

本文引文格式:卓臣义,周洋,冯时,等. 大黄灵仙胶囊调控小鼠胆囊运动功能预防胆囊结石的机制研究[J]. 右江民族医学院学报, 2020, 42(5): 539-542.

【论著与临床报道】

## 大黄灵仙胶囊调控小鼠胆囊运动功能预防胆囊结石的机制研究

卓臣义<sup>1</sup>, 周洋<sup>2</sup>, 冯时<sup>2</sup>, 包崇婵<sup>2</sup>, 姜艳<sup>3</sup>, 唐乾利<sup>3</sup>

(1. 右江民族医学院附属医院, 广西 百色 533000;

2. 右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000;

3. 右江民族医学院, 广西 百色 533000)

**摘要:**目的 探究大黄灵仙胶囊对小鼠胆囊运动功能的影响。方法 将48只SPF级C57BL/6雄性小鼠按随机数字表法随机分成4组,分别为:普食组(P组)、模型组(M组)、大黄灵仙胶囊组(ZD组)、熊去氧胆酸组(ZX组),每组各12只。P组予以普通饲料喂养,其余3组均以致石性饲料喂养,各组正常饮水;ZD组及ZX组予以药物干预,造模8周后,测量各组小鼠胆囊体积,评估各组小鼠胆囊运动功能。结果 ZD组、ZX组小鼠胆囊体积明显小于M组( $P < 0.05$ ),ZD组与ZX组的胆囊体积大小差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 大黄灵仙胶囊可通过调控胆囊体积改善小鼠胆囊排空功能,这可能是其预防胆囊结石形成的部分机制。

**关键词:**胆石;胆囊运动;大黄灵仙胶囊

中图分类号:R575.621

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2020)05-0539-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2020.05.001

### Mechanism of Dahuang Lingxian capsule regulating the gallbladder motor function to prevent gallstone in mice

Zhuo Chenyi<sup>1</sup>, Zhou Yang<sup>2</sup>, Feng Shi<sup>2</sup>, Bao Chongchan<sup>2</sup>, Jiang Yan<sup>3</sup>, Tang Qianli<sup>3</sup>

(1. *Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;*

2. *Graduate School, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;*

3. *Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China*)

**Abstract:** **Objective** To explore the effect of Dahuang Lingxian capsule on gallbladder motor function in mice. **Methods** Forty-eight SPF C57BL/6 male mice were randomly divided into 4 groups according to the random number table method: general food group (group P), model group (group M), Dahuang Lingxian capsule group (group ZD), ursodesoxycholic acid group (group ZX), with 12 mice in each group. Group P was fed with common feed, while the other three groups were fed with lithogenic feed. Mice in each group were given water normally. Group ZD and group ZX were intervened with medicine. After 8 weeks of modeling, the gallbladder volume of mice in each group was measured, and the gallbladder motor function of mice in each group was evaluated. **Results** The gallbladder volume of mice in group ZD and group ZX was significantly smaller than that of group M ( $P < 0.05$ ), and there was no significant difference in gallbladder volume of mice between group ZD and group ZX ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Dahuang Lingxian capsule can improve gallbladder

**基金项目:**国家自然科学基金项目(81860851);2017年广西科学研究与技术开发计划项目(重点研发计划)(桂科AB17195071);广西自然科学基金重点项目(2018GXNSFDA281017);2017年广西科学研究与技术开发计划项目(广西科技基地和人才专项)(桂科AD17129025);2019年广西研究生创新项目(YCSW2019217)

**第一作者简介:**卓臣义(1985-),男,硕士,主治医师,研究方向:普外科疾病的基础与临床研究,E-mail:58250086@qq.com

**通讯作者简介:**唐乾利(1961-),男,医学博士,二级教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:胆石症、创面修复的基础与临床研究,E-mail:htmgx@163.com

emptying function by regulating the volume of gallbladder, which may be part of its mechanism to prevent gallstone formation.

**Key words:** gallstone; gallbladder motor; Dahuang Lingxian capsule

胆石病是指胆囊及胆管内发生结石的疾病,系胆道系统内的钙盐的过饱和沉淀,我国是胆石病高发区域,总检出率超过10%,主要分布于华东、华南及西南地区,广西是本病高发地区之一,且发病率有逐年升高的趋势<sup>[1-2]</sup>。目前对于胆石病发病机制尚不明确,但关于胆囊结石的形成,国内外学者主要在胆汁成分的改变,胆固醇磷脂泡、促/抗成核因子失衡病理因素等方面作了较多研究,而对胆囊运动影响胆石形成的研究相对较少<sup>[3-4]</sup>。胆囊运动与胆石形成密切相关,同时,胆囊运动常以胆囊体积、胆囊收缩率、胆囊排空指数等作为评估指标,胆囊体积越小、胆囊收缩率越高、胆囊排空指数越高则胆囊运动功能越好<sup>[5]</sup>。据此,本研究建立小鼠胆囊结石模型,造模过程予以药物干预,探究胆石形成与胆囊运动的相关性及大黄灵仙胶囊的调控作用。

## 1 材料与方 法

1.1 实验药品 大黄灵仙胶囊(广西中医药大学第一附属医院提供),按照广西壮族自治区药品监督管理局文件(桂药监注[2002]175号,桂药监注[2003]88号),由广西中医药大学第一附属医院中心药房提供标准院内制剂(每颗胶囊含相当于3.75g生药);熊去氧胆酸胶囊(国药准字H20150365;0.25克/25粒/盒,由德国霍克公司出产,生产批号:L19215A,右江民族医学院附属医院药学部提供);致石性饲料(购于江苏美迪森生物医药有限公司,含高脂、高胆固醇、高热量成分:15%脂肪、1.5%胆固醇、0.5%胆酸);水合氯醛(购于中国泰兴市豪申化工贸易有限公司)。

1.2 实验动物 无特殊病原体(SPF级)C57BL/6小鼠,雄性,5周龄体重(18±2)g,购于长沙天勤生物科技有限公司,饲养于右江民族医学院实验动物中心,饲养环境的湿度约(60±10)%,动物房里面的气温处于(25±2)℃之间,室内空气流通保持良好,卫生消毒条件均达标,本研究方案经右江民族医学院动物伦理委员会批准,符合相关伦理学要求。

1.3 造模方法 将小鼠于SPF级动物实验室适应性喂养1周后进行正式喂养。随机数字表法分组:将48只SPF级C57BL/6雄性小鼠分成4组,分别为:普食组(P组)、模型组(M组)、大黄灵仙胶囊组(ZD组)、熊去氧胆酸组(ZX组),每组各12只;普食组予以普通饲料喂养,余3组均予以致石饲料喂养诱导方法造模8周,建立小鼠胆囊结石模型<sup>[6]</sup>。造模期间每天予以药物干预,ZD组给予大黄灵仙胶囊汤药灌胃,ZX组

给予熊去氧胆酸胶囊溶液灌胃,药物剂量根据小鼠与成人体重等效剂量换算,造模期间各组正常饮水。

1.4 实验标本采集 将各组小鼠分别用5%水合氯醛(0.1 ml/10 g)麻醉后,取小鼠腹部正中旁切口,游离并摘除胆囊,测量体积(造作过程轻柔,注意保持胆囊完整性),胆囊类似椭圆,采用公式: $V = 4/3 * (\pi abc)$ (a、b、c分别代表x轴、y轴、z轴的一半)计算。

1.5 统计学方法 采用SPSS 22.0软件进行统计分析。胆囊体积为计量资料,以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多个样本间的比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),根据方差齐性检验,方差齐及不齐时分别使用LSD法和Games-Howell法;计数资料以频数( $n$ )表示,采用 $\chi^2$ 检验或Fisher确切概念法, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 造模情况 P组小鼠无胆囊结石形成,M组小鼠及其他组胆囊内可见颗粒样结石形成或泥沙样结石(图1A),各组成石情况见表1。通过统计学分析发现:P组与M组比较,由于 $N < 40$ ,用确切概率法分析, $P < 0.001$ ,两组差异有统计学意义,造模成功;ZD组与ZX组做统计学分析,两组差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),说明大黄灵仙胶囊、熊去氧胆酸具有防治胆囊结石形成作用,且两种药作用结果相当。

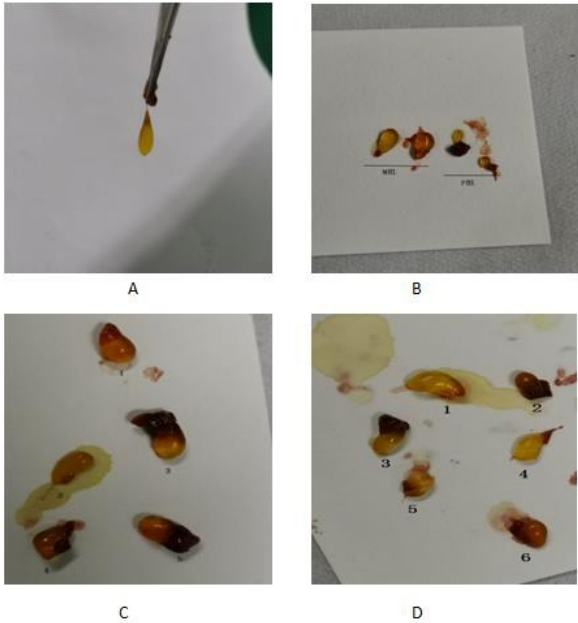
表1 各组小鼠胆囊形成情况

项目	P组	M组	ZD组	ZX组
饲养/只	12	12	12	12
成石/只	0	11	3	2
死亡/只	0	0	0	0
采集胆囊/个	12	12	12	11
成石率/%	0.00	91.67 <sup>a</sup>	25.00	18.18 <sup>b</sup>

注:ZX组因取标本时操作不慎致胆囊破损1只,自动剔除;a:与P组比较, $\chi^2 = 20.308$ , $P < 0.001$ ;b:与ZD组比较, $P > 0.05$ 。

2.2 胆囊体积对比 造模前小鼠均为SPF级的C57BL/6小鼠,雄性,5周龄体重(18±2)g,体重接近,可认为在造模前各小鼠胆囊体积大小一致。大黄灵仙胶囊对小鼠胆囊体积影响造模8周后,比较各组小鼠胆囊体积大小。通过统计学分析显示:M组与P组相比,胆囊体积大小差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),且M组胆囊体积明显大于P组(图1B);ZD组、ZX组与M组相比,胆囊体积大小差异具有统计学

意义( $P < 0.05$ ) (图 1C、图 1D), 且 ZD 组、ZX 组胆囊体积明显小于 M 组; ZD 组与 ZX 组相比, 胆囊体积大小差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 可认为两组治疗效果相似, 见表 2、图 2。



注: A 为完整胆囊, B 为 P 组与 M 组胆囊对比, C 为 ZD 组胆囊, D 为 ZX 组胆囊

图 1 造模后采集小鼠胆囊

表 2 各组小鼠胆囊体积对比

组别	n	胆囊体积/cm <sup>3</sup>
P 组	12	0.00748 ± 0.00110
M 组	12	0.06366 ± 0.00920 <sup>a</sup>
ZD 组	12	0.02820 ± 0.00481 <sup>bc</sup>
ZX 组	11	0.02812 ± 0.00523 <sup>d</sup>
F		177.000
P		<0.05

注: ①表内计量资料数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示; ②a: 与 P 组对比,  $P < 0.05$ ; b: 与 M 组对比,  $P < 0.05$ ; c: 与 ZX 组对比,  $P > 0.05$ ; d: 与 M 组对比,  $P < 0.05$ 。

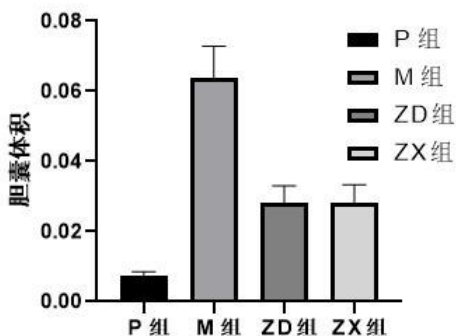


图 2 小鼠胆囊体积柱形图

### 3 讨论

胆囊作为储存、浓缩、排泌胆汁的弹性囊体, 受激

素和神经双重调节呈节律性、周期性、紧张性收缩运动。临床上采用特点方法检查发现: 空腹状态下胆囊结石的病人的胆囊容积较正常人大, 同时, 胆石病患者进食脂肪餐后或静滴胆囊收缩素后的残余容积较正常人大, 胆囊的排空速率也较慢, 说明胆囊结石病人的胆囊收缩功能下降<sup>[7]</sup>。这与实验结果相一致。

胆囊结石形成过程常伴随胆囊运动异常, 且异常较多出现在结石形成早期, 不仅如此, 胆石形成与胆囊运动功能异常相互促进, 最终使胆囊壁发生器质性改变, 病变程度随疾病的进展而加重<sup>[8]</sup>。80% 胆囊结石成分为胆固醇结石, Wang HH 等<sup>[9]</sup>曾报道胆囊收缩素 (cholecystokinin, CCK) 或 1 型胆囊收缩素受体 (cholecystokinin-1 receptor, CCK-1r) 基因在小鼠体内的破坏通过破坏胆囊排空和胆汁胆固醇代谢, 以及肠道促进胆固醇吸收, 显著增加胆固醇结石的形成, 胆囊运动功能异常对外源性 CCK 的反应主要见于胆固醇结石患者。胆囊收缩素调节胆囊收缩, 与胆囊排空有关, A 型胆囊收缩素受体 (Cholecystokinin-A receptor, CCK-AR) 分布于胆囊黏膜, 通过与其配体胆囊收缩素结合, 引起胆囊收缩, 同时, 当胆囊收缩素的信号传导系统发生故障时, 胆囊收缩功能下, 导致胆囊结石形成<sup>[10]</sup>。胆囊收缩素受体的减少可能是胆囊结石形成机制中的一个早期事件, 它可导致某些患者的胆囊运动能力下降。除了激素影响胆囊运动, 神经功能紊乱亦改变胆囊运动, Stolk 等<sup>[11]</sup>报道胆囊结石患者的运动神经复合波 MMC 周期长于正常人, 胆固醇结石患者存在异常的 MMC 和胃动素释放模式, 他们的消化间胆囊排空减少, 并游离于 MMC, 这些干扰可能有助于胆石的形成。综上, 胆囊运动受激素和神经双重调节, 两者调节紊乱引起胆囊结石形成。

熊去氧胆酸具有治疗胆固醇结石作用, 课题组前期研究表明: 大黄灵仙胶囊具有缓解胆管细胞炎性应激, 调节肝胆管转运蛋白表达, 保护肝脏组织、促进肝功能的作用<sup>[12-16]</sup>。此实验表明大黄灵仙胶囊可以维持胆囊的体积大小, 从而进一步调节胆囊运动, 起到预防胆囊结石形成的作用, 然而, 调节胆囊运动是直接降低胆囊胆汁胆固醇浓度还是影响激素浓度或神经功能则需进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] Muñoz LE, Boeltz S, Bilyy R, et al. Neutrophil extracellular traps initiate gallstone formation[J]. Immunity, 2019, 51(3):443-450.
- [2] Zhang JW, Xiong JP, Xu WY, et al. Fruits and vegetables consumption and the risk of gallstone disease: A systematic review and meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(28):e16404-16413.

- [3] 周洋,卓臣义,唐乾利. 胆囊结石形成机制及诊疗现状研究[J]. 右江民族医学院学报,2019,41(2):203-206.
- [4] Rebholz C, Krawczyk M, Lammert F. Genetics of gallstone disease[J]. Eur J Clin Invest,2018,48(7): 12935-12947.
- [5] 李振雄. 清胆化石汤联合腹腔镜胆囊切除术治疗胆结石的临床效果[J]. 临床医学研究与实践,2019,4(13):158-160.
- [6] 王兵,曾鸿孟. 大黄灵仙防治胆石症的作用机制实验研究[J]. 河南医学高等专科学校学报,2019,31(6):711-714.
- [7] Meng Y, Meng K, Zhao X, et al. Protective effects of yinchenhao decoction on cholesterol gallstone in mice fed a lithogenic diet by regulating LXR, CYP7A1, CYP7B1, and HMGCR pathways[J]. Evi Based Complemen Alternat Medi,2018(3):1-9.
- [8] Lavoie B, Nausch B, Zane EA, et al. Disruption of gallbladder smooth muscle function is an early feature in the development of cholesterol gallstone disease. [J]. Neurogastroenterol Motil,2012,24(7):313-324.
- [9] Wang HH, Portincasa P, Wang QH. Update on the molecular mechanisms underlying the effect of cholecystokinin and cholecystokinin-1 receptor on the formation of cholesterol gallstones[J]. Curr Med Chem,2019,26(19): 3407-3421.
- [10] 朱任飞,顾春燕,卢潮德,等. 慢性结石性胆囊炎胆汁胆固醇浓度与胆囊收缩素受体的特点及关系[J]. 大连医科大学学报,2016,38(2):118-120,125.
- [11] Stolk MF, Van Erpecum KJ, Peeters TL, et al. Interdigestive gallbladder emptying, antroduodenal motility, and motilin release patterns are altered in cholesterol gallstone Patients,2001,46(6):1328-1334.
- [12] 王明刚,王兵,胡嗣钦,等. 大黄灵仙胶囊缓解胆管细胞炎性应激的实验研究[J]. 辽宁中医杂志,2018,45(11):2369-2371.
- [13] 王清坚,王明刚,王兵,等. 基于 miRNA 芯片技术探索大黄灵仙胶囊对炎性胆管细胞的多维调控[J]. 广州中医药大学学报,2018,35(2):289-296.
- [14] 黄名威,唐乾利,赫军,等. 豚鼠胆汁酸盐输出泵(BSEP)基因克隆及其在胆结石豚鼠肝组织中的表达分析[J]. 基础医学与临床,2010,30(7):673-676.
- [15] 唐乾利,吕震,王兵,等. 大黄灵仙胶囊调控 ABCB11 和 ABCC2 干预胆结石形成的作用机制研究[J]. 重庆医学,2018,47(1):4-6,10.
- [16] 胡嗣钦,陈林,王兵,等. 大黄灵仙胶囊调控兔胆石症模型肝功能及超微病理的作用机制研究[J]. 中国临床新医学,2017,10(6):505-508.

收稿日期:2020-07-01;修回日期:2020-08-08

## 【读者·作者·编者】

### 本刊对于论文“关键词”的要求

关键词又称叙词或者主题词,是指那些出现在论文题目、摘要或者正文中,对于表达论文中心内容具有实质性意义的词。关键词是位于摘要之后,在论文中起关键作用的、最能说明问题的、代表论文特征的名词或词组。它通常来自于题目,也可以从论文中挑选。一般每篇论文要求3~8个关键词。每个关键词都可以作为检索论文的信息,若选择不当,会影响他人的检索效果。本刊主要参考《中文医学主题词表》(*Chinese Medical Subject Headings, CMeSH*)最新版作为规范使用。非主题词表的关键词为自由词,只有必要时,才可排列于最后。有些新词也可选用几个直接相关的主题词进行搭配。中、英文关键词需要对应,各关键词间用分号隔开。