

脾虚大鼠血清及胃组织中胃肠激素GAS、CCK、SS变化及中药干预效果

吴德坤, 黄瑞诚, 郑景辉, 唐友明, 莫启章, 秦伟夫

吴德坤, 郑景辉, 唐友明, 莫启章, 秦伟夫, 广西中医药大学附属瑞康医院 广西壮族自治区南宁市 530011
 黄瑞诚, 广西中医药大学继续教育学院 广西壮族自治区南宁市 530001

广西自然科学基金面上资助项目,

No. 2014GXNSFAA118140

作者贡献分布: 主要实验、数据分析和文章起草由吴德坤完成; 样本取材和细胞培养由唐友明与莫启章完成; 酶联免疫分析和评分由郑景辉与秦伟夫完成; 课题设计、文章修改和审阅由黄瑞诚完成.

通讯作者: 黄瑞诚, 讲师, 530001, 广西壮族自治区南宁市明秀东路179号, 广西中医药大学继续教育学院.

2990675070@qq.com

电话: 0771-3103605

收稿日期: 2015-01-24 修回日期: 2015-03-14

接受日期: 2015-03-18 在线出版日期: 2015-04-18

Changes in levels of GAS, CCK, and SS in serum and gastric tissue of spleen deficiency rats: Effect of traditional Chinese medicine intervention

De-Kun Wu, Rui-Cheng Huang, Jing-Hui Zheng, You-Ming Tang, Qi-Zhang Mo, Wei-Fu Qin

De-Kun Wu, Jing-Hui Zheng, You-Ming Tang, Qi-Zhang Mo, Wei-Fu Qin, Ruikang Hospital, Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Rui-Cheng Huang, College of Continuing Education, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2014GXNSFAA118140

Correspondence to: Rui-Cheng Huang, Lecturer, College of Continuing Education, Guangxi University of Chinese Medicine, 179 Mingxiu West Road, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 2990675070@qq.com

Received: 2015-01-24 Revised: 2015-03-14

Accepted: 2015-03-18 Published online: 2015-04-18

Abstract

AIM: To investigate the changes in levels of gastrin (GAS), cholecystokinin (CCK), somatostatin (SS) in serum and gastric tissue of spleen deficiency rats and the effect of traditional Chinese medicine intervention.

METHODS: Thirty-six SD rats were randomly divided into three groups by random number table method. Twelve rats were fed distilled water as a control group, and 24 rats were used to induce spleen deficiency (chronic restraint stress + excess fatigue + eating disorders). Twelve spleen deficiency rats were used as an observation group, and the other 12 spleen deficiency rats fed Sijunzi decoction for 7 d as a treatment group. Levels of GAS, CCK, and SS in serum and gastric tissue were detected by ELISA.

RESULTS: The levels of GAS, CCK, and SS in serum and GAS in gastric tissue were significantly lower in the observation group than in the control group, while CCK and SS in gastric tissue were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). GAS, CCK, and SS in serum and GAS in gastric tissue were significantly higher in the treatment group than in the observation group, while CCK and SS in gastric tissue were significantly lower than those in the observation group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Gastrointestinal hormones

背景资料

很多学者认为脾虚与感染、遗传易感性、精神心理障碍等因素有关, 其病因尚未完全阐明, 也无确切的治疗方法, 主要根据临床表现实施对症治疗. 检测机体胃肠激素水平的改变, 可了解脾虚病症的变化, 具有重要的指导意义.

同行评议者

牛英才, 研究员, 齐齐哈尔医学院医药科学研究所

研究前沿

本研究通过不同分组, 将大鼠分为对照组、观察组、治疗组, 实施不同的处理方案, 观察各组大鼠胃肠激素指标的改变情况, 分析胃肠激素与脾虚的关系, 但研究对象数量较少, 仍需要进一步扩大。

GAS, CCK, and SS in serum and gastric tissue of spleen deficiency rats show abnormal changes. Traditional Chinese medicine intervention can effectively correct abnormal fluctuations of GAS, CCK, and SS.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Spleen deficiency rats; Serum; Gastric tissue; Gastrointestinal hormone; Gastrin; Cholecystokinin; Somatostatin; Traditional Chinese medicine intervention

Wu DK, Huang RC, Zheng JH, Tang YM, Mo QZ, Qin WF. Changes in levels of GAS, CCK, and SS in serum and gastric tissue of spleen deficiency rats: Effect of traditional Chinese medicine intervention. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(11): 1791-1795 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1791.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i11.1791>

摘要

目的: 探讨脾虚大鼠血清及胃组织中胃泌素(gastrin, GAS)、胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)、生长抑素(somatostatin, SS)变化及中药干预效果。

方法: 选取SD大鼠36只, 采用随机数字表法分为3组, 12只大鼠灌服蒸馏水为对照组, 24只大鼠制备脾虚模型(慢性束缚应激+过度疲劳+饮食失调), 其中12只脾虚大鼠为观察组, 12只脾虚大鼠给予四君子汤灌胃7 d为治疗组, 采用酶联免疫分析法检测大鼠血清及胃组织中胃肠激素GAS、CCK、SS水平。

结果: 观察组大鼠血清中GAS水平、CCK水平、SS水平、胃组织中GAS水平均明显低于对照组, 而胃组织中CCK水平、SS水平均明显高于对照组。治疗组大鼠血清中GAS水平、CCK水平、SS水平、胃组织中GAS水平均明显高于观察组, 而胃组织中CCK水平、SS水平均明显低于观察组。差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 脾虚大鼠血清及胃组织中胃肠激素GAS、CCK、SS均出现了异常变化, 中药干预可有效纠正胃肠激素GAS、CCK、SS异常波动。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 脾虚大鼠; 血清; 胃组织; 胃肠激素; 胃泌素; 胆囊收缩素; 生长抑素; 中药干预

核心提示: 脾虚是常见病症, 以吸收功能障碍为主, 伴有不同程度的内分泌系统、神经系统、运动功能、免疫功能紊乱, 机体营养状况低下, 是一种多器官功能衰弱的综合病理性变化。脾虚大鼠血清及胃组织中胃肠激素胃泌素(gastrin, GAS)、胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)、生长抑素(somatostatin, SS)均出现了异常变化, 中药干预可有效纠正胃肠激素GAS、CCK、SS异常波动。

吴德坤, 黄瑞诚, 郑景辉, 唐友明, 莫启章, 秦伟夫. 脾虚大鼠血清及胃组织中胃肠激素GAS、CCK、SS变化及中药干预效果. *世界华人消化杂志* 2015; 23(11): 1791-1795 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1791.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i11.1791>

0 引言

中医认为, 脾虚是常见病症, 以吸收功能障碍为主, 伴有不同程度的内分泌系统、神经系统、运动功能、免疫功能紊乱, 机体营养状况低下, 是一种多器官功能衰弱的综合病理性变化^[1,2]。脾虚发生后, 机体胃肠激素也会发生明显改变^[3,4], 这些常见激素包括胃泌素(gastrin, GAS)、胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)、生长抑素(somatostatin, SS)等。因而, 中药治疗脾虚, 可对症入药, 此次研究选用了四君子汤。为了探讨脾虚大鼠血清及胃组织中胃肠激素GAS、CCK、SS变化及中药干预效果, 此次研究选取SD大鼠36只, 采用随机数字表法分为3组, 12只空白对照, 12只脾虚模型, 12只脾虚模型用中药治疗, 分别检测每只大鼠血清及胃组织中胃肠激素GAS、CCK、SS水平, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级SD大鼠36只, 3-4月龄, 体重216-274 g, 平均体重为252.3 g ± 10.8 g, 购自广州医科大学实验动物中心, 动物合格证号为0051622。实验动物提前1 wk购得, 每笼6只分养。GAS酶联免疫试剂盒(批号CK-E90576R)、CCK酶联免疫试剂盒(批号CK-E30403R)、SS酶联免疫试剂盒(批号CK-E30378R)均购自GIBCO公司。BenchMark Plus酶标仪购自美国BIO-RAD公司。DF110型电子分析天平购自常熟市衡器厂。XYJ80-2型离心机购自上海将来实验设备有限公司。HH-4数

相关报道

陈贤坤等报道, 强肌健力方能改善和促进消化道机能及胃肠动力学, 其作用机制与调节胃泌素(gastrin, GAS)和胃动素(motilin, MTL)分泌水平有关。但黄芪多糖对GAS和MTL分泌没有调节作用, 需与方中其他药物联合应用方能显效。宋文朗报道, 四君子汤干预脾虚证慢性胃炎合并胃动力障碍的临床效果显著。

显恒温水浴箱购自江苏金坛市亿通电子有限公司. KDC-2044低速冷冻离心机购自武汉爱斯佩科学仪器有限公司. 四君子汤配方中, 人参、茯苓、白术、甘草等配比为3:3:3:2, 第1次用药时, 加10倍水量, 浸泡4 h, 行常规煎煮2次, 40 min/次, 过滤后将滤液放置于70 °C-80 °C水浴中进行浓缩, 让每mL药液中含生药2 g, 然后冷却, 放置于4 °C冰箱中贮存, 临用时将其稀释到所需浓度, 每日灌胃生药量相当于60 kg成人临床用药量5倍^[5].

1.2 方法

1.2.1 分组及建模: SD大鼠36只采用随机数字表法分为3组. 12只大鼠灌服蒸馏水为对照组, 每日上下午灌服蒸馏水2 mL/次, 灌服3 wk. 余24只大鼠制备脾虚模型, 方法为慢性束缚应激+过度疲劳+饮食失调^[6]. 实验前, 让建模大鼠进行预游泳, 游泳时间在10-20 min, 适合于建模, 在每日上午8点将建模大鼠束缚于盒中3 h, 在每日下午2点将其放入盛有22 °C±1 °C温水的塑料桶中游泳10 min, 实施隔日喂养, 隔日禁食, 隔日给足食量, 连续喂养3 wk.

1.2.2 喂养方式: 12只脾虚建模大鼠为观察组, 12只脾虚大鼠给予四君子汤灌胃7 d为治疗组, 每日上午灌服四君子汤1 mL/100 g体质量, 灌胃容积为1 mL/100 g体质量. 对照组与观察组大鼠于第3周末取材. 治疗组大鼠于第4周末取材. 给予大鼠末次灌药后, 禁食24 h, 但不禁水, 测体质量, 采血后, 行断头处死, 取待测胃组织.

1.2.3 检测指标: 血清测量: 取大鼠股动脉血4 mL, 静置2 h, 2000 r/min离心10 min, 取上清, 置于尖底管, 保存于4 °C低温冰箱, 采用酶联免疫分析法检测胃肠激素GAS、CCK、SS水平. 胃组织测量: 将大鼠处死后, 快速取近胃小弯胃组织, 称质量, 用眼科小刀快速剪碎, 置于离心管中, 2000 r/min离心10 min, 取上清, 保存于4 °C低温冰箱, 采用酶联免疫分析法检测胃肠激素GAS、CCK、SS水平.

统计学处理 数据资料用SPSS16.0软件进行统计学分析, 计量资料用mean±SD表示, 采用*t*检验和*F*检验, 以*P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 3组大鼠血清及胃组织中GAS水平比较 观

察组大鼠血清中GAS水平、胃组织中GAS水平均明显低于对照组. 治疗组大鼠血清中GAS水平、胃组织中GAS水平均明显高于观察组. 差异均有统计学意义(*P*<0.05)(表1).

2.2 3组大鼠血清及胃组织中CCK水平比较 观察组大鼠血清中CCK水平明显低于对照组, 而胃组织中CCK水平明显高于对照组. 治疗组大鼠血清中CCK水平明显高于观察组, 而胃组织中CCK水平明显低于观察组. 差异均有统计学意义(*P*<0.05)(表2).

2.3 3组大鼠血清及胃组织中SS水平比较 观察组大鼠血清中SS水平明显低于对照组, 而胃组织中SS水平明显高于对照组. 治疗组大鼠血清中SS水平明显高于观察组, 而胃组织中SS水平明显低于观察组. 差异均有统计学意义(*P*<0.05)(表3).

3 讨论

脾虚证是临床常见病症, 主要指脾气、脾阳或脾阴不足所呈现之各种症候, 属脏腑辨证中常见之证型, 是以消化系统为主的多器官功能紊乱综合征^[7,8]. 中医认为: 脾虚, 病苦泄注, 腹满, 气逆, 霍乱, 呕吐, 黄疸, 心烦不得卧, 肠鸣. 若虚则生寒, 令人心腹胀满, 水谷不消, 噎气吞酸, 食辄呕吐, 霍乱泄利, 四肢沉重, 多思气结, 恶闻人声. 脾虚证患者多伴有不同程度的内分泌系统、神经系统、运动功能、免疫功能紊乱, 机体营养状况低下, 机体胃肠激素也会发生明显改变.

胃肠激素是胃肠道和胰组织等处的细胞释放出的生物活性物质, 不仅存在于胃肠道, 还存在于神经组织和胰腺内. 胃肠激素不仅有激素作用, 还有神经递质和调质作用, 对于胃肠道正常的生理功能具有重要的临床意义. GAS是一种重要胃肠激素^[9,10], 是由存在于胃幽门部黏膜的G细胞分泌的, 进入血中再作用于胃, 促进胃液分泌. 胃泌素也具有促进胃蛋白酶分泌、胰液分泌、胆液分泌、胰岛素分泌等的作用, 但效果不强. 胃泌素对胃肠运动具有中度的刺激作用, 可明显提高幽门泵活动, 让幽门进一步扩张而促使胃排空, 还能直接刺激机体胃肠平滑肌的收缩作用.

CCK又称缩胆囊素, 是由小肠黏膜I细胞释放的一种肽类激素, 其主要作用是促进胰腺腺泡分泌各种消化酶, 促胆囊收缩, 排出胆汁,

□创新点
本研究通过不同大鼠间分组比较, 发现脾虚大鼠血清及胃组织中胃肠激素GAS、胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)、生长抑素(somatostatin, SS)均出现了异常变化, 中药干预可有效纠正胃肠激素GAS、CCK、SS异常波动, 治疗效果显著.

□应用要点
关键在于大鼠分组与建模, 应用药物治疗后, 大鼠病症得到了有效缓解, 认为中药治疗有效, 具有一定的临床指导意义.

■名词解释

脾虚: 是常见病症, 以吸收功能障碍为主, 伴有不同程度的内分泌系统、神经系统、运动功能、免疫功能紊乱, 机体营养状况低下, 是一种多器官功能衰弱的综合病理性变化。

表 1 3组大鼠血清及胃组织中GAS水平比较 (n = 12, mean ± SD, ng/L)

分组	血清中GAS水平	胃组织中GAS水平
对照组	132.37 ± 15.48	150.24 ± 14.36
观察组	105.42 ± 11.93 ^a	124.35 ± 16.72 ^a
治疗组	128.76 ± 13.04 ^c	147.81 ± 12.50 ^c
F值	6.769	6.215
P值	0.023	0.028

^aP<0.05 vs 对照组; ^cP<0.05 vs 观察组. GAS: 胃泌素.

表 2 3组大鼠血清及胃组织中CCK水平比较 (n = 12, mean ± SD, ng/L)

分组	血清中CCK水平	胃组织中CCK水平
对照组	119.85 ± 7.38	135.26 ± 8.41
观察组	96.54 ± 5.13 ^a	168.72 ± 6.34 ^a
治疗组	114.62 ± 4.09 ^c	138.97 ± 3.56 ^c
F值	6.673	6.973
P值	0.024	0.021

^aP<0.05 vs 对照组; ^cP<0.05 vs 观察组. CCK: 胆囊收缩素.

兴奋胰酶分泌^[11,12]. 胆囊收缩素在血中很快降解, 其半衰期仅为3 min左右, 但其生物作用明显, 可刺激胰酶分泌与合成, 增强胰碳酸氢盐分泌, 刺激胆囊收缩与奥狄氏括约肌松弛, 还可兴奋肝胆汁分泌, 调节小肠、结肠运动, 也可作为饱感因素调节摄食. 胆囊收缩素还可作用于迷走神经传入纤维, 通过迷走-迷走反射刺激胰酶分泌, 通过激活磷脂酰基醇系统, 在Ca²⁺介导下对胰腺起作用. CCK与胰泌素具有协同作用.

SS是存在于胃黏膜、胰岛、胃肠道神经、垂体后叶和中枢神经系统中的肽激素, 可以抑制生长激素、甲状腺刺激激素、胰岛素、胰高血糖素的分泌, 可以抑制由试验餐和5肽胃泌素刺激的胃酸分泌, 可抑制胃蛋白酶、胃泌素的释放, 可以显著减少内脏血流, 降低门静脉压力, 降低侧枝循环的血流和压力, 减少肝脏血流量, 还可以减少胰腺的内外分泌以及胃小肠和胆囊的分泌, 降低酶活性, 对胰腺细胞有保护作用, 能抑制胰高血糖素的分泌, 并影响胃肠道吸收和营养功能^[13,14].

本次研究的结果表明, 观察组大鼠血清中GAS水平、CCK水平、SS水平、胃组织中GAS

表 3 3组大鼠血清及胃组织中SS水平比较 (n = 12, mean ± SD, ng/L)

分组	血清中SS水平	胃组织中SS水平
对照组	43.15 ± 3.94	46.38 ± 4.21
观察组	34.08 ± 2.73 ^a	70.19 ± 5.36 ^b
治疗组	42.46 ± 3.57 ^c	49.24 ± 3.80 ^c
F值	6.531	9.217
P值	0.025	0.003

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 对照组; ^cP<0.05 vs 观察组. SS: 生长抑素.

水平均明显低于对照组, 而胃组织中CCK水平、SS水平均明显高于对照组. 说明脾虚大鼠体内胃肠激素水平发生了显著改变, GAS水平的显著降低会造成平滑肌松弛, 其张力和蠕动能力也会明显下降, 延长了胃排空时间, 使得小肠运动功能减弱, 造成胰腺外分泌功能障碍, 诱发消化功能降低. 胃组织中SS水平显著升高, 会对机体胃肠运动与胃肠激素的释放产生较强的抑制效果, 而血液中SS水平则会出现快速下降. CCK是由内分泌细胞释放到血中的, 其变化与SS同步, 抑制了胃排空, 产生了饱腹感而抑制了摄食行为.

四君子汤是临床治疗脾虚的常用药物^[15,16], 主要成分为人参、茯苓、白术、甘草, 其中人参能调节中枢神经系统兴奋过程和抑制过程的平衡, 使紧张造成紊乱的神经过程得以恢复. 茯苓可宁心安神, 败毒抗癌, 其药性平和, 利湿而不伤正气, 能增强免疫力, 松弛消化道平滑肌, 抑制胃酸分泌. 白术用于脾胃虚弱治疗, 可消痞除胀、健脾燥湿止泻. 甘草有抗炎和抗变态反映的功能, 是常用的缓和剂, 能促进胃部黏液形成和分泌, 延长上皮细胞寿命. 诸药合用可通过神经-内分泌免疫调节环路来健脾益气, 已达到治疗脾虚的目的.

本次研究的结果也表明, 治疗组大鼠血清中GAS水平、CCK水平、SS水平、胃组织中GAS水平均明显高于观察组, 而胃组织中CCK水平、SS水平均明显低于观察组. 说明四君子汤是治疗脾虚的有效方剂, 可有效纠正胃肠激素GAS、CCK、SS异常波动, 使其恢复正常水平. 但此次研究也存在一定的弊端, 样本量较少, 数据波动可能有偏差, 基础实验无法保证每个大鼠的条件一致, 存在一定的个体差

异, 该治疗方法能否彻底治疗脾虚仍需进一步研究.

4 参考文献

- 1 尹光耀. “病证结合”医学体系研究-关于脾虚证“病证结合”内涵及外延的探讨. 中华中医药杂志 2012; 27: 2710-2715
- 2 张寅, 刘玥, 王新月, 李献平, 王铮, 李骁峰, 林子涵, 黄微. 不同健康状态人群中中医脾虚证检出率及症状特点的增龄变化规律研究. 中华中医药杂志 2013; 28: 1615-1618
- 3 陈贤坤, 马媛媛, 赵慧, 陈芝喜. 强肌健力方及黄芪多糖对脾虚大鼠胃肠激素水平的影响. 中药新药与临床药理 2011; 22: 590-593
- 4 刘未艾, 郁保生, 常小荣, 刘密, 章海凤, 岳增辉. 隔药饼灸对功能性胃肠病肝郁脾虚模型大鼠胃肠激素及胃肠动力的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1002-1007
- 5 孙晓芬, 程卫东, 段永强, 邢文婷, 周焱炎. 脾虚大鼠血清及胃组织中胃肠激素SS、GAS和CCK的变化及中药干预研究. 时珍国医国药 2014; 25: 756-758
- 6 吕瑶. 小柴胡汤对实验性功能消化不良大鼠(肝郁脾虚型)胃肠运动及胃肠激素的影响. 长沙: 湖南中医药大学, 2012: 2-4
- 7 杨泽民, 陈蔚文. 脾虚证与物质能量代谢紊乱相关性研究进展. 广州中医药大学学报 2012; 29: 332-336

- 8 宋文朗. 四君子汤对脾虚证慢性胃炎患者胃动力的影响. 安徽医药 2013; 17: 298-300
- 9 张吉仲, 李利民, 黄利, 宁楠, 刘圆. 半夏泻心汤及其拆方对脾虚大鼠胃泌素和生长抑素的影响. 中药药理与临床 2013; 29: 15-17
- 10 雷英, 贺志有, 刘丽莎, 张帆, 侯茜. 参苓白术散对脾虚证小鼠血清淀粉酶、D-木糖、胃泌素及小肠组织学变化的研究. 中药药理与临床 2012; 28: 5-8
- 11 张海燕, 陈君千, 张望, 黄绍刚, 黄穗平. 脾虚证模型大鼠血清中血管活性肠肽和胆囊收缩素的变化及四君子汤的干预作用. 吉林中医药 2014; 34: 609-611
- 12 郭前坤, 汪正芳, 张声生. 疏肝健脾方对腹泻型肠易激综合征大鼠血浆胆囊收缩素及生长抑素含量的影响. 北京中医药 2012; 31: 776-779
- 13 谭静, 常小荣, 严洁, 易受乡, 林亚平, 岳增辉, 刘密, 彭艳. 艾灸对脾虚大鼠血浆 β -内啡肽、胃动素、生长抑素的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3498-3502
- 14 包海兰, 梁靓靓, 陈苏宁. 胃痛消痞方对肝郁脾虚型FD大鼠胃泌素和生长抑素的影响. 实用药物与临床 2012; 15: 691-694
- 15 廖乐乐, 罗翱翔, 唐干益, 李敏, 韩阳儒, 许鸿智. 四君子汤对大黄脾虚模型小鼠的影响. 广东药学院学报 2013; 29: 202-205
- 16 黎同明, 潘雪刁, 金桂芳, 王桂香. 四君子汤对脾虚大鼠肠黏膜SMS mRNA表达的影响. 中药材 2011; 34: 762-765

□ 同符评价
本研究设计了对照组、观察组、治疗组, 分析了脾虚造成的胃肠激素GAS、CCK、SS改变, 研究了中药干预治疗脾虚后胃肠激素GAS、CCK、SS的改善情况, 认为效果显著.

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

