

## $\gamma$ -氨基丁酸对溃疡性结肠炎大鼠离体结肠平滑肌的影响

鲁兵, 余万桂, 鄢进, 吴国栋, 李龙

鲁兵, 李龙, 长江大学医学院内科学专业 湖北省荆州市 434023

余万桂, 鄢进, 长江大学医学院医学机能学部 湖北省荆州市 434023

吴国栋, 荆州市第二人民医院肝病内科 湖北省荆州市 434000

湖北省自然科学基金资助项目, No. 2010CDB04405

作者贡献分布: 余万桂负责此课题的设计与全程指导及审校; 鲁兵负责建立溃疡性结肠炎模型及观察 $\gamma$ -氨基丁酸对溃疡性结肠炎大鼠离体结肠平滑肌的影响及文章的撰写; 鄢进参与实验的过程; 吴国栋对文章的撰写与讨论部分给出指导性意见; 李龙查阅部分文献, 参与讨论。

通讯作者: 余万桂, 教授, 434023, 湖北省荆州市南环路1号, 长江大学医学院医学机能学部. yuwangui@yangtzeu.edu.cn

电话: 0716-8062633 传真: 0716-8062633

收稿日期: 2014-08-15 修回日期: 2014-09-18

接受日期: 2014-09-30 在线出版日期: 2014-11-18

### Effect of $\gamma$ -aminobutyric acid on isolated colonic smooth muscle from rats with experimental ulcerative colitis

Bing Lu, Wan-Gui Yu, Jin Yan, Guo-Dong Wu, Long Li

Bing Lu, Long Li, Internal Medicine of Medical College, Yangtze University, Jingzhou 434023, Hubei Province, China

Wan-Gui Yu, Jin Yan, Functional Experiment Department of Medical College, Yangtze University, Jingzhou 434023, Hubei Province, China

Guo-Dong Wu, Liver Disease Medical of the Second People's Hospital of Jingzhou, Jingzhou 434000, Hubei Province, China

Supported by: Natural Science Foundation of Hubei Province, No. 2010CDB04405

Correspondence to: Wan-Gui Yu, Professor, Functional Experiment Department of Medical College, Yangtze University, 1 Nanhuan Road, Jingzhou 434023, Hubei Province, China. yuwangui@yangtzeu.edu.cn

Received: 2014-08-15 Revised: 2014-09-18

Accepted: 2014-09-30 Published online: 2014-11-18

### Abstract

**AIM:** To assess the effect of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) on isolated colonic smooth muscle from rats with experimental ulcerative colitis (UC).

**METHODS:** Seventeen Wistar rats were randomly divided into either a normal group (six rats) or a model group (eleven rats). The normal group was given distilled water, while the model group was given distilled water contain-

ing 3% dextran sulfate 5000. The body mass of the rats and the character of the stool were observed every day, and the disease active index (DIA) was scored. Nine days later, all the rats were killed to observe the changes of the gross morphology and the pathologic changes of the colon under a microscope by taking tissue specimens from serious lesion sites for HE staining. Meanwhile, colonic smooth muscle was isolated to observe the effect of muscimol, a receptor agonist of the GABA and GABA<sub>A</sub>, bicuculline, an antagonist of the GABA<sub>A</sub>, and baclofen, a receptor antagonist of the GABA<sub>B</sub> on the isolated colonic smooth muscle using isometric tension as an indicator.

**RESULTS:** After four days of treatment with dextran sulfate 5000, the character of the stool of rats in the model group changed, with 30% of rats showing loose stool and 70% showing diarrhea. After six days, about 40% of rats had obvious bloody stool and an obvious decrease in activity and eating. In rats of the normal group, gross pathological examination revealed that the colon had no adhesion, the mucosa had mild hyperemia but no ulcers; microscopic pathological examination revealed intact tissue structure and regularly arranged glands. In rats of the model group, the number of glands decreased, the tissue structure was disorderly, the mucosa was erosive, bleeding, necrotic, and had large deep ulcers. Compared with the normal group, the DIA ( $3.83 \pm 2.74$  vs  $1.23 \pm 1.62$ ,  $P < 0.05$ ) and histopathologic score ( $2.52 \pm 1.36$  vs  $0.41 \pm 0.74$ ,  $P < 0.05$ ) were increased significantly in the model group. Treatment with GABA significantly inhibited the independent contraction activities of the isolated colonic smooth muscle from rats of both the normal and model groups ( $P < 0.05$ ). Treatment with GABA at 0.01 mmol/L and 100 mmol/L resulted in inhibition rates of  $20.00\% \pm 0.02\%$  and  $67.60\% \pm 0.03\%$ , respectively, for the normal group, and  $19.50\% \pm 0.02\%$  and  $64.50\% \pm 0.05\%$  for the model group. There were no significant differences in the above inhibition rates between the two groups ( $P > 0.05$ ). Treatment with 0.01 mmol/L bicuculline increased the

### ■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种至今尚无根治办法的炎症性肠病, 其发病与肠神经系统、免疫系统和肠上皮细胞的相互作用有关。 $\gamma$ -氨基丁酸 ( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA) 是脑内主要的抑制性递质, 也存在于胃肠道, 不仅作为胃肠道主要递质, 还作为一种胃肠激素, 参与胃肠运动、分泌和胃肠黏膜细胞分裂、分化、成熟等的调节。GABA 的神经免疫介导作用可能使其成为 UC 的关键致病因子之一。

### ■同行评议者

刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内镜科

## ■研究前沿

GABA作为脑内主要的抑制性递质和胃肠道主要递质,参与胃肠运动、分泌和胃肠黏膜细胞分裂、分化、成熟等的调节, GABA具有神经免疫调节作用。同时GABA可影响胃肠道功能。而UC与肠神经系统、免疫系统和肠上皮细胞构成的网络有密切关系,本研究初步探讨GABA与受体对UC大鼠离体结肠平滑肌的影响。为进一步探讨GABA与UC的相互关系提供依据。

contractile tension of the isolated colonic smooth muscle of the rats ( $1.25 \text{ g} \pm 0.03 \text{ g}$  vs  $0.77 \text{ g} \pm 0.04 \text{ g}$ ,  $P < 0.05$ ), but treatment with  $0.01 \text{ mmol/L}$  muscimol or  $0.01 \text{ mmol/L}$  baclofen decreased the contractile tension significantly ( $0.38 \text{ g} \pm 0.03 \text{ g}$  vs  $0.75 \text{ g} \pm 0.06 \text{ g}$ ,  $P < 0.05$ ;  $0.45 \text{ g} \pm 0.05 \text{ g}$  vs  $0.75 \text{ g} \pm 0.04 \text{ g}$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** GABA has inhibitory effects on the contraction of the isolated colonic smooth muscle of rats. There exist  $\text{GABA}_A$  and  $\text{GABA}_B$  in the isolated colonic smooth muscle of rats, and GABA has inhibitory effects on the muscle contraction when acting on  $\text{GABA}_A$ , but has stimulating effects when acting on  $\text{GABA}_B$ .

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:**  $\gamma$ -aminobutyric acid; Receptor agonist; Receptor antagonist; Ulcerative colitis; Isolated colonic smooth muscle

Lu B, Yu WG, Yan J, Wu GD, Li L. Effect of  $\gamma$ -aminobutyric acid on isolated colonic smooth muscle from rats with experimental ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(32): 4907-4914 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4907.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i32.4907>

## 摘要

**目的:**以硫酸葡聚糖5000(dextran sulfate sodium, 3%DSS)诱导建立溃疡性结肠炎(uncreative colitis, UC)模型,研究 $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)对实验性UC大鼠结肠离体平滑肌的影响。

**方法:**Wistar大鼠17只随机分为正常组(6只)和模型组(11只)。正常组饮用蒸馏水,模型组饮用含3%DSS的蒸馏水,诱导建立大鼠UC模型,每天观察大鼠体质量和大便性状,进行疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分,9 d后模型组UC模型建立。所有大鼠处死后观察大体形态改变,并自病变严重部位取组织标本,HE染色,镜下观察结肠的病理学改变。同时取大鼠结肠平滑肌,以离体结肠收缩张力变化为指标观察,观察GABA、 $\text{GABA}_A$ 受体激动剂蝇蕈醇和 $\text{GABA}_A$ 受体拮抗剂荷包牡丹碱、 $\text{GABA}_B$ 受体拮抗剂巴氯酚对大鼠离体结肠平滑肌的影响。

**结果:**模型组大鼠第5天出现大便形状改变,30%为大便松散不成型,70%出现腹泻,为黄色稀便,第7天左右40%左右大鼠出现明显血便,活动及进食明显减少,病理学检查正常组

大鼠结肠无黏连,黏膜轻度充血,无溃疡形成,镜下组织结构可见,腺体排列基本整齐;模型组大鼠腺体数目减少,组织结构紊乱,黏膜糜烂,出血、坏死和大面积深层溃疡。与正常组相比,模型组大鼠DAI( $3.83 \pm 2.74$  vs  $1.23 \pm 1.62$ ,  $P < 0.05$ ),组织病理学评分( $2.52 \pm 1.36$  vs  $0.41 \pm 0.74$ ,  $P < 0.05$ )显著升高;与加GABA前比较,GABA对正常大鼠和UC大鼠离体结肠平滑肌自主收缩活动均有抑制作用( $P < 0.05$ ), $0.01 \text{ mmol/L}$  GABA和 $100 \text{ mmol/L}$  GABA对正常大鼠离体结肠平滑肌抑制率分别为 $20.00\% \pm 0.02\%$ 和 $67.60\% \pm 0.03\%$ , $0.01 \text{ mmol/L}$  GABA和 $100 \text{ mmol/L}$  GABA对溃疡性结肠大鼠离体结肠平滑肌抑制率分别为 $19.50\% \pm 0.02\%$ 和 $64.50\% \pm 0.05\%$ ,但GABA对正常大鼠和UC大鼠离体结肠平滑肌自主收缩活动抑制作用差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与加药前比较, $0.01 \text{ mmol/L}$   $\text{GABA}_A$ 受体拮抗剂荷包牡丹碱能使大鼠离体结肠平滑肌收缩张力增大( $1.25 \text{ g} \pm 0.03 \text{ g}$  vs  $0.77 \text{ g} \pm 0.04 \text{ g}$ ,  $P < 0.05$ );与加药前比较, $0.01 \text{ mmol/L}$   $\text{GABA}_A$ 受体激动剂蝇蕈醇能显著抑制大鼠离体结肠平滑肌张力( $0.38 \text{ g} \pm 0.03 \text{ g}$  vs  $0.75 \text{ g} \pm 0.06 \text{ g}$ ,  $P < 0.05$ );与加药前比较, $0.01 \text{ mmol/L}$   $\text{GABA}_B$ 受体拮抗剂巴氯酚能显著抑制大鼠离体结肠平滑肌张力( $0.45 \text{ g} \pm 0.05 \text{ g}$  vs  $0.75 \text{ g} \pm 0.04 \text{ g}$ ,  $P < 0.05$ )。

**结论:**DSS可成功诱导建立大鼠UC模型,GABA对UC大鼠离体结肠平滑肌收缩起抑制作用。大鼠离体结肠平滑肌中存在 $\text{GABA}_A$ 受体以及 $\text{GABA}_B$ 受体,GABA作用于 $\text{GABA}_A$ 受体起抑制收缩作用,GABA作用于 $\text{GABA}_B$ 受体起收缩增强作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** $\gamma$ -氨基丁酸;受体激动剂;受体拮抗剂;溃疡结肠炎;结肠离体平滑肌

**核心提示:**硫酸葡聚糖5000能成功诱导大鼠溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)动物模型, $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)对UC大鼠离体结肠平滑肌收缩起抑制作用。大鼠离体结肠平滑肌中存在 $\text{GABA}_A$ 受体以及 $\text{GABA}_B$ 受体,GABA作用于 $\text{GABA}_A$ 受体起抑制收缩作用,GABA作用于 $\text{GABA}_B$ 受体起收缩增强作用。

鲁兵,余万桂,鄢进,吴国栋,李龙. $\gamma$ -氨基丁酸对溃疡性结肠炎大鼠离体结肠平滑肌的影响.世界华人消化杂志 2014; 22(32): 4907-4914 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4907.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i32.4907>

## 0 引言

$\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)是脑内的主要神经抑制性递质, 同时作为一种胃肠激素, 参与胃肠运动、分泌和胃肠黏膜细胞分裂、分化、成熟等的调节, GABA的神经免疫介导作用可能使其成为溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的关键致病因子之一<sup>[1,2]</sup>. UC是一种肠道慢性非特异性炎症. 病变主要位于黏膜及黏膜下层, 并伴有些肠外表现<sup>[3-6]</sup>, 具有病程长、反复发作的特点, 近年来, 我国UC发病率明显上升, 国内15年的研究报道<sup>[7]</sup>统计称, 近5年的发病率为第1个5年的8倍. UC是一种至今尚无根治办法的炎症性肠病, 其发病机制尚不明确. 基于以上认识, 本课题研究以硫酸葡聚糖5000(dextran sulfate sodium, 3%DSS)诱导大鼠UC动物模型<sup>[8,9]</sup>, 然后通过恒温灌流四腔浴槽系统, 观察GABA对UC离体平滑肌的影响, 以期能够对UC为代表的某些胃肠疾病的防治提出科学的依据.

## 1 材料和方法

1.1 材料  $\delta$  Wistar大鼠17只, 体质量 $175 \text{ g} \pm 15 \text{ g}$ , PF级, 由湖北省实验动物研究中心提供(动物中心许可证号为SCXK2008-005, 动物合格证号: 00003033). 饲料由湖北省实验动物研究中心提供, 常规饲养. DSS购自上海西宝生物科技有限公司; GABA、蝇蕈醇、荷包牡丹碱、巴氯酚由Sigma公司提供.

### 1.2 方法

1.2.1 分组和建模: 将17只大鼠随机分为正常组和模型组, 其中正常组6只, 模型组11只. 正常组自由饮用蒸馏水, 模型组自由饮用含3%DSS蒸馏水用以诱导建立大鼠UC模型, 9 d后模型组UC模型建立, 每天观察大鼠质量和大便形状, 进行疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分. DAI评分及其标准<sup>[10]</sup>如表1.

1.2.2 大鼠DAI评分: 9 d后, 所有大鼠经乌拉坦麻醉后, 断头处死, 破腹后分离大肠, 沿肠系膜附着处纵行剪开肠壁, 观察大体形态改变, 并自病变严重部位取组织标本,  $40 \text{ g/L}$ 甲醛液中固定, 常规石蜡包埋、切片( $5 \mu\text{m}$ ), HE染色, 镜下观察结肠的病理学改变, 对其大体形态及病理学改变进行评分, 具体评分标准<sup>[11]</sup>如表2, 3.

1.2.3 观察大鼠大肠运动曲线: 同时取结肠组织标本, 用柯氏液保存. 然后打开生物机能实验系统, 记录肠段的运动曲线. 记录对照肠段运动曲线后, 停止供气 $1 \text{ min}$ 并记录曲线变化, 然后观

表 1 疾病活动指数评分标准

分数	体质量下降(%)	大便性状	便血
0	无	正常	正常
1	1-5	松散	隐血便
2	6-10	松散	隐血便
3	11-15	松散	肉眼血便
4	>15	腹泻	肉眼血便

表 2 结肠组织大体形态学评分标准

分数	肉眼观察结肠特征
0	无损伤
1	黏膜充血、水肿, 未出现溃疡
2	黏膜充血、水肿、轻度糜烂, 无溃疡
3	黏膜充血、水肿、中度糜烂, 有单个溃疡
4	黏膜充血、水肿、高度糜烂, 有多处溃疡
5	黏膜充血、水肿、重度糜烂, 有>1 cm溃疡

表 3 结肠病理学评分标准

等级	显微镜下表现
0	正常结肠黏膜
1	隐窝缺损1/3
2	隐窝缺损2/3
3	固有层覆盖单层上皮伴轻度炎性细胞浸润
4	黏膜糜烂、溃疡伴显著的炎性细胞浸润

察肠段紧张度变化. 当出现明显变化后, 立即恢复供气. 记录对照肠段运动曲线后, 加入 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 台式液, 并记录曲线变化, 同时观察肠段紧张度变化. 当出现明显变化后, 立即用 $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 台式液冲洗, 待恢复正常. 同法加入不同浓度GABA以及GABA<sub>A</sub>受体激动剂、GABA<sub>A</sub>受体阻断剂、GABA<sub>B</sub>受体阻断剂, 孵育 $15 \text{ min}$ , 观察并记录曲线变化.

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件进行分析, 数据资料采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 组间比较, 计量资料采用 $t$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 DAI情况 正常组大鼠活动如常, 饮食正常, 无明显体质量下降, 无腹泻、便血等异常改变. 饮用含3%DSS蒸馏水的模型组大鼠于第5天开始均出现大便性状改变, 30%为大便松散不成形, 70%出现腹泻, 为黄色稀便、半稀便, 第7天左右40%大鼠出现明显血便, 活动及进食明显减少,

### ■ 相关报道

研究表明GABA对小鼠回肠平滑肌运动有抑制作用. 外源性GABA通过ENS内GABA<sub>A</sub>受体兴奋大鼠远端结肠的环形肌收缩, 肠炎后GABA兴奋结肠远端环形肌收缩的作用受到长时间抑制, 肠炎后GABA这种作用的长时间改变不是由于结肠GABA<sub>A</sub>受体表达下降或结肠收缩性能下降引起的.



## ■创新盘点

本文章首次报道了GABA对UC大鼠离体结肠平滑肌收缩起抑制作用。大鼠离体结肠平滑肌中存在GABA<sub>A</sub>受体以及GABA<sub>B</sub>受体, GABA作用于GABA<sub>A</sub>受体起抑制收缩作用, GABA作用于GABA<sub>B</sub>受体起收缩增强作用。

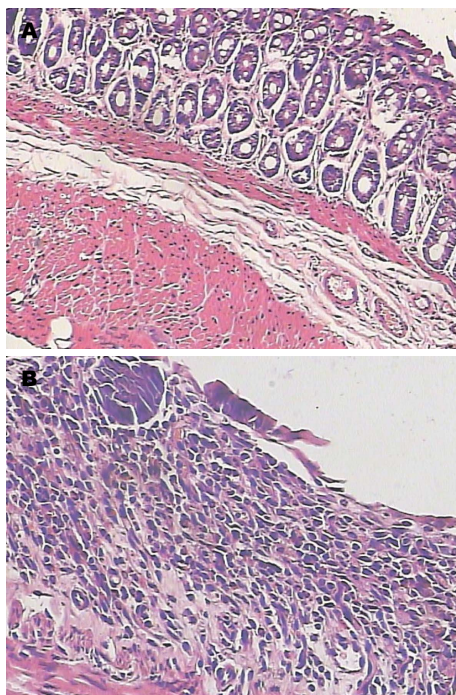


图1 正常组与实验组显微镜下病理改变(HE × 200). A: 正常组. 镜下组织结构清晰, 腺体排列基本整齐; B: 实验组. 黏膜缺损, 腺体破坏、消失, 大量炎性细胞浸润, 隐窝缺损明显, 并可见新生肉芽组织。

体质量下降. 模型组大鼠DAI评分明显高于正常组, 且差异具有统计学意义. DAI评分如表4.

**2.2 大体形态和病理学改变** 正常组大鼠肠黏膜表面光滑, 无明显损伤, 镜下观上皮完整, 黏膜下血管正常, 无充血水肿, 腺体及杯状细胞排列整齐, 无炎细胞浸润及溃疡形成. 模型组大鼠结肠黏膜充血、水肿, 广泛糜烂, 多处溃疡形成, 有的形成深大溃疡. 镜下观黏膜缺损, 腺体破坏或消失, 杯状细胞减少, 大量炎性细胞浸润, 隐窝缺损明显, 并有隐窝炎症脓肿形成, 溃疡底部可见新生肉芽组织. 各组大鼠结肠组织病理切片如图1.

**2.3 GABA对UC大鼠结肠离体平滑肌自发活动的影响** 离体大鼠结肠平滑肌稳定时, 正常组、模型组分别加入不同浓度GABA, 浓度分别为0.01、0.1、1、10、100 mmol/L. 结果显示, 加药前后, 正常组与模型组平滑肌收缩幅度差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ), 加药后振幅较加药前减少, 并且随着浓度的增加, 抑制逐渐加强, GABA能抑制大鼠离体平滑肌收缩作用. 正常组和模型组振动幅度组间比较, 加药前后差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 振幅变化呈现相似变化(表5, 图2).

**2.4 GABA<sub>A</sub>受体阻断剂对大鼠结肠离体平滑肌**

表4 正常组与实验组DAI、结肠大体形态及病理学评分(mean ± SD)

分组	<i>n</i>	DAI评分	显微病理评分
对照组	6	1.23 ± 1.62	0.41 ± 0.74
实验组	11	3.83 ± 2.74 <sup>a</sup>	2.52 ± 1.36 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组. DAI: 疾病活动指数.

影响 离体大鼠大肠平滑肌稳定时, 加GABA<sub>A</sub>受体拮抗剂荷包牡丹碱浓度(0.1 mmol/L), 然后加入GABA(浓度50 mmol/L), 结果显示, 加药前后, 正常组和模型组平滑肌收缩幅度差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ), 加药后振幅较加药前明显加强, GABA<sub>A</sub>受体阻断剂使大鼠离体结肠平滑肌收缩作用加强(表7).

**2.5 GABA<sub>A</sub>受体激动剂对大鼠离体平滑肌影响** 离体大鼠大肠平滑肌稳定时, 加入GABA<sub>A</sub>受体激动剂0.1 mmol/L蝇蕈醇. 结果显示, 加药前后, 正常组和模型组平滑肌收缩幅度差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), GABA<sub>A</sub>受体激动剂能显著抑制正常组和模型组大鼠平滑肌收缩作用(表8).

**2.6 GABA<sub>B</sub>受体阻断剂对大鼠结肠离体平滑肌影响** 离体大鼠大肠平滑肌稳定时, 加GABA<sub>B</sub>受体拮抗剂巴氯酚(浓度0.1 mmol/L), 然后加入GABA(浓度50 mmol/L). 结果显示, 加药前后正常组合与模型组振动幅变化差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), GABA<sub>B</sub>受体阻断剂能抑制大鼠离体结肠平滑肌收缩, 其抑制作用较单纯GABA抑制作用强. 正常组和模型组振动幅度组间比较, 加药前后差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 振幅变化呈现相似变化(表9).

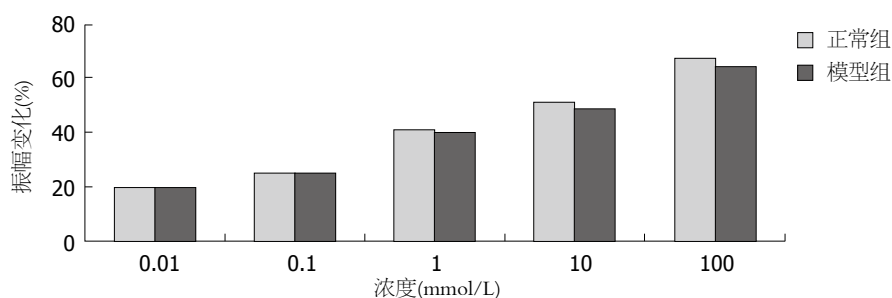
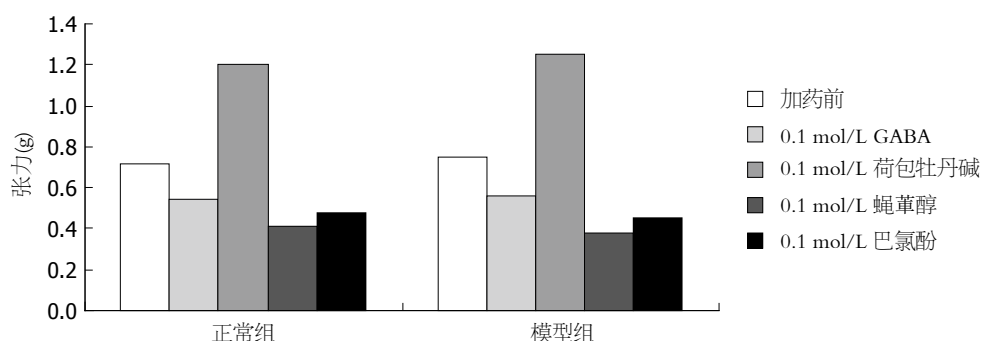
**2.7 GABA及其受体阻断剂和激动剂对大鼠离体结肠平滑肌影响** 分别选取加药前、0.1 mmol/L的GABA、GABA<sub>A</sub>受体拮抗剂荷包牡丹碱和GABA<sub>A</sub>激动剂蝇蕈醇、GABA<sub>B</sub>受体拮抗剂巴氯酚对正常组和模型组大鼠离体结肠平滑肌振动幅度张力影响的数据作图(图3). 结果显示, 与加药前比较, 0.1 mmol/L的GABA, 对正常组和模型组的结肠平滑肌起收缩抑制( $P < 0.05$ ). 0.1 mmol/L的受体拮抗剂荷包牡丹碱对正常组和模型组的结肠平滑肌起收缩增强( $P < 0.05$ ). 0.1 mmol/L的受体激动剂蝇蕈醇, 对正常组和模型组的结肠平滑肌起收缩抑制( $P < 0.05$ ). 0.1 mmol/L的GABA<sub>B</sub>受体拮抗剂巴氯酚, 对正常组和模型组的结肠平滑肌起收缩抑制( $P < 0.05$ ).

表 5 GABA对正常大鼠离体结肠平滑肌活动的影响 (mean  $\pm$  SD)

GABA浓度(mmol/L)	结肠收缩张力(g)		振幅减小率(%)	结肠收缩频率(min)	
	加药前	加药后		加药前	加药后
0.01	0.75 $\pm$ 0.03	0.60 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	20.0 $\pm$ 0.02	41 $\pm$ 4.1	40 $\pm$ 3.5
0.1	0.72 $\pm$ 0.06	0.54 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	25.0 $\pm$ 0.01	43 $\pm$ 4.2	42 $\pm$ 3.6
1	0.75 $\pm$ 0.05	0.44 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	41.3 $\pm$ 0.04	41 $\pm$ 3.4	45 $\pm$ 5.1
10	0.73 $\pm$ 0.03	0.36 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	50.7 $\pm$ 0.02	41 $\pm$ 3.3	42 $\pm$ 4.2
100	0.74 $\pm$ 0.04	0.24 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	67.6 $\pm$ 0.03	40 $\pm$ 4.1	41 $\pm$ 3.3

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 加药前. GABA:  $\gamma$ -氨基丁酸.表 6 GABA对模型组大鼠离体结肠平滑肌活动的影响 (mean  $\pm$  SD)

GABA浓度(mmol/L)	结肠收缩张力(g)		振幅减小率(%)	结肠收缩频率(min)	
	加药前	加药后		加药前	加药后
0.01	0.77 $\pm$ 0.04	0.62 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	19.5 $\pm$ 0.02	43 $\pm$ 5.1	42 $\pm$ 3.4
0.1	0.75 $\pm$ 0.06	0.56 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	25.3 $\pm$ 0.03	45 $\pm$ 4.3	44 $\pm$ 3.7
1	0.78 $\pm$ 0.05	0.47 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	39.7 $\pm$ 0.03	42 $\pm$ 3.8	46 $\pm$ 4.5
10	0.76 $\pm$ 0.03	0.39 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	48.7 $\pm$ 0.04	45 $\pm$ 3.5	46 $\pm$ 4.2
100	0.76 $\pm$ 0.04	0.27 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	64.5 $\pm$ 0.05	43 $\pm$ 4.2	44 $\pm$ 3.5

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 加药前. GABA:  $\gamma$ -氨基丁酸.图 2 GABA对大鼠离体结肠平滑肌活动的影响. GABA:  $\gamma$ -氨基丁酸.图 3 GABA及其受体阻断剂和激动剂对大鼠离体结肠平滑肌影响. GABA:  $\gamma$ -氨基丁酸.

### 3 讨论

UC是一种肠道慢性非特异性炎症<sup>[1-15]</sup>. 位于黏膜及黏膜下层, 并伴有些肠外表现, 具有病程长、

反复发作的特点, 近年我国UC发病率明显上升, 国内15年的研究报道统计称, 近5年的发病率为第1个5年的8倍<sup>[16-18]</sup>. UC是一种至今尚无根治

### ■应用要点

课题研究以硫酸葡聚糖5000(DSS)诱导大鼠UC动物模型, 然后通过恒温灌流四腔浴槽系统, 观察 $\gamma$ -氨基丁酸对UC离体平滑肌的影响, 以期能够对UC为代表的某些胃肠疾病的防治提出科学的依据.

### ■同行评价

本文研究结果显示DSS可成功诱导建立大鼠UC模型,外源性GABA对大鼠离体大肠平滑肌有明显抑制作用,其抑制作用是作用于大肠平滑肌中GABA<sub>A</sub>以及GABA<sub>B</sub>受体的综合结果导致,为进一步基础研究积累了数据。

表 7 GABA<sub>A</sub>受体阻断剂对正常组和模型组大鼠离体结肠平滑肌影响

分组	加药前收缩张力(g)	加药后收缩张力(g)	振幅增大率(%)
正常组	0.72 ± 0.02	1.20 ± 0.03 <sup>a</sup>	66.7 ± 0.05
模型组	0.77 ± 0.04	1.25 ± 0.03 <sup>a</sup>	62.3 ± 0.05

<sup>a</sup>P<0.05 vs 加药前. GABA: γ-氨基丁酸.

表 8 GABA<sub>A</sub>受体激动剂对正常组和模型组大鼠离体结肠平滑肌影响

分组	加药前收缩张力(g)	加药后收缩张力(g)	振幅减小率(%)
正常组	0.80 ± 0.06	0.41 ± 0.03	48.8 ± 0.02
模型组	0.75 ± 0.06	0.38 ± 0.03	49.3 ± 0.02

GABA: γ-氨基丁酸.

表 9 GABA<sub>B</sub>受体阻断剂对正常组和模型组大鼠离体结肠平滑肌影响

分组	加药前收缩张力(g)	加药后收缩张力(g)	振幅减小率(%)
正常组	0.77 ± 0.04	0.48 ± 0.05	37.7 ± 0.02
模型组	0.75 ± 0.04	0.45 ± 0.05	40.0 ± 0.01

GABA: γ-氨基丁酸.

办法的炎症性肠病,其发病原因尚不明确<sup>[19-21]</sup>.本实验,由DSS诱导建立的UC模型,出现了与人类极为类似的症状,如腹泻、黏膜脓血便等,结合镜下病理变化,表明其诱导的UC模型比其他UC模型更接近人类UC.

大鼠离体大肠主要在壁内神经丛的作用下进行收缩运动,壁内神经丛由肌间神经丛和黏膜下神经丛组成<sup>[22]</sup>.壁内神经丛是调节大鼠大肠运动的主要神经丛.现研究表明,神经元除了有肾上腺能、胆碱能、肽能外,还有GABA能.GABA能分布在整个肠道系统中,对肠道平滑肌运动起重要作用<sup>[23-25]</sup>.本实验显示,外源性GABA对UC大鼠近端结肠段的自发收缩活动有显著的抑制作用,他使结肠呈舒张松弛状态,收缩振幅明显减小,并呈现一种剂量一效应关系.这说明结肠中存在GABA受体,GABA可通过GABA受体参与调节大鼠结肠的自发活动,由于GABA浓度不断的增高,被结合的GABA受体逐渐增多,导致对结肠的抑制作用逐渐增大,最后结肠停止收缩活动.

哺乳动物中存在不同的GABA受体亚型<sup>[26-28]</sup>,GABA对不同亚型的作用效果并不相同<sup>[29-31]</sup>,本实

验主要研究了GABA<sub>A</sub>受体和GABA<sub>B</sub>受体,结果表明,GABA<sub>A</sub>受体阻断剂(荷包牡丹碱)使大鼠离体结肠平滑肌振动幅度增大,增强平滑肌收缩作用.GABA<sub>A</sub>受体激动剂(蝇蕈醇),使大鼠离体结肠平滑肌振动幅度减弱,抑制平滑肌收缩作用.说明存在于大鼠结肠中的GABA<sub>A</sub>受体是一种抑制性受体.当GABA<sub>A</sub>受体被阻断后,GABA可能通过B受体产生兴奋作用.本研究加入GABA<sub>B</sub>受体拮抗剂巴氯酚(浓度0.1 mmol/L),大鼠离体平滑肌收缩作用受到抑制,说明GABA<sub>B</sub>受体对平滑肌有兴奋作用.徐项桂等<sup>[32]</sup>研究认为GABA<sub>B</sub>主要是通过胆碱能M型受体来实现兴奋作用的,GABA与GABA<sub>B</sub>受体结合后支配结肠平滑肌的胆碱能神经纤维释放乙酰胆碱,从而通过M受体,使结肠活动加强.

总之,外源性GABA对大鼠离体大肠平滑肌有明显抑制作用.其抑制作用是作用于大肠平滑肌中GABA<sub>A</sub>以及GABA<sub>B</sub>受体的综合结果导致.GABA作用于GABA<sub>A</sub>受体引起平滑肌收缩抑制,GABA作用于GABA<sub>B</sub>受体引起平滑肌收缩增强.其收缩抑制效果明显强于收缩增强,总



的体现为收缩抑制。

#### 4 参考文献

- Tomita R, Sugito K, Sakurai K, Fujisaki S, Koshinaga T. Sacral nerve function in child patients after ileal j-pouch-anal anastomosis for ulcerative colitis. *Int Surg* 2014; 99: 506-511 [PMID: 25216412 DOI: 10.1007/bf00312378]
- Principi M, Barone M, Pricci M, De Tullio N, Losurdo G, Ierardi E, Di Leo A. Ulcerative colitis: from inflammation to cancer. Do estrogen receptors have a role? *World J Gastroenterol* 2014; 20: 11496-11504 [PMID: 25206257 DOI: 10.3748/wjg.v20.i33.11496]
- Nemoto H, Kataoka K, Ishikawa H, Ikata K, Arimochi H, Iwasaki T, Ohnishi Y, Kuwahara T, Yasutomo K. Reduced diversity and imbalance of fecal microbiota in patients with ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2955-2964 [PMID: 22623042 DOI: 10.1007/s10620-012-2236-y]
- Luo SY, Le Z, Lv XH, Zhong ZG. [Study on effect of total flavonoids of Oldenlandia diffusa on ulcerative colitis and its immunological mechanism]. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 2014; 39: 896-900 [PMID: 25204186]
- Kedrin D, Masia R, Nazarian RM, Garber JJ. Mycobacterium chelonae bacteremia after first dose of infliximab for ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2014; 109: 1501-1502 [PMID: 25196883]
- Xu L, Xiao W, Ma D, Zhou S, Zhang Q. Ulcerative colitis combined with acute interstitial lung disease and airway disease: A case report and literature review. *Exp Ther Med* 2014; 8: 1229-1236 [PMID: 25187830]
- 张烁, 吕宾, 晁冠群, 郭贻, 孟立娜, 张璐. 难治性炎症性肠病临床特征分析. *胃肠病学* 2008; 13: 544-547
- 卢月月, 余万桂, 何长华. 二连白地汤治疗大鼠溃疡性结肠炎的实验研究. *长江大学学报(自然科学版)* 2010; 7: 6-8
- 鲁兵, 余万桂, 吴国栋. 溃疡性结肠炎模型建立的研究进展. *长江大学学报(自然科学版)* 2013; 10: 102-105
- Wiercinska-Drapalo A, Jaroszewicz J, Tarasow E, Flisiak R, Prokopowicz D. Transforming growth factor beta1 and prostaglandin E2 concentrations are associated with bone formation markers in ulcerative colitis patients. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2005; 78: 160-168 [PMID: 16303613 DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2005.06.006]
- 孙建华, 吴闯, 姜在龙, 金炜, 吴炯, 李盈, 王振宜. 溃疡2号方对溃疡性结肠炎大鼠溃疡组织中TNF- $\alpha$ 及其mRNA表达. *上海中医药杂志* 2012; 46: 65-67
- Dimitroulis D, Patsouras D, Katsargyris A, Charalampoudis P, Anastasiou I, Kouraklis G. Primary enteric-type mucinous adenocarcinoma of the urethra in a patient with ulcerative colitis. *Int Surg* 2014; 99: 669-672 [PMID: 25216440 DOI: 10.1159/000282492]
- Smith PJ, Levine AP, Dunne J, Guilhamon P, Turmaine M, Sewell GW, O'Shea NR, Vega R, Paterson JC, Oukrif D, Beck S, Bloom SL, Novelli M, Rodriguez-Justo M, Smith AM, Segal AW. Mucosal transcriptomics implicates under expression of BRINP3 in the pathogenesis of ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2014; 20: 1802-1812 [PMID: 25171508 DOI: 10.1097/MIB.000000000000169]
- Araki T, Okita Y, Fujikawa H, Uchida K, Mohri Y, Kusunoki M. Functional and manometric outcomes after redo-ileal pouch anal anastomosis in patients with ulcerative colitis. *Dig Surg* 2014; 31: 190-196 [PMID: 25170771 DOI: 10.1159/000364837]
- Hebden JM, Blackshaw PE, Perkins AC, Wilson CG, Spiller RC. Limited exposure of the healthy distal colon to orally-dosed formulation is further exaggerated in active left-sided ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 155-161 [PMID: 10651655 DOI: 10.1046/j.1365-2036]
- Iskandar H, Greer JB, Schraut WH, Regueiro MD, Davis PL, Hartman DJ, Siegel CA, Herfarth HH, Williams ED, Schwartz MB. IBD LIVE case series-case 1: smoking, a controversial but effective treatment for ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2014; 20: 1696-1701 [PMID: 25167214 DOI: 10.1097/MIB.000000000000188]
- Aschenbrenner DS. A new monoclonal antibody for ulcerative colitis and Crohn's disease. *Am J Nurs* 2014; 114: 25 [DOI: 10.1097/01.NAJ.0000453754.39012.e7]
- 姜睿, 熊明芳. 从湿论治溃疡性结肠炎验案3例. *江西中医药* 2011; 42: 31-32
- 欧阳钦. 溃疡性结肠炎临床诊断指南. *临床消化病杂志* 2007; 19: 4-6
- Sacco R, Tanaka T, Yamamoto T, Bresci G, Saniabadi AR. Adacolumn leucocytapheresis for ulcerative colitis: clinical and endoscopic features of responders and unresponders. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2014 Aug 27. [Epub ahead of print][PMID: 25160857 DOI: 10.1586/17474124]
- Freire P, Figueiredo P, Cardoso R, Manuel Donato M, Ferreira M, Mendes S, Silva MR, Cipriano MA, Ferreira AM, Vasconcelos H, Portela F, Sofia C. Predictive value of rectal aberrant crypt foci for intraepithelial neoplasia in ulcerative colitis - a cross-sectional study. *Scand J Gastroenterol* 2014; 49: 1219-1229 [PMID: 25157637 DOI: 10.3109/00365521]
- Naves JE, Lorenzo-Zúñiga V, Marín L, Mañosa M, Oller B, Moreno V, Zabana Y, Boix J, Cabré E, Domènech E. Long-term outcome of patients with distal ulcerative colitis and inflammation of the appendiceal orifice. *J Gastrointest Liver Dis* 2011; 20: 355-358 [PMID: 22187699 DOI: 10.1016/s0016-5085(98)80095-4]
- 兰永臻, 王朔, 刘晓慧, 冯子楠, 鄢凤梅, 周爱华. 阑尾口周围黏膜非连续性病变对非全结肠型溃疡性结肠炎诊断价值的探讨. *临床荟萃* 2008; 23: 943-944
- Karmacharya P, Pathak R, Shrestha P, Alweis R. The red hearing: swollen ear in a patient with ulcerative colitis. *J Community Hosp Intern Med Perspect* 2014; 4: eCollection 2014 [PMID: 25147631 DOI: 10.3402/jchimp.v4.24659]
- Langhorst J, Frede A, Knott M, Pastille E, Buer J, Dobos GJ, Westendorf AM. Distinct kinetics in the frequency of peripheral CD4+ T cells in patients with ulcerative colitis experiencing a flare during treatment with mesalazine or with a herbal preparation of myrrh, chamomile, and coffee charcoal. *PLoS One* 2014; 9: e104257 [PMID: 25144293 DOI: 10.1371/journal.pone.0104257]
- 苗政, 钱家鸣, 李景南, 杨晓鸥, 唐晓艳. 康复新液对大鼠噁唑酮结肠炎的疗效及其机制初探. *胃肠病学* 2012; 17: 457-461
- Bhoola PH, Shtofmakher G, Bahri A, Patel AA, Barlizo SR, Trepal M. Pedal Gangrenous Changes in the Digits of an Adolescent With Ulcerative Colitis: A Case Report. *J Foot Ankle Surg* 2014 Aug 16. [Epub ahead of print] [PMID: 25135104 DOI: 10.1053/

- j.jfas.2014.06.024]
- 28 Zampeli E, Gizis M, Siakavellas SI, Bamias G. Predictors of response to anti-tumor necrosis factor therapy in ulcerative colitis. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2014; 5: 293-303 [PMID: 25133030 DOI: 10.4291/wjgp.v5.i3.293]
- 29 Boltin D, Gingold-Belfer R, Kimchi NA, Ben-Bassat O, Langiewicz J, Niv Y, Birkenfeld S. Uptake of influenza vaccine in ulcerative colitis. *Vaccine* 2014; 32: 5484-5489 [PMID: 25132337 DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.07.080]
- 30 Kennedy NA, Satsangi J. Editorial: Early corticosteroids in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 40: 727 [PMID: 25123383 DOI: 10.1111/apt.12879]
- 31 Samaan MA, Bagi P, Vande Casteele N, D'Haens GR, Levesque BG. An update on anti-TNF agents in ulcerative colitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2014; 43: 479-494 [PMID: 25110254 DOI: 10.1016/j.gtc.2014.05.006]
- 32 徐项桂, 李韦波, 何旋.  $\gamma$ -氨基丁酸对大鼠离体结肠自发收缩活动的影响. *江苏农业科学* 2006; 6: 318-320

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。