

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.15.006

文章编号: 1005-8982(2019)15-0026-04

临床研究·论著

催产素受体在肠易激综合征患者中的表达研究*

陈俊杰¹, 杨长青¹, 张晓俊², 柯少雄¹, 盛淑婷¹, 宋亮¹, 王春兰¹, 魏子白¹

(1. 长治医学院附属和平医院 消化内科, 山西 长治 046000; 2. 长治卫生学校附属医院 病理科, 山西 长治 046099)

摘要:目的 探讨肠易激综合征(IBS)患者结肠黏膜催产素受体(OTR)的表达与 IBS 亚型、症状严重程度、伴随精神障碍的相关性。方法 选取长治医学院附属和平医院 41 例受试者, 其中, 27 例 IBS 患者(实验组) 和 14 例健康者(对照组), 根据 IBS 患者粪便性状又将实验组分为 IBS 腹泻型组(IBS-D 组) 和 IBS 不定型组(IBS-U 组)。收集符合罗马 IV 标准的 IBS 患者和健康受试者的结肠黏膜样本, 免疫组织化学法检测 OTR 的表达。结果 实验组与对照组年龄、性别差异无统计学意义($P > 0.05$)。IBS-U 组与 IBS-D 组年龄、性别、病情严重程度调查表(IBS-SSS) 评分、两组精神心理状态差异无统计学意义($P > 0.05$)。实验组 OTR 表达与对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 对照组、IBS-D 组及 IBS-U 组 OTR 表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。OTR 表达与 IBS 患者病情严重程度调查表(IBS-SSS) 评分、精神心理状态无相关($P > 0.05$) 结论 OTR 与 IBS 有一定关联。

关键词: 肠易激综合征; 精神心理状态 / 心理学; 受体, 催产素

中图分类号: R574.4

文献标识码: A

Role of Oxytocin Receptor in patients with Irritable Bowel Syndrome*

Jun-jie Chen¹, Chang-qing Yang¹, Xiao-jun Zhang², Shao-xiong Ke¹, Shu-ting Sheng¹,
Liang Song¹, Chun-lan Wang¹, Zi-bai Wei¹

(Department of Gastroenterology, Peace Hospital, Changzhi Medical College, Changzhi, Shanxi 046000, China; 2. Department of Pathology, Changzhi Medical School Affiliated Hospital, Changzhi, Shanxi 046099, China)

Abstract: Objective To investigate clinical significance of oxytocin receptor (OTR) expression in colon mucosa of patients with irritable bowel syndrome (IBS). **Methods** Colonic mucosal samples from 27 IBS patients and 14 healthy subjects were collected. IBS patients were sub-grouped into IBS-D group and IBS-U group. Expression of OTR were measured by immunohistochemistry. **Results** There was no significant difference in age, sex, IBS-SSS score and psychological status between the two groups ($P > 0.05$). OTR expression was significantly higher in IBS group than that in the normal control group. Expression of OTR was significantly altered in IBS-D group and IBS-U group. No obvious correlation between OTR expression and IBS-SSS score or psychological status was identified ($P > 0.05$). **Conclusions** Increase in OTR expression in IBS patients does not correlate with IBS severity or psychological status.

Keywords: irritable bowel syndrome; psychological status; oxytocin receptor

收稿日期: 2019-01-17

* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 81600422)

[通信作者] 杨长青, E-mail: yangchangqing111@sohu.com

肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS), 是常见的功能性肠道疾病, IBS 患者占消化科门诊的 30% ~ 50%。该病症状为腹痛、腹部不适伴排便或排便习惯改变等, 腹痛是 IBS 患者最突出的症状, 影响患者的生活质量和工作效率。多数研究认为内脏高敏感在 IBS 的发病中起重要作用。最近有研究发现, 催产素 (Oxytocin, OT) / 催产素受体 (oxytocin receptor, OTR) 信号在内脏高敏感中起重要作用^[1-2], 但其机制未明确。本实验对 IBS 患者肠道黏膜 OTR 的表达进行检测, 以探讨 OTR 与 IBS 的相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2017 年 7 ~ 11 月长治医学院附属和平医院消化内科门诊 IBS 患者 27 例为实验组, 另选取同期体检健康者 14 例作为对照组。IBS 患者符合罗马 IV 诊断标准^[3], 实验组纳入标准: ①年龄 18 ~ 65 岁; ②血尿便常规检查无明显异常; ③腹部超声、结肠镜检查无异常。排除标准: ①合并有其他疾病; ②腹部手术史; ③近 1 个月内连续使用抗生素超过 3 d; ④近 2 周内连续服用益生菌、通便药、止泻药、促动力药超过 3 d; ⑤月经期、妊娠或哺乳期妇女。对照组排除标准: ①有 IBS 腹部手术史; ②近 1 个月内曾连续使用抗生素超过 3 d; ③近 2 周内连续服用益生菌、通便药、止泻药、促动力药超过 3 d; ④月经期、妊娠或哺乳期妇女。对照组性别、年龄、生活环境等基本情况均与实验组相匹配。研究经本院医学伦理委员会审核批准, 所有研究对象在参加本实验之前均知情并签署知情同意书。

1.2 标本的收集

结肠镜下活检距肛门口 20 ~ 25 cm 处钳取结肠组织 1 块, 置于 90% 乙醇固定, 石蜡包埋, 保存。

1.3 IBS 分型、症状严重度、伴随心理异常评估

根据 IBS 患者粪便性状将实验组分为 IBS 腹泻型 (irritable bowel syndrome with diarrhea) 组 (IBS-D 组)、IBS 不定型 (irritable bowel syndrome unclassified) 组 (IBS-U 组)。所有 IBS 患者填写 IBS 病情严重程度调查表 (IBS-SSS 表) 和医院焦虑 / 抑郁情绪测定表 (HAD 量表), HAD 量表得分 >8 分为伴随心理异常。

1.4 免疫组织化学染色和结果判定

免疫组织化学染色: ①脱蜡、水化; ② PBS 洗 3 次各 5 min; ③用蒸馏水配制新鲜的 3% 过氧化氢

H_2O_2 , 37℃封闭 10 min, 用蒸馏水洗 3 次各 5 min; ④高压法抗原修复; ⑤ PBS 洗 3 次各 5 min; ⑥滴加正常胎牛血清封闭液, 37℃封闭 20 min, 甩去多余液体; ⑦滴加稀释 I 抗 (艾博抗 AB87312 1 : 250) 50 μ l, 4℃过夜; ⑧ 37℃复温 30 min, PBS 洗 3 次各 5 min; ⑨滴加生物素化 II 抗 (1 : 250), 37℃孵育 20 min; ⑩ PBS 洗 3 次各 5 min。DAB 显色: ①滴加显色液, 室温显色, 反应至显微镜下可见棕褐色颗粒为止, 蒸馏水终止反应; ②苏木精 - 伊红复染 8 min, 流水冲洗; ③脱水、透明、封片、镜检。光学显微镜下, OTR 在细胞质中呈棕黄色颗粒状染色, 无背景着色。细胞着棕黄色颗粒或线网状为阳性细胞。每张切片选取视野清晰的 5 个不重复的高倍物镜视野 ($\times 400$), 运用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件进行分析, 计算光密度值并取均值进行定量分析。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组比较采用独立样本 t 检验, 3 组比较采用方差分析; 计数资料以例表示, 比较采用 χ^2 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况

实验组 27 例。其中, 男性 12 例, 女性 15 例; IBS-D 组 15 例, IBS-U 组 12 例; 平均年龄 (47 ± 11) 岁。对照组 14 例。其中, 男性 7 例, 女性 7 例; 平均年龄 (47 ± 12) 岁。IBS-D 组、IBS-U 组、对照组 3 组年龄与性别构成比较, 差异无统计学意义 ($F = -0.239$, $P = 0.813$; $\chi^2 = 0.114$, $P = 0.754$)。IBS-D 组与 IBS-U 组两组年龄、性别、病情严重度调查表 (IBS-SSS) 评分、合并精神症状比例比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 结肠黏膜 OTR 表达情况

所有活检结肠标本中均可见 OTR 免疫反应阳性

表 1 IBS-D 组与 IBS-U 组基本情况比较

组别	n	男 / 女 / 例	年龄 / (岁, $\bar{x} \pm s$)	IBS-SSS 评分 ($\bar{x} \pm s$)	精神症状 (有 / 无) / 例
IBS-D 组	15	9/6	46 \pm 11	211 \pm 45	9/6
IBS-U 组	12	3/9	47 \pm 12	213 \pm 30	5/7
t 值		3.308	-0.169	-0.183	0.898
P 值		0.121	0.867	0.856	0.343

着色细胞 (见图 1)。对照组结肠黏膜平均光密度值为 (0.110 ± 0.026) , IBS-D 结肠黏膜平均光密度值为 (0.158 ± 0.034) , IBS-U 组结肠黏膜平均光密度值为 (0.163 ± 0.035) , 3 组比较, 差异有统计学意义 ($F=10.996, P=0.000$), IBS-U 组和 IBS-D 组高于对照组 ($t=-4.201$ 和 -4.400 , 均 $P=0.000$), IBS-D 组与

IBS-U 组两组比较, 差异无统计学意义 ($t=-0.337, P=0.739$)。见图 1、2。

2.3 OTR 表达与 IBS-SSS、精神症状的相关性

实验组结肠黏膜 OTR 表达与 IBS-SSS 无相关性 ($r=0.160, P>0.05$); 与精神症状无相关性 ($r=-0.038, P>0.05$)。

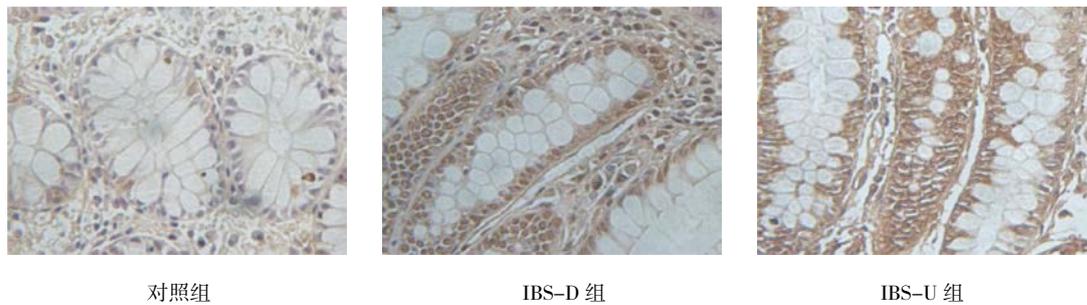


图 1 OTR 在各组结肠黏膜中的表达 ($\times 400$)

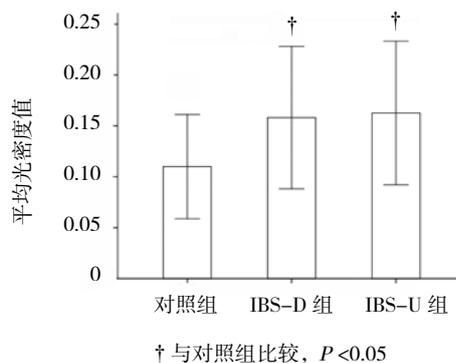


图 2 各组 OTR 蛋白含量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

3 讨论

目前认为 IBS 发病机制涉及内脏高敏感、肠道菌群紊乱, 脑-肠轴功能失调等多个环节。研究发现内脏高敏感性是 IBS 的特征性病理生理机制^[4]。

OT 是由 9 个氨基酸构成肽的类激素, 在分娩和哺乳期作用众所周知, 在中枢和外周的广泛作用如性、母性行为、社交、信任和炎症调节已被公认^[5]。OTR 的编码属于 G 蛋白耦联受体家族, 通过激活磷脂酶 c 发挥作用。OTR 分布广泛, 除中枢神经系统, 在外周 OTR 存在于乳腺、子宫肌层内的子宫内膜和子宫内。OTR 也被发现肾脏、心脏、脂肪细胞、胰腺和胸腺。此外, 近来研究发现, OTR 在肠内神经细胞、黏膜下神经细胞、上皮细胞和肠黏膜下层均有表达^[6-7]。

目前发现 OT/OTR 信号在胃肠运动、感觉、肠道炎症、肠黏膜通透性的维护方面均有生理意义^[7-8]。

研究显示, 外周注射 OT 可降低动物模型的内脏高敏感, 应用 OT 可减少应激诱导的膀胱过敏^[9]和三硝基苯磺酸 (TNBS) 诱导的结肠高敏感^[10]。OT 类似物对慢性腹痛小鼠具有镇痛特性^[11]。总之, OT 可以调节人或动物的内脏高敏感。

ARAJO 等^[11]研究表明, OTR 在慢性内脏痛大鼠模型背根神经节表达明显高于对照组大鼠, GONG 等^[10]发现在人和大鼠肠道黏膜的肥大细胞都有 OTR 表达, 并且在内脏高敏感中起重要作用。此外有研究表明, 应用阿托西班 (OTR 受体拮抗剂) 可以增强对母婴分离大鼠模型内脏高敏感性恢复, 且发现 OTR 在母婴分离的大鼠结肠表达上调^[11]。

本研究结果发现, OTR 在 IBS 患者的结肠黏膜表达上调, 证实 OTR 可能参与 IBS 内脏高敏感的形成, 与 IBS 存在联系。进一步分析发现, OTR 在结肠黏膜表达在 IBS 亚型之间无差异, OTR 表达上调与 IBS-SSS 无相关。这可能是由于 IBS 发病机制的多元性, 从而导致本研究结果中 OTR 的表达与 IBS-SSS 无相关。有研究表明仅中枢释放的 OT 具有抗焦虑和抗应激作用, 外周 OT 并无此作用^[12], 本研究发现 IBS 患者结肠黏膜 OTR 表达上调与 IBS 患者合并心理症状无关, 该结果进一步验证此结论。但目前许多研究发现外周 OTR 可以降低内脏高敏感, GONG 等^[10]发现 OT 可作用于肥大细胞 OTR 抑制 Ca^{2+} -NOS 通路、抑制肥大细胞的活化和脱颗粒、减轻内脏高敏感。XU 等^[13]研究发现, 外源性 OT 可作用于神经胶质细胞 OTR 调节 TLR4/MyD88/

NF- κ B 信号通路抑制母婴分离大鼠的内脏高敏感。还有研究发现催产素通过作用于 OTR 激活肠神经中氮能神经元中的 nNOS 促进 NO 释放, NO 扩散到脊髓肠系膜神经纤维打开 KATP 通道, 下调大鼠肠系膜传入神经的敏感性, 从而降低内脏高感^[14]。总之本研究证实 OTR 与 IBS 有一定关联, 但 OTR 与 IBS 之间存在怎样关系仍有待进一步研究。

参 考 文 献:

- [1] XU S, QIN B, SHI A, et al. Oxytocin inhibited stress induced visceral hypersensitivity, enteric glial cells activation, and release of proinflammatory cytokines in maternal separated rats[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2018(818): 578-584.
- [2] MELCHIOR M, JUIF P E, GAZZO G, et al. Pharmacological rescue of nociceptive hypersensitivity and oxytocin analgesia impairment in a rat model of neonatal maternal separation[J]. *Pain*, 2018, 159(12): 2630-2640.
- [3] LACY B E, MEARIN F, LIN C, et al. Bowel disorders[J]. *Gastroenterology*, 2016, DOI: 10.1053/j.gastro.2016.2.31.
- [4] 陈俊杰, 杨长青, 魏子白. 内脏高敏感在肠易激综合征中的研究进展 [J]. *国际消化病杂志*, 2017, 37(5): 274-277.
- [5] POISBEAU P, GRINEVICH V. Oxytocin signaling in pain: cellular, circuit, system, and behavioral levels[J]. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 2017, DOI: 10.1007/7854_2017_14.
- [6] WANG R, HAN M T, LV X L, et al. Inhibitory action of oxytocin on spontaneous contraction of rat distal colon by nitregeric mechanism: involvement of cyclic GMP and apamin-sensitive K channels[J]. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, 2017, 221(3): 182-192.
- [7] CHEN D, ZHAO J, WANG H, et al. Oxytocin evokes a pulsatile PGE2 release from ileum mucosa and is required for repair of intestinal epithelium after injury[J]. *Scientific Reports*, 2015, DOI: 10.1038/srep11731.
- [8] LI J, XUE B, HAN T, et al. Oxytocin down-regulates mesenteric afferent sensitivity via the enteric OTR/nNOS/NO/KATP pathway in rat[J]. *Neurogastroenterology and Motility*, 2015, 27(1): 51-62.
- [9] BLACK L V, NESS T J. Effects of oxytocin and prolactin on stress-induced bladder hypersensitivity in female rats[J]. *The Journal of Pain*, 2009, 10(10): 1065-1072.
- [10] GONG L, LI J, TANG Y, et al. The antinociception of oxytocin on colonic hypersensitivity in rats was mediated by inhibition of mast cell degranulation via Ca²⁺-NOS pathway[J]. *Sci Rep*, 2016, DOI: 10.101038/srep31452.
- [11] de ARAUJO A D, MOBLI M, CASTRO J, et al. Selenoether oxytocin analogues have analgesic properties in a mouse model of chronic abdominal pain[J]. *Nature Communications*, 2014, DOI: 10.101038/ncomms4165.
- [12] BABYGIRIJA R, MEHMET BÜLBÜL, YOSHIMOTO S, et al. Central and peripheral release of oxytocin following chronic homotypic stress in rats[J]. *Auton Neurosci*, 2012, 167(1/2): 1-60.
- [13] XU S, QIN B, SHI A, et al. Oxytocin inhibited stress induced visceral hypersensitivity, enteric glial cells activation, and release of proinflammatory cytokines in maternal separated rats[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2018, DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.11.018.
- [14] LI J, XUE B, HAN T, et al. Oxytocin down-regulates mesenteric afferent sensitivity via the enteric OTR/nNOS/NO/KATP pathway in rat[J]. *Neurogastroenterology and Motility*, 2015, 27(1): 51-62.

(张西倩 编辑)