

健脾安肠丸对腹泻型肠易激综合征结肠组织 SP、VIP、CGRP 的影响

王玉娟¹ 刘维明¹ 张梦宇² 宋亚璐² 杨莹² 荀丽英² 王欣² 孙明江²

(1 济南市中医医院, 济南, 250012; 2 山东中医药大学, 济南, 250355)

摘要 目的:研究健脾安肠丸对腹泻型肠易激综合征(IBS-D) 结肠组织 SP、VIP 的影响。方法:采用大黄灌胃与束缚配合的方法制备 IBS-D 大鼠。将 60 只成年 SD 大鼠随机分为 4 组:正常组、模型组、健脾安肠丸大剂量组、健脾安肠丸小剂量组和匹维溴铵组。采用 ELISA 法检测大鼠结肠组织中 P 物质(SP)、血管活性肠肽(VIP)和降钙素基因相关肽(CGRP)的含量。结果:模型组大鼠大便形状的评分值较正常组明显增高($P < 0.01$), 而健脾安肠丸大剂量组和匹维溴铵组较模型组分值显著下降($P < 0.01, P < 0.05$);大剂量、小剂量健脾安肠丸和匹维溴铵均能减少模型大鼠结肠 SP、VIP 含量,提高 CGRP 含量。结论:健脾安肠丸能有效地缓解腹泻型肠易激综合征,其疗效可能与减少 SP、VIP 和增加 CGRP 的释放有关。

关键词 健脾安肠丸;腹泻型肠易激综合征;SP;VIP;CGRP

Effects of Jianpi Anchang Pill on SP, VIP and CGRP in the Colon Tissue of Diarrhea-predominate Pattern Irritable Bowel Syndrome

Wang Yujuan¹, Liu Weiming¹, Zhang Mengyu², Song Yalu², Yang Ying², Xun Liying², Wang Xin², Sun Mingjiang²

(1 Jinan Municipal Hospital of Traditional Chinese medicine, Ji'nan 250012, China;

2 Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

Abstract Objective: To study the effects of Jianpi Anchang pill on SP and VIP in the colon tissue of Diarrhea-predominate Pattern Irritable Bowel Syndrome (IBS-D). **Methods:** The IBS-D rat model was established by gavage of Radix et Rhizoma Rhei and binding limbs. A total of 60 adult SD rats were randomly divided into 4 groups: normal group, model group, Jianpi Anchang pill high dose group and Jianpi Anchang pill low dose group and Pinaverium Bromide group. The contents of SP, VIP and CGRP in the rat colon tissue were determined by ELISA. **Results:** In the model group, fecal shape score was much higher than that of normal group ($P < 0.01$), while the score values of Jianpi Anchang pill high dose group and Pinaverium Bromide group were lower than model group ($P < 0.01, P < 0.05$); High, low dose of Jianpi Anchang pill and Pinaverium Bromide could decrease the contents of SP and VIP and enhance the contents of CGRP in colon tissue of the model rats. **Conclusion:** Jianpi Anchang Pill can effectively ease IBS-D, and its effects may be related to reduce the SP and VIP and increase CGRP release.

Key Words Jianpi Anchang Pill; Diarrhea-predominate Pattern Irritable Bowel Syndrome; SP; VIP; CGRP

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2017.12.053

肠易激综合征(Irritable Bowel Syndrome, IBS)是一种以腹痛或腹部不适并伴有排便习惯和(或)粪便性状改变为主要表现的功能紊乱性胃肠道疾病^[1]。中医学中并无肠易激综合征之病名,临床辨治多据其临床表现,归属泻泄、腹痛、便秘、滞下、体息痢等范畴。本病的临床发作或加重,多与情志变化有关,人体气机要受肝的疏泄功能支配,而疏泄功能除直接参加消化活动外,还兼有调整消化系统的生理作用。常以久郁不解,忧思恼怒,伤及于肝,肝木疏泻不及,横逆克犯脾土,致脾气失和,波及胃肠功能而发诸症。本病病因与发病机制尚不清楚,与

多种因素有关。而近年来研究表明,IBS 的发病机制或与脑肠肽水平的变化密切相关,P 物质(SP)、血管活性肠肽(VIP)和降钙素基因相关肽(CGRP)可能起到较为重要的作用。自拟方健脾安肠丸由党参、白术、葛根、薏苡仁、白芍等多味中药组成,具有健脾利湿,疏肝理气,涩肠止泻的功效。本研究通过观察大鼠结肠组织 SP、VIP、CGRP 含量的变化,探讨健脾安肠丸对 IBS-D 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF 级 Wistar 大鼠 60 只,雌雄各半,体重 200 ~ 300 g。动物合格证编号: SCXK(鲁)

基金项目:济南市科技发展计划项目(201112009)

作者简介:王玉娟(1971.03—),女,医学硕士,主治中医师,研究方向:消化系统疾病的中西医结合防治工作, E-mail: yujuangwang2004@126.com

通信作者:刘维明(1966.10—),女,医学硕士,主任医师,教授,研究方向:消化系统疾病的中西医结合防治工作, E-mail: mmu1966@163.com

20080002,由山东鲁抗医药股份有限公司提供。

1.2 药物 1)造模用药:大黄购于山东嘉泰中药饮片有限公司,生产批号:131002,浓煎成生药 0.73 g/mL 的药液。2)健脾安肠丸:由党参、白术、葛根、薏苡仁、白芍等 10 味中药组成,按比例超微粉制成的水丸,由济南市中医院提供。实验时研碎,以蒸馏水配成不同浓度:大剂量组 0.25 g/mL;小剂量组 0.0625 g/mL;3)阳性药:匹维溴铵片(得舒特),50 mg,Abbott Healthcare SAS(法国)生产,产品批号为 635374,研碎后用蒸馏水配制成浓度 0.133 9% 的药液。4)SP、VIP、CGRP ELISA 试剂盒购于上海百蕊生物科技有限公司,生产批号:201506。

1.3 方法

1.3.1 动物分组与造模 将 60 只大鼠按体重、性别随机分成正常组 10 只、造模组 50 只,造模建立肝郁脾虚证的模型。建肝郁脾虚的模型大鼠常规饲养 3 d 后,正常组大鼠全程生理盐水灌胃 1 mL/100 g。其他 4 组于每天 8:00 给予大黄水煎剂(0.5 mL/100 g)灌,15:00 用束缚盒束缚大鼠全身,使其不能行动,烦躁不安,1 h/次,连续 10 d。10 d 后参照 Bristol 大便分型、分级,所有大鼠均造模成功,稀便率达 99%,将造模成功的大鼠分成生理盐水组(模型组)、健脾安肠丸大、中、小剂量组以及阳性对照组(匹维溴铵片组)。

1.3.2 给药方法 造模成功后,正常组、模型组大鼠给予生理盐水灌胃其他各组分别灌胃健脾安肠丸大剂量组、中剂量组、小剂量组均灌胃不同浓度的健脾安肠丸混悬液以及匹维溴铵片,给药容积均为 0.5 mL/100 g,次/d,连续 3 周。

1.3.3 组织的获取及处理 末次给药 2 h 后,各组大鼠均以 20% 乌拉坦麻醉(0.5 mL/100 g),剖腹取自回盲部 1 cm 以下的结肠组织,生理盐水冲洗,滤纸吸干,称质量,按 1:9 加入生理盐水,组织匀浆,离心 15 min(3 000 r/min),取上清液,-20 ℃ 保存待用。

1.3.4 观察、检测指标 1)观察记录造模 10 d 及给药后 1、2、3 周大鼠大便的形状。参照 Bristol 大便分型,将大鼠纺锤形粪便计为 0 分;条形,表面光滑计 1 分;粗边蓬松块,糊状大便计 2 分;水状,无固体形状,计 4 分。累积记录各大鼠 2 h 内粪便的评分。2)取大鼠结肠组织匀浆上清液,使用 ELISA 试剂盒,在 450 nm 波长处,15 min 内使用酶标仪测量 OD 值,通过标准曲线计算 SP、VIP 的浓度。酶联免疫分析:准品的稀释→加样→温育→配液→洗涤→加酶

→温育→洗涤→显色→终止→测定。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件分析:采用 *t* 检验,数据均由 $\bar{x} \pm SD$ 表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况观察 大黄灌胃与束缚配合的造模方法可使大鼠脾虚湿盛,导致泄泻;肝气疏泄失常,易激惹。实验结果表明,造模组与正常组大鼠比较,出现了腹泻,体重减轻,食欲下降,活动减少,尖叫易怒等特点,与 IBS 的临床表现接近。给予治疗药物后,上述情况均有不同程度地好转。

2.2 治疗前、后大鼠大便形状比较 造模后,所有造模组的大便形状分值均较正常组显著增高($P < 0.01$),提示造模成功;给药 1 周后,匹维溴铵组的大便分值就较模型组明显下降($P < 0.05$);给药 2 周后,健脾安肠丸大、中剂量组分值也明显下降($P < 0.01$);给药 3 周后,小剂量组分值也有一定程度的下降,但差异无统计学意义。

表 1 治疗前、后大鼠大便形状评分($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	造模后分值(分)	给药后 1 周 分值(分)	给药后 2 周 分值(分)	给药后 3 周 分值(分)
正常组	0.20 ± 0.0	0.20 ± 0.42	0.20 ± 0.42	0.20 ± 0.42
模型组	3.33 ± 0.98 *	2.9 ± 1.10	1.9 ± 1.16	1.8 ± 1.32
匹维溴铵组	3.0 ± 1.05 *	2.1 ± 0.57 *	0.90 ± 0.74 △	0.80 ± 0.63 △
大剂量组	3.4 ± 0.97 *	2.2 ± 1.03	0.5 ± 0.53 △△	0.5 ± 0.53 △△
中剂量组	3.2 ± 1.03 *	2.2 ± 1.14	0.70 ± 0.67 △△	0.60 ± 0.70 △△
小剂量组	3.4 ± 0.97 *	2.3 ± 0.82	1.1 ± 0.74	1.0 ± 0.47

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,△ $P < 0.05$,△△ $P < 0.01$

2.3 健脾安肠丸对 IBS-D 大鼠结肠组织 SP、VIP、CGRP 的影响 与模型组比较,匹维溴铵组和健脾安肠丸大中小剂量组大鼠结肠组织 SP 和 VIP 含量显著下降,CGRP 含量明显升高,且差异均有统计学意义。

表 2 健脾安肠丸对大鼠结肠组织 SP、VIP、CGRP 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	SP (ng/g)	VIP (ng/g)	CGRP (ng/g)
正常组	9.89 ± 1.84	13.12 ± 0.25	5.23 ± 0.84
模型组	20.87 ± 5.84	15.12 ± 0.25	4.34 ± 0.50
匹维溴铵组	14.23 ± 2.93 *	13.51 ± 0.19 *	5.09 ± 0.62 **
大剂量组	12.43 ± 3.55 **	13.25 ± 0.11 *	5.12 ± 0.29 **
中剂量组	13.33 ± 3.43 **	13.22 ± 0.14 *	5.07 ± 0.26 *
小剂量组	14.69 ± 2.22 *	13.54 ± 0.14 *	4.97 ± 0.25 *

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3 讨论

IBS 是由多因素造成的胃肠道疾病,可分为腹泻型(IBS-D)、便秘型(IBS-C)、混合型(IBS-M)和不确定型^[2],且以腹泻型居多。中医学根据其临床表

现,多责之于情志失调而诱发,常因肝气郁滞,疏泄不利,肝脾不和,脾胃运化无权,升降失调,湿浊阻滞,肠道气机不利,传导失司而发病。《医方考》所谓:“泻责之于脾,痛责之肝,肝责之实,脾责之虚,脾虚肝实,故令痛泻”。本病以肝郁脾虚、气机失调^[3]为主要病机,且与肝关系最为密切,其标在肠,其制在肝,表现为腹痛、腹泻、便秘等症,病理性质以寒热错杂,正虚邪实多见。

该病发病机制尚未明确,可能与肠道动力异常、内脏敏感性改变、上皮通透性变化、黏膜免疫紊乱、脑肠肽分泌异常、肠道菌群失调以及应激和精神心理有关。脑肠肽是一种存在于中枢神经系统和胃肠道系统的小分子多肽,在调节内脏感觉和胃肠动力方面起着重要的作用^[4]。作为一种重要的脑肠肽,P 物质(SP)是由 11 个氨基酸构成,Sanger^[5-6]等证明,大剂量的 SP 可产生痛敏反应,刺激伤害神经活动,引起神经源性炎症反应。P 物质可促进细胞因子释放,激活血小板释放 5-羟色胺,促肥大细胞脱颗粒反应,继而释放炎症递质(组胺、5-羟色胺、白三稀等)^[7],还具有抑制胃酸分泌,加强肠蠕动,促进胃肠道血管扩张,刺激肠黏膜分泌水及电解质等作用^[8]。

血管活性肠肽(VIP)具有 28 个氨基酸残基,是一种抑制性神经递质,可使全身及内脏血管舒张、降低血压;促进胰腺碳酸氢盐及水分的分泌,刺激肠液分泌,抑制消化道平滑肌的收缩^[9]。VIP 对肠道水、电解质分泌既促进分泌又促进其吸收作用^[10-11],而便秘则可能是由于 VIP 抑制肠肌肉神经元传导和对肠道水、电解质过分吸收的双重作用。研究发现^[12],IBS-D 患者肠黏膜中 VIP 水平升高,可考虑为 VIP 含量的升高刺激了垂体细胞分泌促肾上腺皮质激素(ACTH),起到促皮质激素释放激素(CRH)类似作用,或可解释为产生了一种由肠动力增强引起的负反馈作用。

降钙基因相关肽(CGRP)是有强烈扩血管作用的多肽,由 37 个氨基酸组成。CGRP 广泛分布于外周和中枢神经系统,可作为传递递质调节内脏疼痛,促进脊髓后角 SP 的释放^[13],导致腹泻。然而,CGRP 在体内变化尚无一致结论。研究发现,CGRP 可直接作用于肌肉,其肌松作用比收缩作用大 10 倍^[14]。可通过提高大鼠血浆和结肠中 CGRP 的含量,松弛肠道平滑肌,舒张血管,以温煦肠壁,缓解腹泻。

本实验采用束缚及大黄灌胃的方法,造成大鼠肝气疏泄失常,脾气虚弱,水湿运化功能减退,肠气不固,以致肝郁脾虚而泄泻。自拟方健脾安肠丸以

党参、白术为君药,补中益气,燥湿健脾;配以葛根、薏苡仁为臣药,升阳止泻,利水渗湿;加之白芍、乌梅等品可疏肝理气,缓急止痛,涩肠止泻。诸药合用,补脾土而泻肝木,调气机以和肝脾,达痛泻自止之效。研究发现,在给予健脾安肠丸后,大鼠的体重呈逐渐增长趋势,稀便情况也明显得到好转;而健脾安肠丸大剂量、中剂量、小剂量均可降低模型大鼠结肠内的 SP 和 VIP 的含量而提高 CGRP 含量,提示 SP、VIP 和 CGRP 参与了 IBS 的生理病理过程。

本研究初步证实,健脾安肠丸能有效地缓解腹泻型肠易激综合征,且大、中剂量组优于小剂量组和匹维溴铵组,其疗效可能与减少结肠组织中 SP、VIP 和增加 CGRP 的释放,调节胃肠激素,脑肠肽分泌的紊乱状态及异常的免疫状态,使之逐渐恢复正常,改善胃肠道的分泌和运动,缓解水、电解质的过度分泌,进而改善临床症状有关。

参考文献

- [1] 张磊,宋军,侯晓华. 脑-肠轴失调在肠易激综合征发病中作用的研究进展[J]. 胃肠病学,2014,19(11):688-691.
- [2] William D, Chey MM, Richard S. Pharmacologic and complementary and alternative medicine therapies for irritable bowel syndrome[J]. Gut and Liver,2011,5(3):253-266.
- [3] 汪正芳,郭前坤,张声生. 疏肝健脾方对腹泻型肠易激综合征大鼠血浆及结肠组织 5-HT、SP、VIP 的影响[J]. 天津中医药,2012,29(5):459-462.
- [4] 黄鹤飞,陈颖,朱晓新,等. 中药干预肠易激综合征的脑肠肽调节研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(11):208-217.
- [5] Sanger GJ. 5-HT and functional bowel disorders[J]. Neurogastroenterol Motil,1996,8(4):319-339.
- [6] Niederau C, Faber S, Karaus M. Cholecystokinin in role in regulation of colonic motility in health and in irritable bowel syndrome. Gastroenterology,2002,102(6):1889-1898.
- [7] 蓝程,唐承薇. P 物质对多器官功能衰竭时肠黏膜肥大细胞活性的调节[J]. 中华消化杂志,2003,23(5):271-274.
- [8] 熊观瀛,林琳,赵志泉. P 物质与肠易激综合征[J]. 国外医学内科学分册,2003,30(6):245-248.
- [9] 徐伟,赵亚华,孔洁. 血管活性肠肽研究进展[J]. 药物生物技术,2002,9(6):364-368.
- [10] Evangelista S. Involvement of tachykinins in intestinal inflammation[J]. Curr Pharm Des,2001,7(1):19-30.
- [11] 周吕,柯美云. 胃肠动力学(基础与临床)[M]. 北京:科学出版社,1999:137-139.
- [12] Whitworth EJ, Kosti O, Renshaw D, et al. Adrenal neuropeptides: regulation and interaction with ACTH and other adrenal regulators[J]. Microsc Res Tech,2003,61(3):259-267.
- [13] Chan CL, Facer P, Davis JB, et al. Sensory fibres expressing capsaicin[J]. Lancet,2003,361(9355):385-391.
- [14] 陈元方. 胃肠肽类激素基础与临床[M]. 北京:北京医科大学出版社,1997:103.