

## 健脾化湿颗粒对腹泻型肠易激综合征模型大鼠结肠运动及中枢c-fos的影响

陈光辉, 刘玉玲, 杜海燕, 张晓峰, 赵素微, 胡楠, 靳继伟, 于海龙, 王迎寒

陈光辉, 刘玉玲, 杜海燕, 张晓峰, 赵素微, 胡楠, 靳继伟, 于海龙, 王迎寒, 河北省中药研究与开发重点实验室 承德医学院中药研究所 河北省承德市 067000

陈光辉, 副研究员, 医学博士, 主要从事中药药理毒理的研究。

河北省教育厅优秀青年基金资助项目, No. YQ2014002

作者贡献分布: 此课题由王迎寒负责, 张晓峰指导; 王迎寒进行文献检索及实验设计; 实验操作及数据采集由陈光辉、杜海燕、刘玉玲、王迎寒、赵素微、胡楠、靳继伟及于海龙共同完成; 数据分析及论文撰写由陈光辉与王迎寒完成; 实验指导与论文修改由张晓峰完成。

通讯作者: 王迎寒, 讲师, 067000, 河北省承德市安远路, 河北省中药研究与开发重点实验室, 承德医学院中药研究所。

wyh811018@163.com

电话: 0314-2290076

收稿日期: 2015-03-02 修回日期: 2015-03-24

接受日期: 2015-03-25 在线出版日期: 2015-04-28

Received: 2015-03-02 Revised: 2015-03-24  
Accepted: 2015-03-25 Published online: 2015-04-28

### Abstract

**AIM:** To evaluate the effect of Jianpi Huashi granule on colonic motility and c-fos expression in the central nerve system in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (D-IBS).

**METHODS:** A rat model of D-IBS was established by intragastric administration of Sennae decoction combined with restraint stress. Rats were divided into several groups. Jianpi Huashi granule was given to rats in Jianpi Huashi groups, pinaverium bromide tablets to rats in the positive group and water to the other groups. Maclab/4e 4-channel physiology recorder was used to record colon motion curves and evaluate colonic motility using motility index. Immunohistochemistry assay was used to detect the expression of c-fos in the spinal horn, prefrontal cortex, hippocampus and hypothalamus. ELISA was used to detect the contents of c-fos and 5-hydroxytryptamine in the spinal cord and hippocampus.

**RESULTS:** In the D-IBS model group, the colonic motility index increased significantly compared to the normal group ( $939.01 \pm 91.96$  vs  $574.78 \pm 53.33$ ,  $P < 0.01$ ). The expression of c-fos in the spinal horn, prefrontal cortex, hippocampus and hypothalamus was significantly increased in the model group compared to the normal group ( $0.25 \pm 0.03$  vs  $0.08 \pm 0.01$ ,  $0.15 \pm 0.02$  vs  $0.06 \pm 0.01$ ,  $0.23 \pm 0.02$  vs  $0.08 \pm 0.02$ ,  $0.16 \pm 0.02$  vs  $0.07 \pm 0.01$ ,  $P < 0.01$  for all). The contents of c-fos in the spinal cord

### ■背景资料

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是常见的消化系统疾病, 多发于青壮年, 发病率高, 因缺乏有效的治疗药, 目前临床上多采用对症治疗, 虽能改善症状, 但复发率高, 严重影响患者生活质量, 且耗费医疗资源巨大, 已成为科研工作亟待解决的关键问题。

### ■同行评议者

潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

### Influence of Jianpi Huashi granule on colonic motility and c-fos expression in the central nerve system in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome

Guang-Hui Chen, Yu-Ling Liu, Hai-Yan Du, Xiao-Feng Zhang, Su-Wei Zhao, Nan Hu, Ji-Wei Jin, Hai-Long Yu, Ying-Han Wang

Guang-Hui Chen, Yu-Ling Liu, Hai-Yan Du, Xiao-Feng Zhang, Su-Wei Zhao, Nan Hu, Ji-Wei Jin, Hai-Long Yu, Ying-Han Wang, Hebei Province Key Laboratory of Research and Development of Traditional Chinese Medicine; Institute of Chinese Materia Medica, Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei Province, China

Supported by: Excellent Youth Foundation of Hebei Educational Committee, No. YQ2014002

Correspondence to: Ying-Han Wang, Lecturer, Hebei Province Key Laboratory of Research and Development of Traditional Chinese Medicine; Institute of Chinese Materia Medica, Chengde Medical University, Anyuan Road, Chengde 067000, Hebei Province, China. [wyh811018@163.com](mailto:wyh811018@163.com)

## ■ 研究前沿

IBS的发病机制尚未完全阐明, 研究证明, 脑-肠轴的调节作用在其发病中起着重要的作用。脑肠肽c-fos作为神经元激活的标志物, 已成为IBS研究的关注热点。

and hippocampus were increased significantly in the model group compared to the normal group ( $19.68 \pm 1.17$  vs  $11.10 \pm 2.59$ ,  $12.32 \pm 1.22$  vs  $5.38 \pm 0.88$ ,  $P < 0.01$  for both). After treatment, the colonic motility index in the medium- and high-dose Jianpi Huashi granule groups was significantly decreased ( $731.91 \pm 67.34$ ,  $695.20 \pm 80.58$  vs  $939.01 \pm 91.96$ ,  $P < 0.01$  for both), the expression of c-fos was significantly reduced ( $0.14 \pm 0.02$ ,  $0.10 \pm 0.01$  vs  $0.25 \pm 0.03$ ;  $0.11 \pm 0.01$ ,  $0.09 \pm 0.02$  vs  $0.15 \pm 0.02$ ;  $0.16 \pm 0.01$ ,  $0.12 \pm 0.01$  vs  $0.23 \pm 0.02$ ;  $0.12 \pm 0.01$ ,  $0.09 \pm 0.01$  vs  $0.16 \pm 0.02$ ,  $P < 0.01$  for all), and the content of c-fos was also significantly decreased ( $16.02 \pm 1.58$ ,  $15.62 \pm 1.64$  vs  $19.68 \pm 1.17$ ;  $8.53 \pm 2.05$ ,  $7.28 \pm 1.54$  vs  $12.32 \pm 1.22$ ,  $P < 0.01$  for all).

**CONCLUSION:** Jianpi Huashi granule regulates colonic motility in rats with D-IBS possibly by modulating the expression of c-fos in the central nerve system.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Jianpi Huashi granule; Diarrhea-predominant irritable bowel syndrome; Colonic motility; C-fos

Chen GH, Liu YL, Du HY, Zhang XF, Zhao SW, Hu N, Jin JW, Yu HL, Wang YH. Influence of Jianpi Huashi granule on colonic motility and c-fos expression in the central nerve system in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(12): 1943-1948 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1943.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i12.1943>

## 摘要

**目的:** 观察健脾化湿颗粒对腹泻型肠易激综合征(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, D-IBS)模型大鼠结肠运动功能的影响, 并从中枢c-fos角度探讨其作用机制。

**方法:** 采用番泻叶灌胃结合束缚应激法建立D-IBS大鼠模型, 应用健脾化湿颗粒进行干预, 采用MacLab/4e四导生理记录仪描记大鼠结肠运动曲线, 计算结肠运动指数, 并用免疫组织化学法检测脊髓腰膨大、前额叶皮质、海马、下丘脑中c-fos的表达, ELISA法检测脊髓腰膨大和海马中c-fos的含量。

**结果:** 与正常组相比, D-IBS模型组大鼠结肠运动指数( $939.01 \pm 91.96$  vs  $574.78 \pm 53.33$ )明显增加( $P < 0.01$ )。中枢c-fos的表达( $0.25 \pm$

$0.03$  vs  $0.08 \pm 0.01$ 、 $0.15 \pm 0.02$  vs  $0.06 \pm 0.01$ 、 $0.23 \pm 0.02$  vs  $0.08 \pm 0.02$ 、 $0.16 \pm 0.02$  vs  $0.07 \pm 0.01$ )明显升高( $P < 0.01$ )。c-fos含量( $19.68 \pm 1.17$  vs  $11.10 \pm 2.59$ 、 $12.32 \pm 1.22$  vs  $5.38 \pm 0.88$ )明显增加( $P < 0.01$ )。与模型组相比, 健脾化湿颗粒中、高剂量组大鼠结肠运动指数( $731.91 \pm 67.34$ 、 $695.20 \pm 80.58$  vs  $939.01 \pm 91.96$ )明显降低( $P < 0.01$ )。中枢c-fos的表达( $0.14 \pm 0.02$ 、 $0.10 \pm 0.01$  vs  $0.25 \pm 0.03$ ;  $0.11 \pm 0.01$ 、 $0.09 \pm 0.02$  vs  $0.15 \pm 0.02$ ;  $0.16 \pm 0.01$ 、 $0.12 \pm 0.01$  vs  $0.23 \pm 0.02$ ;  $0.12 \pm 0.01$ 、 $0.09 \pm 0.01$  vs  $0.16 \pm 0.02$ )明显降低( $P < 0.01$ )。c-fos含量( $16.02 \pm 1.58$ 、 $15.62 \pm 1.64$  vs  $19.68 \pm 1.17$ ;  $8.53 \pm 2.05$ 、 $7.28 \pm 1.54$  vs  $12.32 \pm 1.22$ )明显降低( $P < 0.01$ )。

**结论:** 健脾化湿颗粒改善D-IBS模型大鼠结肠运动功能的作用机制, 可能与其调节中枢c-fos的表达有关。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 健脾化湿颗粒; 腹泻型肠易激综合征; 结肠运动; C-fos

**核心提示:** 通过观察健脾化湿颗粒对腹泻型肠易激综合征模型大鼠结肠运动功能的影响, 从中枢c-fos角度探讨其可能的作用机制, 证实健脾化湿颗粒能改善模型大鼠结肠运动功能, 作用机制与其调节中枢c-fos的表达有关。

陈光辉, 刘玉玲, 杜海燕, 张晓峰, 赵素微, 胡楠, 靳继伟, 于海龙, 王迎寒. 健脾化湿颗粒对腹泻型肠易激综合征模型大鼠结肠运动及中枢c-fos的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(12): 1943-1948 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1943.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i12.1943>

## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种临床常见的慢性功能性肠病, 根据排便情况将其分为腹泻型、便秘型、混合型和不定型, 以腹泻型较为多见, 占患者总数的74.0%<sup>[1]</sup>, 且常伴有不同程度和类型的精神心理异常。IBS的全球患病率高, 在西方国家的发病率为3%-20%<sup>[2]</sup>, 亚洲国家的发病率约为5%-10%<sup>[3]</sup>, 既影响患者的生活质量和工作效率, 又消耗大量的公共卫生资源, 日益引起重视。目前其病因和发病机制尚未完全阐明, 近年来, 人们日渐认识到脑-肠轴在IBS的发病中占有重要地

## ■ 相关报道

王运东等发现D-IBS大鼠脊髓c-fos阳性神经元明显高于正常组, 表明D-IBS模型大鼠的脊髓神经元的功能受到部分影响, 在胃肠感觉和运动的神经过度敏感调节中起一定的作用, 为临床治疗提供了有价值信息。

位. 研究<sup>[4]</sup>发现, 24.8%的IBS患者伴有抑郁和/或焦虑状态, 紧张、抑郁、焦虑等情绪可通过脑-肠轴引起胃肠道感觉、运动、分泌等功能的障碍, 进而诱发或加重IBS的症状. 在脑-肠轴中, 存在着一类具有激素和神经递质双重功能的小分子肽类被称为脑肠肽, 在调节内脏感觉、分泌和运动中起着十分重要的作用. 脑肠肽c-fos已经被作为神经元激活的标志物, 在脑-肠轴研究中成为关注热点<sup>[5]</sup>, 在IBS的发病中起着重要的作用.

健脾化湿颗粒源于上海名中医马贵同的临床常用方, 由炙黄芪、益智仁、炒白术、茯苓、砂仁等10味中药配伍而成, 适用于D-IBS, 症见肠鸣、腹泻、腹痛、消瘦或五更泻等, 具有理气健脾、化湿止泻、温肾、理气、调肝等功效. 本实验拟采用灌胃番泻叶结合束缚应激的方法建立D-IBS大鼠模型, 应用健脾化湿颗粒进行干预, 观察各组大鼠的结肠运动功能, 并从中枢c-fos角度初步研究其作用机制.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ♂ SD大鼠72只, 体质量 $250\text{ g} \pm 20\text{ g}$ , SPF级, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 许可证号: SCXK(京)2009-0004. 饲养于承德医学院清洁级实验动物房, 实验前1 wk动物以适应实验环境. 番泻叶(安国市昌达中药材饮片有限公司, 批号: 1009002)捡择后置于沸水中浸泡25 min, 双层纱布过滤, 滤液减压浓缩成生药含量为 $0.3\text{ g/mL}$ . 健脾化湿颗粒(承德医学院中药研究所制备). 得舒特(法国苏威特公司, 批号: 627414). MacLab/4e四导生理记录仪, QUAD Bridge生物放大器(澳大利亚ADInstrument公司); YP200型压力换能器(北京新航兴业科贸有限公司); 自制带导管的水囊; Excelsior™ ES自动组织脱水机(美国Thermo Scientific公司); Histocentre 3™组织包埋机(美国Thermo Scientific公司); RM2125型常规轮转石蜡切片机(德国Leica公司); TK-218型恒温摊片烤片机(湖北泰维医疗科技有限责任公司); BH-2型显微镜及摄像装置(日本Olympus公司); Multiskan MK 3酶标仪(Thermo LabSystems); 兔抗鼠c-fos多克隆一抗(北京博奥森生物技术有限公司); 兔Streptavidin-HRP试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司); c-fos ELISA试剂盒(上海索宝生物科技有限公司).

## 1.2 方法

**1.2.1 分组:** 将72只大鼠随机分为6组, 每组12只, 分别为正常组、模型组、阳性对照组、健脾化湿颗粒低剂量组、健脾化湿颗粒中剂量组、健脾化湿颗粒高剂量组.

**1.2.2 建立D-IBS大鼠模型<sup>[6]</sup>:** 适应性饲养1 wk后开始造模: 各组大鼠实验前禁食12 h, 自由饮水, 除正常组外, 其余各组大鼠分别予以番泻叶煎剂( $0.3\text{ g/mL}$ )灌胃, 灌胃剂量为( $10\text{ mL/kg}$ )<sup>[7]</sup>, 1次/d, 连续灌胃14 d. 14 d后在灌服完番泻叶煎剂后即使用透明胶带束缚大鼠的前上肢, 胸部及肩部1 h, 1次/d, 再持续14 d, 正常组全程只予以生理盐水灌胃, 灌胃剂量为( $10\text{ mL/kg}$ ).

**1.2.3 给药处理:** 正常组: 每日只予以生理盐水灌胃; 模型组: 2 wk后在灌服番泻叶后60 min予以生理盐水灌胃; 阳性对照组: 2 wk后在灌服番泻叶后60 min予以得舒特( $3\text{ mg/mL}$ )灌胃; 低、中、高剂量组: 2 wk后在灌服番泻叶后60 min分别予以健脾化湿颗粒0.25、0.5、1.0灌胃. 给药剂量均为 $10\text{ mL/kg}$ , 持续给药2 wk.

**1.2.4 观察指标:** (1)结肠运动指数<sup>[8]</sup>: 将压力换能器与四导生理记录仪相连, 用注射器注满水, 排净气泡, 将自制的橡胶小囊与塑料导管(直径2 mm)相连, 并用手术线扎紧, 用注射器注满水, 排净气泡, 将导管与三通管(一端连接压力换能器, 另一端连接1 mL注射器)相连接, 整个管路密闭. 大鼠实验前禁食24 h, 自由饮水, 实验时, 在大鼠肛门内滴两滴液体石蜡, 轻轻地将用液体石蜡润滑的橡胶小囊及导管经大鼠肛门插入肠道7 cm处, 用医用胶布把导管固定于大鼠尾根处, 防止滑脱, 缓慢地向橡胶小囊内注水, 一边注水一边观察记录仪描记情况, 当达到最适前负荷(即描记曲线最灵敏)时, 停止注水, 稳定30 min, 描记30 min. 分别观察建模前(d0)、建模7 d(d7)、建模14 d(d14)、药物干预7 d(d21)、药物干预14 d(d28)不同实验阶段大鼠的结肠运动曲线, 计算5 min内的结肠运动指数(用记录仪自带软件计算曲线下面积), 取其均值; (2)免疫组织化学法检测各组大鼠脊髓腰膨大、前额叶皮质、海马和下丘脑中c-fos的表达: 各组大鼠最后1次描记结肠运动后, 腹腔注射10%水合氯醛麻醉处死, 立即取出腰膨大段脊髓和脑组织, 放入4%多聚甲醛中固定. 常规石蜡包埋, 切片, 片厚 $5\text{ }\mu\text{m}$ ; 常规脱蜡至水; 抗原修复, 滴加内源性过氧化物酶

## ■ 创新盘点

本文通过用健脾化湿颗粒干预D-IBS模型大鼠, 验证其改善结肠运动的作用, 并初步揭示了其作用机制可能与调节脑肠肽c-fos有关.

应用要点

健脾化湿颗粒源于临床常用方, 具有理气健脾, 给湿止泻的作用, 适用于D-IBS, 本文为该方临床治疗D-IBS提供了理论依据。

表 1 健脾化湿颗粒对各组大鼠结肠运动的影响 (n = 8, mean ± SD)

分组	剂量 (g/kg)	结肠运动指数(mmHg·S)				
		d0	d7	d14	d21	d28
正常组	—	562.93 ± 52.47	563.73 ± 53.30	569.29 ± 54.41	573.87 ± 52.91	574.78 ± 53.33
模型组	—	551.49 ± 51.13	773.28 ± 84.76 <sup>b</sup>	866.95 ± 93.95 <sup>b</sup>	928.40 ± 88.89	939.01 ± 91.96
低剂量组	2.50	570.53 ± 59.10	784.20 ± 70.00 <sup>b</sup>	891.34 ± 90.65 <sup>b</sup>	871.50 ± 60.00 <sup>f</sup>	856.46 ± 76.72
中剂量组	5.00	580.55 ± 53.04	795.57 ± 81.56 <sup>b</sup>	901.39 ± 94.86 <sup>b</sup>	851.86 ± 88.77 <sup>f</sup>	731.91 ± 67.34 <sup>d</sup>
高剂量组	10.00	577.76 ± 63.25	776.40 ± 90.13 <sup>b</sup>	898.22 ± 100.27 <sup>b</sup>	826.90 ± 71.11 <sup>f</sup>	695.20 ± 80.58 <sup>de</sup>
阳性药组	0.03	563.94 ± 64.60	768.46 ± 72.35 <sup>b</sup>	885.30 ± 97.64 <sup>b</sup>	722.80 ± 67.85 <sup>d</sup>	784.87 ± 81.61 <sup>d</sup>

<sup>b</sup>P<0.01 vs 正常组; <sup>d</sup>P<0.01 vs 模型组; <sup>e</sup>P<0.05, <sup>f</sup>P<0.01 vs 阳性药组。

封闭液, 37 ℃孵育15 min; 滴加山羊血清封闭, 滴加稀释抗体(c-fos以1 : 150比例稀释, 用PBS替代一抗作为阴性对照), 4 ℃过夜; 滴加二抗, 37 ℃孵育30 min; 滴加HRP标记的链霉亲和素, 孵育15 min, DAB显色, 苏木素复染, 1%盐酸乙醇分化数秒, 镜下控制, 自来水返蓝, 脱水、透明, 中性树胶封片; (3)ELISA法检测各组大鼠脊髓腰膨大和海马中c-fos的含量: 各组大鼠结肠运动描记后, 腹腔注射10%水合氯醛麻醉处死, 迅速取出腰膨大段脊髓和海马组织, 切割样本后, 称取重量。加入一定量的PBS(pH 7.4), -80 ℃保存备用。实验时加入一定量的PBS(pH 7.4), 用匀浆器将样本匀浆充分, 离心20 min(2000-3000 r/min), 用微量移液器仔细收集上清。按照ELISA试剂盒说明书操作。计算出样品浓度, 再乘以稀释倍数, 即为样品的实际浓度。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件处理, 所有结果用mean±SD表示, 各组间差异的比较采用单因素方差分析, 两两比较方差齐者采用LSD检验, 方差不齐者采用Dunnett's T3检验, 以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

**2.1 各组大鼠结肠运动指数变化** 由表1可知, 建模前, 各组大鼠结肠运动差异无统计学意义(P>0.05)。建模后(d7, d14), 各建模组与正常组比较, 大鼠结肠运动指数显著增加(P<0.01), 提示建模成功。药物干预7 d(d21), 与模型组相比, 健脾化湿颗粒各剂量组大鼠结肠运动差异无统计学意义(P>0.05), 而阳性对照组大鼠结肠运动显著降低(P<0.01); 药物干预14 d(d28), 各治疗组大鼠结肠运动指数均降低, 健脾化湿颗粒中、高剂量组和阳性对照组差异有统计学

意义(P<0.01), 而低剂量组差异无统计学意义(P>0.05); 中、高剂量组与低剂量组相比差异有统计学意义(P<0.01), 高剂量组与阳性对照组比较差异有统计学意义(P<0.05)。

**2.2 免疫组织化学法检测各组大鼠腰膨大段脊髓、前额叶皮质、海马和下丘脑中c-fos的表达** 由表2可知, 与正常相比, 模型组大鼠脊髓背角、前额叶皮质、海马和下丘脑中c-fos的阳性表达均显著升高(P<0.01)。与模型组相比, 各治疗组c-fos的阳性表达均有不同程度的降低, 中、高剂量组与阳性对照组脊髓背角、前额叶皮质、海马和下丘脑中c-fos的阳性表达均显著降低(P<0.05, P<0.01), 低剂量组前额叶皮质、海马中c-fos的阳性表达亦降低显著(P<0.05, P<0.01); 与阳性对照组相比, 中、高剂量组脊髓背角、前额叶皮质、海马和下丘脑中c-fos的阳性表达均显著降低(P<0.05, P<0.01), 低剂量组脊髓背角中c-fos的阳性表达显著升高(P<0.05)。

**2.3 ELISA法检测各组大鼠脊髓腰膨大和海马中c-fos的含量** 结果显示, 与正常组相比, 模型组大鼠脊髓和海马中c-fos含量显著增加(P<0.01)。与模型组相比, 除低剂量组外, 其他各治疗组脊髓和海马中的c-fos含量均显著降低(P<0.05, P<0.01)。与阳性对照组相比, 高剂量组脊髓和海马中的含量均显著降低(P<0.05); 低剂量组海马中c-fos的含量显著升高(P<0.05)(表3)。

3 讨论

中医中无IBS之病症名, 多归属于“郁证”、“泄泻”、“痛泻”“便秘”等范畴。认为本病多由于饮食不节、情志失调、外邪内侵等原因, 导致肝气郁结日久, 疏泄不利, 横逆犯脾, 木强而土弱, 脾胃运化失权, 升降失

表 2 各组大鼠脊髓与脑中c-fos的表达 (mean ± SD)

分组	剂量(g/kg)	脊髓	前额叶皮质	海马	下丘脑
正常组	—	0.08 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.01
模型组	—	0.25 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.15 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.23 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.16 ± 0.02 <sup>b</sup>
低剂量组	2.50	0.23 ± 0.03 <sup>e</sup>	0.13 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.19 ± 0.01 <sup>d</sup>	0.15 ± 0.01
中剂量组	5.00	0.14 ± 0.02 <sup>de</sup>	0.11 ± 0.01 <sup>de</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>de</sup>	0.12 ± 0.01 <sup>de</sup>
高剂量组	10.00	0.10 ± 0.01 <sup>df</sup>	0.09 ± 0.02 <sup>de</sup>	0.12 ± 0.01 <sup>df</sup>	0.09 ± 0.01 <sup>df</sup>
阳性药组	0.03	0.20 ± 0.02 <sup>d</sup>	0.13 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.18 ± 0.01 <sup>d</sup>	0.14 ± 0.01 <sup>c</sup>

<sup>b</sup>*P*<0.01 vs 正常组; <sup>c</sup>*P*<0.05, <sup>d</sup>*P*<0.01 vs 模型组; <sup>e</sup>*P*<0.05, <sup>f</sup>*P*<0.01 vs 阳性药组。

表 3 ELISA法检测各组大鼠脊髓及海马中c-fos含量 (mean ± SD, ng/mL)

分组	剂量(g/kg)	脊髓	海马
正常组	—	11.10 ± 2.59	5.38 ± 0.88
模型组	—	19.68 ± 1.17 <sup>b</sup>	12.32 ± 1.22 <sup>b</sup>
低剂量组	2.50	17.92 ± 1.87	11.29 ± 1.04 <sup>e</sup>
中剂量组	5.00	16.02 ± 1.58 <sup>d</sup>	8.53 ± 2.05 <sup>d</sup>
高剂量组	10.00	15.62 ± 1.64 <sup>de</sup>	7.28 ± 1.54 <sup>de</sup>
阳性药组	0.03	17.41 ± 1.40 <sup>c</sup>	9.26 ± 1.30 <sup>d</sup>

<sup>b</sup>*P*<0.01 vs 正常组; <sup>c</sup>*P*<0.05, <sup>d</sup>*P*<0.01 vs 模型组; <sup>e</sup>*P*<0.05 vs 阳性药组。

# 名词解释

即刻早期基因: 细胞在受到外部刺激后最先表达的一组基因。c-fos是其中一种, 大部存在于中枢神经系统中, 在肠道亦有分布, 可由多种刺激如光线刺激、机械刺激、缺氧、疼痛刺激等诱导表达。

调, 肠道气机不畅, 传导失司而发病。健脾化湿颗粒由炙黄芪、益智仁、炒白术、茯苓、砂仁、乌药、陈皮、炒白芍、防风、炙甘草10味中药组成, 其中包含痛泻要方成分。全方紧紧抓住泄泻的病机“脾虚”、“湿胜”这两个核心环节, 传统汤剂有三十多年的临床应用经验, 适用于D-IBS, 症见腹泻、腹痛、肠鸣、五更泻等, 经临床观察, 疗效显著。健脾化湿颗粒是在中医理论指导下, 结合古方与现代工艺制备而成, 且颗粒剂用量小、服用方便。前期实验已证明本方对D-IBS模型大鼠有很好的治疗效果, 能够改善结肠运动功能和腹泻症状<sup>[9]</sup>。本实验在前期研究基础上, 采用番泻叶灌胃结合束缚应激法制备D-IBS大鼠模型, 采用水囊法在大鼠清醒状态下动态记录实验过程中不同时间点大鼠结肠运动曲线, 计算结肠运动指数。研究发现, 建模后, 除正常组外, 各建模组大鼠结肠运动指数明显增加, 与正常组比较差异有统计学意义, 说明经建模后各组大鼠的结肠运动亢进, 这种造模的方法能够较好的模拟人类D-IBS患者肠道动力异常的发病特点。用不同剂量健脾化湿颗粒进行干预, 并与阳性对照药得舒特进行对比, 发现中、高剂量组可以

显著降低D-IBS大鼠的结肠运动指数, 且高剂量组优于得舒特组, 提示健脾化湿颗粒大剂量对D-IBS模型大鼠的结肠运动功能有很好的改善作用。

c-fos是即刻早期基因(immediate early genes, IEGs)的一种, 大部存在于中枢神经系统中, 在肠道亦有分布, 又被称为原癌基因或快速反应基因。IEGs是指细胞在受到外部刺激后最先表达的一组基因。正常情况下, c-fos基因在许多种类的细胞中处于低表达水平甚至不表达, 参与神经细胞的发育、生长、记忆和信息的传递过程<sup>[10]</sup>, 并且也是细胞对外界刺激-转录耦连的参与物。实验证实, 多种刺激如光线刺激、机械刺激、缺氧、疼痛刺激等均可诱导中枢神经系统中c-fos基因的表达<sup>[11-13]</sup>, 慢性心理应激及药物诱导可致c-fos在大鼠海马、大脑皮质、和纹状体阳性表达, 其中以海马最为密集<sup>[14]</sup>, 说明c-fos在介导药物调控心理应激反应及抗应激损伤中发挥着重要的作用, 其表达水平的变化可能是用药的作用环节, 也说明c-fos是调控心理应激反应和抗应激损伤的作用靶点之一。c-fos的表达与IBS的肠道运动和内脏高敏感存在一定的联系。研究<sup>[15]</sup>发现,

# ■ 同行评价

本研究立意有依据, 研究设计严谨, 动物制模规范, 分组对照合理, 结果可信, 论点明确, 对腹泻型IBS的临床和机制研究有参考意义。

D-IBS模型大鼠脊髓c-fos阳性神经元明显高于正常组, 表明IBS模型大鼠的脊髓神经元的功能受到部分影响, 在胃肠感觉和运动的神经反射弧传递敏感性调节中起一定的作用。另有研究<sup>[16]</sup>表明, IBS患者焦虑、抑郁等负性情感与结肠黏膜的c-fos表达相关。

本实验中, 采用免疫组织化学法检测各组大鼠脊髓腰膨大和大脑-边缘系统中前额叶皮质、海马、下丘脑中c-fos的阳性表达, 采用ELISA法检测各组大鼠脊髓腰膨大和边缘系统中重要区域海马中c-fos的含量, 结果显示, 模型组大鼠脊髓和脑中c-fos的阳性表达和含量均较正常组显著增加, 说明D-IBS模型大鼠体内存在c-fos水平升高的病理状态, 经治疗后, 各治疗组大鼠中枢c-fos有不同程度的改善, 得舒特显示出近期疗效好而远期效果欠佳的特点; 而健脾化湿颗粒则是远期疗效确切, 尤其是中高剂量组在疗效上优于得舒特。由此我们推测: c-fos升高有可能使大鼠对应激的反应能力增强、内脏敏感性增高、胃肠运动亢进, 从而产生腹痛、腹泻等肠道激惹症状, 健脾化湿颗粒可能通过降低中枢c-fos而产生治疗D-IBS的作用。

## 4 参考文献

- 熊理守, 陈旻湖, 陈惠新, 许岸高, 胡品津. 社会人群中肠易激综合征的症状学特征. 胃肠病学 2004; 9: 277-279
- Grundmann O, Yoon SL. Irritable bowel syndrome: epidemiology, diagnosis and treatment: an update for health-care practitioners. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 691-699 [PMID: 20074154 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06120.x]
- Chang FY, Lu CL. Irritable bowel syndrome in the 21st century: perspectives from Asia or South-east Asia. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 4-12 [PMID: 17201873]

- 付朝伟, 徐庵, 陈维清. 中国十大城市常见消化系统疾病患者抑郁、焦虑现况调查. 继续医学教育 2007; 21: 20-22
- Ait-Belgnaoui A, Eutamene H, Houdeau E, Bueno L, Fioramonti J, Theodorou V. Lactobacillus farciminis treatment attenuates stress-induced overexpression of Fos protein in spinal and supraspinal sites after colorectal distension in rats. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 567-573, e18-e19 [PMID: 19309441 DOI: 10.1111/j.1365-2982]
- 徐海珍, 谢建群, 施斌, 张涛. 腹泻型肠易激综合征大鼠结肠黏膜炎性细胞因子的表达及温中健脾方对其影响的研究. 上海中医药杂志 2007; 14: 69-72
- 王迎寒, 刘玉玲, 陈光辉, 张晓峰. 健脾化湿颗粒对IBS模型大鼠血浆胃动素的影响. 承德医学院学报 2010; 27: 239-241
- 王迎寒, 周淑媛, 王娅杰, 巩子鹏, 杨庆, 阚晓溪, 阮从满, 张瑞杰, 朱晓新. 戊己丸不同配伍方对炎症后肠易激综合征模型大鼠结肠运动及5-羟色胺含量的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1226-1233
- 王迎寒, 刘玉玲, 陈光辉, 张晓峰. 健脾化湿颗粒对IBS模型大鼠小肠运动的影响. 实验动物科学 2009; 26: 26-29
- 尹士优, 胡淑萍. 运动与杏仁核原癌基因c-fos的研究综述. 山西师范大学体育学院学报 2008; 23: 133
- 程景丽. 脑缺血再灌注后c-fos基因表达与神经细胞凋亡关系的研究进展. 内蒙古医学杂志 2009; 41: 65
- Dawson AM. Origin of pain in the irritable bowel syndrome. In: Read NW d. Irritable bowel syndrome. Philadelphia: Grune & Stratton, 1985: 155-162
- Mönnikes H, Tebbe JJ, Hildebrandt M, Arck P, Osmanoglou E, Rose M, Klapp B, Wiedenmann B, Heymann-Mönnikes I. Role of stress in functional gastrointestinal disorders. Evidence for stress-induced alterations in gastrointestinal motility and sensitivity. *Dig Dis* 2001; 19: 201-211 [PMID: 11752838]
- 岳竹君, 李冬华, 白霞. 肠易激综合征模型大鼠不同脑区核团c-fos的蛋白表达. 时珍国医国药 2012; 23: 857-858
- 王运东, 张俊秀, 牛小平, 韩真. C-Fos在腹泻型肠易激综合征大鼠模型脊髓中的表达及意义. 国际消化病杂志 2010; 30: 50-53
- 张瑜, 卜平. 肠易激综合征患者负性情感与结肠CCK、c-fos相关性研究. 实用临床医药杂志 2010; 14: 29-33

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

