

· 中药药理与质量 ·

基于干细胞因子(SCF)/c-kit信号通路探讨和胃理气方治疗功能性消化不良胃肠运动功能障碍的作用机制

姜巍¹, 周剑杰², 程寒², 宋因², 王垂杰¹

(1. 辽宁中医药大学附属医院消化科, 辽宁沈阳 110032; 2. 辽宁中医药大学, 辽宁沈阳 110847)

摘要:【目的】观察和胃理气方对功能性消化不良肝郁模型大鼠胃肠动力及干细胞因子(SCF)/c-kit信号通路的影响, 从分子水平探讨其作用机制。【方法】选取敞箱实验和糖水偏好实验评分相似的40只SPF级健康Wistar大鼠, 随机分为正常组、模型组、中药组和西药组, 每组10只。除正常组外, 其他组别采用夹尾刺激+不规则喂养复合因素法建立功能性消化不良肝郁动物模型。成功造模后, 中药组和西药组分别用和胃理气方和吗丁啉进行干预治疗。通过敞箱、糖水偏好实验评价大鼠抑郁状态; 采用胃排空、小肠推进实验评价胃肠运动情况; 分别用免疫组织化学、蛋白免疫印迹法检测大鼠胃窦、小肠组织中c-kit、SCF的蛋白表达水平; 采用实时定量聚合酶链反应(RT-PCR)法检测大鼠胃窦、小肠黏膜组织中c-kit、SCF的mRNA表达水平。【结果】与正常组比较, 模型组大鼠糖水消耗率下降, 敞箱实验水平及垂直运动得分下降, 胃排空及小肠推进减慢, 胃窦、小肠组织中c-kit、SCF阳性表达细胞光密度值降低, c-kit、SCF的蛋白、mRNA表达水平均下降(均 $P < 0.05$)。与模型组比较, 中药组和西药组糖水消耗率提高, 敞箱实验水平及垂直运动得分增加, 胃排空及小肠推进加快, 胃窦、小肠组织中c-kit、SCF阳性细胞光密度值升高, c-kit、SCF的蛋白、mRNA表达水平均升高(均 $P < 0.05$)。且中药组和西药组比较, 上述指标均无统计学差异($P > 0.05$)。【结论】肝郁可致胃肠动力障碍, 和胃理气方可以改善功能性消化不良肝郁大鼠抑郁状态, 促进胃肠动力, 其分子作用机制与上调SCF/c-kit信号通路相关蛋白表达有关。

关键词: 肝郁; 和胃理气方; 功能性消化不良; 胃肠动力障碍; SCF/c-kit信号通路; 大鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)04-0766-08

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.04.021

Study on Mechanism of Stomach-Harmonizing and Qi-Soothing Recipe for Gastrointestinal Motility Dysfunction of Functional Dyspepsia Based on Stem Cell Factor/c-kit Signaling Pathway

JIANG Wei¹, ZHOU Jian-Jie², CHENG Han², SONG Nan², WANG Chui-Jie¹

(1. Dept. of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032 Liaoning, China; 2. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847 Liaoning, China)

Abstract: Objective To observe the effects of Stomach-Harmonizing and Qi-Soothing Recipe on gastrointestinal motility and stem cell factor (SCF)/c-kit signaling pathway in model rats with functional dyspepsia of liver depression, and to explore its mechanism at molecular level. **Methods** Forty SPF healthy Wistar rats, who were selected according to approximate scores for open-field test and consumption of saccharose, were divided into normal group, model group, Chinese herb group, western drug group, 10 rats in each group. Apart from the normal group, the rats in the other groups were induced into functional dyspepsia model of liver depression by clipping tail plus irregular feeding methods. After successful modeling, the rats in the Chinese herb group and western drug group were given intervention treatment with Stomach-Harmonizing and Qi-Soothing Recipe and

收稿日期: 2020-05-20

作者简介: 姜巍(1981-), 女, 硕士研究生; E-mail: aim81@163.com

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目(编号: 20170540613); 第六批全国老中医药专家学术经验继承工作项目(国中医药办人教函[2017]125号)

Domperidone, respectively. After medication, whether the rats were in depressive state was evaluated by open-field test and consumption of saccharose, state of gastrointestinal motility was assessed by gastric emptying test and small intestine propulsion test, protein expression levels of c-kit and SCF in antrum and small intestinal tissue were measured by immunohistochemical assay and Western blotting assay, mRNA expression levels of c-kit and SCF in antrum and small intestinal mucosa were detected by real time quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR) assay. **Results** Compared with the normal group, the saccharose consumption rate was reduced in the model group, horizontal and vertical movement scores of rats in open-field test were lowered, stomach emptying and small intestine propulsion were slowed, optical density values of c-kit and SCF positively expressive cells in the antrum and small intestinal tissue were decreased, and protein and mRNA expression levels of c-kit and SCF were decreased (all $P < 0.05$). Compared with the model group, the saccharose consumption rate was enhanced in the Chinese herb group and western drug group, horizontal and vertical movement scores of rats in open-field test were raised, stomach emptying and small intestine propulsion were quicken, optical density values of c-kit and SCF positively expressive cells in antrum and small intestinal tissue were increased, and protein and mRNA expression levels of c-kit and SCF were increased (all $P < 0.05$), while there was no statistical differences in the above indexes between Chinese herb group and western drug group ($P > 0.05$). **Conclusion** Liver depression can lead to gastrointestinal motility dysfunction, Stomach-Harmonizing and Qi-Soothing Recipe is effective for improving depression state of functional dyspepsia rats with liver depression, and its molecular mechanism is related to up-regulating expression of relevant proteins in SCF/c-kit signaling pathway.

Keywords: liver depression; Stomach-Harmonizing and Qi-Soothing Recipe; functional dyspepsia; gastrointestinal motility dysfunction; stem cell factor(SCF)/c-kit signaling pathway; rats

功能性消化不良(FD)为一组功能性的胃肠道的症候群,患者常反复多次就诊,严重影响患者的生活质量^[1]。FD总的患病率为11.5%~14.5%^[2-3]。在FD众多复杂的发病机制中,社会心理因素与胃肠动力障碍一直是国内外学者持续关注 and 不断研究的重要方向。虽然,西医促动力剂及抗焦虑、抑郁药物可以在一定程度上减轻患者的临床症状,但是,也存在不同程度的副作用而影响了临床应用。中医药不仅可以改善患者的临床症状,还可以改善患者焦虑抑郁的状态,促进胃肠动力,调节胃肠道高敏感及脑肠互动,明显提高了患者的生活质量^[4],在FD的治疗中发挥出独特的优势。我们在前期临床研究中已经发现肝郁可致胃动力下降^[4],且前期实验研究表明,和胃理气方可有效改善FD肝郁大鼠抑郁的状态,促进胃肠动力^[5],但具体机制尚不清楚。因此,本研究拟通过基础研究揭示肝郁致胃肠动力障碍的作用机制并从分子水平探讨和胃理气方可能的作用靶点,现将研究结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 SPF级健康Wistar大鼠40只,雌雄各半,体质量(200±20)g,购自辽宁中医药大学动物实验中心。许可证号:SCXK(辽)2015-0001,SYXK(辽)2013-0009。实验方案经辽宁中医药大学实验动物伦理委员会批准备案。动物于辽宁中医药大学动物实验中心饲养以备正式实验使用。

1.2 实验药物及制备方法 和胃理气方煎剂由柴胡、枳实、陈皮、厚朴、木香、党参、白豆蔻、甘草等中药组成,各中药材均购自本院中草药局。按照药理实验方法学中与动物用药剂量换算公式,按成人每天用药等效剂量的4倍浓缩制备成含生药量0.97 g/mL的煎剂,于4℃密封保存,备用。多潘立酮片(吗丁啉),由西安杨森制药有限公司生产,10 mg/片,以蒸馏水稀释配制成浓度为0.30 mg/mL的混悬液,于4℃密封保存,备用。营养半固体糊制备:250 mL蒸馏水中加入10 g羧甲基纤维素钠,充分溶解后,逐步加入淀粉8 g、奶粉16 g、糖8 g和2 g活性炭粉末,加蒸馏水搅拌

均匀, 制成约300 mL的黑色营养半固体糊。

1.3 主要试剂与仪器 干细胞因子(stem cell factor, SCF)、c-kit兔单克隆抗体, 购自北京博奥森生物技术有限公司; 实时PCR试剂盒, 购自TaKaRa宝生物工程(大连)有限公司。无盖旷场箱(自制); 垂直板电泳装置, 美国Bio-Rad公司生产; 多色荧光、高性能发光凝胶成像系统, 美国FluorChem Q公司生产; 7500 Real Time PCR仪, 美国Applied Biosystems公司生产; Nano 2000型微量紫外分光光度计, 美国Thermo公司生产。

1.4 动物分组与造模 根据Open-field法^[6], 按照随机数字表将大鼠随机分为正常组、模型组、中药组及西药组等4组, 每组10只。常规喂养1周后, 除正常组外, 其他3组大鼠均按照文献[7]夹尾刺激加不规则喂养复合建立FD模型。方法: 用包裹有纱布的长尾海绵夹子夹尾刺激大鼠尾后1/3处, 间接刺激全笼大鼠, 令其发怒且与其他大鼠相互厮打。每次刺激应防止所夹尾部不破皮流血, 若有夹伤或抓伤, 立即给予0.5%的碘伏涂擦伤口, 以避免炎症干扰, 每次持续时间为45 min, 每日2次, 夹尾时间固定。同时, 对大鼠双日禁食, 单日给予足量饲料, 周期14 d。通过观察大鼠行为学(包括一般情况、糖水消耗实验、敞箱实验)、胃肠动力、胃肠黏膜形态等方面评价造模是否成功^[7]。造模成功后, 正常组与模型组给予生理盐水, 中药组给予和胃理气方煎剂, 西药组给予吗丁啉混悬液, 均20 mL/kg, 每日2次灌胃, 持续14 d。

1.5 取材 给药结束后, 所有大鼠禁食不禁水24 h取材前30 min灌服半固体营养糊, 腹腔注射100 g/L水合氯醛溶液(3.5 mL/kg)麻醉, 打开腹腔, 分离肠胃, 进行胃排空和小肠推进实验。大鼠处死后取小块胃窦及十二指肠组织, 分别放入40 g/L多聚甲醛溶液(4℃保存)及1.5 mL灭菌的EP管中(-80℃超低温冰箱保存)。

1.6 观察指标与方法

1.6.1 模型评价指标 观察实验鼠进食量、饮水量、精神情绪及行为等情况; 以糖水偏好实验及敞箱实验评价抑郁状态^[8]; 胃排空及小肠推进实验测定胃肠动力^[9]。

1.6.2 疗效评价指标

1.6.2.1 免疫组织化学法 取胃窦、小肠组织进

行脱水、石蜡包埋、切片, 脱蜡和水化, 抗原修复, 消除内源性过氧化物酶活性, 封闭, 一抗孵育, 二抗孵育, 显色, 复染、脱水、透明和封片。每组取10张切片, 随机选择10个不同视野, 运用Image-Pro Plus 6.0软件对c-kit、SCF的表达进行累计光密度分析, 求平均光密度值。

1.6.2.2 蛋白免疫印迹法 取胃窦、小肠黏膜组织, 提取蛋白, 将制备的蛋白样品通过制胶、上样、电泳、转膜、染色、一抗孵育、二抗孵育, 显色后, 应用全自动荧光与可见光凝胶成像分析系统曝光。以 β -actin作为内参, 运用分析软件对蛋白灰度值进行检测, 以目的蛋白与内参蛋白灰度值的比值作为该目的蛋白的相对表达量。

1.6.2.3 实时定量聚合酶链反应(RT-PCR)法 取胃窦、小肠黏膜组织, 提取mRNA, 逆转录。c-kit上游引物序列为5'-GCATTTAAAGGTAACAGCAAAGAGC-3', 下游引物序列为5'-GGAAGCTGCGTTGGTCTAT-3', 扩增长度212 bp; SCF上游引物序列为5'-GACCTCGTGGCATGTATGGA-3', 下游引物序列为5'-TTCCTAAGGGAAGTGGCTGC-3', 扩增长度257 bp; GAPDH(内参)上游引物序列为5'-GCGAGATCCCGCTAACATCA-3', 下游引物序列为5'-CTCGTGGTTCACACCCATCA-3', 扩增长度178 bp。进行实时荧光定量扩增, 反应条件: ①95℃, 2 min; ②95℃, 30 s; 60℃, 30 s(此时收集荧光), 25 μ L体系(40个循环)。运用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算c-kit mRNA、SCF mRNA的相对表达量, $\Delta\Delta Ct$ 值=(待测目的基因Ct值-待测内参Ct值)-(对照目的基因Ct值-对照内参Ct值), 检测结果求取平均值。

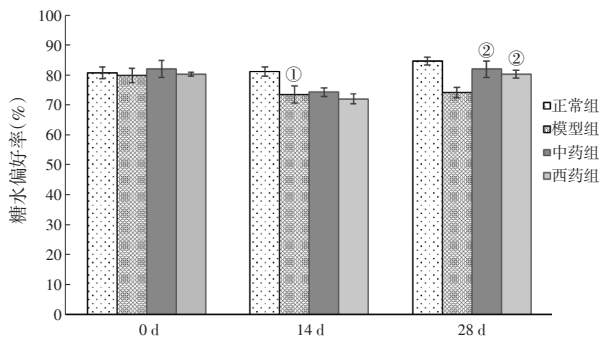
1.7 统计方法 采用SPSS 20.0统计软件进行数据分析, 计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。若满足正态分布, 多组比较采用单因素方差分析, 否则采用秩和检验。进一步两两比较, 方差齐用LSD法; 方差不齐则用Dunnett's T3法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠一般状态 正常组大鼠饮水量、进食量正常, 精神状态良好, 反应灵敏, 皮毛光亮顺滑, 鼻头眼角无分泌物, 粪便成形, 干稀适中。模型组大鼠进食量与饮水量下降, 精神紧张、易

激惹, 懒动, 时常蜷卧, 毛发晦暗枯黄、脏乱打结, 眼角分泌物增多, 大便溏且臭秽。治疗后, 中药组和西药组大鼠饮水量、进食量增多, 易激惹等精神状态较前改善, 行为较前活跃, 皮毛枯黄及脏乱改善, 大便逐渐成形。

2.2 糖水偏好实验结果 图1结果显示: 于造模第14天, 模型组大鼠糖水偏好率明显降低, 与正常组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗后, 中药组和西药组糖水偏好率均较模型组升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 但2个治疗组间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。



① $P < 0.05$, 与正常组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较

图1 各组大鼠糖水偏好率比较($\bar{x} \pm s$)

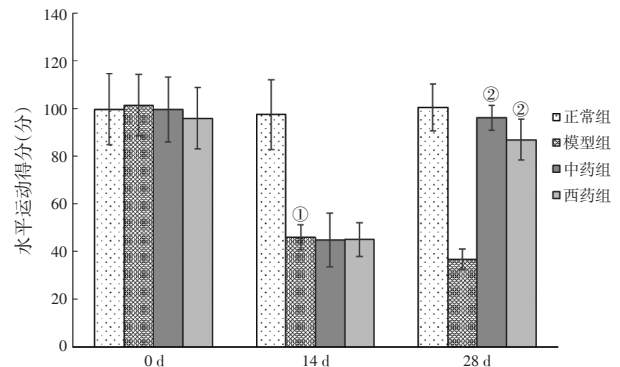
Figure 1 Comparison of the saccharose consumption rate between various groups of rats($\bar{x} \pm s$)

2.3 敞箱实验结果 图2~3结果显示: 于造模第14天, 模型组大鼠敞箱实验水平运动得分、垂直运动得分降低, 与正常组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。治疗后, 中药组和西药组敞箱实验水平运动得分、垂直运动得分较模型组升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 但2个治疗组间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.4 胃排空及小肠推进实验结果 图4结果显示: 于造模第14天, 模型组大鼠胃内色素残留率增加, 小肠推进率下降, 与正常组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗后, 中药组和西药组胃内色素残留率减小, 小肠推进率增加, 与模型组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 但2个治疗组间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.5 胃窦、小肠组织中c-kit、SCF的表达

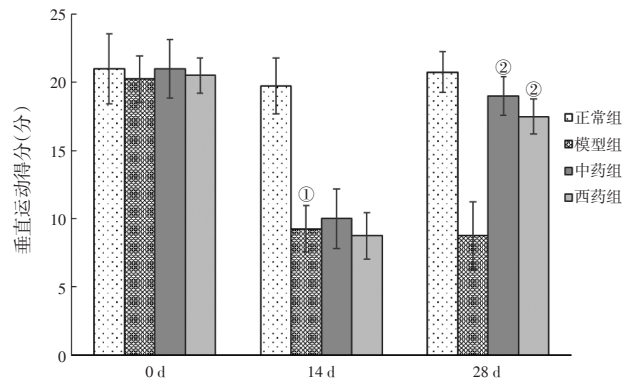
2.5.1 免疫组织化学实验结果 表1、表2、图5结果显示: 与正常组比较, 模型组大鼠胃窦、小肠组织c-kit、SCF阳性细胞光密度值明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较, 中



① $P < 0.05$, 与正常组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较

图2 各组敞箱实验水平运动得分比较($\bar{x} \pm s$)

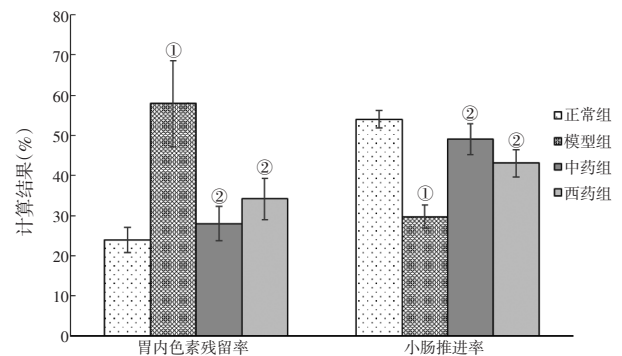
Figure 2 Comparison of the horizontal movement scores in open-field test between various groups($\bar{x} \pm s$)



① $P < 0.05$, 与正常组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较

图3 各组敞箱实验垂直运动得分比较($\bar{x} \pm s$)

Figure 3 Comparison of the vertical movement scores in open-field test between various groups($\bar{x} \pm s$)



① $P < 0.05$, 与正常组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较

图4 各组大鼠胃内色素残留率、小肠推进率比较($\bar{x} \pm s$)

Figure 4 Comparison of the percentage of residual pigment in stomach and rate of propulsion in small intestine between various groups of rats($\bar{x} \pm s$)

药组、西药组大鼠胃窦、小肠组织c-kit、SCF阳性细胞光密度值明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 但2个治疗组间比较, 差异无统计学

表1 各组大鼠胃窦组织c-kit、SCF阳性细胞光密度值比较

Table 1 Comparison of the optical density values of c-kit and SCF positively expressive cells in rat antrum mucosa between various groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	c-kit 阳性细胞光密度值	SCF 阳性细胞光密度值
正常组	10	0.328 9 ± 0.059 7	0.322 3 ± 0.049 6
模型组	10	0.238 0 ± 0.059 4 ^①	0.181 3 ± 0.058 8 ^①
中药组	10	0.321 5 ± 0.053 8 ^②	0.275 3 ± 0.050 1 ^②
西药组	10	0.298 0 ± 0.048 2 ^②	0.252 8 ± 0.058 3 ^②

① $P < 0.05$, 与正常组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较

表2 各组大鼠小肠组织c-kit、SCF阳性细胞光密度值比较

Table 2 Comparison of the optical density values of c-kit and SCF positively expressive cells in rat small intestinal mucosa between various groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	c-kit 阳性细胞光密度值	SCF 阳性细胞光密度值
正常组	10	0.347 7 ± 0.051 7	0.302 6 ± 0.047 3
模型组	10	0.270 5 ± 0.053 5 ^①	0.260 2 ± 0.064 9 ^①
中药组	10	0.326 8 ± 0.065 3 ^②	0.286 8 ± 0.061 5 ^②
西药组	10	0.325 7 ± 0.061 7 ^②	0.286 1 ± 0.076 0 ^②

① $P < 0.05$, 与正常组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较

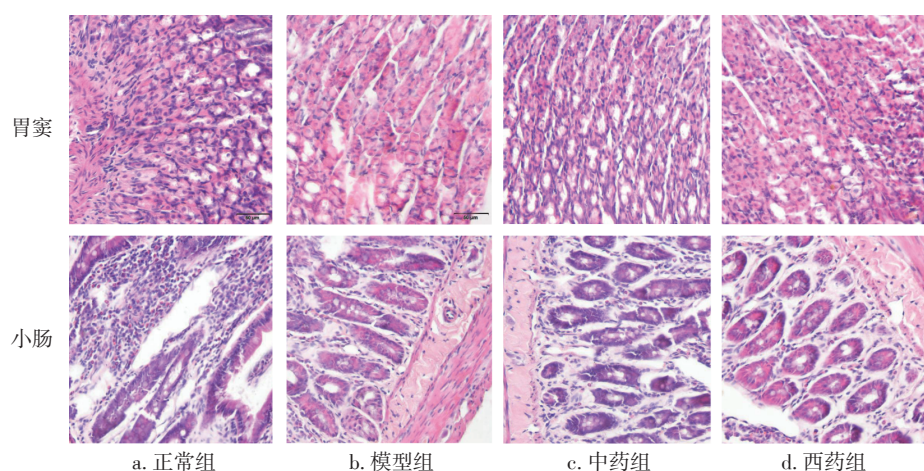


图5 各组大鼠胃窦、小肠组织中c-kit、SCF阳性表达细胞分布(免疫组织化学法, ×20)

Figure 5 Comparison of the distribution of c-kit and SCF positively expressive cells in rat antrum and small intestinal tissue between various groups (by immunohistochemical method, ×20)

意义($P > 0.05$)。

2.5.2 蛋白免疫印迹实验结果 表3、图6结果显示:与正常组比较,模型组大鼠胃窦、小肠黏膜组织中c-kit、SCF蛋白表达水平明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,中药组和西药组大鼠胃窦、小肠黏膜组织中c-kit、SCF

蛋白表达水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);但2个治疗组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.5.3 RT-PCR结果 表4结果显示:与正常组比较,模型组大鼠胃窦、小肠黏膜组织c-kit mRNA、SCF mRNA表达水平明显降低,差异有统

表3 各组大鼠胃窦、小肠黏膜组织中c-kit、SCF蛋白表达水平比较

Table 3 Comparison of the protein expression levels of c-kit and SCF in antrum and small intestinal mucosa between various groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	胃窦组织		小肠黏膜组织	
		c-kit蛋白相对表达量	SCF蛋白相对表达量	c-kit蛋白相对表达量	SCF蛋白相对表达量
正常组	10	0.956 ± 0.018	0.789 ± 0.139	0.768 ± 0.178	0.656 ± 0.051
模型组	10	0.634 ± 0.030 ^①	0.407 ± 0.030 ^①	0.388 ± 0.076 ^①	0.173 ± 0.066 ^①
中药组	10	0.938 ± 0.192 ^②	0.757 ± 0.040 ^②	0.669 ± 0.156 ^②	0.480 ± 0.024 ^②
西药组	10	0.854 ± 0.082 ^②	0.588 ± 0.113 ^②	0.647 ± 0.131 ^②	0.399 ± 0.150 ^②

① $P < 0.05$, 与正常组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较

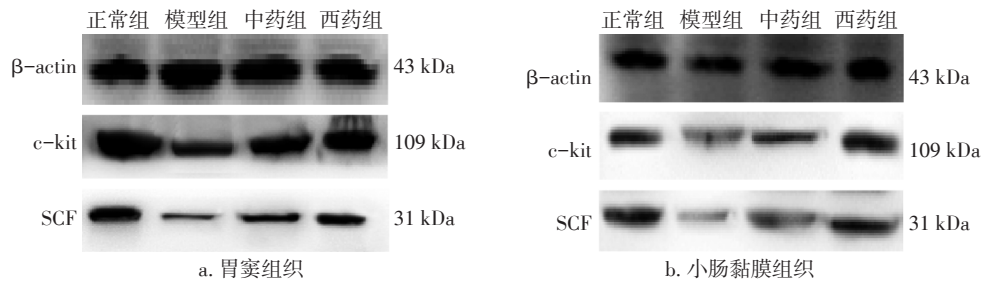


图6 各组大鼠胃窦、小肠黏膜组织中c-kit、SCF的免疫蛋白印迹电泳条带

Figure 6 Comparison of the western blotting strips of c-kit and SCF proteins in antrum and small intestinal mucosa between various groups

表4 各组大鼠胃窦、小肠黏膜组织中c-kit、SCF的mRNA表达水平比较

Table 4 Comparison of the mRNA expression levels of c-kit and SCF in rat antrum and small intestinal mucosa between various groups

组别	鼠数(只)	胃窦组织		小肠黏膜组织	
		c-kit mRNA 相对表达量	SCF mRNA 相对表达量	c-kit mRNA 相对表达量	SCF mRNA 相对表达量
正常组	10	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
模型组	10	0.492 ± 0.012 ^①	0.421 ± 0.038 ^①	0.320 ± 0.078 ^①	0.495 ± 0.028 ^①
中药组	10	0.832 ± 0.095 ^②	0.785 ± 0.052 ^②	0.806 ± 0.152 ^②	0.783 ± 0.110 ^②
西药组	10	0.681 ± 0.078 ^②	0.585 ± 0.023 ^②	0.582 ± 0.061 ^②	0.677 ± 0.017 ^②

①P < 0.05, 与正常组比较; ②P < 0.05, 与模型组比较

计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较, 中药组和西药组大鼠胃窦、小肠黏膜组织中c-kit mRNA、SCF mRNA表达水平明显升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 但2个治疗组间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

功能性消化不良(FD)属临床常见的功能性胃肠病范畴, 发病机制复杂, 易反复发作, 可影响患者生活质量, 造成严重的心理负担。目前, 胃肠动力障碍仍然是FD的主要病理生理基础^[4], 促动力药物虽可改善上腹胀等部分症状, 但长期应用可产生诸多不良反应, 且因存在停药后复发等问题限制了其在临床的使用。随着医学模式的转变, 精神心理因素在FD发病中的作用受到越来越多学者的关注, 已成为消化界研究的热点问题之一。研究^[10]发现, FD伴焦虑、抑郁状态检出率为37.2%、39.7%, 而且焦虑、抑郁评分越高, 胃肠道症状评分也越高。我们在前期研究也发现, FD患者焦虑、抑郁发生率可达75%、63.3%, 且消化不良的症状程度与焦虑、抑郁分数成明显正相关^[11]。临床上应用抗焦虑和抗抑郁药物确实对部分

FD患者有明显疗效^[12], 但长期应用存在不同程度的副作用, 导致患者依从性较差, 影响疗效。

精神心理活动与中医“肝”的疏泄功能密不可分, “郁怒伤肝”“肝失疏泄”, 可影响脾胃的气机升降, 从而出现消化不良的症状及抑郁、焦虑状态。临床研究发现气郁质是FD患者最常见的中医体质类型^[13], 肝胃不和证为主要证型^[14], 在FD肝胃不和证患者中抑郁者可占47.5%^[15], 可见肝郁与FD关系十分密切^[16]。夹尾刺激造模方法为传统制备肝郁型FD的病证结合动物模型, 这个模型是从中医“怒伤肝”理论角度出发的, 虽在一定程度上反映了FD的肝郁型病因特点, 但在FD的发病过程中略显片面。故本研究采用夹尾刺激加不规则喂养复合因素法建立FD模型, 可更真实地反映FD的自然发病过程, 而且引入了评价抑郁模型的敞箱、糖水偏好实验, 充分体现了“肝郁”型FD的病因特点。本研究应用此造模方法, 结果显示: 模型组大鼠进食量与饮水量明显下降, 易激惹, 毛发晦暗枯黄、脏乱打结, 眼角分泌物增多, 大便溏且臭秽, 糖水消耗率下降, 敞箱实验水平及垂直运动得分下降, 胃排空及小肠推进减慢, 胃肠解剖肉眼未见明显溃疡及其他器质性病

变,符合“肝郁”致FD的发病过程。

我们前期研究^[17]发现,FD肝郁模型大鼠胃肠道Cajal间质细胞(ICC)数量减少,形态结构紊乱,最终导致胃肠运动信号的起搏及传导发生异常,影响了胃肠运动。ICC是胃肠道运动的起搏细胞,ICC的数量以及形态结构的异常直接影响胃肠道动力;而c-kit基因正是胃肠道ICC的特异性标志物,其与SCF结合后,迅速磷酸化以激活下游一系列信号分子,调节ICC发育、存活与增殖,同时在维持ICC表型和生理功能方面有非常重要的作用。因此,从SCF/c-kit信号通路开展对功能性胃肠运动障碍性疾病的研究已成为一个崭新的方向^[18]。本研究结果显示:与正常组比较,肝郁FD模型大鼠胃肠动力明显减慢,胃窦及小肠黏膜组织中c-kit、SCF阳性表达细胞光密度值降低,c-kit、SCF蛋白与mRNA表达水平均下降($P < 0.05$),说明“肝郁”可能通过影响SCF/c-Kit信号通路相关蛋白的表达而影响胃肠运动。

中药可通过多靶点地协同作用治疗FD,疗效更加多元化,且不良反应较少,与单纯应用西药相比具有一定的优势^[19]。我们前期临床研究^[20]显示,和胃理气方可显著改善FD肝胃不和证患者的中医症状积分,疗效优于吗丁啉。本研究结果显示:和胃理气方可明显加快FD大鼠胃排空及小肠推进,与吗丁啉作用相当。还可增加大鼠糖水消耗率,敞箱实验水平、垂直运动得分,升高胃窦、小肠组织中c-kit、SCF阳性表达细胞光密度值,增加c-kit、SCF蛋白与mRNA表达水平。表明和胃理气方可通过上调FD大鼠胃窦、小肠组织SCF/c-Kit信号通路相关蛋白表达,从而促进胃肠动力,同时还可以改善大鼠抑郁状态。本方中以柴胡等为主的调气药占75%,可见调气在FD治疗中的重要地位,同时,配伍党参、甘草,在于调补脾胃之气。方中半数以上中药归脾、胃经,着重调理脾胃之气机,而柴胡为肝经引经药,亦为君药,主要调节脾胃气机的升降。肝气调达,情志舒畅,脾胃升降有常,才能维持正常的消化系统功能。

综上所述,肝郁可致胃肠动力下降,和胃理气方可通过调控FD大鼠胃窦、小肠黏膜组织SCF/c-Kit信号通路调节胃肠动力,改善抑郁状态。下一步研究可进一步通过网络药理学研究方法挖掘

其药靶和疾病靶基因之间的关系,并进行实验验证,以期从脑肠互动角度探讨和胃理气方的作用机制。

参考文献:

- [1] 陈锋文,何宏梅,吴斌,等.功能性消化不良和神经精神心理因素的共病分析[J].重庆医学,2016,45(23):3220-3222.
- [2] EL-SERAG H B, TALLEY N J. Systemic review: the prevalence and clinical course of functional dyspepsia[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2004, 19: 643-654.
- [3] 吴柏瑶,张法灿,梁列新.功能性消化不良的流行病学[J].胃肠病学和肝病学杂志,2013,22(1):85-90.
- [4] 王尼尼,姜巍,王垂杰.功能性消化不良的中医药研究方法及疗效评价现状[J].中国中西医结合消化杂志,2019,27(6):480-482.
- [5] 王垂杰,姜巍.和胃理气方对功能性消化不良肝郁模型大鼠胃排空和小肠推进的影响[J].辽宁中医药大学学报,2009,11(12):6-7.
- [6] KATZ R J, ROTH K A, CARROLL B J. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression[J]. Neurosci Biobehav Rev, 1981, 5: 247-251.
- [7] 王煜姣,凌江红,张钰琴,等.复合病因造模法制备功能性消化不良大鼠模型[J].世界华人消化杂志,2014,22(2):210-214.
- [8] 谢正,李恒芬,代娟,等.抑郁症动物模型的建立及评价[J].国际精神病学杂志,2007(4):212-215.
- [9] 姜巍,王垂杰.肝郁型功能性消化不良大鼠胃肠运动障碍与胃肠激素关系的研究[J].辽宁中医杂志,2016,43(2):408-409.
- [10] 尚妍妍,徐峰.功能性胃肠病伴焦虑、抑郁状态及其与胃肠道症状积分的相关性[J].世界华人消化杂志,2016,24(19):3051-3055.
- [11] 海晶美,王垂杰,李玉锋.功能性消化不良与焦虑、抑郁关系的调查分析[J].甘肃中医学院学报,2010,27(6):32-35.
- [12] TALLEY N J, LOCKE G R, SAITO Y A. Effect of amitriptyline and escitalopram on functional dyspepsia: a multicenter, randomized controlled study[J]. Gastroenterology, 2015, 149: 340-349.
- [13] 曾志聪,潘艳,宋银枝,等.功能性消化不良人群中中医体质分布特征调查与分析[J].中国中医急症,2014,23(9):1654-1656.
- [14] 刘松林,梅国强,赵映前,等.功能性消化不良的中医临床辨证规律研究[J].中国医药学报,2004,19(8):499-501.
- [15] 朱明锦,王垂杰,姜巍,等.功能性消化不良肝胃不和证与抑郁状态的相关研究[J].中国中西医结合消化杂志,2013,21(1):8-11.
- [16] 于蕊,姜巍,王垂杰.肝郁与功能性消化不良的相关性[J].中医药临床杂志,2018,30(8):1394-1396.
- [17] 王垂杰,姜巍.功能性消化不良肝郁模型大鼠胃排空障碍与

- 胃平滑肌超微结构的关系[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2009, 17(2): 86-88.
- [18] 田姣. 胃肠道Cajal间质细胞与干细胞因子/c-kit信号系统的研究进展[J]. 临床儿科杂志, 2013, 31(4): 385-388.
- [19] 鲍显含, 王垂杰, 姜巍. 中药治疗功能性消化不良多靶点作用机制研究现状[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(1): 81-84.
- [20] 姜巍, 王垂杰, 朱明锦, 等. 中药对肝胃不和型功能性消化不良症状及内脏敏感性影响的随机对照研究[J]. 中国中西医结合消化志, 2015, 23(11): 749-752.

【责任编辑：侯丽颖】

疏肝温胆汤对胰岛素抵抗肥胖大鼠糖脂代谢和炎症因子的影响

罗思聪¹, 郭永宁¹, 蔡海荣², 蔡鑫桂¹, 张为章¹, 张烈元¹, 陈伯钧¹

(1. 广州中医药大学第二附属医院/广东省中医院, 广东广州 510006;

2. 广州中医药大学第二临床医学院, 广东广州 510405)

摘要:【目的】探讨疏肝温胆汤对高脂膳食诱导的胰岛素抵抗肥胖大鼠糖脂代谢和炎症因子的影响。【方法】将40只SD大鼠随机分为正常组、模型组、中药组和他汀组, 每组10只。除正常组, 其他各组大鼠采用高脂膳食喂养法建立胰岛素抵抗肥胖模型。成功造模后, 中药组和他汀组分别给予疏肝温胆汤和阿托伐他汀钙片混悬液灌胃4周, 同期正常组和模型组给予等体积生理盐水灌胃。给药结束后, 检测各组大鼠体质量、Lee's 指数、空腹血糖(FBG)、胰岛素(Fins)、血脂[总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)], 并计算稳态胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)和胰岛素敏感性指数(QUICKI)、脂肪指数, 以酶联免疫吸附分析(ELISA)检测脂肪组织炎症细胞因子[肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素6(IL-6)、白细胞介素17(IL-17)、白细胞介素1 β (IL-1 β)]含量。【结果】与正常组比较, 模型组大鼠体质量、Lee's 指数、脂肪指数、HOMA-IR升高, QUICKI显著降低, 血清FBG、Fins、TC、TG、LDL-C水平升高, HDL-C水平降低, 脂肪组织TNF- α 、IL-6、IL-17、IL-1 β 的含量升高(均 $P < 0.05$); 与模型组比较, 中药组大鼠体质量、Lee's 指数、脂肪指数、HOMA-IR降低, QUICKI显著升高, 血清FBG、Fins、TC、TG、LDL-C水平降低, HDL-C水平升高, 脂肪组织TNF- α 、IL-6、IL-17、IL-1 β 的含量降低(均 $P < 0.05$), 且除TC、LDL-C、HDL-C指标外, 2个治疗组比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。【结论】疏肝温胆汤可以改善胰岛素抵抗肥胖大鼠的糖脂代谢和抑制炎症反应状态。

关键词: 疏肝温胆汤; 肥胖; 胰岛素抵抗; 糖脂代谢; 炎症因子; 大鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)04-0773-06

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.04.022

收稿日期: 2020-05-10

作者简介: 罗思聪(1986-), 男, 硕士, 主治医师; E-mail: 3403171645@qq.com

通讯作者: 蔡鑫桂(1989-), 男, 硕士, 主治医师; E-mail: 170775414@qq.com

基金项目: 广东省中医药局资助项目(编号: 20211158)