

产生。由于 CTGF 是刺激胶原合成的重要调节因子，因此，推测 OA 抑制 CFs 增殖及胶原合成的作用可能和 CTGF 有关。进一步实验结果表明<sup>[10]</sup>，OA 在抑制 CFs 增殖及胶原合成的同时，CTGF 的蛋白表达水平也是显著下降的。由此可见，OA 抑制 Ang II 诱导的 CFs 增殖和胶原的合成可能是通过下调 CTGF 的表达而实现的。

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是有氧过程中产生的氧代谢产物和衍生含氧物的统称。ROS 可作为体内的第二信使上调下游蛋白的表达。国内外研究表明<sup>[11]</sup>，过氧化氢、低氧均能显著增加 CTGF 的表达，提示 CTGF 的表达可能受 ROS 的调控。研究发现<sup>[12]</sup>，给予人晶状体上皮细胞系 B3 以过氧化氢刺激，CTGF mRNA 是显著增加的。研究表明曲美他嗪通过 NADPH oxidase-ROS-CTGF 途径抑制心肌纤维化<sup>[13]</sup>。因此，OA 下调 CTGF 的蛋白表达可能与抑制 CFs 中 ROS 的生成有关。本实验结果显示，OA 在下调 CTGF 蛋白表达的同时，CFs 中 ROS 生成也是显著下降的。这说明，抑制 ROS 的生成是 OA 下调 CTGF 表达的主要机制之一。

综上所述，OA 抑制 Ang II 诱导的大鼠 CFs 增殖，其机制可能与减少 CFs 中 ROS 的生成，从而导致 CTGF 表达减少有关。由于细胞内存在多条与细胞增殖相关的信号途径，且这些信号途径之间也存在复杂的相互作用，因此，OA 在此通路中的具体相关机制还需要进一步研究。

**参考文献：**

[1] 李健哲, 余术宜. 芍药苷对异丙肾上腺素诱导心肌成纤维细胞增殖和胶原产生的影响及其机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2013, 23 (16): 47-52.  
 [2] Francis GS. Changing the remodeling process in heart failure: basic mechanisms and laboratory results[J]. Curr Opin Cardiol, 1998, 13

(3): 156-161.  
 [3] Law B, Fowlkes V, Goldsmith JG, et al. Diabetes-induced alterations in the extracellular matrix and their impact on myocardial function[J]. Microsc Microanal, 2012, 18(1): 22-34.  
 [4] 郑舒展, 冯健, 余琴, 等. Pravastatin 抑制心肌成纤维细胞胶原基因表达及其机制研究[J]. 重庆医学, 2013, 42(3): 310-312.  
 [5] Gu J, Liu X, Wang QX, et al. Angiotensin II increases CTGF expression via MAPKs/TGF-β1/TRAF6 pathway in atrial fibroblasts[J]. Exp Cell Res, 2012, 318(16): 2105-2115.  
 [6] Zhou H, Zhang KX, Li YJ, et al. Fasudil hydrochloride hydrate, a Rho-kinase inhibitor, suppresses high glucose-induced proliferation and collagen synthesis in rat cardiac fibroblasts[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2011, 38 (6): 387-394.  
 [7] Podgorska M, Kocbuch K, Grden M, et al. Reduced ability to release adenosine by diabetic rat cardiac fibroblasts due to altered expression of nucleoside transporters[J]. J Physiol, 2006, 576(1): 179-189.  
 [8] Ahmed MS, Oie E, Vinge LE, et al. Connective tissue growth factor—a novel mediator of angiotensin II-stimulated cardiac fibroblast activation in heart failure in rats[J]. J Mol Cell Cardiol, 2004, 36 (3): 393-404.  
 [9] Koitabashi N, Arai M, Kogure S, et al. Increased connective tissue growth factor relative to brain natriuretic peptide as a determinant of myocardial fibrosis[J]. Hypertension, 2007, 49(5): 1120-1127.  
 [10] Shyu MH, Kao TC, Yen GC. Hsian-tsao(Mesona procumbens Heml) prevents against rat liver fibrosis induced by CCl(4) via inhibition of hepatic stellate cells activation[J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46 (12): 3707-3713.  
 [11] Eguchi D, Ikenaga N, Ohuchida K, et al. Hypoxia enhances the interaction between pancreatic stellate cells and cancer cells via increased secretion of connective tissue growth factor[J]. J Surg Res, 2013, 181(2): 225-233.  
 [12] Park SK, Kim J, Seomun Y, et al. Hydrogen peroxide is a novel inducer of connective tissue growth factor[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 284 (4): 966-971.  
 [13] Liu X, Gai Y, Liu F, et al. Trimetazidine inhibits pressure overload-induced cardiac fibrosis through NADPH oxidase-ROS-CTGF pathway[J]. Cardiovasc Res, 2010, 88(1): 150-158.

(编辑：宋威)

## 百合、知母总皂苷对大鼠肠易激综合征的治疗作用

陈丹<sup>1</sup>, 高英<sup>2</sup>, 李卫民<sup>1</sup> (1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006; 2. 广州中医药大学新药研究与开发中心, 广东 广州 510006)

**摘要：目的** 从脑-肠互动的角度，探讨百合总皂苷、知母总皂苷、百合知母总皂苷治疗肠易激综合征

收稿日期：2014-04-30

作者简介：陈丹，女，硕士研究生，研究方向：中药新药研究与开发。Email: chy1208@163.com。通讯作者：李卫民，教授，研究方向：中药新药研究与开发。Email: liweimin@gzucm.edu.cn。

基金项目：国家自然科学基金资助项目(81273897)。

(irritable bowel syndrome, IBS)的疗效及其作用机制。**方法** 采用慢性束缚应激刺激配合夹尾刺激制备 IBS 模型, 将 60 只成年雄性 SD 大鼠, 随机分为 6 组, 即正常组、IBS 模型组、得舒特组( $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、百合总皂苷组( $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、知母总皂苷组( $220 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )及百合知母总皂苷组( $240 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 每组 10 只。观察大鼠在 2, 4, 6 周时的排便粒数和腹部撤回反射(AWR)评分。采用 HE 染色、醛品红-橙黄 G 特殊染色, 检测结肠组织病理学变化及肥大细胞数量, 酶联免疫吸附法(ELISA)分别检测大鼠血清降钙素基因相关肽(CGRP)、血管活性肠肽(VIP)含量的变化。**结果** IBS 模型组大鼠排便量增加, 内脏敏感性增高, 与正常组比较, 差异有显著性意义( $P < 0.01$ ); 与 IBS 模型组比较, 百合总皂苷组、知母总皂苷组、百合知母总皂苷组、得舒特组对 IBS 大鼠均有明显的治疗作用, 使 IBS 模型大鼠结直肠部位肥大细胞数量以及血清 CGRP、VIP 的含量明显降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论** 百合总皂苷、知母总皂苷、百合知母总皂苷能减少 IBS 模型大鼠结直肠部位肥大细胞数量, 降低血清 CGRP、VIP 的含量, 从而对 IBS 起到一定的治疗作用。

**关键词:** 肠易激综合征; 肥大细胞; 降钙素基因相关肽; 血管活性肠肽

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)05-0567-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.05.012

### Therapeutic Effect of Total Saponins of Bulbus Lilii and Rhizoma Anemarrhenae for Irritable Bowel Syndrome in Rats

CHEN Dan<sup>1</sup>, GAO Ying<sup>2</sup>, LI Weimin<sup>1</sup>(1. School of Chinese Herbal, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. New Drug Research & Development Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

**Abstract: Objective** To investigate the therapeutic effect and mechanism of saponins of Bulbus Lilii, Rhizoma Anemarrhenae and their combination for irritable bowel syndrome (IBS) based on the interaction between brain and intestine. **Methods** IBS rat model was induced by chronic restraint stress and tail-clamping stress. Sixty male adult SD rats were randomly divided into normal control group, IBS model group, positive drug group (Dicetel at the dose of  $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), Lilium saponins group ( $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), Timosaponin group ( $220 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) and Lilium saponins-Timosaponin group ( $240 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 10 rats in each group. On experimental week 2, 4, 6, the number of defecation grains and abdominal withdrawal reflex (AWR) scores of the rats were observed, HE staining and aldehyde fuchsin-orange G special staining were used for detecting colorectal histopathological changes and the number of mast cells, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were used to detect serum calcitonin gene-related peptide (CGRP) and vasoactive intestinal peptide (VIP) contents. **Results** In the model group, the number of defecation grains and visceral sensitivity of rats increased, and the difference was statistically significant as compared with the normal group ( $P < 0.01$ ). Compared with IBS model group, Lilium saponins group, Timosaponin group, Lilium saponins-Timosaponin group and Dicetel group had obvious therapeutic effect for IBS, and decreased the number of colorectal mast cells and rectum and the serum contents of CGRP and VIP in rats ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). **Conclusion** Lilium saponins, Timosaponin, Lilium saponins-Timosaponin can reduce the number of colorectal mast cells and the serum contents of CGRP and VIP, thereby exerting therapeutic effect for IBS.

**Keywords:** Irritable bowel syndrome; Mast cells; Calcitonin gene-related peptide; Vasoactive intestinal peptide

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种多因素引起的、慢性功能性肠道疾病, 临床特点为慢性反复发作的腹痛、腹胀、排便习惯和大便性状异常等症候群。IBS 患者精神压力与胃肠道症状之间密切相关, 受到心理精神刺激后症状会加重, 应用抗抑郁剂<sup>[1]</sup>或心理治疗可明显改善患者的症状。流行病学相关研究发现, 应激是诱发和加重 IBS 患者症

状的重要因素。精神应激因素在 IBS 的发病中发挥着重要作用, 有研究显示 IBS 患者与抑郁显著相关<sup>[2]</sup>, 提示抑郁可能是该病的一个重要发病因素, 而且影响该病的病情及疗效。百合知母汤始见于张仲景《金匱要略·百合狐惑阴阳毒病证治第三篇》, 主治百合病, 百合病的主要症状为神思恍惚、饮食消化异常、精神不定、郁闷失眠、言行迟缓、忧郁不畅等, 与

现代医学抑郁症的症状较为相似<sup>[3-4]</sup>。研究显示约 75% 的抑郁患者忍受着 IBS 的疼痛, 60% 的 IBS 患者合并有抑郁等精神障碍<sup>[5]</sup>, 临床上将一些治疗百合病的经典配方及其类方加减用于治疗抑郁症<sup>[6-7]</sup>和 IBS<sup>[8-9]</sup>取效显著。本研究从脑-肠互动的角度探讨百合总皂苷、知母总皂苷、百合知母总皂苷对 IBS 的疗效和作用机制, 为基于脑-肠互动理论研发治疗 IBS 药物提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 动物** 成年 SD 大鼠, 雄性, SPF 级, 体质量 180~220 g, 购自广东省医学实验动物中心, 动物合格证号: SCXK(粤)2008-0002。饲养于广州中医药大学实验动物中心, 温度 20℃~25℃, 相对湿度 40%~60%, 光照周期 12 h: 12 h 昼夜间断照明, 常规饲料喂养。实验正式开始前 3 d 大鼠适应环境。

**1.2 药物** 百合, 购自广州清平中药材市场, 经本院张丹雁教授鉴定为百合科植物百合 *Lilium brownie* F. E. Brown var. *viridulum* Baker 的干燥肉质鳞叶。知母, 购自广州清平中药材市场, 经本院黄海波教授鉴定为百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的干燥根茎。百合总皂苷、知母总皂苷、百合知母总皂苷, 原药材百合、知母、百合与知母(1:1)用 70% 醇渗漉后经大孔树脂富集自制所得, 纯度达 50% 以上。百合总皂苷与知母总皂苷的提取率分别为 0.6% 和 7%; 得舒特, 法国雅培制药公司, 批号: 627413。

**1.3 仪器与试剂** 束缚筒, 自制(用矿泉水瓶特制的束缚筒管状长约 21 cm, 筒口外径 6 cm, 内径 5.8 cm, 可通过调节两个塑料筒结合来控制大鼠活动空间); 8Fr 乳胶双腔导尿管(总长度约为 20 cm), 浙江康康医疗器械有限公司; 乙醚, 广州化学试剂厂; 血清降钙素基因相关肽(CGRP)酶联免疫试剂盒、血清血管活性肠肽(VIP)酶联免疫试剂盒, 上海源叶生物科技有限公司。BS124S 型电子天平, 德国 Sartorius 公司; Multiskan GO 1510-01208 全波长酶标仪, 赛默飞世尔科技有限公司; 1-15K 型冷冻离心机, 美国 Sigma 公司; 尼康 ECLIPSE TE2000-S 倒置显微镜, 日本 Nikon 公司。

**1.4 分组、模型复制与给药** 将 60 只 SD 大鼠, 随机分成正常组、IBS 模型组、得舒特组、百合总皂苷组、知母总皂苷组及百合知母总皂苷组, 每组 10 只。正常组不做任何处理, 其余各组大鼠均接受应激刺激制备 IBS 模型。参照文献<sup>[10]</sup>方法并加以改进, 用裹有海绵的夹子夹大鼠尾巴近端 1/3 处, 注意不损

伤皮肤, 使其激怒, 寻衅与其他大鼠撕打, 从而激怒全笼大鼠打斗, 观察其激怒应激反应(粗叫、站立对峙、扭叫撕咬等), 刺激时间持续 30 min。夹尾刺激结束后, 让大鼠休息 5 min 后以医用纱布束缚大鼠肩部、前上肢及胸部, 限制其前肢搔抓头面部, 但不控制其他活动, 束缚 2 h 后释放大鼠归笼, 自由进食水。束缚、夹尾刺激每天 1 次, 持续 6 周。各组大鼠按照 10 mL·kg<sup>-1</sup> 于模型复制同时灌胃给药, 每天 1 次, 连续 6 周。正常组和 IBS 模型组给予等量蒸馏水, 得舒特组<sup>[11]</sup>给予 15 mg·kg<sup>-1</sup>, 百合总皂苷组 100 mg·kg<sup>-1</sup>, 知母总皂苷组 220 mg·kg<sup>-1</sup>, 百合知母总皂苷组 240 mg·kg<sup>-1</sup>, 百合总皂苷、知母总皂苷及百合知母总皂苷所用剂量是预试验的有效剂量。各组大鼠每周记录 1 次体质量, 根据体质量调整给药剂量。

**1.5 排便粒数统计及腹部撤回反射(AWR)评分** 于实验的 2, 4, 6 周测定大鼠排便情况, IBS 模型组和各用药组大鼠用束缚筒束缚 2 h, 观察束缚 2 h 内排便的粪点数, 正常组同期观察, 实验均在白天进行。于实验的 4、6 周进行球囊结直肠扩张(colorectal distention, CRD)刺激评价腹部撤回反射(AWR)评分。将大鼠逐只置于盛有乙醚的透明容器内, 容器加盖, 约 30 s 大鼠进入麻醉状态, 取出麻醉的大鼠, 将石蜡油润滑后的导尿管经肛门插入, 导尿管球囊插入的深度距离肛门 6~7 cm, 医用胶布把肛门外的导尿管和大鼠尾巴根部缠在一起, 固定结直肠内导尿管球囊的深度。大鼠苏醒后, 放入特制的透明塑料桶笼(18 cm×5 cm×7 cm)中, 只能前后运动, 不能转身。5 min 适应期后用球囊进行结直肠扩张, 每只大鼠给予结直肠内球囊扩张 2 次; 用注射器往结直肠内球囊注射水的容量分别为 1.5 mL 和 2.0 mL, 每一阈值都重复进行 2 次, 每次持续 5 min, 每次间隔为 30 s。由另一独立的观察者进行 AWR 值评估, 数据取平均值。

AWR 行为评分标准参照文献<sup>[12]</sup>。0 分: 在给予 CRD 刺激时大鼠情绪基本稳定; 1 分: 在给予 CRD 刺激时, 变得不稳定, 偶尔扭动头部; 2 分: 腹背部肌肉轻微收缩但腹部未抬离地面; 3 分: 腹背部肌肉较强收缩并把腹部抬离地面; 4 分: 腹部肌肉强烈收缩, 背部呈弓形并把腹部、会阴部抬离地面。

**1.6 标本的获取** 末次夹尾、束缚刺激后的 24 h 内, 各组大鼠用水合氯醛麻醉后, 腹主动脉取血约 2 mL, 经冷冻离心机以 3000 r·min<sup>-1</sup>, 离心 15 min 分离血清, -20℃ 保存待测。处死动物, 剖腹取结肠组织

1 cm, 纵行剖开, 冷生理盐水冲洗干净, 以 10 % 中性甲醇溶液固定, 常规石蜡包埋、切片, 用于行 HE 常规染色及醛品红 - 橙黄 G 特殊染色。

**1.7 肥大细胞的计数及血清 CGRP、VIP 含量的测定** 因用醛品红 - 橙黄 G 特殊染色法<sup>[3]</sup>预实验时, 随机抽取了各实验组 2 只大鼠的结肠进行染色方法的确定。故正式实验时对每组剩余的 8 只大鼠的结肠组织行醛品红 - 橙黄 G 特殊染色, 染色成功后在倒置显微镜下观察, 每例 2 张切片, 每张切片随机选择 2 个高倍视野(×400 倍), 进行肥大细胞计数, 取其平均值。每组随机抽取 8 只大鼠的待测血清, 采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附法测定血清 CGRP、VIP 的含量, 严格按照试剂盒说明书操作。

**1.8 统计学处理方法** 采用 STATVIEW 统计软件, 实验数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 组间比较应用单因素方差分析法(one-way ANOVA)。

## 2 结果

**2.1 对大鼠一般状态及排便粒数的影响** 模型复制 4 周后, 与正常组比较, IBS 模型组大鼠排便粒数明显增加, 差异有显著性意义( $P < 0.01$ ), 且大便不成形呈松散样或稀糊样。模型复制 6 周后, 与正常组比较, IBS 模型组大鼠出现精神萎靡、行为迟缓、活动能力下降、目光呆滞, 进食量减少、体质量下降、毛色晦暗、大便呈稀糊状且表面附着黏液增多, 排便次数逐渐增多, 反映了大鼠对抵抗外界应激刺激与恐惧的能力减弱。表明采用束缚刺激配合夹尾刺激可以较好的模拟 IBS 患者相关的外在症状。经药物治疗后大鼠一般状态明显改善, 毛色逐渐恢复原有光泽, 大便性状、排便次数逐渐恢复正常。各组大鼠 2、4、6 周排便粒数统计结果见表 1。

表 1 对大鼠排便粒数的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 1 Effects of saponins on the number of defecation grains of rats

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	排便粒数		
		2 周	4 周	6 周
正常组	-	3.30 ± 2.21	1.67 ± 1.80 <sup>△△</sup>	1.75 ± 1.49 <sup>△△</sup>
IBS 模型组	-	4.40 ± 1.78	5.44 ± 2.74	5.25 ± 1.98
得舒特组	15	4.20 ± 2.44	2.64 ± 2.35 <sup>△</sup>	2.67 ± 1.58 <sup>△</sup>
百合总皂苷组	100	4.30 ± 3.27	2.90 ± 2.28 <sup>△</sup>	3.20 ± 2.04 <sup>△</sup>
知母总皂苷组	220	5.10 ± 2.13	2.56 ± 1.88 <sup>△</sup>	3.11 ± 1.76 <sup>△</sup>
百合知母总皂苷组	240	3.80 ± 2.74	2.44 ± 3.09 <sup>△</sup>	2.50 ± 1.69 <sup>△△</sup>

注: 与 IBS 模型组比较, <sup>△</sup> $P < 0.05$ , <sup>△△</sup> $P < 0.01$ 。

**2.2 对大鼠 AWR 评分的影响** 与正常组比较, 4 周

后 IBS 模型组大鼠在不同扩张容量下的 AWR 评分呈显著性增加, 说明其内脏敏感性增加, 即所谓痛觉过敏, 符合 IBS 临床特点, 与人类 IBS 慢性内脏感觉过敏相似; 各皂苷组 AWR 评分明显降低, 且与阳性药得舒特组无统计学差异( $P > 0.05$ ), 结果见表 2。

表 2 对大鼠球囊结直肠扩张下 AWR 评分的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 2 Effects of saponins on AWR scores in rats sacculus colorectal distention

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	4 周评分		6 周评分	
		1.5 mL	2.0 mL	1.5 mL	2.0 mL
正常组	-	1.44 ± 0.53 <sup>△△</sup>	1.78 ± 0.44 <sup>△△</sup>	1.13 ± 0.83 <sup>△△</sup>	1.63 ± 0.74 <sup>△△</sup>
IBS 模型组	-	2.33 ± 0.50	2.67 ± 0.71	1.63 ± 0.52 <sup>△△</sup>	2.88 ± 0.83
得舒特组	15	1.78 ± 0.67 <sup>△</sup>	1.89 ± 0.60 <sup>△</sup>	2.75 ± 0.71	1.89 ± 0.93 <sup>△△</sup>
百合总皂苷组	100	1.80 ± 0.42 <sup>△</sup>	1.90 ± 0.74 <sup>△</sup>	1.67 ± 0.50 <sup>△△</sup>	2.00 ± 0.67 <sup>△</sup>
知母总皂苷组	220	1.67 ± 0.50 <sup>△</sup>	1.89 ± 0.60 <sup>△</sup>	1.80 ± 0.63 <sup>△△</sup>	2.11 ± 0.60 <sup>△</sup>
百合知母总皂苷组	240	1.67 ± 0.50 <sup>△</sup>	2.00 ± 0.50 <sup>△</sup>	1.78 ± 0.67 <sup>△</sup>	1.88 ± 1.13 <sup>△△</sup>

注: 与 IBS 模型组比较, <sup>△</sup> $P < 0.05$ , <sup>△△</sup> $P < 0.01$ 。

**2.3 对大鼠结肠组织病理学变化及肥大细胞计数的影响** 于倒置显微镜下观察 HE 染色病理切片, 各组大鼠肠黏膜上皮结构完整, 未见糜烂及溃疡, IBS 模型组大鼠偶见黏膜下轻度水肿, 表明束缚刺激配合夹尾刺激模型复制成功。醛品红 - 橙黄 G 特殊染色成功后, 高倍镜下可见肥大细胞颗粒呈紫红至深紫色, 散在或成簇分布于黏膜固有层和黏膜下层, 部分肥大细胞脱颗粒明显, 颗粒涌出胞膜, 散在于胞膜周围, 细胞形态不规则; 未脱颗粒者胞膜完整, 胞质均匀, 细胞大多为类圆形、椭圆形及梭形。与正常组比较, IBS 模型组大鼠结肠部肥大细胞数目显著增多( $P < 0.01$ ); 与 IBS 模型组比较, 各给药组大鼠结肠部肥大细胞计数均显著减少( $P < 0.05$ ); 且各皂苷组与得舒特组之间比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 结果见表 3 和图 1。

表 3 对大鼠结肠肥大细胞的影响( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Effects of saponins on mast cells in colon of each group

组别	n	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	肥大细胞计数
正常组	8	-	3.87 ± 1.64 <sup>△△</sup>
IBS 模型组	8	-	7.88 ± 2.47
得舒特组	8	15	5.13 ± 1.73 <sup>△</sup>
百合总皂苷组	8	100	5.25 ± 2.25 <sup>△</sup>
知母总皂苷组	8	220	5.00 ± 2.27 <sup>△</sup>
百合知母总皂苷组	8	240	4.88 ± 3.18 <sup>△</sup>

注: 与模型组比较, <sup>△</sup> $P < 0.05$ , <sup>△△</sup> $P < 0.01$ 。

**2.4 对血清 CGRP、VIP 含量的影响** 与正常组相比

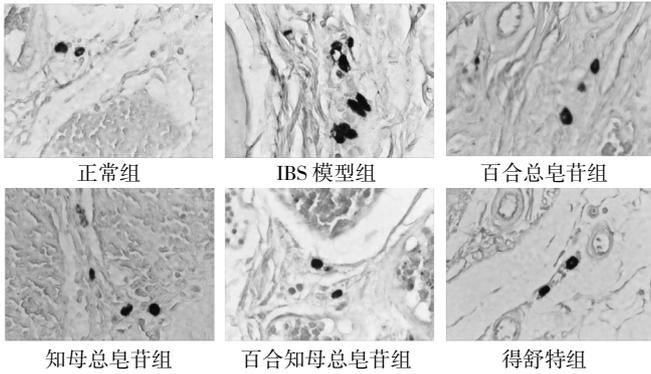


图 1 倒置显微镜高倍镜观察肥大细胞形态(400×)

Figure 1 Mast cells morphology were observed by Nikon ECLIPSE TE2000-S Microscope

较, IBS 模型组大鼠血清 CGRP、VIP 的含量均明显升高, 差异有显著性意义( $P < 0.01$ ); 与 IBS 模型组比较, 百合总皂苷组、知母总皂苷组与百合知母总皂苷组大鼠血清 CGRP、VIP 含量均有明显的下降( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); 且百合知母总皂苷组下降最显著( $P < 0.01$ ), 说明百合知母总皂苷能明显改善大鼠体内血清 CGRP、VIP 的水平, 使之趋于正常水平, 百合知母总皂苷的治疗效果优于单纯的百合皂苷或者知母皂苷; 得舒特也能降低 IBS 模型大鼠血清 CGRP、VIP 的水平, 与各皂苷组比较治疗效果无明显差异( $P > 0.05$ ), 结果见表 4。

表 4 对各组大鼠血清 CGRP、VIP 含量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Effects of saponins on CGRP and VIP level in serum of each group

组别	n	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	CGRP/pg·mL <sup>-1</sup>	VIP/pg·mL <sup>-1</sup>
正常组	8	-	15.05 ± 1.36 <sup>△△</sup>	89.75 ± 8.15 <sup>△△</sup>
IBS 模型组	8	-	17.48 ± 1.74	107.73 ± 3.42
得舒特组	8	15	14.62 ± 1.40 <sup>△△</sup>	100.71 ± 6.81 <sup>△</sup>
百合总皂苷组	8	100	15.65 ± 1.09 <sup>△</sup>	99.33 ± 5.85 <sup>△</sup>
知母总皂苷组	8	220	15.01 ± 1.37 <sup>△</sup>	100.42 ± 6.43 <sup>△</sup>
百合知母总皂苷组	8	240	14.57 ± 1.69 <sup>△△</sup>	98.35 ± 4.91 <sup>△△</sup>

注: 与模型组比较, <sup>△</sup> $P < 0.05$ , <sup>△△</sup> $P < 0.01$ 。

### 3 讨论

近年研究表明, 应激可通过脑-肠轴的交互作用引起神经和免疫的紊乱, 导致抑郁症和与情志有关的肠易激综合征( IBS), 且该病的发病率呈逐年增多的趋势。脑-肠轴将中枢神经系统(CNS)与肠神经系统(ENS)、神经-内分泌-免疫系统连接起来, 形成双向互动通路, 在调节应激反应性、胃肠道运动、内脏敏感性、脑肠肽分泌及中枢认知功能等方面发挥重要的作用。IBS 属于中医学腹痛、泄泻、郁证的

范畴<sup>[8]</sup>, 是临床常见病, 病因尚未明确。不良的情绪刺激会通过脑-肠轴影响胃肠道功能, 引发或加重 IBS。IBS 患者常伴有抑郁症, 百合知母汤<sup>[9]</sup>是治疗中医百合病的经典方, 对抑郁症有较好的治疗作用。目前, 对于百合、知母及百合知母汤的药理研究主要侧重治疗抑郁症、焦虑症、老年痴呆症机理的探讨, 关于治疗 IBS 的实验研究极少。本实验基于脑-肠互动理论探讨百合总皂苷、知母总皂苷、百合知母总皂苷对 IBS 的疗效, 采用束缚刺激配合夹尾刺激制备 IBS 模型, 排便粒数反映了动物对应激刺激的反应性, AWR 评分反映了动物内脏感觉的敏感性。与正常组比较, 模型复制 6 周后 IBS 模型组大鼠对外界应激刺激的抵抗能力减弱, 排便粒数显著增加; 球囊结直肠扩张时动物腹部隆起和背部拱起的扩张容量阈值明显降低, 表明刺激导致了动物内脏感觉的增敏, 与临床上 IBS 患者出现的腹痛、腹部不适感觉及排便异常等症状相类似。

肥大细胞作为神经-内分泌-免疫网络的桥梁在胃肠道分布广泛, 其在 IBS 患者肠黏膜中的数量及表达异常, 是人们研究 IBS 发病机制的重要切入点。研究表明<sup>[14]</sup>, IBS 患者肥大细胞数量明显增加, 并且与焦虑抑郁程度显著相关, 提示抑郁症、焦虑症等精神心理因素可加重 IBS 患者肠道肥大细胞异常。多种小分子肽类如 VIP、CGRP、SP 等作为神经传递和调节介质, 在调节内脏感觉和运动中起重要作用; 同时这些小分子脑肠肽也由胃肠道内的内分泌细胞所分泌, 对胃肠道的分泌和运动起极其重要的调节作用。VIP 是由 28 个氨基酸组成的多肽, 可能在 IBS 的生理病理中发挥作用, 其含量升高刺激肠液的分泌、抑制液体的吸收, 同时引起胃肠道环形平滑肌松弛扩张血管, 从而导致腹泻或黏液便<sup>[15]</sup>。CGRP 是一种含有 37 个氨基酸残基的多肽, 广泛分布于中枢和外周神经系统, 特别是感觉神经元胞体和末梢以及胃肠道壁内神经丛, 具有调节胃肠血流、胃肠分泌及运动功能<sup>[16]</sup>, 其作为感觉神经传递介质在内脏疼痛的调节中起重要作用, 研究发现<sup>[17]</sup>, IBS 患者肠黏膜内肥大细胞周围 CGRP 等阳性神经纤维表达增强, 而且在神经肽周围, 肥大细胞的数量明显增多。本研究发现, 百合知母总皂苷组能够明显缓解 IBS 模型大鼠的症状, 明显改善 IBS 模型大鼠结直肠部位肥大细胞数量并能显著降低 IBS 模型大鼠血清 CGRP、VIP 水平, 优于单味百合总皂苷或知母总皂苷的疗效, 并能够明显缓解 IBS 模型大鼠的症状。

综上所述,百合总皂苷、知母总皂苷、百合知母总皂苷能够有效地改善束缚刺激配合夹尾刺激所致 IBS 模型大鼠的症状,具有一定治疗 IBS 的作用,其中以百合知母总皂苷的疗效最为显著。其机制可能与百合知母总皂苷减少 IBS 模型大鼠结直肠部位肥大细胞数量,降低血清 CGRP、VIP 的含量有关,通过改善胃肠道动力和提高内脏痛阈,降低肠道高敏感性,减缓胃肠道蠕动,实现治疗作用。

### 参考文献:

- [1] Friedrich M, Grady SE, Wall GC. Effects of antidepressants in patients with irritable bowel syndrome and comorbid depression [J]. *Clinical therapeutics*, 2010, 32(7): 1221-1233.
- [2] 邓国南, 谢夏南. 肠易激综合征患者与抑郁和焦虑的相关性研究 [J]. *海南医学*, 2011, 22(20): 37-39.
- [3] 吴炫静. 抑郁症的中医辨证治疗研究[D]. 中国中医科学院, 2008: 15-23.
- [4] 吴崇胜. 抑郁症中医症候诊断标准研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2006: 19-21.
- [5] Thompson WG, Longstreth GF, Drossman DA, et al. Functional bowel disorders and functional abdominal pain [J]. *Gut*, 1999, 45 (12): II43-II47.
- [6] 管家齐, 孙燕, 陈海伟. 百合地黄汤对小鼠抑郁症模型的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2013, 28(6): 1875-1877.
- [7] 郑水庆, 张汉明, 陈万生. 百合知母汤抗抑郁作用的理论与实验研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2007: 91-106.
- [8] 薛玉杰. 百合解忧汤治疗腹泻型肠易激综合征疗效观察[J]. *现代中西医结合杂志*, 2011, 20 (16): 1995-1996.
- [9] 岑柏春, 张谈. 安神解郁法治疗肠易激综合征 72 例疗效观察[J]. *浙江中医药大学学报*, 2007, 31(2): 183-184.
- [10] Williams CL, Villar RG, Peterson JM, et al. Stress-induced changes in intestinal transit in the rat: a model for irritable bowel syndrome[J]. *Gastroenterology*, 1988, 94 (3): 611-621.
- [11] Wang YJ, Wang DS, Guan HQ, et al. Effects of eye-acupuncture therapy on serum and colonic SP and VIP contents in rats with irritable bowel syndrome[J]. *Zhen ci yan jiu*, 2010, 35(1): 8-11, 26.
- [12] 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.
- [13] 陆英杰. 糖尿病大鼠胃黏膜免疫异常与胃动力障碍关系及中药作用[D]. 广州: 广州中医药大学, 2006: 50-51.
- [14] Piche T, Saint PMC, Dainese R, et al. Mast cells and cellularity of the colonic mucosa correlated with fatigue and depression in irritable bowel syndrome[J]. *Gut*, 2008, 57 (4): 468-473.
- [15] 郑礼娟, 秦昆明, 姚仲青, 等. 白术芍药散治疗肠易激综合征的作用机制研究进展[J]. *中草药*, 2012, 43(4): 815-819.
- [16] 牛庆慧, 张翠萍, 鞠辉, 等. 肠道黏膜肥大细胞和降钙素基因相关肽在肠易激综合征中的表达[J]. *世界华人消化杂志*, 2009, 17 (2): 213-217.
- [17] 王利华, 方秀才, 潘国宗. 肠易激综合征患者肠黏膜肥大细胞与神经纤维的关联[J]. *中华消化杂志*, 2003, 23(6): 8-11.

(编辑: 宋威)

## 胃疡宁丸体内外抗幽门螺杆菌的实验研究

许艺飞<sup>1</sup>, 江伟雯<sup>1</sup>, 邝兆进<sup>2</sup>, 吴清和<sup>1</sup>, 操红缨<sup>1</sup>, 黄萍<sup>1</sup> (1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 珠海健康云科技有限公司, 广东 珠海 519040)

**摘要:** **目的** 研究胃疡宁丸在体内、体外抗幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, HP)的作用机制。**方法** 采用液体稀释法测定胃疡宁丸和阿莫西林对 HP 的最小抑菌浓度(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)。将 BALB/c 小鼠随机分为 6 组, 即正常对照组、模型对照组、阿莫西林组(0.4 mg·g<sup>-1</sup>)及胃疡宁丸低、中、高剂量组(0.79, 1.58, 3.16 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)。采用抗生素加 HP 的方法, 连续灌胃 7 d, 建立 HP 感染动物模型。从第 11 天开始, 连续灌胃给药 8 周后处死小鼠, 取胃黏膜和血清进行快速尿素酶测试、血清 HP 抗体检测以及病理切片检查。**结果** 液体稀释法测得胃疡宁丸最小 MIC 值为 0.0416 g·mL<sup>-1</sup>; 阿莫西林最小 MIC 值为 0.00012 g·mL<sup>-1</sup>。快速尿素酶测试、血清幽门螺杆菌抗体检测、小鼠胃黏膜病理切片结果均提示 HP 感染动物模型复制成功, 与正常对照组比较, 差异有显著性意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。阿莫西林、胃疡宁丸高、中、低剂量组均能有效抑制体内 HP

收稿日期: 2014-04-29

作者简介: 许艺飞, 男, 硕士研究生。研究方向: 中药新药与保健品研发。Email: 330851639@qq.com。通讯作者: 黄萍, 女, 教授, 研究方向: 中药复方药理研究。Email: hping331@126.com。