

肠易激综合征中医病证与肠胆囊收缩素、 细胞癌基因 fos、P 物质的相关性

张瑜 卜平 孔桂美 陈洁 徐敏 李娜

(扬州大学医学院中西医结合研究所, 江苏省扬州市淮海路11号, 225009)

[摘要] **目的** 探讨肠易激综合征(IBS) 中医病证与肠胆囊收缩素(CCK)、细胞癌基因 fos(c-fos)、P 物质(Substance P) 的相关性。**方法** 采用 SCL-90 量表对 IBS 患者和正常对照组进行测试, 评定心理状况; 采用免疫组化法分析 IBS 患者及对照组乙状结肠和回盲部黏膜 CCK、c-fos、P 物质的含量。**结果** IBS 患者存在明显的焦虑、抑郁、敌对负性情感; 肝相关证型和非肝相关证型在焦虑、抑郁方面差异有统计学意义($P < 0.01$); 回盲部 P 物质的平均阳性面积和 OD 值实证虚证两组间差异均有统计学意义($P < 0.05$); 回盲部 c-fos 的 OD 值实证虚证两组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 肠易激综合征患者中医病证与肠黏膜 c-fos、P 物质的表达相关。

[关键词] 肠易激综合征; 中医病证; 胆囊收缩素; c-fos; P 物质

Relevance of TCM Syndromes of Irritable Bowel Syndrome with Intestinal Cholecystokinin, C-fos and Substance P

ZHANG Yu, BO Ping, KONG Gui-mei, et al.

(Medical Academy of Yangzhou University, Yangzhou 225009)

ABSTRACT **Objective** To explore the relevance of TCM syndromes of irritable bowel syndrome (IBS) with the intestinal cholecystokinin (CCK), c-fos and substance P. **Methods** The symptom check list (SCL-90) was adopted to examine the IBS patients and the persons in the normal control group to evaluate their psychological status, and the CCK, c-fos and substance P of them were measured with the immunohistochemical method for analysis. **Results** The IBS patients were obviously combative and with anxiety and depression; the significant difference existed in those who were of liver-related or non liver-related on anxiety and depression ($P < 0.01$); and there showed a significant difference between the excess and deficiency syndromes in substance P, c-fos of average positive area and optical density (OD) of ileocecal region ($P < 0.05$). **Conclusion** The TCM syndromes of IBS patients have relevance with the expression of c-fos and substance P of intestinal mucosa.

Key Words Irritable bowel syndrome (IBS); TCM syndromes; Cholecystokinin (CCK); C-fos; Substance P

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是由腹部不适或腹痛伴排便异常组成的一组包括腹痛、腹胀、排便习惯改变和大便形状异常的肠功能障碍性综合征,是临床上最为常见的功能性胃肠病之一。近年来心理社会因素借助脑-肠轴的联系,通过脑-肠互动在其发病机制中的重要作用日益被认识^[1,2]。本研究旨在对 IBS 中医病证与肠胆囊收缩素(CCK)、细胞癌基因 fos(c-fos)、P 物质的相关性进行初步研究。

1 临床资料

1.1 诊断及辨证标准

西医诊断标准: IBS 诊断以罗马 II 标准^[3]为根据,即在近12个月内腹部不适或腹痛至少出现12周,伴以下3种情况中的两种,但无需连续。(1)排便后缓解;(2)病初起时排便频数改变(> 3 次/天或 < 3 次/周);(3)病初起时伴粪便性状改变。分腹泻型(D-IBS),便秘型(C-IBS),腹泻便秘交替型(A-IBS) 3个临床类型。

中医辨证标准:参考《中药新药临床研究指导原则》^[4]和国家中医药管理局制定的《中医病证诊断疗效标准》^[5]。

1.2 纳入标准

病例组患者均符合上述西医诊断标准和中医辨证标准,且均经血、尿、便常规,腹部B超,结肠镜等检查除外器质性病变。对照组22例均为痔疮便血及息肉电切后患者,并符合下列条件:(1)除因痔疮便后滴血外,无其他胃肠道症状和胃肠疾病;(2)大便习惯正常;(3)无腹部手术史;(4)结肠镜检查肠黏膜无异常。

1.3 一般资料

病例来源于2006年4月~2007年4月在苏北医院消化专科就诊的符合上述西医诊断标准的 IBS 患者59例作为病例组,并经中医辨证分为6型,肝郁气滞型7例,肝郁脾虚型14例,脾胃虚弱型24例,寒热夹杂型5例,大肠燥热型5例,脾胃虚寒型4例。病程 < 1 年的24例, $1^+ \sim 2$ 年的11例, > 2 年的24例。其中男24例,女35例;年龄23~61岁,平均(43.61 ± 13.67)岁;体型适中者35例占

59.32%，偏瘦者13例占22.03%，肥胖者11例占18.64%。知识分子20例占33.90%，司机10例占16.95%，失业者12例占20.34%，农民5例占8.47%，学生6例占10.17%，退休6例占10.17%。文化程度：文盲5例，小学15例，初中10例，高中8例，大专以上21例。其中D-IBS 25例，C-IBS 25例，A-IBS 9例。

对照组22例，其中男9例，女13例；年龄25~58岁，平均年龄(43.77±12.61)岁；体型适中者13例占59.09%，偏瘦者5例占22.73%，肥胖者4例占18.18%。知识分子7例占31.82%，司机4例占18.18%，失业者4例占18.18%，农民2例占9.09%，学生2例占9.09%，退休3例占13.64%；文化程度：文盲2例，小学6例，初中4例，高中3例，大专以上7例。两组患者的性别、年龄、体型、职业及文化程度无显著性差异($P>0.05$)，具有可比性。

2 方法

2.1 中医证候收集方法

采用功能性胃肠病中医规范化治疗方案及临床试验评价报告观察表及住院病例查阅相结合，构建证候四诊合参信息数据库，采用一般描述性统计分析、聚类分析(指标聚类及病例聚类)方法。

2.2 心理测试

采用SCL-90量表^[6]，包含90个项目，10个因子，即评定10个方面的心理状态(躯体化、强迫、人际关系、抑郁、焦虑、敌对、恐怖、偏执、精神病性和其他)。

2.3 乙状结肠和回盲部黏膜CCK、c-fos、P物质免疫组织化学分析

取肠黏膜活检组织，于中性甲醛液固定24小时，石蜡包埋，4 μm厚切片，二甲苯脱蜡、梯度酒精水化，3% H₂O₂室温5~10分钟，PBS洗3次，柠檬酸缓冲液高压修复，PBS洗3次，加山羊血清封闭液室温20分钟，甩去不洗，加适当浓度的一抗，4℃冰箱过夜。晨起取出，PBS洗3次加二抗，室温下20分钟，PBS洗3次，加SABC，室温下20分钟，PBS洗3次，DAB显色10分钟，水洗中止反应，苏木素复染10分钟，盐酸酒精分化，氨水反蓝，逐级酒精脱水，二甲苯透明，中性树胶封片，光镜下观察。

2.4 观察及评分标准

使用JEDA 801D形态学图象系统软件进行半定量分析，阳性反应颗粒呈棕褐色或棕黄色，背底呈浅黄色或不着色。对照为阴性反应。每张切片随机取5个视野(放大倍数为400倍)，测量染色阳性表达的平均不透光率密度(OD值)及平均面积。

2.5 统计学方法

应用SPSS 10.0软件进行统计学处理。计量资料采用方差分析和 t 检验， $P<0.05$ 认为有统计学差异。

3 结果

3.1 IBS患者心理状况分析

表1示，IBS患者均存在不同程度的焦虑、抑郁、敌对负性情感，D-IBS、C-IBS、A-IBS在焦虑、抑郁方面与对照组相比有统计学差异($P<0.001$)，但3组间比较差异均无统计学意义。心理调查总均分对照组与C-IBS组、D-IBS组差异有统计学意义($P<0.01$)。

表1 SCL-90量表调查结果(分， $\bar{x}\pm s$)

项目	对照组(22例)	D-IBS(25例)	C-IBS(25例)	A-IBS(9例)
焦虑	1.23±0.18	1.62±0.45*	1.90±0.64*	1.95±0.75*
抑郁	1.12±0.96	1.80±0.43*	1.80±0.54*	1.64±0.31*
敌对	1.74±0.57	1.82±0.58	1.85±0.60	1.53±0.45
总均分	1.40±0.19	1.73±0.43*	1.77±0.37*	1.60±0.35

与对照组比较，* $P<0.01$

3.2 中医不同证型与焦虑、抑郁相关性分析

肝相关证型包括肝郁气滞型(7例)和肝郁脾虚型(14例)，非肝相关证型包括脾胃虚弱型(24例)、寒热夹杂型(5例)、大肠燥热型(5例)和脾胃虚寒型(4例)。表2示，与肝相关证型比较，非肝相关证型与其在焦虑、抑郁的负性情感上均有统计学差异($P<0.01$)；若根据虚实证分，肝郁气滞型、寒热错杂型、大肠燥热型归为实证，脾胃虚弱型、脾胃虚寒型、肝郁脾虚型为虚证，表2示，虚证和实证两组在焦虑、抑郁上差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表2 不同证型患者焦虑、抑郁比较(分， $\bar{x}\pm s$)

项目	肝相关证型 (21例)	非肝相关证型 (38例)	虚证 (41例)	实证 (18例)
焦虑	2.29±0.52	1.49±0.38*	1.74±0.53	1.84±0.68
抑郁	2.12±0.35	1.55±0.35*	1.76±0.45	1.73±0.44

与肝相关证型比较，* $P<0.01$

3.3 IBS患者虚实证与结肠黏膜c-fos、P物质及CCK相关性分析

c-fos阳性表达主要集中在黏膜层、肠肌间神经丛。在黏膜层可见胞浆及胞核着色，胞核呈棕黄色至深褐色。P物质阳性表达主要集中于结肠的肌肉纤维之间、结肠黏膜下层、腺体周围，胞浆着色，间质中阳性表达较多。表3示，回盲部c-fos的OD值两组间差异有统计学意义($P<0.05$)；回盲部P物质的平均阳性面积和OD值两组间差异有统计学意义($P<0.05$)；其余部分两组间差异均无统计学意义($P>0.05$)，CCK阳性表达两组间差异均无统计学意义。

表3 两证型患者不同部位肠黏膜 c-fos、P 物质、CCK 比较($\bar{x} \pm s$)

证型	部位	标本数	c-fos		P 物质		CCK	
			平均阳性面积 ($\bar{H}_n \times \bar{H}_n$)	OD 值	平均阳性面积 ($\bar{H}_n \times \bar{H}_n$)	OD 值	平均阳性面积 ($\bar{H}_n \times \bar{H}_n$)	OD 值
实证	回盲部	18	54.03 $\pm$ 2.31	0.26 $\pm$ 0.09	26.11 $\pm$ 2.31	0.23 $\pm$ 0.01	7.84 $\pm$ 0.35	0.24 $\pm$ 0.09
	乙状结肠	18	34.91 $\pm$ 1.92	0.27 $\pm$ 0.01	40.55 $\pm$ 2.17	0.32 $\pm$ 0.02	12.06 $\pm$ 0.81	0.30 $\pm$ 0.01
虚证	回盲部	41	57.77 $\pm$ 3.81	0.35 $\pm$ 0.02*	41.28 $\pm$ 2.84*	0.34 $\pm$ 0.02*	7.45 $\pm$ 0.80	0.19 $\pm$ 0.01
	乙状结肠	41	44.75 $\pm$ 2.54	0.32 $\pm$ 0.02	40.76 $\pm$ 2.82	0.34 $\pm$ 0.02	17.58 $\pm$ 1.97	0.28 $\pm$ 0.02

与相同项目实证比较, * $P<0.05$

4 讨论

IBS 是常见的功能性胃肠病之一,其发病率在西方国家中约占20%~30%,我国报道符合 Manning 标准和罗马 I 标准的检出率为7.01%和0.82%,患者为青壮年居多,IBS 患者占消化科门诊量的30%~50%^[7]。

有研究表明,IBS 患者存在焦虑、抑郁等负性情绪,本实验结果发现,IBS 患者除焦虑、抑郁外还存在敌对情绪,且心理调查总均分 D-IBS 和 C-IBS 组与对照组比较差异有统计学意义。IBS 六种中医分型中,与肝相关的肝郁气滞、肝郁脾虚两个证型较其他4个证型在焦虑、抑郁上有统计学差异,这与中医肝主情志的理论相一致,怒伤肝则肝气郁结,肝的疏泄功能减退,心情易于抑郁;肝的升泄太过,阳气升腾而上,则心情易于急躁。但中医辨证为实证(肝郁气滞、寒热夹杂、大肠燥热)和虚证(脾胃虚弱、脾胃虚寒、肝郁脾虚)在焦虑、抑郁上无统计学差异。

近年来有人研究发现,结肠黏膜存在脑肠肽的表达^[8],c-fos 是一种原癌基因,大多数存在于中枢神经系统,也有人研究存在于肠道中^[9]。心理应激时下丘脑促皮质激素释放激素(CRF)可刺激下丘脑室旁核(PVN)神经元中的 c-fos 表达,c-fos 在神经元活动时表达,可作为神经元被激活的标志^[10]。本实验研究发现,c-fos 阳性表达主要集中在黏膜层、肠肌间神经丛。回盲部 c-fos 的 OD 值实证和虚证两组间有统计学差异。P 物质是 Euler 等^[11]在马脑和小肠组织提取物中寻找乙酰胆碱时发现的一种具有生物活性的物质,是神经系统、胃肠内分泌系统、胃肠道免疫功能的重要调节因子。本实验发现,P 物质阳性表达主要集中于结肠的肌肉纤维之间、结肠黏膜下层、腺体周围,间质中,胞浆着色,在 IBS 患者结肠组织中的 P 物质分布在愈近结肠腺体时愈加丰富、强度增强,提示 P 物质与结肠分泌功能有关。回盲部 P 物质的平均阳性面积和 OD 值实证和虚证两组间有统计学差异。CCK 是一种广泛分布在动物消化系统、中枢及外周神经系统的脑肠肽,对动物胃肠道的作用主要是直接抑制胃酸分泌,抑制进食后的胃排空,并通过外周和中枢神经系统抑制胃

运动。梁荣新等^[8]发现,血浆中 IBS 腹泻型患者 CCK 明显升高,但结肠黏膜中 CCK 的表达 IBS 组与对照组比较差异无统计学意义。推测 CCK 可能是通过血循环激素形式起效应,导致腹痛等症状发生的。本实验中肠黏膜 CCK 实证、虚证之间差异亦无统计学意义。

参考文献

[1]Mayer EA· Emerging disease model for functional gastrointestinal disorders· Am J Med, 1999, 107 (5A) :12S~19S.
[2]王伟岸,钱家鸣,潘国宗· 肠易激综合征的发病机制· 胃肠病学和肝病学杂志,2001,10(2) :992~102.
[3]Diagnostic criteria for functional gastrointestinal disorders· In: Drossman DA, Corazziari E, Talley NJ, et al eds· Rome II : The functional gastrointestinal disorders· 2nd ed· USA : Allen Press, 2000; 659~668.
[4]中华人民共和国卫生部· 中药新药临床研究指导原则· 第1辑· 北京:中国医药科技出版社,1993:91,96,100.
[5]国家中医药管理局· 中华人民共和国中医药行业标准· 中医病证诊断疗效标准· 南京:南京大学出版社,1994:101.
[6]Harvey RF, Read AE· Effect of cholecystokinin on colonic motility and symptoms in patients with the irritable-bowel syndrome· Lancet, 1973, 1(7793) :1~3.
[7]潘国宗,鲁素彩,柯美云,等· 北京地区肠易激综合征的流行病学研究:一个整群、分层、随机的调查· 中华流行病学杂志,2000,21(1) :26~29.
[8]梁荣新,郑琴芳,梁列新,等· 肠易激综合征与胃肠激素的关系· 中国综合临床,2004,20(8) :702~703.
[9]王巍峰,杨云生,孙刚,等· 肠易激综合征大鼠 P 物质能神经通路的改变· 世界华人消化杂志,2005,13(2) :214~218.
[10]Moskowitz MA· Neurogenic versus vascular mechanisms of sumatriptan and ergot alkaloids in migraine· Trends Pharmacol Sci, 1992, 13(8) :307~311.
[11]V Euler US, Gaddum JH· An unidentified depressor substance in certain tissue extracts· J Physiol, 1931, 72(1) :74~87.

(收稿日期:2007-10-08;修回日期:2008-01-21)

[编辑:邓媛]

欢迎邮购《中医杂志》光盘合订本

1951~1986年(4张光盘) 480元, 1995~2004年(1张光盘) 280元, 汇款地址:北京东直门内南小街16号中医杂志医海林音像书店, 邮编:100700. 电话:010-64013164, 64035632。