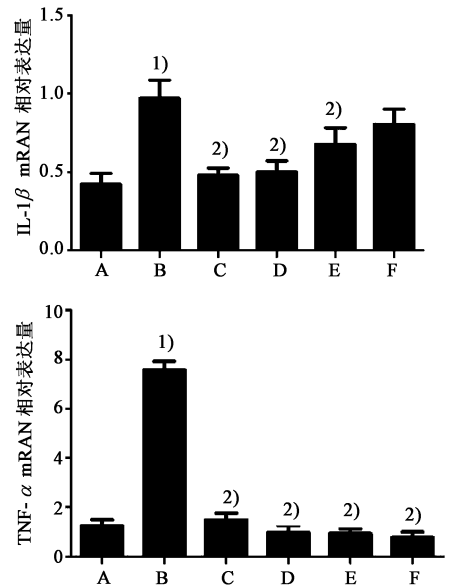
3.3 对 IBS-D 大鼠血清中 IL-8 和 IL-10 含量的影响 与正常组比较, 模型组 IBS-D 大鼠血清中 IL-8 含量升高, IL-10 含量降低 ($P < 0.05$) ; 与模型组比较, 各给药组的 IL-10 的表达均升高 ($P < 0.05$) , 肠激安高、中剂量组的 IL-8 降低 ($P < 0.05$) , 低剂量组有降低趋势, 但无统计学差异。见表 3。

表 3 肠激安方对 IBS-D 大鼠血清中 IL-8 和 IL-10 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effect of Changji'an fomulation on content of IL-8 and IL-10 in IBS-D rat serum ($\bar{x} \pm s, n = 6$) $ng \cdot L^{-1}$

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	IL-8	IL-10
正常	-	63.30 ± 6.75	11.74 ± 0.93
模型	-	97.76 ± 15.10 ¹⁾	6.48 ± 1.25 ¹⁾
匹维溴铵	0.018	68.76 ± 5.87 ²⁾	10.45 ± 2.73 ²⁾
肠激安方	33.48	55.20 ± 7.71 ²⁾	9.52 ± 1.64 ²⁾
	16.74	64.39 ± 12.13 ²⁾	9.45 ± 1.53 ²⁾
	8.37	72.77 ± 21.43	9.33 ± 3.61 ²⁾

3.4 对 IBS-D 大鼠结肠中 TNF- α , IL-1 β mRNA 表达的影响 与正常组比较, 模型组 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 的含量明显升高 ($P < 0.05$) ; 与模型组比较, 各给药组明显降低 TNF- α mRNA 的表达 ($P < 0.05$) , 肠激安高、中剂量组明显降低 IL-1 β mRNA 表达 ($P < 0.05$) , 低剂量组有降低趋势, 但无统计学差异。见图 1。



A. 正常组; B. 模型组; C. 匹维溴铵组; D. 肠激安方 33.48 $g \cdot kg^{-1}$ 组; E. 肠激安方 16.74 $g \cdot kg^{-1}$ 组; F. 肠激安方 8.37 $g \cdot kg^{-1}$ 组

图 1 肠激安方对 IBS-D 大鼠结肠中 TNF- α , IL-1 β mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effect of Changji'an fomulation on TNF- α and IL-1 β mRNA expression in IBS-D rat colon ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

4 讨论

IBS-D 是慢性肠道疾病, 属于中医学“肠郁”、

“泄泻”等范畴,肝郁脾虚是其最主要的病机^[9],而现代医学认为脑-肠轴异常是其主要病理机制,二者本质上相互统一。胃肠道与中枢神经系统联系起来的神经-内分泌网络称为“脑肠轴”,环境、心理、紧张情绪等导致 IBS 患者的内脏感觉过敏和肠道动力紊乱,脏腑功能失调又反之影响患者焦虑、抑郁情绪,这种双向作用即是脑-肠互动的结果。在这些脑肠互动过程中,神经递质与胃肠激素发挥主要的调节作用^[10-11],也一直是 IBS 研究的主导方向。近些年研究证明这种抑郁情绪对机体免疫系统功能失调有重要影响^[12],认为脑肠轴异常不仅仅是神经和内分泌两个系统之间的相互作用,免疫系统功能在脑肠互动过程也起着不可忽视的作用。而从中医肝脾两脏功能失调辨证角度来讲,肝具有神经-内分泌-免疫网络调节功能,而脾气虚不仅体现在胃肠运动和胃电节律的紊乱,还体现在胃黏膜及内分泌细胞的变化。目前也已发现 IBS-D 模型大鼠存在炎症因子的表达异常^[6],因此考察疏肝健脾法对 IBS-D 的免疫功能的影响对 IBS-D 脑肠轴异常机制的进一步阐释及 IBS-D 的治疗具有积极意义。

实验中采用母婴分离-乙酸刺激-束缚应激三因素结合,是经典的 IBS-D 动物模型制备方法^[7,13-14],正是从早期生活事件到成年后的外界束缚刺激制造脑-肠轴异常模型^[15],大鼠长期处于抑郁情绪会影响机体神经系统的发育和塑造,表现为成年之后受到外界因素的刺激时会有内脏感知过敏反应及排便功能的异常。实验研究中模型大鼠进食量下降,对于糖水奖赏兴趣降低及自由活动显著下降,都明显呈现肝郁脾虚的状态。

免疫功能的变化在脑-肠互动过程中起着重要的桥梁作用。已证明 IBS-D 大鼠存在 T 淋巴细胞亚群比例失调和肥大细胞异常的情况^[16-17],但深入的相关机制报道不多。脾脏是淋巴细胞接受抗原刺激并产生免疫反应的中心,胸腺具有产生 T 淋巴细胞的功能,因此本实验中对这 2 种重要的免疫器官进行了考察;而肥大细胞脱颗粒能够产生多种介质(如组胺、白细胞介素等),介导肠道免疫反应。由于 TNF- α , IL-1 β , IL-8 等促炎因子是肠道黏膜屏障损伤的重要启动因子,且据多方报道抗炎因子 IL-10 与 IBS-D 相关,然而其作用尚不明确^[18-19],因此促炎因子和抗炎因子的平衡关系也是十分值得探讨。

本实验结果显示模型组胸腺系数和脾系数增高,同时促炎因子 TNF- α , IL-1 β , IL-8 表达增高,抗炎因子 IL-10 降低,说明 IBS-D 发生时机体免疫器

官、免疫细胞到免疫因子多个层面上都出现了免疫功能的异常。给予治疗后,行为学指标均有明显回升,提示各给药剂量均可显著改善大鼠的情绪,使兴奋性加强。前期研究初步发现,肠激安方能够改善肥大细胞脱颗粒及淋巴细胞亚群的比例^[20-21]。而本实验研究结果表明肠激安方还能够降低胸腺系数,降低血清和结肠中致炎因子 TNF- α , IL-1 β 的表达,升高抗炎因子 IL-10 的表达。本研究进一步证明疏肝健脾法能够通过影响免疫器官、免疫细胞和炎症因子来改善 IBS-D 的免疫系统功能,为其调控 IBS-D 脑-肠轴异常功能、治疗 IBS-D 提供了新的免疫学依据。

虽然 IBS-D 神经-内分泌-免疫网络的紊乱及脑-肠轴异常变化的机制正在不断得到证明,但是其中的深层次作用机制还不够深入,这种多系统的同时变化是否存在共同的激活通路还不得而知。机体内脑-肠异常的发生与神经、内分泌和免疫系统的关系,还需要进一步探索。

[参考文献]

- [1] Okumura T. Brain-gut interaction in the pathophysiology of IBS [J]. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi*, 2014, 111 (7): 1334-1344.
- [2] Hyland N P, Quigley E M, Brint E. Microbiota-host interactions in irritable bowel syndrome: epithelial barrier, immune regulation and brain-gut interactions [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20 (27): 8859-8866.
- [3] 朱慧渊. 疏肝健脾法对肠易激综合征模型大鼠 SP 及 c-fos 表达变化的作用机制 [J]. *辽宁中医杂志*, 2014, 41(7): 1526-1528, 1550.
- [4] 彭美哲, 王思玉, 李享, 等. 疏肝健脾法治疗腹泻型肠易激综合征的临床研究 [J]. *世界中医药*, 2014, 9 (12): 1595-1598.
- [5] 汪正芳, 郭前坤, 张声生, 等. 疏肝健脾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]. *北京中医药*, 2013, 32(6): 406-409.
- [6] 李得堂, 涂星, 柴玉娜, 等. 腹泻型肠易激综合征模型大鼠海马与结肠组织中细胞因子的含量变化及 mRNA 的表达 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21 (10): 128-132.
- [7] Al-Chaer E D, Kawasaki M, Pasricha P J. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development [J]. *Gastroenterology*, 2000, 119(5): 1276-1285.
- [8] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. *中国临床药理学与*

- 治疗学,2004,9(9):1069-1072.
- [9] 黄绍刚,丁冠福,黎颖婷. 基于聚类分析的腹泻型肠易激综合征中医证候特征研究[J]. 新中医,2013,45(8):40-43.
- [10] Han B. Correlation between gastrointestinal hormones and anxiety-depressive states in irritable bowel syndrome [J]. *Exp Ther Med*, 2013,6(3):715-720.
- [11] Camilleri M, Katzka D A. Irritable bowel syndrome: methods, mechanisms, and pathophysiology. Genetic epidemiology and pharmacogenetics in irritable bowel syndrome[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012,302(10):G1075-G1084.
- [12] Brydon L, Walker C, Wawrzyniak A J. Dispositional optimism and stress-induced changes in immunity and negative mood[J]. *Brain Behav Immun*,2009,23(6):810-816.
- [13] Coutinho S V, Plotsky P M, Sablad M, et al. Neonatal maternal separation alters stress-induced responses to viscerosomatic nociceptive stimuli in rat [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 282(2):307-316.
- [14] Williams C L, Villar R G, Peterson J M, et al. Stress-Induced changes in intestinal transit in the rat: a model for irritable bowel syndrome [J]. *Gastroenterology*, 1988,94(3):611-621.
- [15] O'Mahony S M, Hyland N P, Dinan T G, et al. Maternal separation as a model of brain-gut axis dysfunction[J]. *Psychopharmacology (Berl)*,2011,214(1):71-88.
- [16] 苏晓兰,魏茹涵,魏玮,等. 温肾健脾法对腹泻型肠易激综合征大鼠血清T细胞亚群表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2015,35(4):457-460.
- [17] Vicario M, González-Castro A M, Martínez C, et al. Increased humoral immunity in the jejunum of diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome associated with clinical manifestations [J]. *Gut*, 2015, 64(9):1379-1388.
- [18] Shiotani A, Kusunoki H, Kimura Y, et al. S100A expression and interleukin-10 polymorphisms are associated with ulcerative colitis and diarrhea predominant irritable bowel syndrome[J]. *Dig Dis Sci*, 2013,58(8):2314-2323.
- [19] Czogalla B, Schmitteckert S, Houghton L A, et al. A meta-analysis of immunogenetic case-control association studies in irritable bowel syndrome [J]. *Neurogastroenterol Motil*,2015,27(5):717-727.
- [20] 唐洪梅,李得堂,黄樱华,等. 肠激安方抑制肠易激综合征模型大鼠肥大细胞的实验研究[J]. 中药新药与临床药理,2008,19(6):464-466.
- [21] 唐洪梅,黄樱华,李得堂,等. 肠激安方对腹泻型肠易激综合征模型大鼠T淋巴细胞和5-羟色胺的影响[J]. 广州中医药大学学报,2009,26(2):164-168,200.

[责任编辑 周冰冰]