

# 17β-雌二醇对去卵巢豚鼠结肠平滑肌的作用

张永顺, 余保平, 肖勇, 赵梦, 张丽静

## ■背景资料

肠易激综合征是功能性肠病中最常见的一种疾病。其发生机制迄今尚未完全明了, 性别、饮食、感染、精神因素等被认为与上述异常有关。鉴于女性较男性多发且女性腹痛常与月经有相关性, 本课题组考虑雌激素可能参与了疾病的发生。

张永顺, 余保平, 肖勇, 赵梦, 张丽静, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060

作者贡献分布: 张永顺与余保平对此文所作贡献均等; 此课题由张永顺、余保平、肖勇、赵梦及张丽静共同设计; 研究过程由余保平技术指导, 张永顺、肖勇及赵梦操作完成; 数据分析由张永顺、肖勇及张丽静完成; 本论文写作由张永顺完成。

通讯作者: 余保平, 教授, 430060, 湖北省武汉市, 武汉大学人民医院消化内科. yubp62@163.com

收稿日期: 2009-11-20 修回日期: 2009-12-30

接受日期: 2010-01-04 在线出版日期: 2010-02-28

## 17β-estradiol enhances cholecystokinin-induced stimulation of colonic motility in ovariectomized guinea pigs

Yong-Shun Zhang, Bao-Ping Yu, Yong Xiao, Meng Zhao, Li-Jing Zhang

Yong-Shun Zhang, Bao-Ping Yu, Yong Xiao, Meng Zhao, Li-Jing Zhang, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Correspondence to: Professor Bao-Ping Yu, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China. yubp62@163.com

Received: 2009-11-20 Revised: 2009-12-30

Accepted: 2010-01-04 Published online: 2010-02-28

## Abstract

**AIM:** To observe the effects of estradiol on the response of colonic smooth muscle stripes to cholecystokinin (CCK) in ovariectomized guinea pigs.

**METHODS:** Thirty guinea pigs were divided into three groups: A (ovariectomized guinea pigs), B (ovariectomized guinea pigs treated with estradiol for 3 days), and C (ovariectomized guinea pigs treated with estradiol for 7 days). The response of colonic smooth muscle stripes isolated from guinea pigs to CCK was recorded using a tension transducer.

**RESULTS:** After addition of CCK, the amplitude of the contraction of colonic smooth muscle stripes increased in all the three groups. Compared with group A, the increase in the amplitude of the contraction of colonic smooth muscle stripes was significantly higher in groups B and

C ( $0.134 \text{ g} \pm 0.026 \text{ g}$  and  $0.179 \text{ g} \pm 0.027 \text{ g}$  vs  $0.096 \text{ g} \pm 0.015 \text{ g}$ , respectively, both  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Estradiol can enhance the sensitivity of colonic smooth muscle to CCK in ovariectomized guinea pigs.

**Key Words:** Estradiol; Cholecystokinin; Colonic contraction

Zhang YS, Yu BP, Xiao Y, Zhao M, Zhang LJ. 17β-estradiol enhances cholecystokinin-induced stimulation of colonic motility in ovariectomized guinea pigs. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(6): 592-595

## 摘要

**目的:** 观察17β-雌二醇对去卵巢豚鼠结肠平滑肌的作用。

**方法:** 将豚鼠分为A组(去卵巢7 d)、B组(去卵巢+雌二醇3 d)、C组(去卵巢+雌二醇7 d)。利用张力换能器记录豚鼠离体结肠平滑肌肌条对胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)的反应。

**结果:** 加入CCK后, 三组平滑肌肌条收缩幅度均增加, 增加幅度分别为 $0.096 \text{ g} \pm 0.015 \text{ g}$ 、 $0.134 \text{ g} \pm 0.026 \text{ g}$ 、 $0.179 \text{ g} \pm 0.027 \text{ g}$ 。B、C两组增加幅度较A组更为明显( $P < 0.05$ ), 差别有统计学意义。

**结论:** 雌二醇能增强结肠平滑肌对CCK的敏感性。

**关键词:** 雌二醇; 胆囊收缩素; 结肠收缩

张永顺, 余保平, 肖勇, 赵梦, 张丽静. 17β-雌二醇对去卵巢豚鼠结肠平滑肌的作用. *世界华人消化杂志* 2010; 18(6): 592-595  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/592.asp>

## 0 引言

妇女在经前或经期时常出现各种胃肠道动力紊乱症状, 如腹痛、腹胀、早饱、腹泻或便秘<sup>[1]</sup>。另外, 在以腹部不适和排便改变为主要表现的肠道功能疾病肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的患者中2/3为女性<sup>[2]</sup>。这些资料提示我们

## ■同行评议者

田宇彬, 教授, 青岛大学医学院附属医院消化内科

卵巢激素可能影响胃肠道的功能. 已有的研究表明雌二醇能够影响胃肠道和胆囊的运动<sup>[3]</sup>, 其确切机制不清, 但胆囊收缩素在其中发挥的作用正日益受到重视. 本实验通过建立去卵巢模型, 用雌二醇替代, 分析豚鼠结肠平滑肌肌条对CCK的反应.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康成年豚鼠30只, ♀, 体质量250-350 g, 由华中科技大学同济医学院动物中心提供. 实验用八肽胆囊收缩素(cholecystokinin-octopeptide, CCK-8)和17 $\beta$ -雌二醇(17 $\beta$ -estradiol)购自Sigma(Fisher Scientific)公司. 阿托品产自江苏盐城药业有限公司, 尼莫地平产自拜耳医药保健股份有限公司(北京), 河豚毒素(TTX)购自大连瑞芳公司. 张力换能器、RM6240多道生理信号采集处理系统购自成都仪器厂. Tyrode液成分包括: NaCl 147.0 mmol/L, KCl 4.0 mmol/L, CaCl<sub>2</sub> 2.0 mmol/L, MgCl<sub>2</sub> 1.05 mmol/L, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.42 mmol/L, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.81 mmol/L, 葡萄糖5.5 mmol/L, 用NaOH调pH值到7.35-7.45.

### 1.2 方法

**1.2.1 分组:** 将30只豚鼠随机分为3组, A组为去卵巢7 d组, B组为去卵巢7d后皮下注射17 $\beta$ -雌二醇3 d组, C组为去卵巢7 d后皮下注射17 $\beta$ -雌二醇7 d组. 三组体质量差别无统计学意义. 豚鼠水合氯醛2 mL/1 kg腹腔麻醉, 固定, 取背部两侧肋骨下缘1-2 cm处切口, 结扎输卵管后切除卵巢, 缝合肌层后双氧水消毒, 缝合皮肤关闭腹腔, 常规消毒, 待豚鼠清醒后送回动物房中. 饲养7 d后, 给予B、C两组豚鼠皮下注射17 $\beta$ -雌二醇25  $\mu$ g/kg. 饲养环境: 温度20  $^{\circ}$ C-25  $^{\circ}$ C, 湿度40%-60%, 自由进食、进水, 每2 d补充1次青菜.

**1.2.2 离体肌条制备:** 各组豚鼠饲养时间到后, 击昏后颈动脉放血处死后迅速剖腹. 取长约3 cm的近端结肠, 去黏膜后沿纵轴将结肠制备成长约8 mm, 宽约3 mm的肌条, 将肌条与张力换能器相连, 浸没于37  $^{\circ}$ C Tyrode液中, 给肌条1.0 g的前负荷, 待肌条出现规律的自发性收缩并稳定1 h后记录机械收缩信号, 将1.0 g前负荷设定为0.

**1.2.3 CCK的干预:** 肌条收缩稳定后, 使用微量进样器添加各浓度CCK-8( $1 \times 10^{-9}$ 、 $1 \times 10^{-8}$ 、 $1 \times 10^{-7}$  mol/L)于A组, 观察豚鼠结肠平滑肌肌条对 $1 \times 10^{-9}$ 、 $1 \times 10^{-8}$ 、 $1 \times 10^{-7}$  mol/L各浓度CCK-8的反应, 以及各组豚鼠(A、B、C组)结肠平滑肌肌条对 $1 \times 10^{-8}$  mol/L CCK-8的反应; 滴加 $1 \times 10^{-5}$

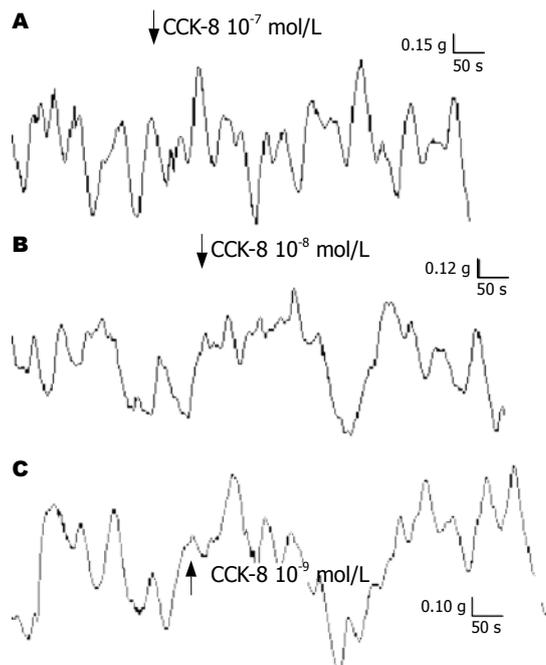


图1 不同浓度CCK-8作用后的结肠肌条收缩波形. A:  $1 \times 10^{-7}$  mol/L; B:  $1 \times 10^{-8}$  mol/L; C:  $1 \times 10^{-9}$  mol/L.

mol/L阿托品、尼莫地平 and TTX于A组观察三者对 $1 \times 10^{-8}$  mol/L CCK-8作用的影响. 每种药物作用后, Tyrode液冲洗肌条3次或更换肌条.

**统计学处理** 以给药前3 min胆囊肌条的张力作为对照值, 每次给药后3 min变化的最大数值为效应值(药物作用前后的变化程度). 实验结果均以mean  $\pm$  SD表示, 对所得数据采用单因素方差分析, 多通道生物信号采集分析系统数据软件和统计软件SPSS13.0进行统计学分析.  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 不同浓度CCK对A组豚鼠结肠平滑肌的作用** 加入 $1 \times 10^{-9}$ 、 $1 \times 10^{-8}$ 、 $1 \times 10^{-7}$  mol/L各浓度CCK-8后, 豚鼠离体结肠平滑肌肌条收缩振幅增加, 分别增加 $0.092 \text{ g} \pm 0.013 \text{ g}$ 、 $0.125 \text{ g} \pm 0.021 \text{ g}$ 、 $0.155 \text{ g} \pm 0.025 \text{ g}$ , 呈浓度依赖性增加(图1, 2).

**2.2 拮抗剂对A组 $10^{-8}$  mol/L CCK作用的影响** 阿托品、尼莫地平、河豚毒素等拮抗剂可以部分阻断CCK-8对离体结肠平滑肌肌条的作用, 效应值分别为同浓度CCK-8作用(以 $1 \times 10^{-8}$  mol/L CCK-8作用的效应值为1)的67.1%、54.1%、48.1%(图3).

**2.3  $1 \times 10^{-8}$  mol/L CCK对三组豚鼠结肠平滑肌肌条的作用** 去卵巢7 d组(A组), 去卵巢豚鼠雌二醇皮下注射3 d组(B组)以及去卵巢豚鼠雌二醇皮下注射7 d组(C组)加入 $1 \times 10^{-8}$  mol/L CCK-8

### ■ 研究前沿

对肠易激综合征的研究, 目前主要集中于探讨发病机制中的胃肠动力学异常和内脏感觉异常两个方面. 关于内脏敏感性增高的文章和报道有不少, 有学者认为精神因素是内脏高敏感的主要原因, 但至今仍然没有达成共识, 且具体机制不明. 而胃肠动力学异常方面, 胆囊收缩素被认为在其中发挥着重要作用, 但研究结果并不统一.

### ■ 相关报道

自从流行病学提示性别因素在肠易激综合征起病中的作用后,对雌激素与肠易激综合征的研究就已展开.有学者通过研究得出结论,雌二醇可提高肠道对痛觉的敏感性,然而与此类似的结果并不多见,故可信度仍然不确定.韩炜等发现在肥大细胞表现有雌激素受体的表达,将性别和免疫因素联系起来,开拓了作者对肠易激综合征的视野,对今后继续研究免疫因素有指导意义.

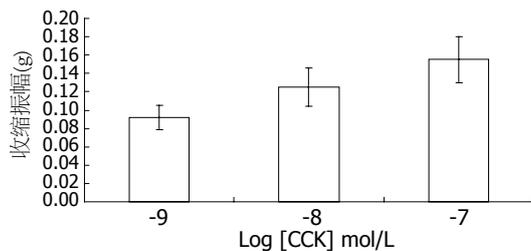


图2 不同浓度CCK-8对豚鼠结肠平滑肌肌条的效应.

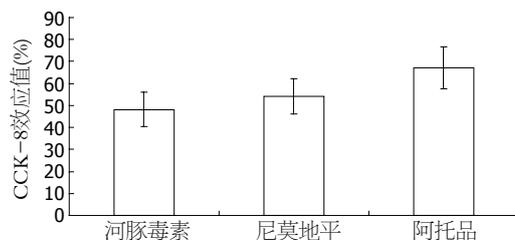


图3 拮抗剂加CCK-8对豚鼠结肠平滑肌的影响.

后,离体结肠平滑肌肌条收缩振幅均增加,分别为 $0.096 \text{ g} \pm 0.015 \text{ g}$ 、 $0.134 \text{ g} \pm 0.026 \text{ g}$ 、 $0.179 \text{ g} \pm 0.027 \text{ g}$ . B、C两组同A组相比,收缩幅度增加, B组收缩幅度小于C组,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ , 图4).

### 3 讨论

IBS是最常见的一种功能性肠道疾病,发病机制尚不清楚.目前,认为其可能与性别、精神因素、食物、神经性激素、感染、免疫等多种因素有关,其中性别被认为是重要因素之一<sup>[4,5]</sup>.流行病学研究显示女性是IBS患者中的主要人群.国外学者研究报道,经前期和经期女性更容易出现腹痛、稀便和其他一些消化系症状,这提示女性性激素的波动可能对IBS有影响,与胃肠道动力相关.

已经知道,雌二醇是雌激素中的主要物质,也是卵巢分泌的最重要的性激素.因此,普遍用雌二醇来反映雌激素的作用.研究发现,急性给予雌二醇对结肠平滑肌电压依赖性钾电流的密度没有影响,而肌注雌二醇7 d的小鼠结肠平滑肌电压依赖性钾电流密度受到抑制<sup>[6]</sup>.然而雌二醇对离体结肠平滑肌的直接作用并不显著<sup>[7]</sup>,故我们怀疑雌二醇可能通过其他途径影响结肠作用.

CCK是一种重要的胃肠激素,参与胃肠道动力的调节.研究发现,存在两种CCK受体,即CCK-AR和CCK-BR,前者存在于外周组织,而后者主要表达于中枢神经系统.已经清楚,CCK的效应包括刺激膳食后胆囊收缩、促进Oddi括

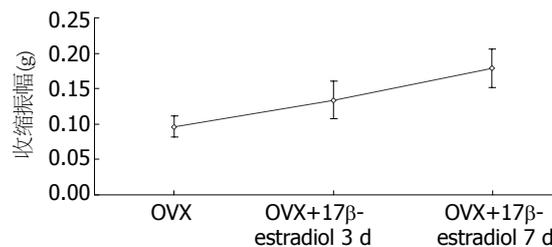


图4 各组豚鼠结肠平滑肌肌条对 $10^{-8} \text{ mol/L}$  CCK-8的反应.

约肌舒张、抑制胃排空等功能.有研究报道,静脉注射CCK-8后结肠运动呈推进性增强及腹痛<sup>[8]</sup>;有人发现IBS患者血浆中CCK的含量明显高于正常对照组<sup>[9]</sup>.上述研究显示,CCK与IBS腹痛、腹泻症状可能存在联系.

本实验发现,向离体的豚鼠肌条滴加CCK-8后,肌条收缩力增加,且与CCK-8浓度呈正相关.有研究表明,CCK作用于肠壁神经元上受体,肠神经通过神经末梢释放乙酰胆碱作用于肌细胞表面受体,引起细胞去极化进而发挥对结肠平滑肌的作用<sup>[10]</sup>.在本实验中加入尼莫地平、阿托品和河豚毒素后,肌条收缩幅度缩小,证实了前面的观点.

在本实验中,将随机分组的豚鼠去卵巢后以雌二醇替代,制作结肠平滑肌离体肌条直观观察各组对CCK的反应.发现雌二醇替代后肌条收缩更明显,表明雌二醇可通过影响CCK受体表达发挥对结肠运动的影响.

有学者通过研究发现,肌注雌激素后,血浆中CCK水平升高<sup>[11]</sup>.本实验中,雌二醇肌注3 d和7 d组较去卵巢组豚鼠结肠平滑肌肌条对CCK的敏感性增高,提示了雌二醇可提高CCK受体水平的表达.我们猜测雌二醇可能增强CCK受体的活性或升高其表达水平.而应用CCK受体拮抗剂后,这种雌激素引起的CCK水平升高现象消失<sup>[12]</sup>,表明雌二醇可能是通过CCK受体来调节CCK水平.

雌二醇影响结肠运动的途径可能尚不仅如此.有学者报道,雌激素能够通过诱导生长因子的表达使得肥大细胞数目增多,并使其释放组织胺的能力增强;而且,表达雌激素受体的细胞数与肥大细胞数目有很强的相关性,通过染色观察到表达雌激素受体的细胞与肥大细胞形态结构相似<sup>[13,14]</sup>,提示肥大细胞能够表达雌激素受体,雌激素可能会通过肥大细胞影响肠道功能从而引起各种消化系统症状.

总之,CCK-8及雌激素在IBS的发生发展中有重要作用,其作用机制尚未完全明确,需要更

进一步的研究, 这些研究将为IBS的治疗策略提供新的方法和新的思路。

#### 4 参考文献

- Whitehead WE, Cheskin LJ, Heller BR, Robinson JC, Crowell MD, Benjamin C, Schuster MM. Evidence for exacerbation of irritable bowel syndrome during menses. *Gastroenterology* 1990; 98: 1485-1489
- Lee OY, Mayer EA, Schmulson M, Chang L, Naliboff B. Gender-related differences in IBS symptoms. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2184-2193
- Eliakim R, Abulafia O, Sherer DM. Estrogen, progesterone and the gastrointestinal tract. *J Reprod Med* 2000; 45: 781-788
- Cutolo M, Sulli A, Capellino S, Villaggio B, Montagna P, Seriolo B, Straub RH. Sex hormones influence on the immune system: basic and clinical aspects in autoimmunity. *Lupus* 2004; 13: 635-638
- Müller-Lissner SA, Bollani S, Brummer RJ, Coremans G, Dapoigny M, Marshall JK, Muris JW, Oberndorff-Klein Wolthuis A, Pace F, Rodrigo L, Stockbrügger R, Vatn MH. Epidemiological aspects of irritable bowel syndrome in Europe and North America. *Digestion* 2001; 64: 200-204
- Beckett EA, McCloskey C, O'Kane N, Sanders KM, Koh SD. Effects of female steroid hormones on A-type K<sup>+</sup> currents in murine colon. *J Physiol* 2006; 573: 453-468
- Harvey BJ, Alzamora R, Healy V, Renard C, Doolan CM. Rapid responses to steroid hormones: from frog skin to human colon. A homage to Hans Ussing. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1566: 116-128
- Harvey RF, Read AE. Effect of cholecystokinin on colonic motility and symptoms in patients with the irritable-bowel syndrome. *Lancet* 1973; 1: 1-3
- Zhang H, Yan Y, Shi R, Lin Z, Wang M, Lin L. Correlation of gut hormones with irritable bowel syndrome. *Digestion* 2008; 78: 72-76
- Chey WY, Jin HO, Lee MH, Sun SW, Lee KY. Colonic motility abnormality in patients with irritable bowel syndrome exhibiting abdominal pain and diarrhea. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1499-1506
- Yang X, Liu R, Dong Y. Regulative effects of ovarian steroids on rat gastric motility and sensitivity. *Shengli Xuebao* 2006; 58: 275-280
- Wu CL, Hung CR, Chang FY, Pau KY, Wang PS. Involvement of cholecystokinin receptor in the inhibition of gastrointestinal motility by estradiol in ovariectomized rats. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 1133-1139
- Lanlua P, Decorti F, Gangula PR, Chung K, Tagliatela G, Yallampalli C. Female steroid hormones modulate receptors for nerve growth factor in rat dorsal root ganglia. *Biol Reprod* 2001; 64: 331-338
- 韩炜, 陈建, 李君曼, 郭成浩, 袁孟彪, 李延青. 肥大细胞及其雌激素受体在肠易激综合征发病机制中的作用. *中华消化内镜杂志* 2003; 20: 100-103

#### ■同行评价

本研究选题密切结合临床, 有潜在的实用价值, 对揭示IBS发病有一定意义。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

#### • 消息 •

### 《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)发布 《世界华人消化杂志》2008年影响因子 0.547

**本刊讯** 中国科学技术信息研究所发布2008年《世界华人消化杂志》的总被引频次为2 480, 位居1 868种中国科技论文统计源期刊的第100位, 41种内科学类期刊的第6位。2008年《世界华人消化杂志》的影响因子为0.547, 41种内科学类期刊的第17位。大家最为关注的是《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)中新增一个综合评价指标, 即综合评价总分, 该指标根据科学计量学原理, 系统性地综合考虑被评价期刊的各影响力指标(总被引频次、影响因子、他引率、基金论文比、引文率等)在其所在学科中的相对位置, 并按照一定的权重系数将这些指标进行综合集成, 对期刊进行综合评价。《世界华人消化杂志》总分为49.5, 在41种内科学类期刊中排名第8位, 在1 868种中国科技期刊排名第341位。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)