

· 综述 ·

肠易激综合征动物模型研究进展

苏晓兰¹, 魏 玮²

(1. 北京中医药大学 2010 年级博士研究生, 北京 100029; 2. 中国中医科学院望京医院, 北京 100102)

[关键词] 肠易激综合征; 动物模型; 综述

[中图分类号] R257.25

[文献标志码] A

[文章编号] 0257-358X(2013)02-0133-03

肠易激综合征(IBS)是以腹部疼痛或不适,伴有排便习惯改变和大便性状异常等为临床症候群,持续存在或间歇发作,但无器质性疾病的证据。现代医学对本病的治疗主要为对症处理,缺乏特效药物及方法。中医药治疗 IBS 的临床疗效较为满意,普遍好于西医的单一药物治疗,但其辨证分型缺乏规范统一的诊断标准,其疗效评估缺乏客观依据。近年来,中医药方证实验研究发展日渐蓬勃,为进一步完善和规范辨证标准,提高中医药治疗可靠性增加了有效说服力,中医药方证实验研究在 IBS 的防治方面取得了许多成绩,现将 IBS 的动物模型研究进展综述如下。

1 IBS 研究对象的选择

IBS 的动物模型,目前国内外主要选择大鼠为实验研究对象,其次为小鼠、豚鼠、兔、狗等。李熠萌等^[1]通过对近 10 年中医药对 IBS 的实验研究方法的文献检索表明,63%的文献均采用大鼠作为实验模型复制的对象,其中 Wistar 大鼠占 25%,新生 SD 大鼠占 20%,成年 SD 大鼠占 18%;另有 37%的文献选择了其他动物,如小鼠(20%)、豚鼠(8%)、兔(8%)等。近年来有学者研究提出建议选择更近似人类生理心理的实验研究对象,如:灵长类动物。而对动物实验的性别,限定为雄性的约占 50%,也有文献则按雌雄各半的比例选择动物。近年来,有研究认为^[2],IBS 的发病率女性是男性的 2 倍,且雌性动物相对于雄性动物更易于致敏,建议采用雌雄各半的研究方式。张青等^[3]研究性别周期对大鼠内脏感觉的影响,结果证实生理状态下雌性大鼠动情期和动情前期的内脏感觉与动情后期、间期较雄性大鼠相比更敏感。目前,对动物实验性别的选择还需要更多更大的规模研究证实。

2 IBS 模型复制方法

2.1 物理化学刺激造模 Collions^[4]采用直肠内给予

三硝基苯磺酸诱发大鼠急性结肠炎,恢复 6 周后连续 3 d 给予轻度束缚应激,发现这些大鼠结肠对应激非常敏感。化学物质还包括醋酸、芥末油、甘油、和酵母多糖、松节油、甲醛等,根据其不同的化学性质进行一次注射,也可每天注射,持续 14 d,导致炎症,炎症消退后出现内脏感觉过敏,结肠运动增强现象。安钰等^[5]将大鼠用乙酸灌肠加束缚应激复制模型,发现模型组大鼠内脏敏感性增加,显微镜下观察结肠无组织学改变;陈锡强等^[6]在乳大鼠直肠内注射一段时间醋酸,待大鼠成年后行机械刺激来复制模型,证明了选用适当的低剂量的醋酸对乳大鼠肠道刺激,可以引起大鼠成年后内脏敏感性增高,且不会出现肠黏膜病理性改变。AL-Chaer^[7]等对出生后 8~21 d 的乳大鼠每天用动脉成型术(PTCA)球囊进行直肠刺激,每天 2 次,每次压力 60 mmHg 并持续 1 min,5 周龄时大鼠出现明显的内脏过敏。李延青等^[8]通过机械刺激乳大鼠结肠复制模型,成年后进行 AWR 评分,发现机械刺激乳大鼠结肠造成的内脏敏感性增高可以持续到大鼠成年。王伟岸等^[9]给大鼠以樟脑丸气味刺激,肢体束缚加上直、结肠扩张刺激,结果发现三种刺激联合应用时诱发肠功能紊乱比较持久,撤销刺激后内脏敏感性增高的现象依然存在。采用机械刺激直、结肠复制的 IBS 模型具有稳定性强、能用于清醒而未受活动限制动物的实验、较大限度的避免伤害性刺激影响等特点,又极易引起内脏敏感性增高^[10]。

2.2 心理应激造模 近年来,精神心理因素被公认为是 IBS 的发病原因,在 IBS 的实验研究过程中,对精神因素的造模很重视,大都采用心理应激造模。具体方法包括束缚-制动法,疲劳游泳法,避水应激法^[11-12],夹尾刺激法及乳鼠期母幼分离法等。Williams 等^[13]采用束缚-制动应激,将纸带束缚大鼠上半身及前肢,部分限制其运动 24 h,可抑制大鼠小肠转运、促进结肠运动,却不产生溃疡。目前多用改良的束缚应激模型,具体方法:将大鼠予乙醚麻醉至昏倒

[收稿日期] 2012-11-01

[基金项目] 国家自然科学基金课题(编号:8107288)

后,用纸带束缚大鼠的前肩、前上肢、胸部,限制前上肢搔抓头面部,但不限制其活动,从清醒后开始计时,束缚时间 1 h,结果显示大鼠排便颗粒数明显多,不同气囊容量下,大鼠腹部收缩次数均较应激处理前明显增多,同时束缚-制动应激可导致直肠敏感性的增高^[14]。严茂祥等^[15]采用游泳致疲劳方法造模,将大鼠放入温度为 43 ± 0.5 °C,水深为 35 cm 的水槽中,让其自然游泳,以每只大鼠出现自然沉降的时间为每只大鼠的耐疲劳时间,当全组 50%大鼠出现自然沉降时,全组动物停止游泳,造模连续 14 d,结果血中 Glu、VIP 和 SP 升高,结肠黏膜组织中 VIP、NPY 的含量增高。谢建群等^[16]对大鼠进行急性避水应激刺激,造成大鼠在担心落水的应激状态下大便次数增多,症状与 D-IBS 相似。具体方法:制作一透明有机玻璃水缸(56×56×50) cm,中央固定一(8×6) cm 平台。实验时,先在水缸内循环注水至平台下 1~2 cm,水温 25 °C,然后将一大鼠置于平台上,如此在避水应激刺激下 1 h。结果显示 IBS-D 大鼠血浆和结肠组织中 VIP、SP 的含量增高。此外还有研究者采用乳鼠期母幼分离法,应用 Long-Evans 大鼠,乳鼠出生后 2~14 d 每天与母鼠分隔开 180 min,乳鼠 2 月龄时发现躯体及内脏痛觉过敏,急性应激时易出现结肠运转加快。

2.3 药物导泻造模 药物导泻多采用番泻叶、大黄水煎液、硫酸镁等。李丹等^[17]对大鼠用不同浓度(0.4、0.3、0.2 kg/L)番泻叶煎剂灌胃进行 IBS 模型复制,结果显示模型组大鼠体重下降,排便溏泻,免疫力下降,0.2 kg/L 的低浓度番泻叶煎剂即可诱发而 IBS-D,而病理学检查未发现异常。陈芝芸等^[18]采用耗气破气法致脾虚型 IBS 模型,选用 SD 大鼠以 100% 大黄浸出液 15 ml/kg 体重灌胃,每天 2 次,连续 8 d。张连阳等^[19]应用大黄和酚酞建立一种大鼠泻剂结肠的动物模型,这种动物模型具有慢传输性便秘的肠道传输延迟和肌间神经丛嗜银性明显降低等肠道功能及病理变化。

2.4 复合方法造模及其他 复合方法造模文献报道颇多,应用广泛,主要方法有心理应激+药物导泻,化学刺激(结肠灌注醋酸、芥子油、蓖麻油等)+机械刺激(直肠气囊扩张)、化学刺激+心理应激(避水应激实验)等。此外还有神经-内分泌因素造模方法、动物肠管离体实验,也有涉及转基因或去基因的动物模型^[20-21]。腹腔注射卵清 A1b 法,也可导致大鼠内脏敏感性增高,建立 IBS 大鼠模型。胡萍萍等^[22]选用 SD 大鼠,将鸡卵清白蛋白 30 mg 加入

1 mL 10 mg/ml 氢氧化铝凝胶中,充分混匀后注入大鼠腹腔,成功制备内脏高敏感大鼠模型。目前已建立的与 IBS-D 相关的动物模型较多,主要有物理化学刺激造模、心理应激造模、药物导泻造模以及复合方法造模等,各种方法所占比例不尽相同,但多是通过刺激肠道建立的内脏痛觉过敏模型及对动物施加应激刺激建立的 IBS 模型。

3 IBS 证候模型研究

证候是对人体疾病变化过程中某一阶段的病理状态的综合描述,是在中医理论的指导下,通过对大量患者临床表现进行观察、分析、归纳、总结的产物。近年来开展的中医证候 IBS 动物模型的探索,造模方法主要分为三类:即:西医病理模型、中医病因模型和病证结合模型^[23]。西医病理模型最大特点是符合西医对于 IBS 的认识,存在相应的病理学改变,这些模型对 IBS 病理机制研究较为透彻,但缺乏直接的中医理论依据,比较适合从多角度、多环节去探讨证的本质。中医病因模型将中医学有关 IBS 的病因认识引入到动物模型的研究中。陈芝芸等^[18]采用耗气破气法致脾虚型 IBS 模型,选用 SD 大鼠以 100% 大黄浸出液 15 ml/kg 体重灌胃,每天 2 次,连续 8 d;采用夹尾刺激法致肝郁型 IBS 模型,选用 SD 大鼠以夹尾刺激致怒,每次刺激 1 h,连续 14 d。这些模型强调模拟临床病证形成的原因,力求造成的模型和病人临床表现相似,突出中医理论的指导作用,但缺乏客观依据的佐证。病证结合模型结合中医学的基本特点即辨证论治和整体观念,对实验动物模型进行中医的辨证分析的研究。研究表明胃肠激素变化和 IBS 中医证型有一定的联系。马军等^[24]研究发现肝气郁结型和大肠燥热型主要表现为生长抑素(SS)、胆囊收缩素(CCK)升高,P 物质(SP)下降,而血管活性肠肽(VIP)含量变化不明显的特点;肝气乘脾型患者血浆 SS、VIP、CCK 升高,SP 变化无显著意义;脾胃虚弱型患者 SP、SS、VIP 及 CCK 都升高。陈氏^[25]研究发现不同中医证型 IBS 患者血浆胃肠激素有一定的变化,其中血浆神经肽(NPY)和 SP 的变化有证型的特异性,而 VIP、胰高血糖素(Glu)的变化无明显的证型特异性,脾胃阴虚者 NPY 表达下降,脾胃虚弱者 SP 表达下降。需要强调的是病证结合模型并不是简单的将西医病理模型和中医病因模型进行叠加,如何将中医四诊的信息引入动物模型的评价,这是值得去研究的问题。

4 展望

IBS 的诊断是以症状学为基础,缺乏特异的生

物学标志,因此比较难以确定对动物模型的评判标准。由于 IBS 的病因及发病机制尚未完全清楚,临床表现不尽相同,患者在病程的不同阶段有不同的临床表现。因此,一种动物模型很难确切地反映 IBS 患者的临床症状。当前用于临床及基础研究的 IBS 动物模型仅从 IBS 病理生理机制中的某一方面着手,模拟 IBS 的某些特征,尽管都具有一定的理论基础,有其一定的合理性,但就其复杂的发病机制及其多样化、个体化的诱发因素,目前的动物模型均具有不同程度的局限性。大鼠是当前主要的造模对象,也有选择鼠和猫研制的动物模型,但这些动物与人类差异较大,实验结论还不能真正地解释人类 IBS。如何建立清醒状态下的动物模型,对动物的反应进行量化仍然是当前值得考虑的问题。此外,对动物刺激的强度、持续时间及动物逃避反应能力等相关伦理问题也应注意。总之,动物模型对 IBS 的研究是非常重要的,但至今为止仍缺乏理想的研究 IBS 的动物模型,还难以完全反映 IBS 患者的各种临床表现及发病机制。理想的 IBS 动物模型应该是整合了与 IBS 相关的所有因素,包括生理、认知、情感及行为等,用于认识和解释 IBS 病因及发病的病理生理机制。近年来,对 IBS 的实验研究在不断进步,由于人类各种疾病的发生发展是十分复杂的,要深入探讨疾病的发病机制及疗效机制不能也不应该在病人身上进行,可以通过对动物的疾病和生命现象的研究,进而推用到人类。动物模型可以避免在人身上进行实验带来的风险,可以严格控制实验条件,可以简化实验作和样品收集,对于研究人类疾病的发生、发展规律和防治疾病的机制等是极为重要的工具和手段。将中国传统医学与现代医学结合起来应用到疾病的实验研究中亦是行之有效的办法。

[参考文献]

- [1] 李熠萌,蔡淦. 腹泻型肠易激综合症的中医实验研究进展[J]. 中医药现代化.2009,11(4):541-544.
- [2] 谭涛,徐珊. 肠易激综合症的各种动物模型及模型制作的完善思路[J]. 甘肃中医,2007,20(6):16-19.
- [3] 张青,梁列新,钱伟,等. 性别及动情周期对大鼠内脏感觉影响的研究[J]. 中华消化杂志,2005,25(1):49-50.
- [4] Collions S M,McHugh K,Jacobson K,et al. Previous inflammation alters the response of the colon to stress[J]. Gastroenterology, 1996,111(6):1509-1515.
- [5] 安钰,白殿卿,付健,等. 乙酸灌肠加束缚应激致大鼠肠易激综合症模型的建立及其评价[J]. 世界华人消化杂志,2009(15):1548-1551.
- [6] 陈锡强,毕宏征,李祖伦. 直肠注射醋酸致大鼠内脏高敏感性的实验研究[J]. 山西中医学院学报,2005(1):52-53.
- [7] A I Chaer E D,Kawasaki M,Pastricha P J. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development[J]. Gastroenterology,2000; 119(5):1276-1285.
- [8] 李延青,郭玉婷,左秀丽,等. 肠易激综合症内脏感觉过敏动物模型的建立[J]. 胃肠病学,2003(1):24.
- [9] 王伟岸,钱家鸣,潘国宗,等. 脑-肠互动指向性条件应激肠易激综合症动物模型的建立[J]. 中华消化杂志,2004,24(10):590-593.
- [10] 杨建平,姚明. 大鼠结肠扩张内脏痛模型的建立与行为学评价[J]. 中华实验外科杂志,2003,20(12):1116-1118.
- [11] Derrick A. Yates. Adaptation of stress-induced mucosal pathophysiology in rat colon involves opioid pathways[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,2001,281:G124-G128.
- [12] Paul R. Saunders. Physical and psychological stress in rats enhances colonic epithelial permeability via peripheral CRH[J]. Dig Dis Sci,2002,47(1):208-15.
- [13] Williams C L,Villar G R,PeLerson J M,et al. Stress-induced changes in intestinal transit in the rats: a model for irritable bowel syndrome[J]. Gastroenterology,1988,94(3):611-621.
- [14] 吕红,王伟岸,钱家鸣. 传统束缚应激动物模型内脏感觉的新评价[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2005,14(2):111-113.
- [15] 严茂祥,占宏伟,陈芝芸,等. 游泳致疲劳对大鼠结肠组织中胃肠激素的影响[J]. 浙江中医学院学报,2000,24(4):44-45,82.
- [16] 谢建群,郑昱,吴大正,等. 疏肝饮对腹泻型肠易激综合症大鼠血管活性肠肽和 P 物质的影响[J]. 上海中医药大学学报.2004,18(3):36-39.
- [17] 李丹,吕妍,唐方. 腹泻型肠易激综合症大鼠模型的建立[J]. 天津中医药,2009(3):240-242.
- [18] 陈芝芸,严茂祥,项柏康. 肝郁证大鼠血及结肠组织胃肠激素变化的研究[J]. 中医杂志,2003,44(2):131.
- [19] 张连阳,高峰,童为东,等. 人鼠泻剂结肠模型的建立[J]. 华人消化杂志,1998,6(10):864.
- [20] Chen J J,Li Z,Pan H,et al. Maintenance of serotonin in the intestinal mucosa and ganglia of mice that lack the high affinity serotonin transporter; abnormal intestinal motility and the expression of cation transporters[J]. J Neurosci,2001,21:6348-6356.
- [21] De-Felipe C,Herrero J F,Brien J A,et al. Altered nociception, analgesia and aggression in mice lacking the receptor for substance P[J]. Nature,1998,392(674):394-397.
- [22] 胡萍萍,吕宾,范一宏. 内脏高敏感大鼠脑部 5-羟色胺表达差异的研究[J]. 中华消化杂志,2006,26(5):347.
- [23] 潘锋,陈建永,张涛. 肠易激综合症中医实验研究进展述评[J]. 中国中医药科技.2010,17(5):470-471.
- [24] 马军,潘锦瑶,方穗雄,等. 肠易激综合症不同中医证型与胃肠激素关系的临床研究[J]. 辽宁中医杂志,2007,34(8):1099.
- [25] 严茂祥,陈芝芸,项柏康. 肠易激综合症中医证型与胃肠激素关系的探讨[J]. 中国中西医结合杂志,2002,22(9):664.