

连翘酯苷 A 对化疗模型小鼠胃肠动力障碍的改善作用

毕娉娉, 陈斯琪, 张广龙, 李雅琦, 冼奕宏, 张瑞芳, 王巧, 聂克*

(广东药科大学 中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的:观察连翘酯苷 A 对化疗小鼠胃肠动力障碍的影响,并探讨其调节胃肠动力的作用机制。方法:将 60 只 KM 小鼠随机分为正常组、模型组、甲氧氯普胺组($5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)及连翘酯苷 A 低、中、高剂量组($30, 60, 120\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),每组 10 只,雌雄各半。各组分别灌胃给药,灌胃容积均为 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,每日 1 次,连续 4 d。灌胃第 1 天 1 h 后,除正常组腹腔注射等量生理盐水外,其余各组均腹腔注射顺铂 $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,连续 4 d。观察连翘酯苷 A 对模型小鼠胃排空和小肠推进的影响;采用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血清中胃泌素(GAS),生长抑素(SS),胃动素(MTL),血管活性肠肽(VIP)水平,检测胃窦和回肠组织中乙酰胆碱酯酶(AChE)和总一氧化氮合酶(tNOS)的活性;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测胃窦和回肠组织 AChE 和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)的蛋白表达水平。结果:与正常组比较,模型组小鼠胃残留率和小肠推进率均显著升高($P<0.01$),血清 MTL, GAS, SS, VIP 含量均明显降低($P<0.05, P<0.01$),回肠组织匀浆中 AChE 活性显著降低($P<0.01$),胃窦和回肠组织中 tNOS 活性均明显升高($P<0.05, P<0.01$),胃窦和回肠组织中 AChE 蛋白表达水平均明显降低($P<0.05$),iNOS 蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,不同剂量连翘酯苷 A 可以不同程度地降低小鼠胃残留率和小肠推进率,升高血清 MTL, GAS, SS, VIP 含量,升高胃窦和回肠组织中 AChE 活性及蛋白表达水平,降低胃窦和回肠组织中 tNOS 活性和 iNOS 蛋白表达水平($P<0.05, P<0.01$)。结论:连翘酯苷 A 对顺铂所致的小鼠胃排空延缓和小肠推进亢进具有显著改善作用,其改善化疗所致胃肠功能障碍的机制与调节胃肠道 AChE 与 NOS 活性以及调节胃肠激素水平有关。

[关键词] 连翘酯苷 A; 顺铂; 胃肠动力; 乙酰胆碱酯酶; 胃肠激素; 小鼠

[中图分类号] R2-0;R289;R285.5;R573 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)01-0105-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210138

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20201104.1734.004.html>

[网络出版日期] 2020-11-5 16:41

Effect of Forsythionin A on Gastrointestinal Motility Disorders in Mice Treated with Chemotherapy

BI Ping-ping, CHEN Si-qi, ZHANG Guang-long, LI Ya-qi, XIAN Yi-hong, ZHANG Rui-fang,
WANG Qiao, NIE Ke*

(School of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of forsythiaside A on gastrointestinal motility disorder induced by chemotherapy in mice, and explore the mechanism of forsythiaside A regulating gastrointestinal motility. **Method:** The 60 KM mice were randomly divided into normal group, model group, metoclopramide group ($5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and forsythiaside A low, medium and high-dose groups ($30, 60, 120\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 10 for each group, which include half male and half female. The above dose was given once a day for 4 consecutive days, which the intragastric volume was $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$. One hour after 1st day administration, equal volume of saline was intraperitoneally injected to the normal group, $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ cisplatin was intraperitoneally injected to the other groups with daily for 4 consecutive days. Observing the effects of forsythiaside A on gastric emptying and small

[收稿日期] 20200916(013)

[基金项目] 2019 年度广东省重点学科科研项目(2019-GDXK-0011)

[第一作者] 毕娉娉,在读硕士,从事中药药理研究,E-mail:pingping.bi@foxmail.com

[通信作者] * 聂克,教授,博士生导师,从事中药药理研究,Tel:020-39352557,E-mail:nicknk@hotmail.com

intestinal propulsion on mice models, serum gastrin (GAS) and somatostatin (SS), motilin (MTL), vasoactive intestinal peptide (VIP) levels were examined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Activities of acetylcholinesterase (AChE) and total nitric oxide synthase (tNOS) in gastric antrum and ileum were detected by ELISA. The expression of AChE and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in gastric antrum and ileum were detected by Western blot. **Result:** Compared with normal group, the gastric retention rate and small intestinal propulsion rate of the model group were significantly increased ($P<0.01$), serum levels of MTL, GAS, SS and VIP, the AChE activity in the homogenate of ileum in the model group were significantly reduced ($P<0.05$, $P<0.01$), while the tNOS activities in gastric antrum and ileum were significantly increased ($P<0.05$, $P<0.01$). Protein expression of AChE in gastric antrum and ileum were significantly decreased ($P<0.05$), and the expression level of iNOS protein was significantly increased in the model group ($P<0.05$). Compared with model group, different doses of forsythiaside A can reduce the gastric residual rate and small intestinal propulsion rate of mice to varying degrees. Meanwhile forsythiaside A can increase the serum levels of MTL, GAS, SS, and VIP, and the AChE activity and protein expression levels in gastric antrum and ileum tissues were also increased, while tNOS activity and iNOS protein expression were decreased in gastric antrum and ileum ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion:** Forsythiaside A can significantly ameliorate the delayed gastric emptying and small intestine hyperfunction induced by cisplatin in mice. Its mechanism to ameliorate gastrointestinal dysfunction caused by chemotherapy is related to the regulation of gastrointestinal AChE and NOS activity in gastric antrum and ileum and the regulation of gastrointestinal hormone levels.

[Key words] forsythiaside A; cisplatin; gastrointestinal motility; acetylcholinesterase; gastrointestinal hormones; mice

化疗是恶性肿瘤最主要的治疗方式之一,但顺铂等化疗药物可导致恶心、呕吐、胃排空延缓等胃肠道毒副作用,严重影响了癌症患者的生活质量和对化疗的依从性^[1-2]。现代医学对于化疗所引起的胃肠动力障碍仍然没有满意的治疗手段。因此,寻求改善化疗性胃肠动力障碍的药物,对于肿瘤的化疗治疗具有重要意义。

连翘被喻为“疮家圣药”,具有清热解毒,消肿散结,疏散风热之功效^[3]。目前,临床对其抗炎、抗菌、抗病毒等药理作用研究较多^[4],而关于连翘对胃肠动力作用的研究相对较少。本实验室前期采用大鼠异食癖模型和水貂呕吐模型,研究证实连翘对顺铂等多种催吐剂所致呕吐具有确切的止呕作用,并且对顺铂所致的胃排空延缓具有显著改善作用^[5-7]。课题组又采用大鼠和豚鼠离体肠管实验,发现连翘对多种工具药所致的肠管张力异常具有明显改善作用^[8-9]。另外,采用顺铂等多种工具药分别建立小鼠胃肠运动抑制和亢进模型,研究发现连翘对胃肠功能紊乱具有双向调节作用,其机制可能与阻断或激动胆碱能M受体,阻断多巴胺受体、肾上腺素 α 和 β 受体以及调节胃肠激素水平有关^[10-11]。

连翘酯苷A是连翘的主要活性成分之一,具有抗炎、抗菌、抗病毒、解热镇痛、抗氧化等药理作

用^[12]。有研究发现,连翘酯苷A具有抑制乙酰胆碱酯酶(AChE)活性,使乙酰胆碱(ACh)水解减少,导致ACh堆积,从而发挥拟胆碱作用^[13-14]。ACh为胆碱能兴奋性神经递质,能使胃肠平滑肌收缩张力和振幅升高^[15]。目前连翘酯苷A对胃肠运动的影响国内外尚未见报道。鉴于此,本实验在前期研究基础上,继续采用顺铂导致的小鼠胃肠动力障碍模型,观察了连翘酯苷A对小鼠胃排空和小肠推进率的影响,并从AChE,一氧化氮合酶(NOS)以及胃肠激素角度探讨了连翘酯苷A调节胃肠运动的机制,以进一步明确连翘中改善胃肠动力的药效物质基础和作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF级昆明种小鼠60只,雌雄各半,体重25~30g,购于广东省医学实验动物中心,实验动物许可证号SYXK(粤)2018-0002,于广东药科大学实验动物中心SPF级实验室饲养,温度25℃,相对湿度40%~60%,自由摄食饮水。本实验由广东药科大学实验动物伦理委员会审查批准,批准号gdpulacSPF2017290。

1.2 药物与试剂 连翘酯苷A(成都曼斯特生物科技有限公司,批号MUST-20032804,纯度>98.6%);甲氧氯普胺片(山西汾河制药有限公司,批号

190702);顺铂(大连美仑生物技术有限公司,批号J0601A);氯化钠注射液(山东齐都药业有限公司,批号1B19102103);小鼠胃动素(MTL)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(武汉基因美科技有限公司,批号GR2020-06);小鼠胃泌素(GAS),小鼠生长抑素(SS),小鼠血管活性肠肽(VIP)ELISA试剂盒(武汉华美生物工程有限公司,批号分别为T28018126, T21018127, T22018128);总一氧化氮合酶(tNOS)试剂盒, AChE试剂盒,总蛋白(TP)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为20200612, 20200619, 20200615);AChE抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号bs-2511R);诱导型一氧化氮合酶(iNOS)抗体(美国CST公司,批号13120S);辣根过氧化酶(HRP)标记山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(上海碧云天生物技术有限公司,批号分别为A0208, AG019)。

1.3 仪器 TCL-16M型台式高速冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);BioTek Eon型微量核酸蛋白分析仪(广州云星科学仪器有限公司);T2602S型紫外可见分光光度仪(上海佑科仪器仪表有限公司);Mini-PROTEAN Tetra System型电泳槽、电泳仪及转膜仪(美国伯乐公司);H2O3-H型金属浴(卡尤迪生物科技宜兴有限公司);TS-1型脱色摇床(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);Mini Chem i610型迷你型化学发光成像仪(北京赛智创业科技有限公司)。

2 方法

2.1 半固体营养糊的制备^[11] 将羧甲基纤维素钠10 g溶于蒸馏水250 mL中,后加入脱脂奶粉16 g,白糖8 g,淀粉8 g,活性炭2 g,配成营养糊活性炭混合物300 mL,置4℃冰箱冷藏,用前取出恢复至室温。

2.2 分组、给药及造模 参照本室前期的实验方法^[11],小鼠适应性饲养5 d后随机分为6组:正常组、顺铂模型组、甲氧氯普胺组及连翘酯苷A低、中、高剂量组,每组10只,雌雄各半。甲氧氯普胺组灌胃甲氧氯普胺5 mg·kg⁻¹,连翘酯苷A低、中、高剂量组分别灌胃连翘酯苷A 30, 60, 120 mg·kg⁻¹,给药剂量参考文献^[16-17]小鼠灌胃给药量,灌胃容积为10 mL·kg⁻¹,正常组及模型组灌胃等容积蒸馏水,每日1次,连续4 d。灌胃第1天1 h后,除正常组腹腔注射等量生理盐水外,其余各组均每天腹腔注射顺铂2 mg·kg⁻¹,连续4 d,建立顺铂化疗胃肠障碍小鼠模型。采用半固体营养糊法检测小鼠胃残留率和

小肠推进率,造模后,模型组小鼠与正常组比较,胃残留率和小肠推进率均明显增加,与本室前期实验结果相一致^[11],说明本实验模型制备成功。

2.3 取材 第3天给药后,禁食不禁水18 h,于第4天灌胃给药1 h后,除正常组腹腔注射生理盐水,其余各组腹腔注射顺铂,15 min后各组灌胃黑末糊0.8 mL/只。20 min后快速摘眼球取血,室温放置2 h,4℃,3 500 r·min⁻¹离心15 min,离心半径6.2 cm分离血清,-80℃冰箱保存,备用。取血后,立即剖取胃和小肠,测定胃残留率及小肠推进率。另剪取胃窦和回肠,液氮速冻后-80℃冰箱保存备用。

2.4 观察指标与测定

2.4.1 测定胃残留率和小肠推进率 取血后,剖取小鼠胃和小肠,称取胃全重,沿胃大弯将胃体剪开,将胃内容物洗去后,拭干,称取胃净重,胃全重减去胃净重即为胃内容物质量。同时迅速剪取幽门至回盲部的小肠,轻轻剥离肠系膜后,测量幽门至回盲部全长及幽门至炭末糊前沿的距离。计算胃残留率及小肠推进率,胃残留率=胃内容物(g)/营养性半固体炭末糊0.8(g)×100%。小肠推进率=半固体糊在小肠内推进距离(cm)/小肠全长(cm)×100%。

2.4.2 ELISA检测小鼠血清胃肠激素MTL, GAS, SS, VIP水平 严格按照ELISA试剂盒说明书进行操作,检测血清中MTL, GAS, SS, VIP含量。

2.4.3 ELISA检测小鼠胃窦和回肠组织中AChE和tNOS的活性 分别称取适量胃窦、回肠组织,按质量-体积1:9加入预冷生理盐水,低温研磨成10%体积分数的组织匀浆,4℃,2 500 r·min⁻¹离心10 min,离心半径6.2 cm,取上清液待测。严格按照试剂盒说明书进行操作,以比色法测定组织匀浆中AChE和tNOS的活性。

2.4.4 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测小鼠胃窦和回肠组织中AChE和iNOS蛋白表达 提取小鼠胃窦和回肠组织蛋白,BCA试剂盒行蛋白定量。加SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5×)高温变性后,经电泳、快速电转,5%脱脂奶粉室温封闭2 h, TBST洗涤3次后。用TBST稀释一抗, AChE(1:1 000), iNOS(1:500), GAPDH(1:1 000), 4℃摇床孵育过夜。加入二抗(1:1 000),室温孵育1 h,洗膜, ECL显色。化学发光成像仪拍照、保存,采用Image J软件计算各条带灰度值。

2.5 统计学分析 采用GraphPad Prism 8.0统计软件进行数据分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用One-way

ANOVA 进行统计分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对顺铂所致化疗模型小鼠胃排空和小肠推进异常的改善作用 与正常组比较, 模型组小鼠胃残留率显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 连翘酯苷 A 中剂量组和甲氧氯普胺组胃残留率均明显降低 ($P < 0.05$); 连翘酯苷 A 中剂量组与甲氧氯普胺组比较, 差异无统计学意义, 表明连翘酯苷 A 中剂量对顺铂所致化疗模型小鼠的胃排空障碍改善作用与甲氧氯普胺作用强度相当。与正常组比较, 模型组小鼠小肠推进率显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 连翘酯苷 A 低、中、高剂量组及甲氧氯普胺组小肠推进率均明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$); 连翘酯苷 A 高剂量对模型小鼠的小肠亢进改善作用与甲氧氯普胺作用强度相当, 中剂量的作用强于甲氧氯普胺。见表 1。

3.2 对顺铂所致化疗模型小鼠血清胃肠激素水平的影响 与正常组比较, 模型组小鼠血清 MTL,

表 1 连翘酯苷 A 对顺铂所致化疗模型小鼠胃排空及小肠推进的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effect of forsythiaside A on gastric empty and small intestinal propulsion in cisplatin-treated mice ($\bar{x} \pm s, n=10$) %

组别	剂量/g·kg ⁻¹	胃残留率	小肠推进率
正常		64.03±4.11	56.07±2.33
模型		93.86±6.38 ²⁾	73.18±2.67 ²⁾
甲氧氯普胺	0.005	73.99±3.06 ³⁾	61.22±2.52 ⁴⁾
连翘酯苷 A	0.03	90.69±3.78	61.93±2.41 ³⁾
	0.06	76.15±5.07 ³⁾	58.28±2.89 ⁴⁾
	0.12	89.20±4.14	60.31±2.40 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⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

GAS, VIP, SS 水平均明显降低 ($P < 0.05, P < 0.01$); 与模型组比较, 连翘酯苷 A 低剂量组小鼠血清 GAS 水平明显升高 ($P < 0.05$), 中剂量组小鼠血清 MTL, GAS, VIP 水平明显升高 ($P < 0.05$), 连翘酯苷 A 高剂量组小鼠血清 MTL, GAS, VIP, SS 水平均明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2。

表 2 连翘酯苷 A 对顺铂所致化疗模型小鼠血清胃肠激素水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of forsythiaside A on serum gastrointestinal hormone levels in cisplatin-treated mice ($\bar{x} \pm s, n=10$) ng·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	MTL	GAS	VIP	SS
正常		367.78±15.12	10.36±0.53	63.38±2.14	52.48±3.70
模型		308.30±8.60 ¹⁾	6.65±0.47 ²⁾	50.98±2.32 ¹⁾	34.38±3.25 ¹⁾
甲氧氯普胺	0.005	372.63±13.48 ³⁾	9.82±0.80 ³⁾	63.87±2.94 ³⁾	47.42±4.89
连翘酯苷 A	0.03	328.78±15.78	9.86±0.70 ³⁾	59.05±1.64	44.99±4.27
	0.06	370.94±13.34 ³⁾	9.50±0.71 ³⁾	63.94±4.46 ³⁾	47.07±2.69
	0.12	365.37±18.87 ³⁾	10.06±1.16 ³⁾	64.05±2.93 ⁴⁾	54.39±5.25 ⁴⁾

3.3 对顺铂所致化疗模型小鼠胃窦和回肠组织中 AChE 活性和 tNOS 活性的影响 与正常组比较, 模型组小鼠回肠中 AChE 活性显著降低 ($P < 0.01$), 胃窦和回肠中 tNOS 活性均明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$); 与

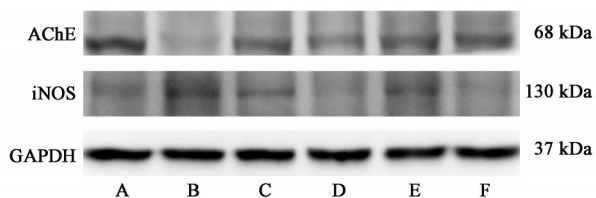
模型组比较, 连翘酯苷 A 高剂量组小鼠回肠中 AChE 活性明显升高 ($P < 0.05$), 中、高剂量组小鼠胃窦中 tNOS 活性均明显降低 ($P < 0.05$), 高剂量组小鼠回肠中 tNOS 活性显著降低 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 连翘酯苷 A 对顺铂所致化疗模型小鼠胃窦和回肠组织中 AChE 活性和 tNOS 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of forsythiaside A on AChE activity and tNOS activity in gastric antrum and ileum of cisplatin-treated mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	AChE/U·mg ⁻¹		tNOS/U·mg ⁻¹	
		胃窦	回肠	胃窦	回肠
正常		0.624±0.015	0.706±0.053	1.091±0.061	1.543±0.063
模型		0.565±0.017	0.517±0.018 ²⁾	1.499±0.074 ²⁾	1.769±0.051 ¹⁾
甲氧氯普胺	0.005	0.575±0.027	0.602±0.027	1.135±0.092 ⁴⁾	1.672±0.037
连翘酯苷 A	0.03	0.536±0.017	0.540±0.023	1.266±0.054	1.678±0.051
	0.06	0.599±0.054	0.578±0.047	1.231±0.071 ³⁾	1.644±0.058
	0.12	0.589±0.016	0.658±0.021 ³⁾	1.223±0.050 ³⁾	1.520±0.062 ⁴⁾

3.4 对顺铂所致化疗模型小鼠胃窦和回肠组织AChE和iNOS蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠胃窦和回肠组织中AChE蛋白表达水平均明显降低($P<0.05$),iNOS蛋白表达水平均明显升高($P<0.05$);与模型组比较,连翘酯苷A中、高剂量组小鼠胃窦中AChE蛋白表达水平均明显升高($P<0.05, P<0.01$),高剂量组小鼠回肠中AChE蛋白表达水平明显升高($P<0.05$),低、高剂量组小鼠胃窦中iNOS蛋白表达水平明显降低($P<0.05, P<0.01$),低、中、高剂量组小鼠回肠中iNOS蛋白表达水平均明显降低($P<0.05$)。见图1,2,表4。



A. 正常组;B. 模型组;C. 甲氧氯普胺组;D. 连翘酯苷A低剂量组;E. 连翘酯苷A中剂量组;F. 连翘酯苷A高剂量组(图2同)

图1 顺铂所致化疗模型小鼠胃窦组织中AChE和iNOS蛋白表达电泳

Fig. 1 Electrophoresis of AChE and iNOS protein expression in gastric antrum tissue of cisplatin-treated mice

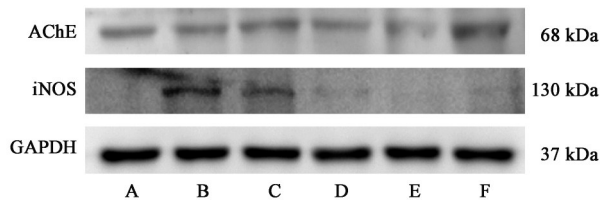


图2 顺铂所致化疗模型小鼠回肠组织中AChE和iNOS蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of AChE and iNOS protein expression in ileum tissue of cisplatin-treated mice

4 讨论

顺铂是临床最常用的抗肿瘤化疗药物之一,但其副作用大,可导致胃肠道毒副反应如恶心、呕吐、

胃排空延迟等^[18]。研究表明,顺铂可通过降低ACh含量进而导致胃排空延迟^[19]。ACh是胃肠道中一种重要的兴奋性神经递质,主要作用于M受体,引起胃肠道平滑肌细胞膜去极化,产生一系列神经传导使Ca²⁺内流,进而引起胃肠平滑肌收缩,促进胃肠蠕动^[15,20]。ACh是胆碱能神经递质,其性质不稳定,极易被体内AChE水解。研究表明,ACh含量的增加与AChE活性的升高呈正相关。因此,通过检测AChE活性的变化可间接反映ACh含量的变化^[21-22]。一氧化氮(NO)是肠神经元系统中由非肾上腺素非胆碱能神经分泌的一种抑制性神经递质。NO通过作用于平滑肌细胞的鸟苷酸环化酶,使细胞内环磷鸟嘌呤核苷含量增加,Ca²⁺浓度下降,松弛胃肠平滑肌,从而引起胃肠蠕动减弱^[23]。有学者发现,NO还可通过抑制ACh释放,舒张平滑肌,进而抑制胃肠蠕动^[24]。NOS是合成NO的关键限速酶,主要分为结构型一氧化氮合酶(cNOS)和iNOS,二者总量为tNOS。cNOS主要在生理状态下发挥作用,iNOS主要在病理状态下发挥作用^[25]。检测NOS活性可以间接反映NO水平。研究发现,ACh释放减少,NO释放增多是化疗导致胃肠运动功能障碍的机理之一^[26-27]。

胃肠激素参与和调节胃肠运动,是影响胃肠动力的重要因素。胃肠激素的种类很多,其中MTL和GAS属于兴奋性脑肠肽,可促进胃肠运动。MTL是由22个氨基酸组成的多肽,能够启动胃肠移行性肌电复合波(MMC)Ⅲ相,刺激胃肠道的运动,促进胃排空。GAS具有刺激胃酸分泌,促进胃肠黏膜增生、促进胃肠道运动的作用^[28-29]。VIP和SS属于抑制性脑肠肽,在胃肠运动调节中主要起抑制效应^[30-31]。SS能抑制胃消化间期肌电复合波和胃排空、抑制肠道内容物转运等作用^[30]。VIP是一种抑制性非肾上腺素非胆碱能神经递质,对胃肠活动起

表4 连翘酯苷A对小鼠胃窦和回肠组织中AChE和iNOS蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 4 Effect of forsythoside A on protein expression of AChE and iNOS in gastric antrum and ileum of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	AChE/GAPDH		iNOS/GAPDH	
		胃窦	回肠	胃窦	回肠
正常		0.349±0.027	0.373±0.031	0.070±0.024	0.060±0.009
模型		0.176±0.045 ¹⁾	0.246±0.002 ¹⁾	0.158±0.022 ¹⁾	0.137±0.027 ¹⁾
甲氧氯普胺	0.005	0.256±0.029	0.334±0.026	0.086±0.016	0.093±0.017
连翘酯苷A	0.03	0.278±0.065	0.251±0.023	0.076±0.010 ³⁾	0.060±0.017 ³⁾
	0.06	0.379±0.028 ³⁾	0.285±0.025	0.139±0.021	0.044±0.015 ³⁾
	0.12	0.390±0.020 ⁴⁾	0.356±0.034 ³⁾	0.054±0.012 ⁴⁾	0.053±0.014 ³⁾

抑制性调节作用,可以引起全胃肠环形肌松弛、抑制胃酸和胃蛋白酶分泌^[31]。有研究表明,化疗可引起肿瘤患者外周血中胃肠激素发生紊乱^[32]。

课题组前期研究已证实连翘具有确切的止吐作用,调节胃肠动力作用确切^[5-11]。连翘酯苷A是连翘的主要活性成分之一。有学者发现,连翘酯苷A可抑制AChE活性,使ACh含量升高^[13]。本实验在前期研究基础上,继续采用小剂量多次注射顺铂的方法建立化疗胃肠动力障碍小鼠模型,通过检测AChE和NOS活性以及胃肠激素水平,初步探讨了连翘酯苷A调节胃肠动力的机制,并进一步明确连翘中改善胃肠动力的主要药效物质。结果显示,连翘酯苷A可以逆转顺铂导致的化疗模型小鼠胃排空延缓和小肠推进亢进,说明连翘酯苷A对顺铂导致的胃肠运动障碍具有显著改善作用;本实验还观察到连翘酯苷A可升高模型小鼠胃窦和回肠中AChE活性,显著降低模型小鼠NOS活性,表明连翘酯苷A对化疗小鼠胃肠AChE活性和NOS活性有显著的调节作用,可通过促进ACh的释放,抑制NO的合成,从而改善化疗性胃肠动力障碍。本实验同时观察到,连翘酯苷A可以拮抗模型小鼠血清中MTL,GAS,SS和VIP等胃肠激素水平降低,与课题组前期连翘对化疗小鼠胃肠动力和胃肠激素的研究结果一致^[11]。

综上,连翘酯苷A可显著改善化疗所致的胃肠动力障碍,其作用机制与提高胃肠道AChE活性、降低NOS活性、调节胃肠激素水平有关,其具体机制尚需进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] DI FIORE F, VAN CUTSEM E. Acute and long-term gastrointestinal consequences of chemotherapy [J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2009, 23 (1): 113-124.
- [2] VERA G, LÓPEZ-PÉREZ A E, MARTÍNEZ-VILLALUENGA M, et al. X-ray analysis of the effect of the 5-HT₃ receptor antagonist granisetron on gastrointestinal motility in rats repeatedly treated with the antitumoral drug cisplatin [J]. Exp Brain Res, 2014, 232(8):2601-2612.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:170-171.
- [4] WANG Z, XIA Q, LIU X, et al. Phytochemistry, pharmacology, quality control and future research of *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl: a review [J]. J

Ethnopharmacol, 2018, 210:318-339.

- [5] 聂克,朱学萍. 连翘镇吐止呕作用的初步实验研究[J]. 山东中医药大学学报,2009,33(6):537-539.
- [6] 王静,王丽霞,聂克. 连翘对化疗性异食癖大鼠血清和脑组织5-HT及5-HIAA含量的影响[J]. 山东中医杂志,2010,29(10):702-703.
- [7] 马洪新,卢燕,林艳艳,等. 连翘对水貂呕吐模型止呕作用的研究[J]. 中药药理与临床,2011,27(3):74-76.
- [8] 林艳艳,马洪新,卢燕,等. 连翘对豚鼠离体回肠运动的影响[J]. 中国中药杂志,2012,37(10):1483-1486.
- [9] 郝菲菲,刘婉青,王均宁,等. 连翘水煎液对大鼠离体肠管运动作用的实验研究[J]. 山东中医杂志,2018,37(1):63-66.
- [10] 郝菲菲,刘婉青,聂克. 连翘对小鼠胃肠动力影响的实验研究[J]. 山东中医药大学学报,2018,42(4):351-353,376.
- [11] 张恬,郝菲菲,聂克. 连翘对化疗模型小鼠胃肠运动及胃肠激素水平的影响[J]. 山东中医药大学学报,2018,42(3):264-266.
- [12] 程广东,张强,李春丰,等. 连翘酯苷的研究进展[J]. 畜牧与饲料科学,2013,34(Z1):81-82.
- [13] 闫晓娟. 连翘主要成分与乙酰胆碱酯酶的相互作用研究[D]. 太原:山西大学,2018.
- [14] YAN X, CHEN T, ZHANG L, et al. Study of the interactions of forsythiaside and rutin with acetylcholinesterase (AChE)[J]. Int J Biol Macromol, 2018, 119:1344-1352.
- [15] MANDL P, KISS J P. Role of presynaptic nicotinic acetylcholine receptors in the regulation of gastrointestinal motility [J]. Brain Res Bull, 2007, 72 (4/6):194-200.
- [16] QIAN J, MA X, XUN Y, et al. Protective effect of forsythiaside A on OVA-induced asthma in mice [J]. Eur J Pharmacol, 2017, 812:250-255.
- [17] WANG H M, WANG L W, LIU X M, et al. Neuroprotective effects of forsythiaside on learning and memory deficits in senescence-accelerated mouse prone (SAMP8) mice [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2013, 105:134-141.
- [18] SUN X, XU L, GUO F, et al. Neurokinin-1 receptor blocker CP-99 994 improved emesis induced by cisplatin via regulating the activity of gastric distention responsive neurons in the dorsal motor nucleus of vagus and enhancing gastric motility in rats [J]. Neurogastroenterol Motil, 2017, 29(10):1-11.
- [19] 孙瑛璘. 姜黄素通过减轻乙酰胆碱含量变化改善顺铂引起的小鼠胃排空障碍[D]. 青岛:青岛大学,

- 2016.
- [20] SONG X, ZHAO C, DAI C, et al. Suppression of the increasing level of acetylcholine-stimulated intracellular Ca²⁺ in guinea pig airway smooth muscle cells by mabuterol [J]. *Biomed Rep*, 2015, 3(6):778-786.
- [21] 曹峰,唐阿梅. 小柴胡汤中柴胡不同剂量对正常大鼠胃窦组织MTL, AChE, NO含量的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(15):232-235.
- [22] CELLEK S, THANGIAH R, JARVIE E M, et al. Synergy between 5-HT₄ receptor activation and acetylcholinesterase inhibition in human colon and rat forestomach [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2008, 20(5):539-545.
- [23] SANDERS K M, WARD S M. Nitric oxide and its role as a non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory neurotransmitter in the gastrointestinal tract [J]. *Br J Pharmacol*, 2019, 176(2):212-227.
- [24] ISLAM M Z, VAN DAO C, SHIRAISHI M, et al. Methylmercury affects cerebrovascular reactivity to angiotensin II and acetylcholine via Rho-kinase and nitric oxide pathways in mice [J]. *Life Sci*, 2016, 147:30-38.
- [25] 穆标,王邦茂. 一氧化氮与胃肠动力和功能性胃肠疾病[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2003, 12(4):322-325.
- [26] LI H, XU W, LIU X, et al. Curcumin alleviates the side effects of cisplatin on gastric emptying of mice by inhibiting the signal changes of acetylcholine and interstitial cells of cajal [J]. *J Med Food*, 2020, 23(9):920-927.
- [27] 徐韶宁,刘艳婷,孙一,等. 姜黄素灌胃改善顺铂小鼠胃排空与一氧化氮的相关性[J]. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(5):24-27.
- [28] 张志,李听弦,徐柳,等. 大黄煨制前后对正常大鼠胃肠功能的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(12):140-144.
- [29] KAWAMURA T, MATSUURA B, MIYAKE T, et al. Effects of motilin receptor agonists and ghrelin in human motilin receptor transgenic mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(7):1521.
- [30] FOXX-ORENSTEIN A, CAMILLERI M, STEPHENS D, et al. Effect of a somatostatin analogue on gastric motor and sensory functions in healthy humans [J]. *Gut*, 2003, 52(11):1555-1561.
- [31] 王海燕,刘亚明,李海燕,等. 高良姜油对胃溃疡小鼠模型血清胃动素、生长抑素、P物质、血管活性肠肽的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(4):105-107.
- [32] HURSTI T J, BÖRJESON S, HELLSTRÖM P M, et al. Effect of chemotherapy on circulating gastrointestinal hormone levels in ovarian cancer patients: relationship to nausea and vomiting [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2005, 40(6):654-661.

[责任编辑 孙丛丛]