

· 基础研究 ·

肠安 I 号方对肝郁脾虚型腹泻型肠易激综合征
模型大鼠内脏高敏感的影响马祥雪¹ 吕 林¹ 杨 斌² 王凤云¹ 唐旭东³

摘要 目的 探讨肠安 I 号方对肝郁脾虚型腹泻型肠易激综合征 (IBS-D) 模型大鼠内脏敏感性的调节作用, 及其对腰骶段背根神经节 P 物质 (SP)、降钙素基因相关肽 (CGRP)、蛋白酶激活受体-2 (PAR-2)、瞬时受体电位香草酸受体 1 (TRPV1) 蛋白表达的影响。方法 将 60 只雄性 SD 大鼠随机分为正常组 (10 只) 和模型组 (50 只), 模型组采用新生母子分离叠加多重应激建立肝郁脾虚型 IBS-D 大鼠模型, 模型评价后将模型大鼠按照体重随机区组分为模型组、肠安 I 号方低剂量组、肠安 I 号方中剂量组、肠安 I 号方高剂量组及得舒特组, 每组 10 只, 连续灌胃 14 天, 正常组给予蒸馏水灌胃。采用腹壁回撤反射 (AWR) 评分评估大鼠内脏敏感性, 免疫组化方法检测脊髓背根神经节中 SP、CGRP、PAR-2 及 TRPV1 的表达, 并通过实时荧光定量 PCR 检测腰骶段背根神经节中 PAR-2 mRNA 及 TRPV1 mRNA 水平。结果 与正常组比较, 模型大鼠体重下降, 粪便含水量增多 ($P<0.05$); 与模型组比较, 肠安 I 号低、中、高剂量组体重增加, 粪便含水量减少 ($P<0.05$)。与正常组比较, 模型大鼠内脏敏感性升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 肠安 I 号方中、高剂量组及得舒特组大鼠内脏敏感性降低 ($P<0.05$), 肠安 I 号方各剂量组与得舒特组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。与正常组比较, 模型大鼠腰骶段背根神经节 PAR-2、TRPV1、SP、CGRP 蛋白表达升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 肠安 I 号方低、中、高剂量组 PAR-2、TRPV1、SP、CGRP 蛋白表达降低 ($P<0.05$); 与正常组比较, 模型组大鼠背根神经节 PAR-2 mRNA 和 TRPV1 mRNA 升高 ($P<0.05$); 肠安 I 号方低、中、高剂量组及得舒特组 PAR-2 mRNA 水平较模型组降低 ($P<0.05$), 肠安 I 号方高剂量组 TRPV1 mRNA 水平较模型组降低, 且低于得舒特组 ($P<0.05$)。结论 肝郁脾虚 IBS-D 模型大鼠内脏敏感性升高, 肠安 I 号方可改善模型大鼠内脏高敏感, 其机制与下调背根神经节中 SP、CGRP、PAR-2、TRPV1 蛋白表达, 及 PAR-2 mRNA 与 TRPV1 mRNA 水平有关。

关键词 腹泻型肠易激综合征; 肠安 I 号方; 内脏高敏感; 背根神经节

Effect of Chang'an I Formula on Visceral Hypersensitivity of IBS-D Model Rats with Gan Depression Pi Deficiency Syndrome

MA Xiang-xue¹, LV Lin¹, YANG Bin², WANG Feng-yun¹, and TANG Xu-dong³ 1 Department of Gastroenterology, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100091); 2 Department of Pathology, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100091); 3 China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100700)

ABSTRACT Objective To observe the interventional effect of Chang'an I Formula (CA1F) on visceral hypersensitivity of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) rat model of Gan depression Pi deficiency syndrome (GDPDS), and to study its effects on the expressions of substance P (SP), calcitonin gene related peptide (CGRP), proteinase activated receptor-2 (PAR-2), and transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) protein in the dorsal root ganglion. **Methods** Sixty male SD rats were randomly divided into a normal

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No.81804089, No. 81774303); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金 (No. ZZ13-YQ-003)

作者单位: 1. 中国中医科学院西苑医院脾胃病科 (北京 100091); 2. 中国中医科学院西苑医院病理科 (北京 100091); 3. 中国中医科学院 (北京 100700)

通讯作者: 唐旭东, Tel: 010-64089801, Email: txdlly@sina.com

DOI: 10. 7661/j. cjm. 20201209. 328

group ($n=10$) and a model group ($n=50$). A rat model of IBS-D was established using a multi-stimulation paradigm, including neonatal maternal separation, and chronic unpredictable mild stress. At the end of modeling, the rats in the model group were divided into the model group, CA1F low, medium, high dose groups, and Dicetel group according to randomized body weight, 10 in each group. They were intragastrically administered for 14 successive days. Distilled water was given to rats in the normal group. Abdominal withdrawal reflex (AWR) score was used to evaluate the visceral sensitivity of rats. Immunohistochemical assay was used to detect the expressions of SP, CGRP, PAR-2, and TRPV1 in the spinal dorsal root ganglion, and Real-time PCR was used to detect PAR-2 mRNA and TRPV1 mRNA levels in the dorsal root ganglion. **Results** Compared with the normal group, model rats lost weight, increased water content in feces ($P<0.05$). Compared with the model group, rats in the low, medium and high dose CA1F groups gained weight and decreased fecal water content ($P<0.05$). Compared with the normal group, the visceral sensitivity increased in the model group ($P<0.05$). Compared with the model group, the visceral sensitivity decreased in the medium and high dose CA1F groups as well as Dicetel group ($P<0.05$). And there was no significant difference between each CA1F group and Dicetel group ($P>0.05$). Compared with the normal group, the expression levels of PAR-2, TRPV1, SP, and CGRP protein in the dorsal root ganglion increased in the model group ($P<0.05$). Compared with the model group, the expressions of PAR-2, TRPV1, SP, and CGRP protein decreased in each CA1F group ($P<0.05$). Compared with the normal group, the mRNA expressions of PAR-2 and TRPV1 in the dorsal root ganglion increased significantly in the model group ($P<0.05$). Compared with the model group, PAR-2 mRNA levels decreased in each dose CA1F group and Dicetel group ($P<0.05$). The TRPV1 mRNA level decreased more in the high dose CA1F group than in the model group, and it was lower than that in Dicetel group ($P<0.05$). **Conclusions** Visceral hypersensitivity existed in IBS-D rat model with GDPDS. CA1F improved the visceral hypersensitivity of model rats, and its mechanism might be related to down-regulating protein expressions of SP, CGRP, PAR-2 and TRPV1, and PAR-2 and TRPV1 mRNA expression levels in dorsal root ganglion.

KEYWORDS diarrhea predominant irritable bowel syndrome; Chang'an I Formula; visceral hypersensitivity; dorsal root ganglion

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 是临床常见的功能性肠道疾病, 以反复发作的腹痛、排便习惯改变, 伴大便性状异常为主要临床特征^[1], 症状的范围、持续时间和严重程度可致患者从生活工作不便到丧失能力不等, 其诊断和治疗一直是全球医疗系统面临的挑战。腹泻型肠易激综合征 (diarrhea-predominant IBS, IBS-D) 是 IBS 最常见的临床亚型^[2]。内脏高敏感, 即肠道对刺激的感受性增强, 是 IBS-D 腹痛、腹胀等腹部不适症状发生的核心病理生理机制^[3], 在 IBS-D 症状发生和疾病发展中起着重要作用。目前, 单一的药物治疗难以解决 IBS-D 所有症状, 中药复方通过辨证论治在 IBS-D 的治疗上具有一定的优势和特色。

IBS-D 属中医学“泄泻”“腹痛”等范畴, 肝脾不和是 IBS-D 的主要病机, 肝脾同治是 IBS 疾病治疗的重要特点^[4]。肠安 I 号方^[5]是中国中医科学院唐旭东教授治疗 IBS-D 的经验方, 具有疏肝健脾、温阳固涩之效。课题组前期临床研究表明肠安 I 号方可以改善患者腹痛、腹部不适及腹泻症状, 提高患

者的生活质量^[6]。前期动物实验结果表明肠安 I 号方可以提高 IBS-D 模型大鼠的对伤害性刺激的感受阈值^[7], 与其下调蛋白酶激活受体-2 (proteinase activated receptor-2, PAR-2)、辣椒素受体 (transient receptor potential vanilloid 1, TRPV1)、神经递质 P 物质 (substance P, SP) 及降钙素基因相关肽 (calcitonin gene related peptide, CGRP) 在模型大鼠近端结肠组织的表达水平有关。在此基础上, 本研究聚焦于肠安 I 号方对内脏传入神经元胞体所在脊髓背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 中 PAR-2、TRPV1、SP 及 CGRP 的影响, 以期更为全面的阐释肠安 I 号方的作用机制。

材料与方法

1 动物 1 日龄 SD 乳鼠 10 窝 (每窝为 1 只母鼠带 6 只雄性乳鼠), SPF 级, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 许可证号为: SCXK (京) 2012-0001。动物饲养于中国中医科学院西苑医院 SPF 级动物实验中心, 动物房内温度 22~25 ℃,

相对湿度 60%，食物及饮水供应充足。本实验通过中国中医科学院西苑医院医学伦理委员会审查 (No.2019XLC001-2)。

2 药物 肠安 I 号方 (黄芪 9 g 炒白术 9 g 炒白芍 12 g 防风 4.5 g 黄连 3 g 炮姜炭 6 g 炙甘草 6 g 等 11 味中药) 浸膏粉由中国中医科学院西苑医院制剂室制备^[8,9]，每克干粉相当于 3.86 g 生药，室温保存。匹维溴铵片 (得舒特，法国苏威，批号：636859，每片 50 mg)。

3 主要试剂与仪器 医用石蜡、无水乙醇、4% 多聚甲醛、二甲苯、苏木素-伊红染色液及中性树胶等由中国中医科学院西苑医院病理科提供。Trizol 总 RNA 提取试剂 (北京天根生化科技有限公司，DP405-02)；PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser (TaKaRa Bio, RR047B)；SYBR Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) (TaKaRa Bio, RR82LR)；Anti-CGRP antibody (Abcam, ab81887)；Anti-PAR-2 antibody (Abcam, ab180953)；Anti-SP antibody (Abcam, ab14184)；Anti-TRPV1 antibody (Abcam, ab31895)。荧光定量 PCR 仪 (Applied Biosystems, ABI7500)，光学显微镜 (奥林巴斯，BX51)。

4 模型建立、分组及给药 参考文献 [10]，采用新生母子分离叠加多重应激建立肝郁脾虚 IBS-D 大鼠模型，正常组不予分离，不予应激，正常饲养。模型评价后，按照体重采用随机区组分组方法分为模型组，肠安 I 号方低、中、高剂量组及得舒特组，每组 10 只。按照《药理实验方法学》^[11] 根据体重换算给药剂量，肠安 I 号方低、中、高剂量组分别以肠安 I 号低剂量 (1.15 g/kg)、肠安 I 号中剂量 (2.30 g/kg)、肠安 I 号高剂量组 (4.60 g/kg) 灌胃，得舒特组予得舒特 15.75 mg/kg 灌胃，正常组与模型组予蒸馏水灌胃，连续 14 天，每天 1 次，给药体积为 1 mL/100 g 体重。给药期间每隔 2 天上午 9:00 测量大鼠体重，根据体重调整药量。

5 体重测量 各组大鼠于给药前、给药 14 天分别称重，比较各组大鼠的体重差异。

6 粪便含水量检测 分别于给药前、给药 14 天进行，将大鼠放入代谢笼中，每笼一只，收集 24 h 大鼠粪便，称重并记录粪便湿重。然后应用烘干机将粪便烘干，称重，记录粪便干重。粪便含水量 (%) = (粪便湿重 - 粪便干重) / 粪便湿重 × 100%。

7 内脏敏感性评估 采用腹壁回撤反射实验 (abdominal withdrawal reflex, AWR)^[12] 进行内脏

敏感性评估。大鼠实验前禁食不禁水 24 h，在清醒状态下将涂石蜡的带气囊的导尿管经肛门插入约 8 cm，在肛门处用医用纸胶带将其固定在大鼠尾根部。然后将其放在特制的透明塑料笼内，待其完全平静后，慢慢向气囊内用 2 mL 注射器注水，观察大鼠腹壁对肠腔球囊扩张刺激的反应。大鼠出现腹背部肌肉较强烈收缩并把腹部抬离地面 (AWR 评分为 3 分) 时，记录注水量。每只大鼠测 3 次，每次间隔 5 min。

8 取材 给药 14 天后分别称重记录，4% 水合氯醛腹腔注射麻醉。剪开大鼠背部皮肤，暴露并剥离脊髓后，可以看到位于侧孔下的神经节及连带的神经，小心摘取两侧 L6-S1 段的背根神经节，将标本分别放入 4% 多聚甲醛固定或直接放入冻存管。经 4% 多聚甲醛固定的组织石蜡包埋后连续切片，用于常规病理组织学和免疫组织化学检测。放入冻存管的组织置于 -80 ℃ 冰箱备用。

9 免疫组化测定大鼠腰骶段背根神经节 PAR-2、TRPV1、SP 与 CGRP 表达 切片常规脱蜡至水洗，置于含柠檬酸钠高压锅中抗原修复；内源性过氧化物酶封闭液 50 μL 避光室温孵育，PBS 冲洗；滴加正常山羊血清室温封闭 60 min，PBS 冲洗；分别滴加一抗，浓度均为 1:200，4 ℃ 过夜，PBS 冲洗；滴加二抗工作液，室温孵育 60 min，PBS 冲洗；加入 DAB 显色液至显微镜下见组织显色后终止显色；苏木素复染，PBS 冲洗，梯度酒精脱水至二甲苯透明，中性树脂封固。采用数字显微摄像系统对每张切片进行图像采集，每张切片随机选取 3 个视野 (×200) 拍照。应用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统对免疫阳性区域平均光密度值进行分析。

10 腰骶段背根神经节 PAR-2、TRPV1 mRNA 表达检测 Real time PCR 引物均在北京 Invitrogen 公司合成。采用 Trizol 总 RNA 提取试剂提取样本 RNA，采用 PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser 进行 cDNA 反转录，Realtime PCR 仪上进行 PCR 反应，95 ℃，30 s；40 个 PCR 循环 (95 ℃，5 s；60 ℃，40 s)。

表 1 引物序列

基因名称	引物序列 (5'-3')	产物大小 (bp)
PAR-2	上游 ATGGCAACGACTGGACCTAT	261
	下游 TGATGTTCAAGGCTGGAATGT	
TRPV1	上游 GAGATCCATGAACCCGAGTGCCGAC	201
	下游 CGGTTAGGGGTCTCACTGCTGCTGT	
GAPDH	上游 CCTTCCGTGTTCTACCCC	131
	下游 GCCCAGGATGCCCTTTAGTG	

11 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件, 数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据满足正态分布, 方差齐性, 用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 两两比较用 LSD 法, 数据不满足正态分布和方差齐性则采用非参数检验中多个独立样本 Kruskal-Wallis H 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠给药前后体重比较 (表 2) 给药前正常组体重大于其他各组 ($P < 0.05$), 模型组、肠安 I 号方低、中、高剂量组和得舒特组大鼠比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。给药后, 模型组体重低于正常组 ($P < 0.05$); 肠安 I 号低、中、高剂量组大鼠体重大于模型组、得舒特组 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠给药前后体重比较 ($g, \bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	给药前	给药后
正常	10	512.21 ± 78.24	569.89 ± 43.38
模型	10	454.93 ± 36.66*	502.47 ± 25.10*
肠安 I 号方低剂量	10	447.64 ± 49.47*	564.85 ± 21.78 [△] ▲
肠安 I 号方中剂量	10	455.90 ± 37.20*	561.66 ± 24.63 [△] ▲
肠安 I 号方高剂量	10	444.75 ± 54.42*	561.77 ± 53.28 [△] ▲
得舒特	10	454.27 ± 39.05*	534.77 ± 51.87

注: 与正常组同期比较, * $P < 0.05$; 与模型组同期比较, [△] $P < 0.05$; 与得舒特组同期比较, ▲ $P < 0.05$

2 各组大鼠给药前后粪便含水量比较 (表 3) 给药前, 模型组粪便含水量高于正常组 ($P < 0.05$); 给药后, 模型组大鼠粪便含水量高于正常组 ($P < 0.05$), 肠安 I 号方低、中、高剂量组及得舒特组粪便含水量较模型组减少 ($P < 0.05$), 肠安 I 号方中剂量组粪便含水量少于得舒特组 ($P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠给药前后粪便含水量比较 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	给药前	给药后
正常	10	42.60 ± 5.31	42.20 ± 7.19
模型	10	50.60 ± 7.82*	55.80 ± 7.16*
肠安 I 号方低剂量	10	46.00 ± 5.20	44.40 ± 5.64 [△]
肠安 I 号方中剂量	10	45.40 ± 4.59	41.60 ± 4.29 [△] ▲
肠安 I 号方高剂量	10	46.50 ± 5.62	43.40 ± 6.20 [△]
得舒特	10	47.40 ± 8.94	48.80 ± 8.49 [△]

注: 与正常组同期比较, * $P < 0.05$; 与模型组同期比较, [△] $P < 0.05$, 与得舒特组同期比较, ▲ $P < 0.05$

3 各组 AWR 结果比较 (表 4) AWR 评分为 3 分时, 模型组导管内为扩张球囊所注射的水量显

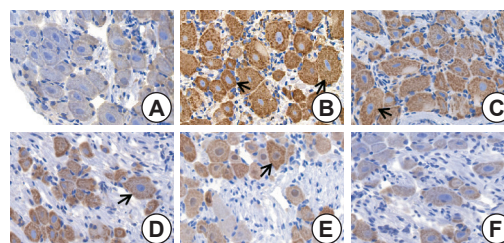
著小于正常组 ($P < 0.05$); 肠安 I 号方中、高剂量组, 得舒特组注射水量大于模型组 ($P < 0.05$)。肠安 I 号方各剂量组与得舒特组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 4 各组大鼠给药前后 AWR 结果比较 ($mL, \bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	给药前	给药后	给药后 - 给药前差值
正常	10	0.72 ± 0.11	0.78 ± 0.08	0.05 ± 0.11
模型	10	0.55 ± 0.07*	0.59 ± 0.06*	0.03 ± 0.10
肠安 I 号方低剂量	10	0.56 ± 0.08	0.69 ± 0.07	0.12 ± 0.05
肠安 I 号方中剂量	10	0.60 ± 0.04	0.78 ± 0.15 [△]	0.18 ± 0.14
肠安 I 号方高剂量	10	0.60 ± 0.07	0.72 ± 0.08 [△]	0.12 ± 0.08
得舒特	10	0.64 ± 0.09	0.71 ± 0.08 [△]	0.07 ± 0.06

注: 与正常组同期比较, * $P < 0.05$; 与模型组同期比较, [△] $P < 0.05$

4 各组大鼠腰骶段背根神经节中 SP、CGRP、PAR-2、TRPV1 表达比较 (图 1~4, 表 5) 免疫组化结果显示, SP 阳性细胞的细胞质中可以观察到有染成棕黄色的颗粒, 模型组平均光密度值大于正常组 ($P < 0.05$); 肠安 I 号方低、中、高剂量组平均光密度值低于模型组 ($P < 0.05$), 且肠安 I 号方中、高剂量组平均光密度值低于得舒特组 ($P < 0.05$)。



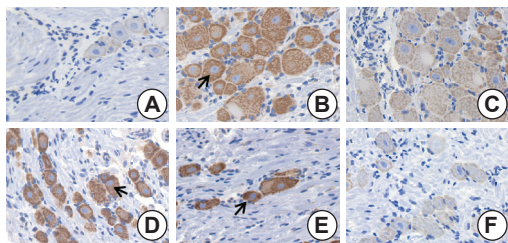
注: A 为正常组; B 为模型组; C 为得舒特组; D 为肠安 I 号方低剂量组; E 为肠安 I 号方中剂量组; F 为肠安 I 号方高剂量组; 箭头指 SP 阳性表达

图 1 各组大鼠 DRG 中 SP 表达 (DAB 显色, $\times 200$)

CGRP 阳性细胞的细胞质中可以观察到有染成棕黄色的颗粒, 模型组 CGRP 平均光密度值大于正常组 ($P < 0.05$); 肠安 I 号方低、中、高剂量组及得舒特组平均光密度值低于模型组 ($P < 0.05$), 且肠安 I 号方高剂量组平均光密度值均低于得舒特组 ($P < 0.05$)。

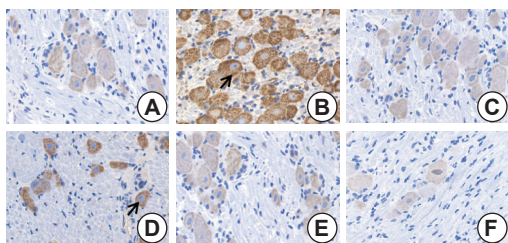
TRPV1 在模型组平均光密度值大于正常组 ($P < 0.05$), 肠安 I 号方低、中、高剂量组及得舒特组平均光密度值低于模型组 ($P < 0.05$), 且肠安 I 号方高剂量组平均光密度值低于得舒特组 ($P < 0.05$)。

模型组 PAR-2 平均光密度值大于正常组 ($P < 0.05$), 肠安 I 号方低、中、高剂量组及得舒特组平均光密度值低于模型组 ($P < 0.05$), 肠安 I 号方



注: A 为正常组; B 为模型组; C 为得舒特组; D 为肠安 I 号方低剂量组; E 为肠安 I 号方中剂量组; F 为肠安 I 号方高剂量组; 箭头指示为 CGRP 阳性表达

图 2 各组大鼠 DRG 中 CGRP 表达 (DAB 显色, $\times 200$)



注: A 为正常组; B 为模型组; C 为得舒特组; D 为肠安 I 号方低剂量组; E 为肠安 I 号方中剂量组; F 为肠安 I 号方高剂量组; 箭头指示为 TRPV1 阳性表达

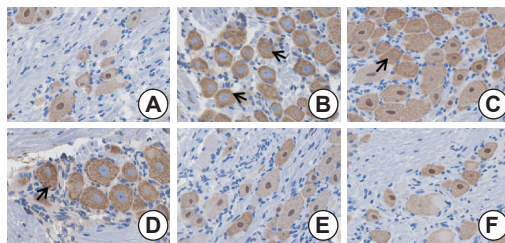
图 3 各组大鼠 DRG 中 TRPV1 表达 (DAB 显色, $\times 200$)

高剂量组平均光密度值低于其余给药各组 ($P<0.05$)。

5 各组大鼠腰骶段背 DRG 中 PAR-2 mRNA、TRPV1 mRNA 表达比较 (表 6) 模型组大鼠背根神经节中 PAR-2 mRNA 和 TRPV1 mRNA 较正常组明显升高 ($P<0.05$); 肠安 I 号方各剂量组及得舒特组 PAR-2 mRNA 水平较模型组明显降低 ($P<0.05$)。肠安 I 号方高剂量组 TRPV1 mRNA 水平较模型组降低, 且低于得舒特组 ($P<0.05$)。

讨论

内脏高敏感, 即内脏对外界刺激敏感性增强, 反应性提高, 对生理性刺激感觉不适, 或对伤害性刺激反应过激的现象, 包括感觉异常和感觉过敏, IBS-D 腹痛、腹胀等腹部不适症状发生的核心病理生理机



注: A 为正常组; B 为模型组; C 为得舒特组; D 为肠安 I 号方低剂量组; E 为肠安 I 号方中剂量组; F 为肠安 I 号方高剂量组; 箭头指示为 PAR-2 阳性表达

图 4 各组大鼠 DRG 中 PAR-2 表达 (DAB 显色, $\times 200$)

表 6 各组大鼠腰骶段背根神经节 PAR-2 mRNA、TRPV1 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PAR-2 mRNA	TRPV1 mRNA
正常	3	1.420 ± 0.434	0.867 ± 0.221
模型	3	$3.993 \pm 1.197^*$	$1.077 \pm 0.668^*$
肠安 I 号方低剂量	3	$1.722 \pm 1.005^\Delta$	0.789 ± 0.156
肠安 I 号方中剂量	3	$1.406 \pm 0.204^\Delta$	0.699 ± 0.179
肠安 I 号方高剂量	3	$0.735 \pm 0.351^\Delta$	$0.499 \pm 0.140^{\Delta\Delta}$
得舒特	3	$1.140 \pm 0.123^\Delta$	0.751 ± 0.207

注: 与正常组比较, $^*P<0.05$; 与模型组比较, $^\Delta P<0.05$; 与得舒特组比较, $^{\Delta\Delta}P<0.05$

制, 在 IBS-D 症状发生和疾病发展中起着重要作用。肠道感觉除受肠神经系统的调节, 尚受内脏感觉神经影响。结直肠的感觉信息通过肠道初级传入神经纤维到达中枢神经系统。这些传入神经纤维的胞体位于脊髓的 DRG, 能将周围神经获得的感觉信息传至中枢。DRG 神经元中感受并传递伤害性信息的神经元被称为伤害性感受器, 其在外周致痛因子激活或敏化作用下, 产生痛觉过敏, 其形态学和电生理学特性的变化是疼痛研究的重要指标。

PAR-2 活化在内脏超敏中扮演着重要角色^[13-15], 在 PAR-2 激活后伤害性感受神经元可释放 SP 和 CGRP。SP 是参与疼痛信息的传递的兴奋性神经递质^[16]。CGRP 与 SP 共存于外周感觉传入神经中, 能直接产生伤害性作用, 尚能通过调控 SP 的释

表 5 各组大鼠腰骶段背根神经节 PAR-2、TRPV1、SP 及 CGRP 平均光密度值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SP	CGRP	TRPV1	PAR-2
正常	3	0.147 ± 0.038	0.170 ± 0.031	0.159 ± 0.016	0.179 ± 0.036
模型	3	$0.188 \pm 0.038^*$	$0.241 \pm 0.022^*$	$0.215 \pm 0.017^*$	$0.207 \pm 0.043^*$
肠安 I 号方低剂量	3	$0.163 \pm 0.034^\Delta$	$0.181 \pm 0.031^\Delta$	$0.194 \pm 0.046^\Delta$	0.174 ± 0.018
肠安 I 号方中剂量	3	$0.165 \pm 0.034^{\Delta\Delta}$	$0.180 \pm 0.015^\Delta$	$0.165 \pm 0.042^\Delta$	$0.173 \pm 0.044^\Delta$
肠安 I 号方高剂量	3	$0.159 \pm 0.041^{\Delta\Delta}$	$0.173 \pm 0.031^{\Delta\Delta}$	$0.157 \pm 0.048^{\Delta\Delta}$	$0.166 \pm 0.024^{\Delta\Delta}$
得舒特	3	0.171 ± 0.020	$0.202 \pm 0.026^\Delta$	$0.185 \pm 0.030^\Delta$	$0.175 \pm 0.035^\Delta$

注: 与正常组比较, $^*P<0.05$; 与模型组比较, $^\Delta P<0.05$; 与得舒特组比较, $^{\Delta\Delta}P<0.05$

放、降解及作用时间参与内脏伤害性感觉的传送^[17]。临床研究发现, IBS 患者支配结肠的背根神经节中 TRPV1 表达明显高于健康人, 且与内脏高敏感存在明显的相关性^[18]。TRPV1 作为一种配体门控的非选择性阳离子通道, 与配体结合后, 通道开放, 阳离子 Ca^{2+} 从胞外进入胞内, 导致神经末梢去极化, 细胞的兴奋性发生改变, 产生动作电位, 释放神经肽类和兴奋性氨基酸, 如 SP、CGRP 等, 共同完成痛觉信息从外周向中枢神经的传递^[19]。通过动物对疼痛刺激的反应研究认为 TRPV1 对痛觉十分重要, 使用基因靶向技术敲除小鼠 TRPV1 基因后, 分离这些小鼠背根神经节中小型神经元细胞, 发现其在不同种系中均表现出对许多刺激原有反应缺失, 如辣椒素刺激、酸刺激、热刺激等, 从而证实 TRPV1 与感觉高敏的相关性^[20]。

肠安 I 号方由黄芪、炒白术、炒白芍、防风、炮姜炭、炙甘草等 11 味药物组成, 方中以炒白芍柔肝缓急止痛为君药; 黄芪健脾益气、益卫固表止汗, 炒白术健脾益气、燥湿止泻, 辅助君药, 起到温中健脾化湿的作用, 共为臣药; 炮姜炭温中止泻, 防风气味辛散, 条达肝气, 兼能胜湿, 合用为佐助药; 炙甘草补脾益气, 缓急止痛, 调和诸药, 为使药, 诸药合用, 共奏疏肝健脾、温阳固涩之功。IBS 的腹痛及腹泻症状多由肝气乘脾、肝脾不调所致。现代药理研究表明, 芍药与甘草配合能柔肝缓急止痛, 有效治疗腹部挛急疼痛, 两者配伍对横纹肌、平滑肌的挛急, 无论是中枢性的或是末梢性的均有抑制作用^[21], 并且能下调 TRPV1 的基因和蛋白表达^[22]。

本研究采用新生母子分离叠加多重应激建立肝郁脾虚型 IBS-D 大鼠模型, 观察肠安 I 号方对 IBS-D 模型大鼠内脏敏感性的影响, 及其对大鼠腰骶段 DRG 中 PAR-2、TRPV1、SP 及 CGRP 蛋白表达水平影响, 旨在阐释肠安 I 号方调节 IBS-D 内脏敏感性的作用靶点。结果表明模型大鼠粪便含水量增多, 内脏敏感性增加, 符合 IBS-D 疾病特征。肠安 I 号方可以有效改善大鼠腹泻及内脏高敏感, 与下调大鼠 DRG 中 PAR-2、TRPV1、SP 及 CGRP 蛋白表达, 并降低 DRG 中 PAR-2 mRNA 和 TRPV1 mRNA 水平有关。这可能是肠安 I 号方缓解 IBS-D 腹痛症状, 改善内脏高敏感的机制之一。

利益冲突: 无。

参 考 文 献

[1] Mearin F, Lacy BE, Chang L, et al. Bowel

disorders[J]. *Gastroenterology*, 2016, S0016-5085 (16) 00222-5.

[2] Lovell RM, Ford AC. Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta-analysis[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2012, 10 (7) : 712-721.e4.

[3] Catanzaro R, Occhipinti S, Calabrese F, et al. Irritable bowel syndrome: new findings in pathophysiological and therapeutic field[J]. *Minerva Gastroenterol Dietol*, 2014, 60 (2) : 151-163.

[4] 卞立群, 陈婷, 唐旭东, 等. 肠易激综合征中医治疗模式分析[J]. *环球中医药*, 2015, 8 (1) : 119-123.

[5] 唐旭东. 一种治疗肠易激综合征的中药组合物及其制备方法[P]. 北京: CN103845702A, 2014-06-11.

[6] Tang XD, Lu B, Li ZH, et al. Therapeutic effect of Chang'an I Recipe (I) on irritable bowel syndrome with diarrhea: A multicenter randomized double-blind placebo-controlled clinical trial[J]. *Chin J Integr Med*, 2016, 8: 1-8.

[7] 赵迎盼, 苏敏, 王凤云, 等. 肠安 I 号方对肠易激综合征内脏高敏感大鼠 5-HT 信号系统及海马 BDNF mRNA 表达的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2015, 35 (10) : 1228-1235.

[8] 刘宇, 郑蕊, 王凤云, 等. 基于量效融合评价优选肠安 I 号方提取工艺[J]. *中国医药导报*, 2018, 15 (28) : 21-24.

[9] 郑蕊, 刘宇, 王凤云, 等. 肠安 I 号方不同提取工艺对小鼠镇痛止泻作用影响的观察[J]. *河北中医*, 2018, 40 (8) : 1217-1222.

[10] Ma X, Wang X, Kang N, et al. The effect of Tong-Xie-Yao-Fang on intestinal mucosal mast cells in postinfectious irritable bowel syndrome rats[J]. *Evid-Based Complem Altern Med*, 2017: 9086034.

[11] 徐叔云, 卞如濂, 陈修主编. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 202-203.

[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] Kayssi A, Amadesi S, Bautista F, et al. Mechanisms of protease-activated receptor 2-evoked hyperexcitability of nociceptive neurons innervating the mouse colon[J]. *J Physiol*, 2007, 580 (Pt.3) : 977-991.

[14] Van Spaendonck H, Ceuleers H, Witters L, et al. Regulation of intestinal permeability: The role of proteases[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23

- (12): 2106-2123.
- [15] Pontarollo G, Mann A, Brandão I, et al. Protease-activated receptor signaling in intestinal permeability regulation[J]. FEBS J, 2020, 287 (4): 645-658.
- [16] Traini C, Evangelista S, Girod V, et al. Changes of excitatory and inhibitory neurotransmitters in the colon of rats underwent to the wrap partial restraint stress[J]. Neurogastroenterol Motil, 2016, 28 (8): 1172-1185.
- [17] Arzani M, Jahromi SR, Ghorbani Z, et al. Gut-brain axis and migraine headache: a comprehensive review[J]. J Headache Pain, 2020, 21 (1): 15.
- [18] Wouters MM, Balemans D, Van Wanrooy S, et al. Histamine receptor H₁-mediated sensitization of TRPV1 mediates visceral hypersensitivity and symptoms in patients with irritable bowel syndrome[J]. Gastroenterology, 2016, 150 (4): 875-87.e9.
- [19] Beckers AB, Weerts ZZRM, Helyes Z, et al. Review article: transient receptor potential channels as possible therapeutic targets in irritable bowel syndrome[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2017, 46 (10): 938-952.
- [20] Davis JB, Gray J, Gunthorpe MJ, et al. Vanilloid receptor-1 is essential for inflammatory thermal hyperalgesia[J]. Nature, 2000, 405 (6783): 183-187.
- [21] 衡雪丽, 蒋峰炼. 芍药甘草汤应用于脾胃病痛证的理论探讨[J]. 光明中医, 2014, 29 (11): 2435-2438.
- [22] 李从越, 隋峰, 霍海如, 等. TRPV1 通道蛋白介导的芍药甘草汤止痛配伍机制研究[J]. 中药药理与临床, 2013, 29 (3): 2-5.
- (收稿: 2020-04-13 在线: 2021-03-02)
- 责任编辑: 李焕荣
英文责编: 张晶晶

《中国中西医结合杂志》第八届编委会名单

总 编 辑 陈可冀

副总编辑 王文健 史大卓 吕爱平 肖培根 吴伟康 沈自尹 雷 燕

顾 问 王永炎 邓铁涛 吴咸中 辛育龄 张伯礼 陈香美 陈凯先 陈维养 唐由之

黄璐琦 曹洪欣 屠呦呦 韩济生

编辑委员

于德泉	王一涛	王卫霞	王宁生	王 伟	王 阶	王拥军 (上海)	王拥军 (北京)	王昌恩
王学美	王硕仁	王 舒	卞兆祥	方邦江	方敬爱	邓跃毅	叶文才	田金洲
史载祥	白彦萍	吕志平	吕维柏	朱 兵	朱明军	危北海	庄曾渊	刘干中
刘瓦利	刘龙涛	刘 平	刘 良	刘建平	刘建勋	刘保廷	刘鲁明	齐清会
阮新民	孙汉董	孙 燕	阳 晓	花宝金	苏 励	李乃卿	李大金	李廷谦
李军祥	李连达	李国栋	李国勤	李 恩	李 涛	李焕荣	杨任民	
杨宇飞	杨秀伟	连 方	时毓民	吴大嵘	吴万垠	吴泰相	吴根诚	吴 烈
邱 峰	张大钊	张卫东	张允岭	张永贤	张永祥	张荣华	张俊华	张亭栋
张家庆	张敏州	张敏建	陆付耳	陈士奎	陈小野	范吉平	范维琥	林志彬
林 谦	林瑞超	郁仁存	果德安	季 光	周 俊	周霭祥	郑国庆	赵一鸣
赵伟康	赵芳芳	赵健雄	胡义扬	胡晓梅	胡镜清	侯凡凡	饶向荣	
洪传岳	栗原 博 (日本)	夏城东	顾振纶	徐凤芹	徐 浩	殷惠军	凌昌全	高瑞兰
郭 军	郭 艳	郭赛珊	唐旭东	黄光英	黄 熙	梅之南	曹小定	崔 红
麻 柔	梁 春	梁挺雄	梁晓春	梁繁荣	董竞成	董福慧	谢竹藩	谢明村
谢 恬	蔡定芳	裴正学	廖福龙	衡先培	戴瑞鸿	Yung-chi CHENG (美国)	Sheng-xing MA (美国)	Qun-hao ZHANG (美国)

(以上名单按姓氏笔画为序, 编委工作单位信息在本刊网站首页“下载专区”公布, 网址: <http://www.cjim.cn/zxyjhcncn/zxyjhcncn/ch/index.aspx>)