基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003632

四磨汤通过调节TGR5/TRPA1信号通路对慢传输型便秘大鼠肠道动力的影响

刘 萌，徐青霞，朱阳阳，唐钰雯，苏 漫，唐学贵
（川北医学院附属医院中西医结合肛肠科，南充 637000）

【摘 要】目的：四磨汤通过调节胆汁酸G蛋白偶联受体5（G-protein coupled-receptor kinase5，TGR5）/瞬时受体电位锚蛋白1（transient receptor potential ankyrin-1，TRPA1）信号通路对慢传输型便秘（slow transit constipation，STC）大鼠肠道动力的影响。**方法：**取SD大鼠采用复方地芬诺酯混悬液灌胃法制备STC模型，随机分为模型组、四磨汤低剂量（1.8 g/kg）组、四磨汤高剂量（3.6 g/kg）组、四磨汤高剂量（3.6 g/kg）+SBI-115（TGR5抑制剂，55.4 mg/kg）组，每组10只，另取10只SD大鼠灌胃等剂量生理盐水设为对照组，采用四磨汤与SBI-115分组处理后测量各组大鼠首粒黑便排出时间、6 h内排便粒数及排便重量、小肠炭末推进率、结肠平滑肌收缩力；以苏木精-伊红（hematoxylin eosin，HE）染色检测各组大鼠结肠病理形态；以免疫组织化学染色检测各组大鼠结肠组织受体5-羟色胺受体3（5-hydroxytryptamine receptor 3，5-HT3R）表达；以酶联免疫吸附测定（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒测量各组大鼠结肠组织5-羟色胺（5-hydroxytryptamine，5-HT）与炎症因子白细胞介素（interleukin，IL）-6、IL-1β水平；以免疫印迹法检测各组大鼠结肠组织TGR5/TRPA1通路蛋白表达。**结果：**与对照组比较，模型组大鼠结肠组织发生明显病理损伤，首粒黑便排出时间、结肠组织IL-6及IL-1β水平明显升高（$P<0.05$），6 h内排便粒数、排便重量、小肠炭末推进率、结肠平滑肌收缩力、结肠组织5-HT3R阳性表达、5-HT水平及TGR5、TRPA1蛋白表达明显降低（$P<0.05$）；与模型组比较，四磨汤低剂量组、四磨汤高剂量组大鼠结肠组织病理损伤均减轻，首粒黑便排出时间、结肠组织IL-6及IL-1β水平均降低（$P<0.05$），6 h内排便粒数、排便重量、小肠炭末推进率、结肠平滑肌收缩力、结肠组织5-HT3R阳性表达、5-HT水平及TGR5、TRPA1蛋白表达均升高（$P<0.05$），且高剂量四磨汤作用更强；SBI-115可减弱四磨汤对STC大鼠各指标的作用。**结论：**四磨汤可通过促进TGR5/TRPA1信号活化而抑制STC大鼠结肠炎症，升高大鼠结肠组织5-HT水平及其受体5-HT3R表达，减轻大鼠结肠组织病理损伤，进而增强大鼠结肠平滑肌收缩力及肠道动力，减轻其便秘症状。

【关键词】四磨汤；TGR5/TRPA1；慢传输型便秘；肠道动力
【中图分类号】R285.5 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2024-01-02

Effect of Simo decoction on intestinal motility in rats with slow transit constipation by regulating the Takeda G protein-coupled receptor 5/transient receptor potential ankyrin 1 signaling pathway

Liu Meng，Xu Qingxia，Zhu Yangyang，Tang Yuwen，Su Man，Tang Xuegui
（*Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Coloproctology，Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College*）

【Abstract】*Objective*：To investigate the effect of Simo decoction on intestinal motility in rats with slow transit constipation（STC）by regulating the Takeda G protein-coupled receptor 5（TGR5）/transient receptor potential ankyrin 1（TRPA1）signaling pathway.***Methods*：**Sprague-Dawley rats were given compound diphenoxylate suspension by gavage to establish a model of STC，and then they were randomly divided into model group，low-dose（1.8 g/kg）Simo decoction group，high-dose（3.6 g/kg）Simo decoction group，and high-dose（3.6 g/kg）Simo decoction+SBI-115（TGR5 inhibitor，55.4 mg/kg）group，with 10 rats in each group；another 10 rats were given an equal volume of normal saline by gavage and were selected as control group. After treatment with Simo decoction and SBI-115，the rats in each group were measured in terms of the time to first black stool defecation，the number and weight of feces granules within 6 hours，small intestine charcoal powder propulsion rate，and colonic smooth muscle contractibility；HE staining was used to observe colon pathomorphology；immunohistochemical staining was used to measure the expression level of 5-hydroxytryptamine receptor 3（5-HT3R）in colon tissue；ELISA was used to measure the levels of 5-hydroxytryptamine（5-HT）and the inflammatory factors interleukin-6（IL-6）and interleukin-1β（IL-1β）in colon tissue；Western blotting was used to measure the expression of TGR5/TRPA1 path-

作者介绍：刘 萌，Email：Lmeng1082@163.com，研究方向：中西医结合肛肠领域。
通信作者：唐学贵，Email：Txg668nc@sohu.com。
基金项目：国家自然科学基金资助项目（编号：81573990）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20241129.2032.002（2024-12-02）

way proteins in colon tissue. ***Results***: Compared with the control group, the model group had marked pathological damage of colon tissue, significant increases in the time to first black stool defecation and the levels of IL-6 and IL-1β in colon tissue ($P<0.05$), and significant reductions in the number and weight of feces granules within 6 hours, small intestine charcoal powder propulsion rate, colonic smooth muscle contractibility, positive expression of 5-HT3R in colonic tissue, 5-HT level, and the protein expression levels of TGR5 and TRPA1 ($P<0.05$). Compared with the model group, the low- and high-dose Simo decoction groups had alleviation of the pathological damage of colon tissue, significant reductions in the time to first black stool defecation and the levels of IL-6 and IL-1β in colon tissue ($P<0.05$), and significant increases in the number and weight of feces granules within 6 hours, small intestine charcoal powder propulsion rate, colonic smooth muscle contractibility, positive expression of 5-HT3R in colonic tissue, 5-HT level, and the protein expression levels of TGR5 and TRPA1 ($P<0.05$), and high-dose Simo decoction showed a stronger effect. SBI-115 could weaken the effect of high-dose Simo decoction on various indicators of STC rats. ***Conclusion***: Simo decoction can inhibit colitis in STC rats by promoting the activation of TGR5/TRPA1 signaling, increase the levels of 5-HT and its receptor 5-HT3R in rat colon tissue, and alleviate pathological damage of colon tissue, thereby enhancing the contractibility of colon smooth muscle and intestinal motility and alleviating the symptoms of constipation.

【Key words】Simo decoction; Takeda G protein-coupled receptor 5/transient receptor potential ankyrin 1; slow transit constipation; intestinal motility

慢传输型便秘（slow transit constipation，STC）属于功能性便秘，是一种临床常见的胃肠动力障碍疾病，主要病理特征是肠道传输能力减弱、传输时间延长、结肠推进收缩减少，可导致患者排便减少、无便意或有便意但难以自主排出粪便，病情长期进展还会诱发结直肠癌，会对患者生活质量及身心健康造成很大影响[1-2]。肠道动力减弱是STC的重要病理改变，肠神经传递异常及肠道炎症是引发肠道动力减弱的主要病理因素，通过提高5-羟色胺（5-hydroxytryptamine，5-HT）水平及其受体5-羟色胺受体3（5-hydroxytryptamine3 receptor，5-HT3R）表达并减少肠道炎症细胞浸润，可有效改善肠道传递功能，缓解便秘症状[3-4]。胆汁酸G蛋白偶联受体5（takeda G protein-coupled receptor 5，TGR5）可调控肠道微生物群平衡和胆汁酸受体表达，并在肠道动力的维持中发挥关键作用，激活TGR5信号可通过改善肠道微生物群平衡而减轻肠道炎症，进而保护脂多糖诱导的小鼠肠道屏障功能[5]，TGR5与瞬时受体电位锚蛋白1（transient receptor potential ankyrin 1，TRPA1）结合可刺激5-HT产生并提高胃肠动力和粪便含水量，阻断TGR5/TRPA1信号传导可显著减轻小鼠胆囊切除术后腹泻[6]，另外Chen ZH等[7]的研究表明枯草芽孢杆菌可通过激活TGR5/TRPA1信号促进内皮细胞释放5-HT，从而促进STC小鼠肠蠕动并改善其便秘症状，由此可知TGR5/TRPA1是防治STC的重要靶点。四磨汤由人参、乌药、槟榔、沉香组成，最早出自《严氏济生方》，是治疗功能性消化不良的一种常用中药方剂，疗效显著且有较好安全性[8]，四磨汤还可从多靶点多途径调节神经活性并发挥抗炎症反应，进而通过改善肠道蠕动功能来治疗STC[9]，但四磨汤的药理机制是否是调节TGR5/TRPA1信号传导目前尚未研究清楚。本文通过制备STC大鼠模型，探究四磨汤通过调节TGR5/TRPA1信号通路对其肠道动力的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 SD雄性大鼠（鼠龄约7周，体质量220~250 g）由川北医学院动物实验中心提供，动物生产许可证号是SCXK（川）2018-18，在标准环境动物房中喂养：温度22~26℃、湿度55%~60%、12/12 h黑暗/光照循环。

1.1.2 主要试剂与仪器 复方地芬诺酯片（规格：盐酸地芬诺酯2.5 mg及硫酸阿托品25 μg/片，批准文号：国药准字H19983061），购自山东达因海洋生物制药股份有限公司；四磨汤中药饮片（人参、乌药、槟榔、沉香），购自四川新荷花中药饮片股份有限公司；SBI-115（批号：M00182，纯度：99.61%），购自美国Selleck生物科技有限公司；苏木精-伊红（hematoxylin-eosin，HE）染色试剂盒、大鼠白细胞介素（interleukin，IL）-6、IL-1β、5-HT酶联免疫吸附测定（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒，购自上海科艾博生物技术有限公司；辣根过氧化物酶（Horseradish Peroxidase，HRP）标记山羊抗兔二抗、兔源抗大鼠TGR5、5-HT3R、β-actin、TRPA1一抗，购自美国CST公司；（抗兔和小鼠HRP-DAB）免疫组化检测试剂盒，购自杭州斯达特生物科技有限公司等。

HU-1肌力换能器、SLY-B生理记录仪，购自上海艾研生物科技有限公司；AEM石蜡切片机，购自常州市郝思琳医用仪器有限公司；BA410显微镜，购自麦克奥迪实业集团有限公司；SpectraMAX Plus384酶标分析仪，购自美谷分子仪器有限公司；165-8033垂直电泳套装，购自美国Bio-Rad公司等。

1.2 方法

1.2.1 制备STC大鼠模型并分组给药 采用复方地芬诺酯混悬液灌胃法复制STC大鼠模型，具体参考文献[10]：复方地芬诺酯片研碎后置于生理盐水中，制成15 mg/mL的复方地芬诺酯混悬液，取SD大鼠以10 mL/(kg·d)的剂量灌胃，持续灌胃4周后禁食不禁水24 h，然后灌胃150 g/L的活性炭混悬液10 mL/mL，自灌胃完毕后立即开始计时，记录造模大鼠首粒黑便排出时间，若其相比正常大鼠显著升高，即表明STC模型制备成功，随机数字表法分为模型组、四磨汤低剂量组、四磨汤高剂量组、四磨汤高剂量+SBI-115组，每组10只，另取10只SD大鼠腹腔注射等剂量生理盐水设为对照组。

造膜完成后对大鼠进行分组处理：取中药饮片人参6 g、乌药6 g、槟榔9 g、沉香6 g加水以传统方法煎煮2次后过滤，合并滤液后浓缩制成0.18、0.36 g/mL的四磨汤药液[11]，取四磨汤药液加入SBI-115制成0.36 g/mL的四磨汤和8 mg/mL的SBI-115[12]混合药液，四磨汤低剂量（1.8 g/kg）组、四磨汤高剂量（3.6 g/kg）组、四磨汤高剂量（3.6 g/kg）+SBI-115（55.4 mg/kg）组大鼠均灌胃10 mL/kg的相应药液，模型组、对照组大鼠均灌胃10 mL/kg的生理盐水，灌胃1次/d，持续灌胃14 d。

1.2.2 测量各组大鼠首粒黑便排出时间、6 h内排便粒数及排便重量、小肠炭末推进率、结肠平滑肌收缩力并采集标本 末次给药后24 h，各组大鼠禁食不禁水24 h，然后灌胃150 g/L的活性炭混悬液10 mL/mL，自灌胃完毕后立即开始计时，记录造模大鼠首粒黑便排出时间，并计数6 h内大鼠排便粒数，并称量其质量作为6 h内大鼠排便重量。

小肠炭末推进率测定：大鼠排便情况检测结束后，大鼠禁食不禁水12 h后灌胃150 g/L的活性炭混悬液10 mL/mL，40 min后以颈椎脱臼法处死大鼠，取大鼠幽门到盲肠之间的小肠，放在白色测量上板拉平，测量小肠总长度及炭末推进长度（即为炭末自幽门到小肠中推进的最远处的距离），算出各组大鼠小肠炭末推进率，计算公式：小肠炭末推进率（%）=炭末推进长度/小肠总长度×100%。

各组大鼠通过吸入乙醚进行麻醉，颈椎脱臼处死各组大鼠后剪开腹部，取一段结肠，漂洗后剪下约0.5 g结肠组织投入RAPI裂解液中，高速研磨后离心（4 ℃、20 min、3 000 rpm/min），采集各组大鼠结肠组织样品液后以BCA法测量其中总蛋白浓度，标记组别名称后存在-80 ℃冰箱中备用；剩余结肠组织依次投入10%甲醛、30%蔗糖中进行固定后脱水，以热石蜡包埋后在石蜡切片机中进行连续病理切片备用。

结肠平滑肌收缩力测定：剪取各组大鼠距肛门约6 cm处的一段结肠，置于持续通入95%氧气和5%二氧化碳混合气体的Krebs液中，采用精细镊子剥除结肠黏膜层与其下层组织，沿纵行肌纤维走向将结肠纵行平滑肌剪为2 mm×8 mm左右的肌条，用医用丝线扎牢肌条两端后挂在含有上述混合气体的恒温浴槽中，肌条一端固定在浴槽底部，另一端固定在肌力换能器上，且肌力换能器连接生理记录仪，将肌条的初始负荷调整为1.0 g并在Krebs液中平衡1 h后测定各组大鼠平滑肌肌条基础状态下的收缩力。

1.2.3 以HE染色检测各组大鼠结肠病理形态 各只大鼠取出1.2.2中的结肠组织切片3张后用二甲苯脱蜡，然后依次孵育100%、95%、90%、80%、70%乙醇溶液进行水化处理，以蒸馏水漂洗后行HE染色，具体操作按照HE染色试剂盒说明指导进行，以蒸馏水再次漂洗后进行封片处理，在显微镜中观察各组大鼠结肠组织病理形态并选任意视野拍照。

1.2.4 以免疫组织化学染色检测各组大鼠结肠组织5-HT3R表达 各只大鼠取出1.2.2中的结肠组织切片3张，以1.2.3中的方法进行脱蜡、水化、漂洗后在0.01 mol/L柠檬酸缓冲液进行抗原修复，采用3% H_2O_2溶液灭活内源性酶后以5%山羊血清进行封闭，孵育按1∶100稀释的兔源抗大鼠5-HT3R一抗，以PBS漂洗3次，然后采用免疫组化检测试剂盒孵育抗兔二抗并进行免疫及DAB染色，以PBS漂洗3次后封片，在显微镜中观察各组大鼠结肠组织着色情况并选任意视野拍照，用数据分析系统Halo定量图像中被染为棕色的5-HT3R阳性面积及视野总面积，算出各组大鼠结肠组织5-HT3R阳性表达，计算公式：5-HT3R阳性表达（%）=5-HT3R阳性面积/视野总面积×100%。

1.2.5 以ELISA试剂盒测量各组大鼠结肠组织5-HT与炎症因子IL-6、IL-1β水平 取出1.2.2中的各组大鼠结肠组织样品液，放入4℃冰箱中解冻后每组取出200 μL采用ELISA试剂盒测量其中5-HT、IL-6、IL-1β水平，具体步骤按各自试剂盒说明指导进行。

1.2.6 以免疫印迹法检测各组大鼠结肠组织TGR5/TRPA1通路蛋白表达 取1.2.5中的各组大鼠结肠组织样品液与等体积上样缓冲液混匀，加热变性其中总蛋白后每组取15 μg上样，在120V恒压下进行SDS-PAGE凝胶电泳，在将分离后的蛋白通过湿式转印移到PVDF膜上，膜上蛋白以3%牛血清白蛋白进行封闭，然后分别孵育按1∶1 000稀释的兔源抗大鼠TGR5、β-actin、TRPA1一抗，孵育按1∶2 000稀释的HRP标记山羊抗兔二抗，化学发光试剂显影后扫描采集各组蛋白图像，以Image-Quant软件定量计算各组TGR5、TRPA1与内参蛋白β-actin的灰度值比值，即为各组TGR5、TRPA1蛋白相对表达。

1.3 统计学方法

用SPSS 24.0软件对本实验数据进行统计分析，计量资料采用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，组间差异比较进行单因素方差分析，两两差异进一步比较行LSD-t检验。检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 四磨汤对STC大鼠首粒黑便排出时间及6 h内排便粒数、排便重量的影响

与对照组比较，模型组大鼠首粒黑便排出时间明显升高（P<0.05），6 h内排便粒数、排便重量明显降低（P<0.05）；与模型组比较，四磨汤低剂量组、四磨汤高剂量组大鼠首粒黑便排出时间均降低（P<0.05），6 h内排便粒数、排便重量均升高（P<0.05）；与四磨汤低剂量组比较，四磨汤高剂量组大鼠首粒黑便排出时间降低（P<0.05），6 h内排便粒数、排便重量升高（P<0.05）；与四磨汤高剂量组比较，四磨汤高剂量+SBI-115组大鼠首粒黑便排出时间升高（P<0.05），6 h内排便粒数、排便重量降低（P<0.05）。见表1。

表1　各组大鼠首粒黑便排出时间及6 h内排便粒数、排便重（$\bar{x}\pm s$，n=10）

组别	首粒黑便排出时间（min）	6 h排便粒数（粒）	6 h排便重量（g）
对照组	186.71 ± 14.62	21.20 ± 2.15	6.41 ± 0.61
模型组	291.34 ± 22.15[a]	9.50 ± 1.20[a]	2.98 ± 0.30[a]
四磨汤低剂量组	242.85 ± 18.43[b]	14.20 ± 1.34[b]	4.49 ± 0.42[b]
四磨汤高剂量组	196.20 ± 15.34[bc]	19.30 ± 1.86[bc]	6.13 ± 0.53[bc]
四磨汤高剂量+SBI-115组	282.14 ± 17.96[d]	10.10 ± 1.45[d]	3.19 ± 0.33[d]
F值	71.616	104.071	124.399
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注：a，对照组比较，P<0.05；b，与模型组比较，P<0.05；c，与四磨汤低剂量组比较，P<0.05；d，与四磨汤高剂量组比较，P<0.05

2.2　四磨汤对STC大鼠小肠炭末推进率、结肠平滑肌收缩力的影响

与对照组比较，模型组大鼠小肠炭末推进率、结肠平滑肌收缩力明显降低（P<0.05）；与模型组比较，四磨汤低剂量组、四磨汤高剂量组大鼠小肠炭末推进率、结肠平滑肌收缩力均升高（P<0.05）；与四磨汤低剂量组比较，四磨汤高剂量组大鼠小肠炭末推进率、结肠平滑肌收缩力升高（P<0.05）；与四磨汤高剂量组比较，四磨汤高剂量+SBI-115组大鼠小肠炭末推进率、结肠平滑肌收缩力降低（P<0.05）。见表2。

表2　各组大鼠小肠炭末推进率、结肠平滑肌收缩力（$\bar{x}\pm s$，n=10）

组别	小肠炭末推进率（%）	结肠平滑肌收缩力（g）
对照组	70.54 ± 5.12	0.64 ± 0.08
模型组	45.17 ± 3.25[a]	0.28 ± 0.04[a]
四磨汤低剂量组	56.23 ± 3.98[b]	0.43 ± 0.05[b]
四磨汤高剂量组	68.15 ± 4.64[bc]	0.61 ± 0.06[bc]
四磨汤高剂量+SBI-115组	46.97 ± 3.40[d]	0.30 ± 0.03[d]
F值	79.916	94.567
P值	<0.001	<0.001

注：a，对照组比较，P<0.05；b，与模型组比较，P<0.05；c，与四磨汤低剂量组比较，P<0.05；d，与四磨汤高剂量组比较，P<0.05

2.3　四磨汤对STC大鼠结肠组织病理形态的影响

对照组大鼠结肠组织结构清晰完整，无病理改变；模型组大鼠结肠组织发生明显病理损伤：组织结构受损改变，杯状细胞减少缺失，组织内有炎性细胞浸润；与模型组比较，四磨汤低剂量组、四磨汤高剂量组大鼠结肠组织病理损伤均减轻，且四磨汤高剂量组结肠组织病理损伤减轻程度更大；与四磨汤高剂量组比较，四磨汤高剂量+SBI-115组大鼠结肠组织病理损伤加重。见图1。

2.4　四磨汤对STC大鼠结肠组织5-HT3R表达的影响

与对照组比较，模型组大鼠结肠组织5-HT3R阳性表达明显降低（P<0.05）；与模型组比较，四磨汤低剂量组、四磨汤高剂量组大鼠结肠组织5-HT3R阳性表达均升高（P<0.05）；与四磨汤低剂量组比较，四磨汤高剂量组大鼠结肠组织5-HT3R阳性表达升高（P<0.05）；与四磨汤高剂量组比较，四磨汤高剂量+SBI-115组大鼠结肠组织5-HT3R阳性表达降低（P<0.05）。见图2、表3。

2.5　四磨汤对STC大鼠结肠组织5-HT与炎症因子IL-6、IL-1β水平的影响

与对照组比较，模型组大鼠结肠组织IL-6、IL-1β水平明显升高（P<0.05），5-HT水平明显降低（P<0.05）；与模型组比较，四磨汤低剂量组、四磨汤高剂量组大鼠结肠组织IL-6、IL-1β水平均降低（P<0.05），5-HT水平均升高（P<0.05）；与四磨汤低剂量组比较，四磨汤高剂量结肠组织IL-6、IL-1β水平降低（P<0.05），5-HT水平升高（P<0.05）；与四磨汤高剂量组比较，四磨汤高剂量+SBI-115组大鼠结肠组织IL-6、IL-1β水平升高（P<0.05），5-HT水平降低（P<0.05）。见表4。

2.6　四磨汤对STC大鼠结肠组织TGR5/TRPA1通路蛋白表达的影响

与对照组比较，模型组大鼠结肠组织TGR5、TRPA1蛋白表达明显降低（P<0.05）；与模型组比较，四磨汤低剂量组、四磨汤高剂量组大鼠结肠组织TGR5、TRPA1蛋白表达均升高（P<0.05）；与四磨汤低剂量组比较，四磨汤高剂量组大鼠结肠组织TGR5、TRPA1蛋白表达升高（P<0.05）；与四磨汤高剂量组比较，四磨汤高剂量+SBI-115组大鼠结肠组织TGR5、TRPA1蛋白表达降低（P<0.05）。见图3、表5。

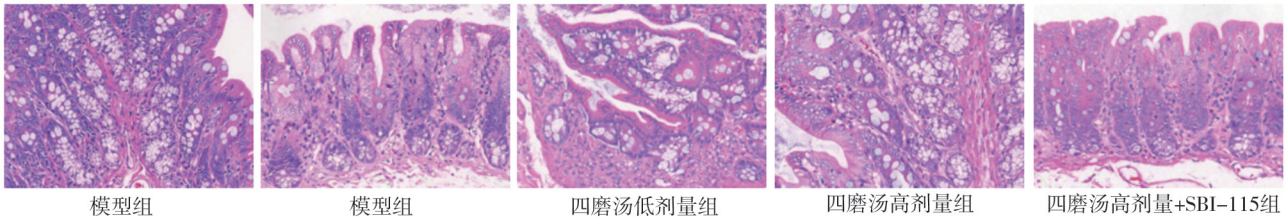


图1　HE染色检测各组大鼠结肠组织病理形态（200×）

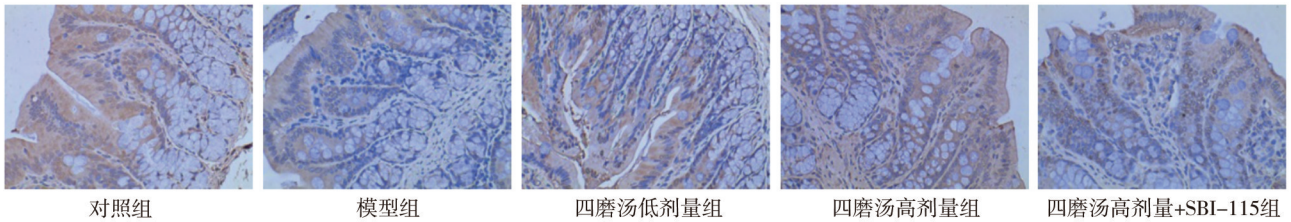


图2　免疫组织化学染色检测各组大鼠结肠组织5-HT3R表达（200×）

表3 各组大鼠结肠组织5-HT3R阳性表达（$\bar{x}\pm s$，n=10）

组别	结肠组织5-HT3R阳性表达（%）
对照组	42.16 ± 5.10
模型组	10.57 ± 3.25[a]
四磨汤低剂量组	25.64 ± 4.13[b]
四磨汤高剂量组	40.13 ± 4.72[bc]
四磨汤高剂量+SBI-115组	12.35 ± 3.51[d]
F值	125.413
P值	<0.001

注：a，对照组比较，P<0.05；b，与模型组比较，P<0.05；c，与四磨汤低剂量组比较，P<0.05；d，与四磨汤高剂量组比较，P<0.05

表4 各组大鼠结肠组织5-HT与炎症因子IL-6、IL-1β水平（$\bar{x}\pm s$，n=10）

组别	5-HT（ng/mg Pro）	IL-6（ng/mg Pro）	IL-1β（ng/mg Pro）
对照组	3.59 ± 0.35	26.53 ± 7.05	31.74 ± 8.92
模型组	1.31 ± 0.22[a]	91.45 ± 13.12[a]	114.62 ± 15.54[a]
四磨汤低剂量组	2.39 ± 0.27[b]	62.87 ± 9.10[b]	75.85 ± 11.86[b]
四磨汤高剂量组	3.50 ± 0.31[bc]	30.94 ± 7.23[bc]	35.90 ± 9.01[bc]
四磨汤高剂量+SBI-115组	1.36 ± 0.25[d]	86.12 ± 12.74[d]	103.56 ± 13.63[d]
F值	151.945	87.713	98.652
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注：a，对照组比较，P<0.05；b，与模型组比较，P<0.05；c，与四磨汤低剂量组比较，P<0.05；d，与四磨汤高剂量组比较，P<0.05

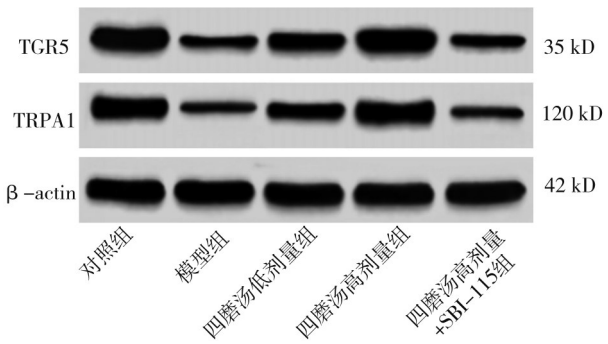


图3 免疫印迹检测各组大鼠结肠组织TGR5/TRPA1通路蛋白表达

表5 各组大鼠结肠组织TGR5/TRPA1通路蛋白相对表达（$\bar{x}\pm s$，n=10）

组别	TGR5/β-actin	TRPA1/β-actin
对照组	1.17 ± 0.13	1.08 ± 0.12
模型组	0.26 ± 0.06[a]	0.19 ± 0.05[a]
四磨汤低剂量组	0.69 ± 0.08[b]	0.61 ± 0.07[b]
四磨汤高剂量组	1.13 ± 0.11[bc]	1.05 ± 0.10[bc]
四磨汤高剂量+SBI-115组	0.27 ± 0.07[d]	0.20 ± 0.06[d]
F值	223.326	267.556
P值	<0.001	<0.001

注：a，对照组比较，P<0.05；b，与模型组比较，P<0.05；c，与四磨汤低剂量组比较，P<0.05；d，与四磨汤高剂量组比较，P<0.05

3 讨 论

如今临床中还没有治疗STC的特效药和治愈方法，主要采用泻剂、促动力剂、手术等方法进行对症治疗，但因耐药性、不良反应、禁忌证等问题，很多患者的治疗效果并不理想，因此还需要寻找更有效且安全性高的新型治疗方法[13-14]。本文采用复方地芬诺酯混悬液灌胃法制备STC模型，结果显示，造模大鼠禁食不禁水24 h后灌胃150 g/L的活性炭混悬液10 mL/mL，自灌胃完毕开始计时，大鼠首粒黑便排出时间相比正常大鼠显著升高，表明STC大鼠模型制备成功。

中药具有多成分、多途径、多靶点起效的特性，且其安全性也比较高，是近年来STC治疗的热点研究领域，中医理论将STC归属于“便秘”范畴，气机瘀滞、通降失调、大肠传导失常导致糟粕内停使STC的基本病机，应以行气、导滞、通便为基本治疗原则，四磨汤由人参、乌药、槟榔、沉香四种药材组成，其中乌药可宣通三焦气机、行气导滞、温通止痛而为君药，沉香可降气归元而为臣药，槟榔可降逆下气、消积导滞且人参可补气生津而共为佐药，诸药合用邪正兼顾，起到行气扶正、破滞降逆、通便导滞的功效，对STC可起到较强治疗作用[9]，研究显示四磨汤可增强胃肠蠕动功能，进而改善肝脾气滞证功能性消化不良大鼠症状[15]，四磨汤加味方可明显增强慢性阻塞性肺疾病急性加重期伴Ⅱ型呼吸衰竭患者无创通气治疗后胃肠动力，促使其胃肠功能恢复并减轻其腹胀症状[16]。本文结果显示，以四磨汤处理STC大鼠，可减轻其结肠组织病理损伤，降低其首粒黑便排出时间、结肠组织IL-6及IL-1β水平并升高其6h内排便粒数、排便重量、小肠炭末推进率、结肠平滑肌收缩力、结肠组织5-HT3R阳性表达、5-HT水平，表明四磨汤可抑制炎症反应，减轻STC大鼠肠道病理损伤，促进5-HT分泌并提高其受体表达水平，增强大鼠结肠平滑肌收缩力及肠道动力，促进其排便，最终改善其便秘症状，进一步证实了四磨汤对STC的治疗功效。

肠道神经元的丢失和肠道炎症已被证明是影响胃肠道运动并引发STC的主要原因，通过减轻肠道炎症、促进神经递质5-HT产生释放、改善肠道神经传递功能可有效促进肠道蠕动，减轻便秘症状[3,17-18]。TGR5/TRPA1信号可通过调控5-HT能突触功能、炎症来参与介导肠道运动功能，与STC的发生发展关系密切[5-7]，增强TGR5、TRPA1的表达可增加5-HT的产生分泌，并通过减轻结肠组织病理损伤、提高肠道动力来改善STC大鼠便秘症状[19]，上调TRPA1可促进5-HT释放及平滑肌运动，改善肠

道微生物群平衡，进而促进STC小鼠排便。本文结果显示，STC大鼠结肠组织TGR5、TRPA1蛋白表达相对对照组大鼠明显降低，以四磨汤处理可逆转其蛋白变化趋势，表明TGR5/TRPA1通路参与介导四磨汤对STC大鼠肠道动力的增强作用；以四磨汤和TGR5抑制剂SBI-115联合处理，可减弱四磨汤单独处理对STC大鼠的抗压作用，削弱其对STC大鼠5-HT分泌、5-HT受体表达的促进作用，拮抗其对STC大鼠结肠平滑肌收缩力、肠道动力的增强作用及对排便的促进作用，最终逆转其对STC大鼠便秘症状的改善作用，揭示四磨汤增强STC大鼠肠道动力是通过激活TGR5信号实现的。

综上所述，四磨汤可上调TGR5、TRPA1蛋白表达，提升5-HT分泌及其受体5-HT3R表达水平，抑制STC大鼠肠道炎症并减轻其结肠组织病理损伤，增强大鼠结肠平滑肌收缩力及肠道动力，促使其排便，最终改善其便秘症状，刺激TGR5/TRPA1信号激活可能是四磨汤治疗STC大鼠的药理机制之一，本文为四磨汤在STC的临床治疗中的应用提供了新的科学依据，初步探索了其药理机制，有助于四磨汤在临床治疗便秘中的合理应用。

参 考 文 献

[1] Zhou QY, Hu Y, Chen X, et al. The application of a robotic single-incision plus one-port laparoscopic total colectomy with fascia space priority for slow-transit constipation-a video vignette[J]. Colorectal Dis, 2023, 25(4): 824-825.

[2] Deng XM, Zhu TY, Wang GJ, et al. Laparoscopic total colectomy with ileorectal anastomosis and subtotal colectomy with antiperistaltic cecorectal anastomosis for slow transit constipation[J]. Updates Surg, 2023, 75(4): 871-880.

[3] Wu MN, Li YR, Gu YF. Hesperidin improves colonic motility in loeramide-induced constipation rat model via 5-hydroxytryptamine 4R/cAMP signaling pathway[J]. Digestion, 2020, 101(6): 692-705.

[4] Zeyue YU, Hao LY, Zongyuan LI, et al. Correlation between slow transit constipation and spleen deficiency, and gut microbiota: a pilot study[J]. Chung I Tsa Chih Ying Wen Pan, 2022, 42(3): 353-363.

[5] Zhou SS, Yang L, Hu L, et al. Blueberry extract alleviated lipopolysaccharide-induced inflammation responses in mice through activating the FXR/TGR5 signaling pathway and regulating gut microbiota [J]. J Sci Food Agric, 2023, 103(9): 4638-4648.

[6] Xu YY, Wang JF, Wu XB, et al. Gut microbiota alteration after cholecystectomy contributes to post-cholecystectomy diarrhea via bile acids stimulating colonic serotonin[J]. Gut Microbes, 2023, 15(1): 2168101.

[7] Chen ZH, Feng JY, Hu S, et al. *Bacillus subtilis* promotes the release of 5-HT to regulate intestinal peristalsis in STC mice via bile acid and its receptor TGR5 pathway[J]. Dig Dis Sci, 2022, 67(9): 4410-4421.

[8] 王晓梅，朱文涛，徐龙辰，等. 四磨汤口服液治疗成人功能性消化不良的Meta分析[J]. 中国中药杂志，2023，48(2)：555-561.
Wang XM, Zhu WT, Xu LC, et al. Meta-analysis of Simotang Oral Liquid in treatment of functional dyspepsia in adults[J]. China J Chin Mater Med, 2023, 48(2): 555-561.

[9] 黄业保，肖 倩，李红梅，等. 基于网络药理学探讨四磨汤治疗慢传输型便秘的作用机制研究[J]. 湖南中医杂志，2022，38(3)：139-146.
Huang YB, Xiao Q, Li HM, et al. Mechanism of action of *Simo* decoction in treatment of slow transit constipation based on network pharmacology [J]. Hunan J Tradit Chin Med, 2022, 38(3): 139-146.

[10] 曹 洋，钟 峰，文 钱，等. 基于胶质细胞源性神经营养因子甲基化修饰探讨电针改善慢传输型便秘大鼠肠动力的作用机制[J]. 针刺研究，2022，47(2)：141-147，153.
Cao Y, Zhong F, Wen Q, et al. Effect of electroacupuncture on gastrointestinal motility in rats with slow transit constipation based on GDNF methylation modification[J]. Acupunct Res, 2022, 47(2): 141-147, 153.

[11] 周赛男，蔺晓源，陈思清，等. 四磨汤对功能性消化不良大鼠CNP/NPR-B/cGMP信号通路的影响[J]. 湖南中医药大学学报，2023，43(7)：1165-1172.
Zhou SN, Lin XY, Chen SQ, et al. Effects of *Simo* Decoction on CNP/NPR-B/cGMP signaling pathway in rats with functional dyspepsia[J]. J Hunan Univ Chin Med, 2023, 43(7): 1165-1172.

[12] Zhao Q, Ren H, Yang N, et al. *Bifidobacterium pseudocatenulatum*-mediated bile acid metabolism to prevent rheumatoid arthritis via the gut-joint axis[J]. Nutrients, 2023, 15(2): 255.

[13] Sun KL, Xie XY, Hu JX, et al. Degree of transverse colon ptosis: an alternative surrogate for evaluation of slow transit constipation[J]. Quant Imaging Med Surg, 2023, 13(9): 5664-5675.

[14] Heemskerk SCM, Dirksen CD, van Kuijk SMJ, et al. Sacral neuromodulation versus conservative treatment for refractory idiopathic slow-transit constipation: the randomized clinical No. 2-trial[J]. Ann Surg, 2024, 279(5): 746-754.

[15] 周 姝，周赛男，韩运宗，等. 四磨汤对肝脾气滞证功能性消化不良大鼠胃肠运动及血清GAS、MTL的影响[J]. 现代中西医结合杂志，2023，32(1)：55-58，132.
Zhou S, Zhou SN, Han YZ, et al. Effects of Si Mo Decoction on gastrointestinal motility and serum GAS and MTL in rats with functional dyspepsia with syndrome of liver-spleen Qi stagnation[J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2023, 32(1): 55-58, 132.

[16] 熊卓吾，李 达，廖陆雷，等. 四磨汤加味方联合针刺治疗对AECOPD伴Ⅱ型呼吸衰竭无创通气后合并腹胀患者胃肠动力的影响[J]. 现代中西医结合杂志，2022，31(5)：639-644.
Xiong ZW, Li D, Liao LL, et al. Effects of modified *Simo* Decoction combined with acupuncture on gastrointestinal motility in AECOPD patients with type Ⅱ respiratory failure complicated with abdominal distension after non-invasive ventilation[J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2022, 31(5): 639-644.

[17] Ren BB, Fu SQ, Liu Y, et al. Dioscin ameliorates slow transit constipation in mice by up-regulation of the BMP2 secreted by muscularis macrophages[J]. Iran J Basic Med Sci, 2022, 25(9): 1132-1140.

[18] Wen Y, Zhan Y, Tang SY, et al. Zhizhu decoction alleviates intestinal barrier damage via regulating SIRT1/FoxO1 signaling pathway in slow transit constipation model mice[J]. Chin J Integr Med, 2023, 29(9): 809-817.

[19] Zhan Y, Wen Y, Zhang LL, et al. Paeoniflorin improved constipation in the loperamide-induced rat model via TGR5/TRPA1 signaling-mediated 5-hydroxytryptamine secretion[J]. Evid Based Complementary Altern Med, 2021, 2021: 6076293.

（责任编辑：曾 玲）