

伤模型是一种研究神经营养因子剥夺性损伤的病理模型,也是体外用于模拟脑缺血的常用模型之一。本研究用原代细胞制备的 OGD/R 细胞模型中包含着去血清因素,加之用 PC12 细胞制备的去血清损伤模型实验结果,重复验证了 PGSF 的细胞保护作用。

脑缺血后血流重建时,氧化应激损害是脑损伤的重要机制之一。活性氧可引起生物大分子的氧化损伤,引发膜脂质过氧化、DNA 断裂、胞内蛋白质交联及多肽链断裂等不可逆损伤,最终导致神经元变性或坏死。 H_2O_2 在铁离子(Fe^{3+})和超氧负离子自由基存在时,可以转化成毒性更强的羟自由基。本研究首次证明了 PGSF 对 H_2O_2 氧化应激损伤的神经细胞具有保护作用,提示 PGSF 对抗 OGD/R 损伤的作用机制很有可能还与其减轻细胞内活性氧自由基损伤有关,通过抗氧化应激而降低细胞死亡率。

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)是真核生物膜受体信号向细胞内转导的重要途径,细胞外调节蛋白激酶(ERK)通路、C-Jun 氨基末端激酶(JNK)通路、p38 通路都是其重要组成部分。目前,JNK、p38 的激活在缺血性脑损伤中的促细胞死亡作用得到普遍公认^[7],本研究中应用特异性抑制剂得到的结果与此相符;而 ERK 在缺血性脑损伤中的激活表达情况及其功能还存在很多争议,Xia Z 等^[7-8]认为 ERK 的激活可保护神经细胞免受缺血再灌注损伤,而 Zhi-Qiu Wang 等^[9-10]的研究表明 ERK1/2 通路的激活加剧缺血性脑损伤。本研究结果表明应用 PD98059 可显著增加缺血再灌注神经细胞存活率,支持后者观点。另外,PGSF 可与 MAPK 通

路抑制剂发挥协同效应。

参考文献:

- [1] 吴苗苗,苑玉和,胡金凤,等.瓜子金皂苷己对 MPP⁺诱导 PC12 细胞凋亡的保护作用[J].中国药理学通报,2012,28(4):473-477.
- [2] Sun F, Sun JD, Han N, et al. Polygalasaponin F induces long-term potentiation in adult rat hippocampus via NMDA receptor activation [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2012, 33(4): 431-437.
- [3] 姜茜,姜王武,王静敏,等.一种改进的大鼠皮层神经元原代培养方法及其性质鉴定[J].北京大学学报(医学版),2009,41(2):212-216.
- [4] Cory S, Adams JM. The Bcl-2 family: regulators of the cellular life-or-death switch[J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2(9): 647-656.
- [5] Endo H, Kamada H, Nito C, et al. Mitochondrial translocation of p53 mediates release of cytochrome c and hippocampal CA1 neuronal death after transient global cerebral ischemia in rats[J]. J Neurosci, 2006, 26(30): 7974-7983.
- [6] Hong LZ, Zhao XY, Zhang HL. p53-mediated neuronal cell death in ischemic brain injury[J]. Neurosci Bull, 2010, 26(3): 232-240.
- [7] Xia Z, Dicken M, Raingeaud J, et al. Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis[J]. Science, 1995, 270(5240): 1326-1331.
- [8] Kilic E, Kilic U, Soliz J, et al. Brain-derived erythropoietin protects from focal cerebral ischemia by dual activation of ERK-1/-2 and Akt pathways[J]. The FASEB Journal, 2005, 19(14): 2026-2028.
- [9] Wang ZQ, Wu DC, Huang FP, et al. Inhibition of MEK/ERK1/2 pathway reduces pro-inflammatory cytokine interleukin-1 expression in focal cerebral ischemia[J]. Brain Research, 2004, 996(10): 55-66.
- [10] Fu DG. Effect of extracellular signal-regulated kinase(ERK)on neuron apoptosis in brain injury after cerebral ischemia in rats[J]. Stroke and Nervous diseases, 2007, 14(6): 346-349.

(编辑:邓响潮)

痛泻要方中配伍“风药”对 PI-IBS 模型大鼠 PAR_2 mRNA 表达及炎症介质的影响

胡旭光¹,廖淑莉²,王颖芳¹,龚梦鹃¹,王 桢¹,刘沙沙¹,韩 彬¹(1.广东药学院中药学院,广东 广州 510006;2.广州市老人院,广东 广州 510550)

摘要: **目的** 探讨痛泻要方中配伍风药(防风)对感染后肠易激综合征(PI-IBS)大鼠模型 PAR_2 mRNA 表达和炎症介质的影响。**方法** 采用福氏痢疾杆菌灌胃法复制 PI-IBS 大鼠模型,评价痛泻要方原方、痛泻要方无防风方、防风的疗效及对结肠黏膜 PAR_2 mRNA 基因表达和炎症介质 SP、TNF- α 、IL-6 的影响。**结果** 痛泻要方原方、痛泻要方无防风方、防风可升高感染后 IBS 大鼠的内脏痛觉敏感压力阈值,减少大鼠排稀便次数

收稿日期:2012-10-24

作者简介: 胡旭光,男,博士,副教授,研究方向:脾胃病的中医药防治。Email: huxguang21@163.com。通讯作者:韩彬,教授,研究方向:代谢性疾病及消化系统疾病的中药防治。Email: hblz99@21cn.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81173194)。

($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 痛泻要方原方及防风组显著降低结肠黏膜 SP、IL-6、TNF- α 含量并抑制结肠黏膜 PAR₂ mRNA 基因表达, 而痛泻要方无防风方可降低结肠黏膜 SP 的含量 ($P < 0.05$), 但对结肠黏膜 IL-6、TNF- α 和 PAR₂ mRNA 基因表达无显著影响 ($P > 0.05$)。结论 痛泻要方中配伍风药(防风)可增强方中其他药物的止痛止泻效应, 增强对 PAR₂ 基因表达和炎症介质的抑制作用, 防风在方中发挥了不可替代的佐助作用。

关键词: 肠易激综合征; 痛泻要方; 防风; 风药; 蛋白酶激活受体2

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2013)01-0005-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.002

Effect of Radix Saposhnikoviae in Tongxie Yaofang on PAR₂ mRNA Expression and Inflammatory Mediators in the Colon of Rats with Postinfection Irritable Bowel Syndrome

HU Xuguang¹, LIAO Shuli², WANG Yingfang¹, GONG Mengjuan¹, WANG Man¹, LIU Shasha¹, HAN Bin¹ (1. School of Chinese Herbal Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Guangzhou Municipal Home for the Aged, Guangzhou 510550 Guangdong, China)

Abstract: Objective To study the effect of Radix Saposhnikoviae in *Tongxie Yaofang* on PAR₂ mRNA expression and inflammatory mediators in the colon of rats with postinfection irritable bowel syndrome(PI-IBS). **Methods** PI-IBS rat model was established by intragastric administration of *Shigella flexneri*, and the effects of *Tongxie Yaofang*(TY), TY with Radix Saposhnikoviae (RS)removed, RS on intestinal mucosal PAR₂ mRNA expression and inflammatory mediators of substance P(SP), tumor necrosis factor(TNF- α), interleukin 6(IL-6)were measured. **Results** TY, TY with RS removed, and RS increased intestinal pressure threshold, reduced the defecation frequency of PI-IBS rats ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$). TY and RS also decreased the contents of SP, IL-6 and TNF- α , and down-regulated the PAR₂ mRNA expression in colonic intestinal mucosa ($P < 0.05$, $P < 0.01$). TY with RS removed decreased the content of SP ($P < 0.05$), but had no effect on IL-6, TNF- α , and PAR₂ mRNA expression. **Conclusion** RS in TY plays an important synergistic action on analgesic and antidiarrheal effect, and on inhibition of PAR₂ mRNA expression and inflammatory mediators.

Keywords: Irritable bowel syndrome; *Tongxie Yaofang*; Radix Saposhnikoviae; Herbs for dispelling wind; Protease activation receptor 2(PAR₂)

前期实验结果表明, 痛泻要方中配伍风药(防风)治疗肠易激综合征(IBS)腹痛腹泻具有显著的疗效, 防风为使药具有重要的作用^[1]。为进一步阐明防风在方中的作用, 本实验采用福氏痢疾杆菌灌胃法复制感染后 IBS 大鼠模型, 评价痛泻要方原方、痛泻要方无防风方和防风的疗效及对结肠黏膜蛋白酶激活受体 2 (PAR₂)mRNA 的基因表达和炎症介质 P 物质(SP)、白介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的影响, 为阐明方中配伍“风药”治疗感染后肠易激综合征(PI-IBS)的增效机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 药品及试剂 痛泻要方原方制备方法: 按照原方 6:4:4:3 的比例, 取白术 120 g, 白芍 90 g, 陈皮 90 g, 防风 60 g, 按 1:8 加入蒸馏水煎煮, 煮沸 30 min 后过滤, 取上清液, 再按 1:5 加入清水, 煮沸 30 min 后过滤上清液, 将两次所得的上清液混合搅均, 用水浴浓缩至所需浓度。痛泻要方无防风方取白

术 120 g, 白芍 90 g, 陈皮 90 g; 防风方取防风 120 g, 制备方法同痛泻要方原方的制备。通用型 RT-PCR 试剂盒, 北京鼎国生物技术有限责任公司, 批号: 04201120; 2×Power Taq PCR MasterMix (PR1702), 北京百泰克生物技术有限公司, 批号: 06521102; PCR 引物, 上海生工生物工程技术有限公司合成; SP、TNF- α 、IL-6 的 ELISA 试剂盒, 南京建成科技有限公司, 批号: 20120215。

1.2 动物 SD 大鼠 60 只, SPF 级, 体质量 180~220 g, 许可证号: SCXK(粤)2008-0002, 由广州中医药大学实验动物中心提供。

1.3 仪器 Thermal cycler 2.09 PCR 仪, 美国 BIO-RAD 公司; eppendorf centrifuge 54518 小型高速离心机, 德国 Eppendorf 公司; GS-15R 型高效冷冻离心机, 美国 Beckman 公司; 2400 型 PCR 扩增仪, 美国 PE 公司; GDS7600 凝胶成像系统, 英国 UVP 公司; SPECTRAMAX 340 酶标仪, 美国 Molecular Devices 公司。

1.4 方法

1.4.1 感染后 IBS 大鼠模型的复制 参照文献^[2-3]的方法加以改进。将成年大鼠灌胃给予浓度为 9×10^8 CFU·mL⁻¹ 的福氏痢疾杆菌 1 mL，以大鼠出现稀便作为感染成功。对照组灌胃生理盐水 1 mL，每天观察大鼠一般状况和大便性状，并分别在福氏痢疾杆菌感染后第 16~22 d 取各组大鼠进行腹痛(内脏痛觉高敏感性)评估，具体方法如下：将血压计、针管与自制指套气囊用三通管连接，用针管向气囊内打气时可以在血压计上读出气囊内压力。大鼠在乙醚麻醉下，将石蜡油润滑后的气囊经肛门插入约 5 cm，用胶布把导管和大鼠尾巴根部缠在一起，固定气囊。大鼠苏醒后，将其放在特制的透明塑料笼内，大鼠在此笼内不能转身。大鼠适应 15 min 后，逐渐打气扩张肠道，分别观察引起大鼠腹部抬起以及背部拱起的压力阈值，以评价模型复制成功与否。为得到准确的评估结果，对每一阈值都重复进行 3 次扩张，数据取均值。

1.4.2 给药方法 将模型大鼠 50 只随机分为模型组、痛泻要方原方组、痛泻要方无防风组、防风组、阳性对照阿洛司琼组 5 组，每组 10 只，同时另设正常对照组大鼠 10 只，每天灌胃给药一次(大鼠按 10 mL·kg⁻¹ 给药)，连续 14 d。末次给药后 1 h 后进行腹痛(内脏高敏感性)反应评价和记录 24 h 平均大鼠稀便次数。腹痛(内脏痛觉高敏感性)反应评价方法同 1.4.1。

1.4.3 结肠黏膜 SP、TNF-α、IL-6 含量测定 大鼠禁食 12 h 处死动物，摘取整段结肠，用溶有青霉素及链霉素的冰冻生理盐水反复清洗，刮取肠黏膜，应用 ELISA 试剂盒，酶标仪测定结肠黏膜炎症因子 SP、TNF-α、IL-6 的含量。

1.4.4 结肠黏膜 PAR₂ mRNA 基因表达的测定 大鼠禁食 12 h 处死动物摘取整段结肠，用溶有青霉素及链霉素的冰冻生理盐水反复清洗，刮取肠黏膜，冷冻管置于液氮中，然后转入 -70 ℃ 冰箱保存。Trizol 试剂盒提取组织总 RNA。取 1 μg 总 mRNA 进行逆转录反应，逆转录产物取 20 μL 进行 PCR 反应，同时加入 β-actin 引物作为内对照共同扩增。PAR-2 上游引物：5'-ccctttgtatgtcgtgaagcagac-3'；下游引物：5'-ttcctg-gagtgtttcttgaggtg-3'，扩增片断 452 bp。β-actin；上游引物：5'-TTGTAACCAACTGGGACGATATGG-3；下游引物：5'-GATCTTGATCTTCATGGTGCTAGG-3'；扩增片 754 bp。95 ℃ 40 s，60 ℃ 40 s，72 ℃ 60 s，35 个循环。PAR-2PCR 产物为 342 bp，β-actin PCR 产物为 247 bp。PCR 扩增产物用 1.5 % 琼脂糖凝胶电泳分离，溴化乙锭染色，紫外灯下观察并照相。采用

凝胶成像分析系统分析目的基因及内参基因，二者相比所得比值表示相对表达水平。

1.5 统计学处理方法实验数据均用 数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，应用 SPSS16.0 软件包单因素方差分析进行统计学处理。

2 结果

2.1 各组对感染后 IBS 模型大鼠内脏感觉高敏感性和排便的影响 见表 1。与模型组比较，痛泻要方原方、防风和痛泻要方无防风方均可显著升高大鼠腹部收缩抬腹和拱背的压力阈值、降低内脏痛觉高敏感性，并减少排稀便次数 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，且痛泻要方原方作用优于防风和痛泻要方无防风方($P < 0.01$)。

表 1 痛泻要方、防风和痛泻要方无防风方对 PI-IBS 大鼠内脏感觉高敏感性和排便的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table1 The effect of TY, RS and TY without RS on pressure threshold and defecation frequency in PI-IBS rats

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	24 h 排稀便 次数	压力阈值/mmHg	
				抬腹	拱背
正常对照组	-	10	6.1±3.3	54.3±6.5	66.2±6.1
模型组	-	10	14.7±4.2**	31.2±4.1**	38.4±4.2**
防风组	3.6	10	9.1±3.4 [△]	45.1±4.7 [△]	49.9±5.3 [△]
痛泻要方原方组	6.5	10	7.5±3.6 ^{△△}	48.8±4.2 ^{△△}	59.6±4.2 ^{△△}
痛泻要方无防风组	4.7	10	8.2±4.0 [△]	46.3±5.5 [△]	52.7±7.6 [△]
阿洛司琼组	4×10 ⁻³	10	6.6±3.9 ^{△△}	52.8±5.2 ^{△△}	62.4±6.1 ^{△△}

注：与正常对照组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，[△] $P < 0.05$ ，^{△△} $P < 0.01$ 。

2.2 各组对感染后 IBS 大鼠结肠黏膜 SP、TNF-α、IL-6 含量的影响 见表 2。痛泻要方原方及防风组大鼠结肠黏膜 SP、TNF-α、IL-6 含量均较模型组显著下降($P < 0.05$, $P < 0.01$)，而痛泻要方无防风组仅大鼠结肠黏膜 SP 含量较模型组显著下降 ($P < 0.05$)。

表 2 痛泻要方、防风和痛泻要方无防风方对 PI-IBS 大鼠结肠 SP、TNF-α、IL-6 含量的影响 (n=10)

Table 2 The effect of TY, RS and TY without RS on the content of SP, IL-6, TNF-α in PI-IBS rats

组别	剂量/g·kg ⁻¹	SP /ng·mL ⁻¹	TNF-α /ng·mL ⁻¹	IL-6 /ng·mL ⁻¹
正常对照组	-	30.68 ± 8.17	29.36 ± 8.25	11.46 ± 4.76
模型组	-	49.63 ± 8.43**	54.54 ± 12.32**	27.87 ± 7.32**
防风组	3.6	41.25 ± 7.32 [△]	40.85 ± 10.37 [△]	19.65 ± 5.47 [△]
痛泻要方原方组	6.5	36.89 ± 4.83 ^{△△}	32.62 ± 8.14 ^{△△}	18.12 ± 6.54 ^{△△}
痛泻要方无防风组	4.7	40.25 ± 6.12 [△]	43.62 ± 9.68	23.47 ± 5.16
阿洛司琼组	4 × 10 ⁻³	41.48 ± 8.16 [△]	35.61 ± 11.71 [△]	17.57 ± 6.18 [△]

注：与正常对照组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，[△] $P < 0.05$ ，^{△△} $P < 0.01$ 。

2.3 各组对感染后 IBS 大鼠结肠黏膜 PAR₂ mRNA 基因表达的影响 见表 3, 图 1。痛泻要方原方及防风组可显著减少模型组大鼠肠黏膜 PAR₂ mRNA 相对表达量($P < 0.01$, $P < 0.05$), 但痛泻要方无防风组则无显著作用($P > 0.05$); 痛泻要方原方组抑制大鼠肠黏膜 PAR₂ mRNA 相对表达量作用强于防风组。

表 3 痛泻要方、防风和痛泻要方无防风方对 PI-IBS 大鼠结肠黏膜 PAR₂ mRNA 基因表达的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The effect of TY, RS and TY without RS on the PAR₂ mRNA gene expression in colonic mucosa of PI-IBS rat

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	PAR ₂ 相对表达量	药物抑制率 /%
正常对照组	-	10	0.634 ± 0.224	
模型组	-	10	1.485 ± 0.537**	
防风组	3.6	10	1.104 ± 0.285 [△]	25.66
痛泻要方原方组	6.5	10	0.912 ± 0.197 ^{△△}	37.59
痛泻要方无防风组	4.7	10	1.236 ± 0.318	12.72
阿洛司琼组	4 × 10 ⁻³	10	0.903 ± 0.175 [△]	39.13

注: 与正常对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$ 。

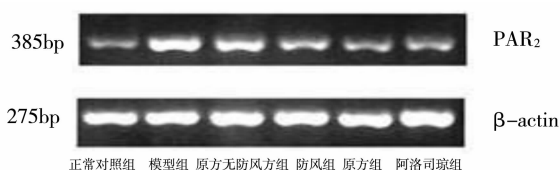


图1 痛泻要方、防风和痛泻要方无防风方对模型大鼠肠黏膜 PAR₂ mRNA 基因表达的影响(RT-PCR)

Figure 1 The effect of TY, RS and TY without RS on the PAR₂ mRNA gene expression in colonic mucosa of PI-IBS rats(RT-PCR)

3 讨论

感染胃肠炎之后, 患者出现肠易激综合征(IBS)症状, 称为感染后肠易激综合征(PI-IBS), 其特征为虽然病原体被清除, 但腹部不适、腹胀、腹泻等 IBS 症状依然持续存在。研究表明, 正常人群感染急性胃肠炎后, 约 33 % 患者会发展为 IBS, 其病理变化主要表现为内脏痛觉高敏感性, 肠道通透性增强, 肠运动增快, 炎症细胞增多。目前认为其发病与肠道持续性低度炎症、肠道菌群改变、肠道免疫失调等密切相关, 特别是肠道低度炎症日益受到重视^[4]。

蛋白酶激活受体 2(PAR₂)信号在 PI-IBS 发病中的作用正在成为研究的热点。PAR₂ 是一种丝氨酸蛋白酶受体, 广泛分布于消化道、呼吸道等器官的多种

细胞中, PAR₂ 信号通路是 PI-IBS 发生肠道运动紊乱、结肠黏膜损伤和肠道痛觉敏感性增高的重要通路^[5]。最近实验证实, PI-IBS 患者肠液与粪便液中高含量的丝氨酸酶(一种激活 PAR₂ 受体的蛋白酶)可诱发小鼠内脏痛觉高敏感性, 表明肠道 PAR₂ 信号通路活化可诱发感染后 IBS 的主要病理改变^[6]。PAR₂ 参与调控肠道感觉、运动、分泌, 可作为治疗 IBS 的新靶点^[7]。

PI-IBS 患者存在内脏痛觉高敏感性, 以往研究发现外周及中枢 5-HT 信号与 CRF 信号在内脏痛觉高敏感的形成过程担当重要角色^[8-9]。近年来蛋白激酶与 PAR₂ 受体信号通路活化诱发内脏痛觉高敏感日益受到重视^[10]。PAR₂ 通过细胞外信号调节激酶(ERK)转导途径, 引起钾通道的关闭、膜去极化, 继而开放电压敏感性钙通道, 随着 Ca²⁺内流的增加, 继而激发其他在胃肠道运动和感觉方面起重要作用的神经递质如 CGRP、SP 及 Ach 等的释放, 从而影响内脏感觉^[11]。Gecse K 等^[12]发现 IBS 患者结肠组织液中胰蛋白酶、类胰蛋白酶活性增加, 其上清液给予小鼠灌肠后可通过激活 PAR₂ 诱导内脏痛觉高敏感, 这种现象产生的可能机制是胰蛋白酶激活 PAR₂ 增加肠神经元、脊髓背根神经节的兴奋性及促进 SP 和 CGRP 的释放。Tanaka Y 等^[13]发现胃肠道的感染因素会通过激活 PAR₂/ERK 信号促进炎症介质 IL-6、IL-8 和 TNF-α 的释放。Kayssi 等^[11]应用 PAR₂ 激动剂作用于小鼠脊神经后根, 发现 PAR₂ 可通过 PKC、ERK1/2 途径诱发神经元应激性增高, 使内脏痛觉敏感性增加^[14]。总之, 肠道低度炎症及各种炎症介质作用于外周肠黏膜感受器, 引起肠道黏膜神经末梢致敏、经三级神经元传递至中枢而发生内脏痛觉高敏感性。

肠道 PAR₂ 信号与肠上皮细胞屏障损伤关系密切。肠道上皮细胞存在 PAR₂ 受体, 在肠道的多种蛋白酶激活下, PAR₂ 信号增强, 使肠黏膜上皮通透性增加, 造成结肠上皮屏障损伤而发生腹泻。PAR₂ 激动剂还可破坏肠道屏障的完整性, 在肌球蛋白轻链激酶活性的影响下, 使细胞间的紧密连接断裂^[15]。Gecse K 等^[12]研究发现丝氨酸蛋白酶与以腹泻为主要临床表现的 IBS 有关, 增强丝氨酸蛋白酶活性可激动小鼠结肠表达的 PAR₂, 破坏小肠屏障的完整性,

导致腹泻发生。PAR₂ 的活化导致结肠低度炎症持续存在, 刺激炎症细胞, 导致 IBS 临床症状迁延反复。

痛泻要方由白术、白芍、防风、陈皮 4 味药组成, 方中白术健脾燥湿为君药, 白芍柔肝止痛为臣药, 风药 (防风) 为佐使药, 具有祛风胜湿、疏肝理脾、升阳止泻的功效, 可助君药白术健脾祛湿止泻, 也可助臣药白芍柔肝止痛, 在方中具有不可替代的作用。所谓“风药”, 是在李东垣学术思想和用药理论指导下, 使用的一类具有升发、疏散特性的药物, 如升麻、柴胡、防风等。这类药物大多性温或平, 味辛、苦或甘, 具有祛风、解热、升散、止痛等功效。防风味甘、微温, 入膀胱、脾、胃、肝经, 可治外风, 又能治内风。外则入太阳经祛散风邪, 内则入脾胃、肝经, 疏肝理脾而消除气滞湿阻。治疗肝旺脾弱所致腹痛腹泻的痛泻要方中配伍防风则取其祛风胜湿, 疏肝理脾之意。前期研究提示痛泻要方中防风具有重要作用, 痛泻要方对小鼠热板法和扭体法疼痛模型、蓖麻油致腹泻模型均有显著的镇痛和止泻作用, 痛泻要方无防风方则作用减弱或消失^[1]。

本次实验我们依据临床中 PI-IBS 患者发病前具有急性胃肠道感染病史的发病特点, 采用福氏痢疾杆菌灌胃法模拟感受外邪致病的方法复制 PI-IBS 大鼠模型, 研究痛泻要方中配伍防风对该模型肠 PAR₂ 基因表达和炎症介质的影响, 结果表明, 痛泻要方原方、防风和痛泻要方无防风方对 PI-IBS 大鼠模型均具有治疗作用, 且痛泻要方原方作用有优于防风和痛泻要方无防风方的趋势。痛泻要方原方和防风可抑制肠黏膜 PAR₂ mRNA 基因表达, 降低结肠黏膜炎症介质 SP、TNF- α 、IL-6 含量, 痛泻要方无防风方则无此作用。

总之, 防风在痛泻要方中具有不可替代的佐助作用。痛泻要方为调和肝脾的代表方剂, 方中防风对 PI-IBS 大鼠模型肠黏膜 PAR₂ 基因表达和炎症介质的影响可阐释“风药” (防风) 对调肝理脾方药增效的部分机制。

参考文献:

- [1] 胡旭光, 韩彬. 痛泻要方配伍风药的作用研究 [J]. 中国现代药物应用, 2012, 04(2): 46-48.
- [2] 郭敏, 李涛. 福氏痢疾杆菌感染后不同治疗方法对大鼠肠功能的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2007, 13(12): 73-75.
- [3] Al-Chaer ED, Kawasaki M, Pasricha PJ. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development[J]. Gastroenterology, 2000, 119: 1276-1285.
- [4] Guiler A, Balboa A, Mearin F. Bowel habit subtypes and temporal patterns in postinfection irritable bowel syndrome: systematic review [J]. Gastroenterol, 2008, 100: 1174-1184.
- [5] Lee JW, Park JH, Park DI, et al. Subjects with Diarrhea-predominant IBS have increased rectal permeability responsive to tryptase[J]. Dig Dis Sci, 2010, 55(10): 2922-2928.
- [6] Cenac N, Andrews CN, Holzhausen M, et al. Role for protease activity in visceral pain in irritable bowel syndrome[J]. Clin Invest, 2009, 117: 636-647.
- [7] Bueno L. Protease activated receptor 2: a new target for IBS treatment[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2008, 12: 95-102.
- [8] Michael DC. Role of serotonin in the pathophysiology of the irritable bowel syndrome[J]. British Journal of Pharmacology, 2008, 141: 1285-1293.
- [9] Neal RC, Bend N, Waeo B. Role of CRF in irritable bowel syndrome [J]. Gastroenterol, 2007, 42(17): 41-47.
- [10] Ossoskovskaya VS, Bunnett NW. Protease-activated receptors: contribution to physiology and disease[J]. Physiol Rev, 2009, 84: 579-621.
- [11] Kayssi A, Amadesi S, Bautista F, et al. Mechanisms of protease-activated receptor 2-evoked hyperexcitability of nociceptive neurons innervating the mouse colon[J]. Physiol, 2007, 58(12): 977-991.
- [12] Geese K, Róka R, Ferrier L. Increased faecal serine protease activity in diarrhoeic IBS patients: a colonic luminal factor impairing colonic permeability and sensitivity[J]. Gut, 2008, 57(8): 1035-1037.
- [13] Tanaka Y, Sekiguchi F, Hong H, et al. PAR2 triggers IL-8 release via MEK/ERK and PI3-kinase/Akt pathways in GI epithelial cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 377(2): 612-622.
- [14] Bueno L, Fioramonti J. Effects of inflammatory mediators on gut sensitivity[J]. Gastroenterol, 1999, 13(A): 42A-46A.
- [15] Meyer TN, Hunt J, Schwesinger C, et al. Regulates epithelial cell junctions through tyrosine kinases[J]. Physiol Cell Physiol, 2009, 285: 1281-1293.

(编辑: 邓响潮)