

加味柴胡疏肝散对腹泻型肠易激综合征模型大鼠结肠黏膜胆囊收缩素的影响

张铮铮, 张进领, 陈惠军, 兰小和(广州中医药大学第一附属医院脾胃病科, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 探讨加味柴胡疏肝散对腹泻型肠易激综合征模型大鼠结肠黏膜胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)的影响。**方法** 复制大鼠腹泻型肠易激综合征模型, 观察加味柴胡疏肝散对模型大鼠粪便含水量、直肠内玻璃小球排出时间以及结肠黏膜中 CCK 含量(免疫组化法)的影响。**结果** 与空白对照组比较, 模型组大鼠粪便含水量增加, 直肠内玻璃小球排出时间缩短, 结肠黏膜中 CCK 的含量升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 加味柴胡疏肝散、匹维溴胺能减轻以上肠功能紊乱($P < 0.05$), 降低结肠黏膜中 CCK 的含量($P < 0.05$)。HE 染色观察, 与空白对照组比较, 模型组结肠黏膜未见病理组织学改变。免疫组化显示, 与空白对照组比较, 模型组 CCK 染色阳性颗粒明显增加; 与模型组比较, 加味柴胡疏肝散组及匹维溴胺组 CCK 染色阳性颗粒减少。**结论** 加味柴胡疏肝散能减轻腹泻型肠易激综合征模型大鼠的肠功能紊乱, 该作用可能与其对结肠黏膜中 CCK 的调节有关。

关键词: 柴胡疏肝散; 肠易激综合征; 胆囊收缩素

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)05-0473-03

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.05.011

Effects of Modified *Chaihu Shugan* Powder on Cholecystokinin in Colonic Mucosa of Rats with Diarrhea-predominant Irritable Bowel Syndrome

ZHANG Zhengzheng, ZHANG Jinling, CHEN Huijun, LAN Xiaohu(Spleen-stomach Disease Department, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: Objective To study the effects of modified *Chaihu Shugan* Powder(MCSP) on cholecystokinin(CCK) level in colonic mucosa of rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome(D-IBS). **Methods** With Pinaverium bromide as the positive drug, the effects of MCSP on the water content in the feces, the discharge time of the glass ball from the rectum, and CCK level in colonic mucosa was investigated in D-IBS rats. **Results** Compared with the blank control group, water content in the feces was increased, the discharge time of the glass ball from the rectum was shortened, and CCK level in colonic mucosa was enhanced in D-IBS rats($P < 0.05$). The intervention with MCSP and Pinaverium bromide relieved the intestinal disorder of D-IBS rats, and decreased CCK level($P < 0.05$). HE staining showed no pathohistological changes in D-IBS rats, but immunohistochemical assay showed that the number of CCK-positive particles in the colonic mucosa of model group was increased(compared with the blank control group), while was decreased in MCSP group and Pinaverium bromide group(compared with the model group). **Conclusion** MCSP has certain effect on relieving the intestinal disorder of D-IBS rats, and the mechanism is probably related with the regulation of CCK level in the colonic mucosa.

Keywords: *Chaihu Shugan* Powder; Irritable bowel syndrome; Cholecystokinin

肠易激综合征(Irritable bowel syndrome, IBS)是肠道动力学和内脏感觉异常的胃肠功能性疾病。腹泻型 IBS 发病与肝郁脾虚有关, 以疏肝健脾方药治疗该

病取得了一定的临床疗效^[1-3]。本研究以结肠黏膜中胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)为主要测定指标, 以匹维溴胺为阳性药对照, 观察加味柴胡疏肝散对腹

收稿日期: 2013-03-29

作者简介: 张铮铮, 女, 主治医师, 硕士, 研究方向: 功能性胃肠病。Email: mousezz48@163.com。

基金项目: 国家临床重点专科脾胃病科资助项目(国中医药医政发[2012]2号)。

泻型 IBS 模型大鼠的作用及作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 SD 大鼠, 40 只, 雄性, 体质量(250 ± 30) g, 由广州中医药大学动物实验中心提供, 动物合格证号: 0031912。

1.2 药物及试剂 加味柴胡疏肝散煎液: 柴胡 6 g, 川芎 4.5 g, 香附 4.5 g, 炒枳壳 4.5 g, 炒陈皮 6 g, 白芍 4.5 g, 炙甘草 1.5 g, 白术 6 g, 茯苓 6 g, 防风 6 g, 饮片由广州中医药大学第一附属医院中药房提供, 按照原方比例配伍, 用水浸泡 15 min, 煎煮 30 min 后, 用双层纱布滤出药液, 去除药渣, 浓缩至每毫升含生药 2 g, 密闭保存于 4 °C 冰箱中待用。匹维溴胺, 法国苏威制药公司, 批号: 611259, 碾碎后溶于蒸馏水, 每毫升含 0.5 mg, 密闭保存于 4 °C 冰箱中待用。CCK 免疫组化试剂盒, 批号: 20081101, 武汉博士德生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 模型复制、分组及给药 40 只大鼠随机分为 4 组, 即加味柴胡疏肝散组、匹维溴胺组、模型组、空白对照组。除空白对照组外, 其余各组动物采用番泻叶加局部束缚刺激的方法^[4-5]复制模型, 以番泻叶水煎剂 (9 g·kg⁻¹) 灌胃, 每天 1 次, 持续 2 周。从第 2 周起, 给以束缚刺激。用粗制棉绳束缚大鼠的双后肢, 影响其正常行动, 但不完全限制自由, 被束大鼠可以拖后肢缓慢爬行。束缚持续 1 周, 每天 5 h。药物干预各组在第 2 周开始用药, 持续 1 周, 束缚刺激在给药后进行。加味柴胡疏肝散组(20 g·kg⁻¹)、匹维溴胺组(5 mg·kg⁻¹)灌胃给药, 每天 1 次。

1.3.2 大鼠结肠功能检测 (1)模型复制结束后, 更换笼内清洁滤纸, 观察 1 h 内大鼠排便的粪点数并称湿质量, 然后置于 50 °C 恒温烘烤 1 h, 再称干质量, 计算粪便含水量 = (湿质量 - 干质量) / 湿质量 × 100%。(2)取直径为 3 mm 的玻璃小球沿肛门放入距肛门 3cm 的直肠内, 记录玻璃小球排出时间。

1.3.3 免疫组化测定大鼠结肠黏膜中 CCK 含量^[6]

大鼠经 10% 水合氯醛(4 mL·kg⁻¹)麻醉后, 打开胸腔, 暴露心脏, 经左心室插管至升主动脉, 灌注预冷的生理盐水, 然后灌注预冷的 4% 多聚甲醛溶液; 取适量结肠, 蒸馏水漂洗, 置 4% 多聚甲醛溶液后固定 45 min; 常规石蜡包埋。切片机冠状连续切片, 片厚 6 μm, 常温保存备用。按免疫组化试剂盒操作说明完成免疫组化试验。利用 Olympus 显微镜和病理图像分析系统进行图像采集和处理。

1.4 统计学处理方法 采用 SPSS 11.0 进行统计学分析。多组间比较用方差分析, 两两比较用 *q* 检验, 数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对模型大鼠结肠动力的影响 见表 1。与空白对照组比较, 模型组粪便含水量增加、直肠内玻璃小球排出时间缩短 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 加味柴胡疏肝散组和匹维溴胺组粪便含水量均减少, 直肠内玻璃小球排出时间延长, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 对模型大鼠结肠黏膜中 CCK 含量的影响 见表 1。与空白对照组比较, 模型组结肠黏膜中 CCK 染色指数升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 加味柴胡疏肝散组及匹维溴胺组结肠 CCK 染色指数均下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 各组药物对腹泻型肠易激综合征模型大鼠结肠动力和 CCK 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of two kinds of medicine on intestinal function and cholecystokinin in the colon of rats of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome

组别	<i>n</i>	剂量 / g·kg ⁻¹	粪便含水量 / %	玻璃小球排出时间 / s	结肠 CCK 染色指数
空白对照组	10	-	11.22 ± 4.62	13.59 ± 4.54	0.75 ± 0.25
模型组	10	-	25.12 ± 6.67 [△]	4.76 ± 2.63 [△]	1.48 ± 0.19 [△]
加味柴胡疏肝散组	10	20	10.61 ± 5.34*	7.00 ± 3.24*	0.85 ± 0.19*
匹维溴胺组	10	0.005	11.88 ± 5.56*	8.82 ± 2.85*	1.11 ± 0.18*

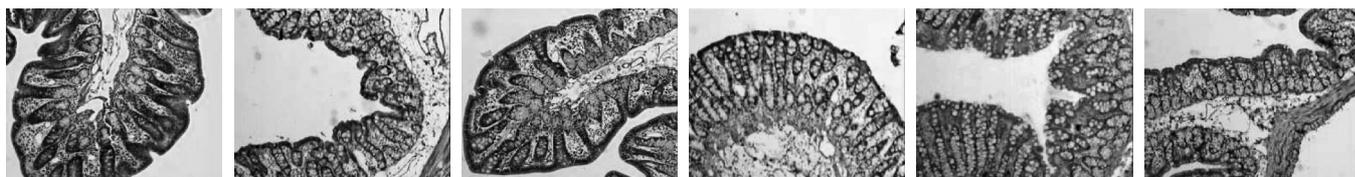
注: 与空白对照组比较, [△] $P < 0.05$; 与模型组比较, * $P < 0.05$ 。

2.3 免疫组化观察各组病理学变化 见图 1。HE 染色观察, 与空白对照组比较, 模型组结肠黏膜未见病理组织学改变。免疫组化法观察显示, 与空白对照组比较, 模型组 CCK 染色阳性颗粒明显增加; 与模型组比较, 加味柴胡疏肝散组及匹维溴胺组 CCK 染色阳性颗粒减少。

3 讨论

束缚刺激方法可诱发大鼠排便异常, 导致结肠平滑肌运动增强、肠运动加快, 且结肠黏膜无病理组织学改变, 是一种轻微的、非溃疡形成的刺激, 可用来复制与应激有关的消化道症状和模拟人类 IBS, 被用以制作研究 IBS 的实验动物模型^[4-5]。

CCK 在中枢分布较广泛, 外周则主要由肠道上皮细胞分泌, 是刺激肠道平滑肌收缩的重要脑肠肽。Coffin 等^[7]的研究结果显示, CCK 可使健康人远段结



空白对照组(HE 染色) 模型组(HE 染色) 空白对照组(免疫组化) 模型组(免疫组化) 加味柴胡疏肝散组(免疫组化) 匹维溴铵组(免疫组化)

图 1 各组 CCK 光镜及免疫组化病理学变化比较

Figure 1 Comparison of CCK-positive particles in the colonic mucosa of rats in various group under light microscope (by immunohistochemistry)

肠紧张性收缩松弛，位相性收缩增加，蠕动增强。Monnires 等^[8]给清醒大鼠丘脑室旁核注射 CCK-8，可明显刺激加快结肠通过。Revel 等^[9]的研究结果显示 CCK-2 受体拮抗剂——右氯谷胺缩短健康人结肠经过时间，可全面改善以腹泻为主 IBS 病人的腹痛、气胀及排泄不全的症状。本研究表明 IBS 模型大鼠在肠动力亢进的同时结肠黏膜中的 CCK 含量增加，与费晓燕、张道英、沈勤等^[10-12]的研究结果相似。

根据腹泻型 IBS 的临床表现与特征，可以归属于中医学泄泻肝气乘脾的范畴。中医学认为，肝主疏泄，有调节情志和脾胃升降功能的作用。各种原因引起情志失调，影响肝的疏泄功能，久之则肝气郁结，木旺乘土，脾胃升降功能受制，运化失常，水谷不归正化，下趋肠道而为泻。其病证候变化虽以脾胃为主，但其本多在肝。因此，临床上中医药治疗腹泻型 IBS 多从肝论治，疏肝为主，健脾为辅，以疏肝健脾立方。本研究选用的加味柴胡疏肝散中以疏肝为主，有调节情志的作用^[13-14]，并且不少研究发现其对 CCK 具有调节作用^[15-16]，此外方中还加入白术、茯苓、防风等药物，加强了健脾渗湿止泻的作用^[2-6]。

本研究发现，加味柴胡疏肝散可减少 IBS 模型大鼠粪便含水量，能改善模型大鼠直肠内玻璃小球排出时间的异常。此外，还可降低结肠黏膜 CCK 的含量，与沈勤^[9]等的研究结果相似。由此提示，加味柴胡疏肝散可调节腹泻型 IBS 模型大鼠的肠动力紊乱，靶器官主要在结肠，能明显减少腹泻型肠易激综合征模型大鼠粪便的含水量，延长直肠内玻璃小球排出时间，该作用可能主要与其对结肠黏膜中胆囊收缩素的调节有关，通过降低结肠黏膜 CCK 的含量而延长粪便的结肠通过时间，促进粪便中水的重吸收，从而缓解 IBS 的症状。

参考文献：

[1] 陈维强, 杨海泉. 柴胡疏肝散加味治疗肠易激综合征 61 例疗效观察[J]. 新中医, 2003, 35(8): 37.

[2] 许建敏. 从肝脾论治腹泻型肠易激综合征 350 例疗效观察[J]. 山西中医学院学报, 2011, 12(4): 50-51.

[3] 王春霞. 逍遥散合痛泻要方加减治疗肠易激综合征 42 例[J]. 陕西中医, 2011, 32(9): 1146-1147.

[4] 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(5): 1276-1285.

[5] 刘清华. 肠易激综合征动物模型复制思路和方法[J]. 国外医学: 消化系统疾病分册, 2002, 22(3): 154-155.

[6] 钱会南, 沈丽波, 胡雪琴, 等. 脾虚大鼠模型脑内胆囊收缩素、P 物质、血管活性肠肽变化及归脾汤的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(5): 29-30.

[7] Coffin B, Fossati S, Flourié B, et al. Regional effects of cholecystokinin octapeptide on colonic phasic and tonic motility in healthy humans[J]. Am J Physiol, 1999, 276(3 pt 1): G767-G772.

[8] Monnires H, Tebbe J, Grote C, et al. Involvement of CCK in the paraventricular nucleus of the hypothalamus in the CNS regulation of colonic motility[J]. Digestion, 2000, 62(2-3): 178-184.

[9] Revel L, Makovec F. Discovery of new CCK-2 receptor antagonists. A review of pharmacological studies. Part I: Development of potential therapeutic tools for gastrin-related gastrointestinal diseases[J]. Methods Find Exp Clin Pharmacol, 1999, 21(5): 375-383.

[10] 费晓燕, 谢建群, 郑昱. 疏肝散对腹泻型肠易激综合征模型大鼠胃动素和胆囊收缩素的影响[J]. 上海中医药杂志, 2008, 42(4): 63-64.

[11] 张道英, 李洪亮, 范小娜. 二味中药复方治疗腹泻型肠易激综合征的实验研究[J]. 山东医药, 2011, 51(8): 33-34.

[12] 沈勤, 王佳薇, 朱飞叶. 宁肠汤对腹泻型 IBS 模型鼠胆囊收缩素作用的研究[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(9): 2104-2106.

[13] 李朝霞, 瞿融. 柴胡类方与抑郁症关系探讨[J]. 河北中医, 2011, 33(1): 68-69.

[14] 孟宪波. 柴胡舒肝散抗抑郁作用分析与疗效调查[J]. 临床合理用药, 2011, 4(10): 58.

[15] 刘敬军, 周卓, 胡刚正. 柴胡枳壳大黄对大鼠胆囊运动及血浆胆囊收缩素含量的影响[J]. 山东中医杂志, 2008, 27(1): 44-46.

[16] 刘健, 赵战朝, 薛承锐. 柴胡疏肝散对慢性胰腺炎患者胰腺外分泌功能不全的治疗作用[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2010, 16(3): 275-276.

(编辑: 邓响潮)