

• 药理 •

疏肝健脾法调控肠易激综合征动物模型胃肠激素水平的研究

李冬华^{1*}, 朱飞鹏², 李珊珊¹, 王 帅¹, 马 丛¹, 黄亚娜¹

(1. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069; 2. 国家药品审评中心, 北京 100038)

[摘要] 目的: 观察疏肝健脾法对肠易激综合征动物模型胃肠激素水平的影响。方法: 将32只Wistar大鼠随机分为正常对照组、模型组、痛泻要方组、得舒特组。采用束缚应激刺激加灌服番泻叶煎剂的方法造成肠易激综合征(IBS) 大鼠模型, 观察各组大鼠稀便率, 以放射免疫法检测各组大鼠血浆及局部肠组织中生长抑素(SS)、P物质(SP)水平的变化。结果: 痛泻要方组经治疗后, 稀便率下降, 与模型组比较有统计学意义($P < 0.05$); 模型组大鼠血浆和局部肠组织中SS、SP水平较正常对照组明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$); 痛泻要方组血浆及局部肠组织中SS、SP水平较模型对照组明显降低($P < 0.05$)。结论: 疏肝健脾法对IBS动物模型胃肠激素有调控作用, 能降低IBS动物模型体内SS、SP的分泌释放水平。

[关键词] 生长抑素; P物质; 肠易激综合征; 疏肝健脾法

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)07-0020-04

Study on the Method of Soothing the Liver and Strengthening the Spleen on Regulating Gastrointestinal Hormones in Animals Model of Irritable Bowel Syndrome

LI Dong-hua^{1*}, ZHU Fei-peng², LI Shan-shan¹, WANG Shuai¹, MA Cong¹, HUANG Ya-na¹

(1. Capital Medical University School of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100069, China;

2. Center for Drug Evaluation, Beijing 100038, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of the method of soothing the liver and strengthening the spleen on gastrointestinal hormone somatostatin (SS) and substance P (SP) in animals model of irritable bowel syndrome (IBS). **Methods:** 32 Wistar rats were divided randomly into normal control group, model group, Tongxieyaofang group and dicetel group. The rat model of irritable bowel syndrome (IBS) was made by binding stress with taking senna decoction. Changes of diarrhea rate were observed in these groups. Radioimmunoassay was used to detect the level of SS and SP in plasma and intestinal tissue in rats of each group. **Results:** The diarrhea rates in Tongxieyaofang group were decreased after treatment, and had the statistics significance in comparison with model group. The contents of SS and SP in plasma and intestinal tissue in model group were higher than those in normal group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The levels of plasma and intestinal tissue SS and SP in Tongxieyaofang group were markedly decreased than those in model group ($P < 0.05$). **Conclusions:** The method of soothing the liver and strengthening the spleen had the effect of regulating gastrointestinal hormones and reducing the levels of SS and SP in animal model of IBS.

[Key words] somatostatin; substance P; irritable bowel syndrome; the method of soothing the liver and strengthening the spleen

[收稿日期] 2007-12-11

[基金项目] 首都医科大学自然科学基金(2004ZR06); 国家中医药管理局中医药科学技术研究专项课题(06-07ZQ01)

[通讯作者] * 李冬华, Tel: 83911629; E-mail: dududocor@yahoo.com.cn

肠易激综合征(Irritable bowel syndrome, IBS)是临床常见病。近年研究认为,本病的发生与情绪异常或应激造成肠功能紊乱及胃肠激素失调有关^[1]。中医学认为本病主要由肝脾失调引起,治疗以疏肝健脾为主,大量的文献报道提示以疏肝健脾法治疗 IBS 有较好的临床疗效。为深入探讨疏肝健脾法治疗 IBS 的作用机制,我们选用《景岳全书》所载具有疏肝健脾功效的经典名方——痛泻要方,观察其对肠易激综合征动物模型生长抑素(Somatostatin, SS)和 P 物质(Substance P, SP)水平的调控作用,为疏肝健脾法治疗 IBS 提供科学实验依据。

1 材料和方法

1.1 药物 痛泻要方按《景岳全书》原方比例配制:白术 90 g、白芍 60 g、陈皮 45 g、防风 60 g,加 10 倍量清水煎煮,煮沸 30 min 后过滤去渣,再加 5 倍量清水,煮沸 30 min 后再过滤,将两次所得滤液混合搅匀,用水浴浓缩到含生药量 $2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$;阳性对照药:得舒特,批号:0011,法国苏威特制药公司生产,用 0.5% 羧甲基纤维素(CMC)配制成悬液,浓度为 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.2 动物 Wistar 大鼠 32 只,清洁级,雌雄各半,体重(180~200)g,购于中国医学科学院实验动物研究所,合格证号 SCXK 京 2005-0013。正常光照条件,食、水可自由摄取,室温控制在(18~22)℃之间。

1.3 主要试剂及仪器 生长抑素(SS) P 物质(SP)放免药盒及抑肽酶(英国皇家医学院研究生院内分泌部提供),102 中速定性滤纸(新华造纸厂生产),GC-911 β 放射免疫计数器(中国科技大学实业总公司生产),SIGMA3-180 低温离心机(德国产),Thermo 超低温冰箱(美国产)。

1.4 方法 大鼠随机分成正常对照组、模型组、痛泻要方组、得舒特组,所有动物单只单笼饲养,笼底垫有滤纸。实验前 10 h 禁食,自由饮水。模型组、痛泻要方组、得舒特组动物予以番泻叶煎剂 $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃(按 $0.3 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),1 次/d,灌服完番泻叶煎剂 1 h 后,即用漆包线束缚大鼠的两肢,使之行动不便,烦躁不安,造成一定应激刺激,持续 2 h。连续 14 d。造模结束后,正常对照组和模型组灌服生理盐水 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,痛泻要方组灌服痛泻要方浓缩液 $40 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,得舒特组灌服得舒特悬液 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,给药体积均为 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,用药量为成人等效剂量的 3 倍。连续 14 d。

1.5 观察指标

1.5.1 各组大鼠稀便率的检测 各用药组和模型组治疗后每天测量大鼠的稀便次数及总大便数:干便与稀便的区分以滤纸上有无污迹为标准,总和稀便率=总和稀便次数/总和大便次数,实验结束时对各组大鼠的总和稀便率进行统计分析。

1.5.2 各组大鼠血浆及局部肠组织中 SS、SP 含量的检测 给药结束后,所有大鼠用 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 戊巴比妥($4\% \text{ 1 mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, ip)麻醉,用含 EDTA 的负压管经腹主动脉取血约 4 mL(其中痛泻要方组有 1 只大鼠取血时出现凝血未取到标本),立即注入 70 μL 抑肽酶,混匀,低温离心, $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 15 min,取上清, $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 贮存;此外,所有大鼠取肛门上(2~3) cm 处约 40 mg 肠组织,生理盐水匀浆 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 贮存。采用放射免疫法检测血浆及局部肠组织中 SS、SP 的含量。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 统计软件处理,数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,组间差异的比较采用单因素方差分析,显著性水平设定 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠稀便率的比较见表 1。大鼠造模后性情改变,急躁易怒;毛色失去光亮,晦暗无光泽,鼠毛竖起易脱落;受刺激时排稀便明显。经痛泻要方治疗后,毛色渐复,稀便率下降,与模型组比较有统计学意义,得舒特组稀便率与模型组比较有所降低,但无统计学意义。

表 1 各组大鼠稀便率比较($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	总和稀便率(%)
模型组	-	20.92 ± 4.54
痛泻要方组	40	$13.82 \pm 4.94^{1)}$
得舒特组	0.04	15.02 ± 5.11

注:与模型组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (下同)

2.2 各组大鼠血浆 SS、SP 含量变化见表 2。模型组血浆 SS、SP 含量与正常对照组比较,均明显升高($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。痛泻要方组血浆 SS、SP 含量与模型组比较显著降低($P < 0.05$);得舒特组血浆 SS 含量与模型组比较显著降低($P < 0.05$),血浆 SP 含量虽有所降低,但无统计学意义。

表 2 各组大鼠血浆 SS、SP 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	n	SS(pg·mL ⁻¹)	SP(pg·mL ⁻¹)
正常对照组	-	8	18.64 ± 13.49 ¹⁾	38.20 ± 15.64 ²⁾
模型组	-	8	41.92 ± 29.79	74.11 ± 39.87
痛泻要方组	40	7	21.48 ± 9.14 ¹⁾	40.33 ± 17.08 ¹⁾
得舒特组	0.04	8	21.68 ± 8.51 ¹⁾	53.40 ± 10.56

2.3 各组大鼠局部肠组织中 SS、SP 含量变化见表 3。模型组局部肠组织中 SS、SP 含量升高(与正常对照组比较 $P < 0.05$)。痛泻要方组局部肠组织中 SS、SP 含量与模型组比较显著降低($P < 0.05$)；得舒特组局部肠组织中 SS、SP 含量与模型组比较有所降低,但无统计学意义。

表 3 各组大鼠局部肠组织中 SS、SP 含量比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	SS (pg·mL ⁻¹ ·20 mg ⁻¹)	SP (pg·mL ⁻¹ ·20 mg ⁻¹)
正常对照组	-	23.35 ± 9.05 ¹⁾	48.90 ± 10.02 ¹⁾
模型组	-	32.81 ± 7.45	71.80 ± 19.36
痛泻要方组	40	23.36 ± 9.96 ¹⁾	53.83 ± 18.26 ¹⁾
得舒特组	0.04	29.27 ± 8.98	55.75 ± 19.65

3 讨论

肠易激综合征(IBS) 在祖国医学中属“泄泻”、“腹痛”、“郁证”等范畴。痛泻要方由白术、芍药、陈皮、防风 4 味药组成,以白术为君,苦甘而温,燥湿健脾,白芍为臣养血泻肝,缓急止痛,陈皮理气醒脾,为佐药,配防风散肝舒脾,助术、芍之效,又入脾经,兼佐使之用,诸药相配,补脾土而泻肝木,调气机以止痛泻,对调节植物神经功能,改善肠道分泌功能有较好的作用。

本研究根据 IBS 的病因及发病机制,采用束缚四肢加灌服番泻叶的方法复制肝郁脾虚型 IBS 大鼠模型。这种造模方法既符合了现代医学认为 IBS 是一种心身性疾病的认识,又符合了中医情志致病、肝郁乘脾的学说,是目前研究 IBS 发病机制及其治疗的较为理想的实验动物模型。本研究发现,此造模方法可引起大鼠性情改变,急躁易怒,易激惹;毛色晦暗无光泽,鼠毛竖起易脱落;受刺激时稀便率增加,与 IBS 的临床表现相吻合,类似中医肝郁脾虚型的表现,说明造模是成功的。

现代医学认为,IBS 是一种与精神、饮食因素有关的胃肠功能紊乱性疾病,其发病与胃肠激素水平密切相关^[2],SS 和 SP 是两个重要的胃肠激素,通过

干扰胃肠道的动力与分泌吸收功能而对 IBS 产生了一定的影响。SS 广泛分布于脑及胃肠道内,对胃肠道内分泌、外分泌、小肠的吸收和运动等具有广泛的作用。其主要生理作用是抑制胃肠运动和胆囊收缩^[3]。新近研究发现,便秘型及腹泻型 IBS 患者血浆和乙状结肠黏膜内 SS 含量均高于正常人。推测其作用机制,便秘型 IBS 患者可能与肠道局部产生过多的 SS,强烈抑制胃肠运动有关。而腹泻型 IBS 的发生可能与 SS 升高间接引起肥大细胞释放增多有关,而肥大细胞可能通过释放过多的生物活性物质参与 IBS 患者的腹痛或肠道运动加速,诱发内脏的高敏感性,使肠道呈现出运动占优势的症状——腹痛、腹泻等^[4]。本研究发现,模型组血浆及局部肠组织中 SS 含量异常升高,痛泻要方组血浆及局部肠组织中 SS 含量与模型对照组比较显著降低($P < 0.05$),表明痛泻要方对 IBS 模型大鼠体内 SS 分泌、释放异常有降低作用,进而引起肥大细胞减少,内脏的高敏感性降低,调控胃肠道运动,改善临床症状。SP 是由 11 个氨基酸组成的多肽,其分泌细胞分布于全部胃肠道,它还存在于中枢神经系统和肠神经系统,又称之为脑肠肽。其生理作用为促进胃肠平滑肌和括约肌收缩、胃肠蠕动,参与内脏痛觉反射及扩张内脏血管等^[5]。不同学者报道 SP 与 IBS 的关系不一。有研究表明,IBS 动物模型中回盲部及结肠肌层 SP 表达增强,认为与 SP 引起肠道运动增强,黏液分泌增多而致腹泻有关^[6]。而另有研究发现 IBS 患者血浆 SP 含量明显低于对照组^[7]。这可能是由于 SP 参与肠道运动调节的形式很复杂,包括经典内分泌途径、旁分泌、神经内分泌形式等。本研究结果显示,模型组血浆及局部肠组织中 SP 水平显著升高,痛泻要方组可以使 IBS 动物模型血浆及局部肠组织中 SP 水平下降,提示痛泻要方可调整 IBS 动物模型体内 SP 的分泌和释放,从而达到治疗目的。

本研究结果表明,疏肝健脾法可调节胃肠激素分泌的紊乱状态,使之逐渐恢复正常,改善胃肠道的分泌和运动,进而改善临床症状,说明疏肝健脾法的治疗作用是通过调控胃肠激素的分泌释放水平来实现的。

[参考文献]

[1] Spinelli A. Irritable bowel syndrome[J]. Clin Drug Investig, 2007, 27(1): 15-33.

- [2] Azpiroz F, Bouin M, Camilleri M, *et al.* Mechanisms of hypersensitivity in IBS and functional disorders [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2007, 19(1 Suppl) : 62-88.
- [3] Shan YS, Sy ED, Tsai ML, *et al.* Effects of somatostatin prophylaxis after pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy: increased delayed gastric emptying and reduced plasma motilin[J]. *World J Surg*, 2005, 29(10) : 1319-1324.
- [4] 张 茹, 王福贤. 肠易激综合征患者血浆及乙状结肠黏膜中 VIP 及 SS 的含量[J]. *标记免疫分析与临床*, 2004, 11(2) : 81-82.
- [5] Wang WF, Yang YS, Peng LH, *et al.* Alternation of substance P-containing neural pathways in a rat model of irritable bowel syndrome with rectal distension[J]. *Chin J Dig Dis*, 2006, 7(4) : 211-218.
- [6] 王巍峰, 杨云生, 孙 刚, 等. 肠易激综合征大鼠模型肠神经系统神经递质表达的初步研究[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2004, 13(6) : 578-583.
- [7] 王彝康, 尤汉宁, 孙依萍, 等. 肠易激综合征患者胃肠激素变化[J]. *胃肠病学*, 2001, 6(2) : 116-121.