

四磨汤对慢性应激小鼠血清 Leptin 和 MTL 的影响

刘杰民¹, 蔺晓源², 蔡莹¹, 易健², 刘柏炎², 蔡光先^{2*}

(1. 湖南中医药大学 2008 级博士研究生, 长沙 410007;

2. 湖南中医药大学省部共建中医内科学教育部重点实验室, 长沙 410007)

[摘要] 目的:通过观察四磨汤对慢性应激小鼠血清瘦素(leptin)和胃动素(motilin, MTL)的影响,探讨四磨汤治疗功能性消化不良(FD)的作用机制。方法:40 只小鼠随机分为正常组、模型组、吗丁啉 3.78 mg·kg⁻¹组及四磨汤 7.56 g·kg⁻¹组;采用饥饿失常、明暗颠倒以及束缚夹尾等多种应激法造模;模型成功后,分别给予蒸馏水、吗丁啉、四磨汤 ig;观察小鼠的食量、体质量,酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清中 leptin 和 MTL 的含量变化。结果:与正常组相比,模型组小鼠食量和体质量降低($P < 0.05$),血清中 leptin 含量升高,MTL 含量降低($P < 0.05$);与模型组比较,四磨汤组和吗丁啉组小鼠食量、体质量增加,血清 leptin 降低、MTL 升高(均 $P < 0.05$);与吗丁啉组相比,四磨汤组小鼠各项指标差异无统计学意义。结论:四磨汤能提高慢性应激小鼠的食量、体质量,降低血清 leptin 含量,升高 MTL 水平,其治疗 FD 的机制与调节血中 leptin 和 MTL 的变化有关。

[关键词] 四磨汤;慢性应激;食量;体质量;瘦素;胃动素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)21-0152-03

[DOI] CNKI:11-3495/R.20110906.1107.005 **[网络出版时间]** 2011-09-06 11:07

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110906.1107.005.html>

Effects of Simo Decoction on Leptin and Motilin in Serum of Mice with Chronic Stress

LIU Jie-min¹, LIN Xiao-yuan², CAI Ying¹, YI Jian², LIU Bai-yan², CAI Guang-xian^{2*}

(1. Traditional Chinese Medicine University of Hunan, 2008 Doctoral Students, Changsha 410007, China;

2. Ministry of Education Key Lab of Internal Medicine Constructed by Ministries and Provincial Governments, Changsha 410007, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Simo decoction on leptin and motilin(MTL) in serum of mice with chronic stress, and to explore the mechanism of Simo decoction on Functional dyspepsia(FD). **Method:** Fourty mice were randomized into normal group, model group, motilium group and Simo decoction group. The mice models were established by exerting the factors of irregular diet, reverse of day and night, binding and stimulating tails, then treated with distilled water, motilium and Simo decoction, respectively. The appetite and body weight of mice were observed. The contents of leptin and MTL were detected by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). **Result:** The appetite and body weight of model group were lower than normal group($P < 0.05$), and the contents of leptin was increase and MTL decreased in serum compared with the normal group($P < 0.05$). Simo decoction group and motilium group increased the appetite, body weight and MTL with decreased leptin compared with the model group($P < 0.05$). Simo decoction group had not statistically significant action compared with Motilium group. **Conclusion:** The therapeutic mechanism of Simo decoction for FD may probably lie in adjusting the secretion

[收稿日期] 20110406(017)

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973)课题(2009CB523002);湖南省中医药科技计划项目(209004)

[第一作者] 刘杰民,副主任医师,博士研究生,从事中西医结合治疗胃肠疾病研究,Tel:13984074607,E-mail:liujiemin@126.com

[通讯作者] *蔡光先,教授,博士生导师,从事中医药防治消化、心脑血管疾病研究,Tel:0731-88458001,E-mail:lby1203@sina.com

of leptin and MTL in serum.

[Key words] Simo decoction; chronic stress; appetite; body mass; leptin; motilin

功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 是临床常见的一种胃肠道功能紊乱性疾病。其发病率高,易反复发作,现代医学主要给予对症治疗,尚未有疗效肯定的药物。临床研究表明,四磨汤治疗 FD 疗效确切^[1-2]。为了进一步探讨其作用机制,本实验观察了四磨汤对慢性应激小鼠食量、体质量及血清瘦素 (leptin) 和胃动素 (MTL) 的影响。

1 材料

1.1 动物 清洁级昆明种小鼠 40 只,雌雄各半,体重 (20 ± 2) g,由湖南斯莱克景达实验动物公司提供。动物合格证号 003277。

1.2 药物 四磨汤口服液 (湖南汉森制药股份有限公司),批号 091002183,规格:10 mL/支;吗丁啉 (西安杨森制药有限公司),批号 091130529,规格 10 mg/片,用蒸馏水配制成 0.5 g·L⁻¹ 的溶液。

1.3 试剂 小鼠 leptin ELISA 试剂盒 (美国 RD 公司),小鼠 MTL ELISA 试剂盒 (美国 ADL 公司)。

1.4 仪器 GL20A 高速冷冻离心机 (湖南仪器仪表总厂离心机厂),MK3 型酶标仪 (芬兰 LABSYSTEMS 集团)。

2 方法

2.1 模型制备 参考文献 [3] 并加改进制备不可预知的慢性应激模型,选取多种刺激因素对小鼠进行干预:①食物剥夺 (24 h);②饮水剥夺合并空瓶刺激 (12 h);③明暗颠倒 (24 h);④湿笼饲养 (24 h);⑤强迫游泳 (45 °C, 5 min);⑥倒悬 (30 min);⑦行为束缚 (30 min);⑧超声刺激 (2 h);⑨夹尾 (1 h)。每天随机选取一种,相邻 2 d 的刺激不重复,连续刺激 21 d。各种刺激方法平均使用 2~3 次,应激处理在每日上午 8:30 开始更换。

2.2 动物分组与给药 所有小鼠适应性喂养 3 d 后,按体质量随机分成正常组、模型组、四磨汤组 7.56 g·kg⁻¹、吗丁啉 3.78 mg·kg⁻¹ 组,每组 10 只。造模成功后,分别 ig 相应的药物,给药容量均为 7.56 mL·kg⁻¹ (临床等效剂量),模型组和正常组给予等容量的蒸馏水,1 次/d。

2.3 小鼠食量、体质量测定 给药前和给药后各测 1 次小鼠的食量及体质量,并记录。当日 8:00am 给予一定的鼠食 (固体,天平称量),至次日 8:00am

测定剩余量,两者差值与小鼠数目的比值即为每只小鼠 1 日进食量。

2.4 小鼠血清 leptin 含量检测 所有小鼠末次给药后,10% 水合氯醛 ip (4 mL·kg⁻¹) 麻醉,心脏取血 1 mL 直接置于预冷的试管内,4 °C 离心 3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,取血清置 -34 °C 冰箱保存待测。严格按照试剂盒说明书进行 ELISA 检测。

2.5 统计学分析 用 SPSS 16.0 软件统计包对各组数据进行统计分析,所有资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间采用 *t* 检验,多组间采用方差分析。*P* < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 四磨汤对慢性应激小鼠食量、体质量的影响 与正常组相比,模型组小鼠食量和体质量下降 (*P* < 0.05);与模型组比较,四磨汤组和吗丁啉组小鼠食量、体质量均恢复 (*P* < 0.05);与吗丁啉组比较,四磨汤组小鼠食量、体质量差异无统计学意义。见表 1。

表 1 四磨汤对慢性应激小鼠食量和体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	食量/g	体质量/g
正常	-	5.01 ± 0.17	36.99 ± 0.86
模型	-	2.9 ± 0.16 ¹⁾	28.69 ± 0.78 ¹⁾
四磨汤	7.56	4.98 ± 0.14 ²⁾	34.96 ± 1.11 ²⁾
吗丁啉	3.78	4.99 ± 0.16 ²⁾	34.76 ± 0.99 ²⁾

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

3.2 四磨汤对慢性应激小鼠血清中 leptin 和 MTL 含量的影响 与正常组相比,模型组小鼠血清中 MTL 含量降低、leptin 含量升高 (*P* < 0.05);与模型组比较,四磨汤组、吗丁啉组小鼠血清 MTL 升高,leptin 降低 (*P* < 0.05);与吗丁啉组相比,四磨汤组小鼠 MTL,leptin 差异无统计学意义。见表 2。

表 2 四磨汤对慢性应激小鼠血清 MTL, leptin 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	MTL/ng·L ⁻¹	leptin/μg·L ⁻¹
正常	-	71.53 ± 6.27	4.24 ± 0.12
模型	-	32.53 ± 6.28 ¹⁾	4.92 ± 0.14 ¹⁾
四磨汤	7.56	66.26 ± 6.22 ²⁾	4.36 ± 0.15 ²⁾
吗丁啉	3.78	63.46 ± 6.10 ²⁾	4.38 ± 0.14 ²⁾

4 讨论

FD 是临床常见病、多发病,据国内统计约占胃

肠专科门诊患者的 1/3 以上,且随着现代生活节奏的加快、工作竞争压力加大,饮食结构的改变,发病率逐年上升^[4]。该病虽不危及生命,但严重影响患者工作和生活质量。目前关于 FD 的确切发病机制尚不清楚,一般认为可能与精神因素、饮食因素、肠道动力学改变、胃肠激素失调等有关。瘦素由 Jeffrey riedman 等 1994 年发现,随后研究证实瘦素是肥胖基因编码的一种蛋白类激素,主要由成熟的白色脂肪细胞和胃黏膜组织分泌,具有调节能量代谢平衡,抑制摄食,使胃排空延迟和调节胃肠激素的分泌作用^[5-6]。而胃动素是由 22 个氨基酸组成的直链多肽,分泌细胞集中分布于十二指肠和近端空肠黏膜内。MTL 可引发消化间期移行性运动综合波(MMC),从而起着肠道“清道夫”的作用,还能加速胃的固体和液体排空。王礼建等^[7]研究表明大鼠空腹 MMC 与餐后胃运动模式的转换,是由 MTL 与 leptin 相互控制,形成饥饿-进食-饱感-饥饿的循环。因此,研究四磨汤对慢性应激小鼠血中 Leptin 和 MTL 的变化,对阐述其治疗 FD 的作用机制有重要意义。

祖国医学认为 FD 属“痞满”、“胃痛”、“腹胀”等的范畴。其病因多由外邪侵袭,伤于饮食、内伤七情、劳倦过度等所致。病机多为情志不舒致肝郁气滞,不得疏泄,横逆犯胃而成。本病病位在胃,与肝密切相关,基本病机为肝郁气滞。四磨汤口服液源于宋代严用和的《重订严氏济生方》卷二,组方中乌药行气疏肝以解郁,槟榔行气化滞以除满,枳壳行气宽中除胀,木香行气调中止痛。四药合用具疏肝理气、降逆和胃,消积止痛作用。现代药理研究表明:木香能使肠蠕动幅度和肌张力明显增强;枳壳能增强小肠平滑肌紧张程度和位相性收缩功能;槟榔可兴奋 M-胆碱受体引起腺体分泌增加,特别是唾液分泌增加,还可增加胃肠平滑肌张力,增加肠蠕动,使消化液分泌旺盛,食欲改善;乌药在组方中起重要的作用,它既对胃肠平滑肌有双重作用,又能增加消化

液分泌,还与其他药配合增强作用力^[8]。

本研究结果显示,慢性应激模型小鼠食量、体质量下降,血清 MTL 降低,leptin 升高,与正常组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),表明 leptin 和 MTL 参与了 FD 的发病,是胃肠运动功能障碍发病机制的重要环节,也可能是患者临床出现胃脘痞满、饱胀不适、纳差等症状的病理生理学基础之一。与模型组比较,四磨汤组、吗丁啉组食量、体质量增加,血清 MTL 升高,leptin 降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与吗丁啉组比较,四磨汤组小鼠各项指标差异无统计学意义。提示四磨汤治疗功能性消化不良的机制与调节血清 MTL 和 leptin 的变化有关。

[参考文献]

- [1] 梁汝坚,梁若玲,张继平. 四磨汤口服液治疗功能性消化不良 45 例[J]. 实用医学杂志,2008,24(6):1051.
- [2] 李贵华,黄晓燕. 四磨汤口服液联合抗抑郁药治疗功能性消化不良 62 例疗效观察[J]. 实用中西医结合临床,2010,10(3):19.
- [3] 金光亮,南睿,郭霞珍. 慢性应激肝郁证大鼠模型的建立[J]. 北京中医药大学学报,2003,26(2):18.
- [4] 王峰,王小龙. 半夏泻心汤加减治疗功能性消化不良疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志,2009,18(22):2676.
- [5] Machinal-Quelin F, Dieudonne M N, Pecquery R, et al. Direct *in vitro* effects of androgens and estrogens on ob gene expression and leptin secretion in human adipose tissue[J]. Endocrine,2002,18:179.
- [6] Williams G, Harrold J A, Cutler D J. The hypothalamus and the regulation of energy homeostasis: lifting the lid on a black box[J]. Proc Nutr Soc,2000,59:385.
- [7] 王礼建,周吕,袁勃,等. 瘦素对大鼠胃运动的调节运动[J]. 中华医学杂志,2006,32(8):2268.
- [8] 黄伟兴. 中药药理与临床[M]. 上海:上海科技出版社,2005:358.

[责任编辑 聂淑琴]