

## 舒胃汤对功能性消化不良大鼠 Cajal 间质细胞、胃动素表达的影响

胡淑娟, 王小娟\*, 郭璇, 肖麟, 谭华梁

(湖南中医药大学第一附属医院消化内科, 长沙 410007)

[摘要] 目的: 观察舒胃汤对功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 大鼠 c-Kit 阳性 Cajal 间质细胞 (interstitial cells of cajal, ICC)、胃动素 (Motilin, MTL) 表达的影响, 探讨其可能的作用机制。方法: 将大鼠随机分成对照组、模型组、舒胃汤高剂、舒胃汤低剂量组、多潘立酮组、木香顺气组, 采用夹尾刺激法<sup>[1]</sup> 建立 FD 大鼠模型, 连续给药 14 d 后, 采用免疫组化分析法检测胃窦 MTL 和 c-Kit 阳性 ICC 表达, 以酚红法观察胃排空。结果: 与对照组相比, 模型组胃排空延迟、胃窦 MTL 和 c-Kit 阳性 ICC 表达显著降低 (均  $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 舒胃汤高剂量组、多潘立酮组及木香顺气组胃排空、MTL 及 c-Kit 阳性 ICC 表达显著升高 (均  $P < 0.05$ ), 而舒胃汤低剂量组与模型组相比无显著性差异。结论: 舒胃汤高剂组可以明显增加肝胃不和型 FD 大鼠饮水、食量, 促进胃窦 ICC 和 MTL 表达, 加快胃排空; 上调 ICC 和 MTL 表达、提高大鼠胃排空率是舒胃汤治疗功能性消化不良可能的作用机制之一。

[关键词] 功能性消化不良; 大鼠; 舒胃汤; Cajal 间质细胞; 胃动素

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)03-0170-04

## Effect of Shuweitang on Expression of Interstitial Cells of Cajal and Motilin in Functional Dyspepsia Rats

HU Shu-juan, WANG Xiao-juan\*, GUO Xuan, XIAO Lin, TAN Hua-liang  
(The First Affiliated Hospital Digestive Diseases of Hunan University of  
Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

**[ Abstract ] Objective:** To observe the effects and mechanism of Shuweitang on expression of interstitial cells of cajal (ICC) and motilin (MTL) in functional dyspepsia (FD) rats. **Method:** FD model was induced by moderate enraging the rats tail. All rats were divided randomly into 6 groups: control group, model group, high and low dosages of Shuweitang groups, domperidone and Muxiangshunqi groups. Drugs were administrated for 14 days. ICC and MTL were determined by immunohistochemical method. And gastric emptying was observed with phenolsulfonphthalein. **Result:** Compared with the control group, gastric emptying and the expression of ICC and MTL in the model groups were obviously decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, gastric emptying, MTL and ICC increased significantly in high-dose Shuweitang, Muxiangshunqi and domperidone groups ( $P < 0.05$ ). Low dose of Shuweitang showed no significant differences ( $P > 0.05$ ). **Conclusion:** High dose of Shuweitang may increase diet and water intake, promote ICC and MTL expression in FD rats, and accelerate gastric emptying.

**[ Key words ]** functional dyspepsia; rats; Shuweitang; interstitial cells of cajal; motilin

[收稿日期] 20100419(005)

[基金项目] 湖南省卫生厅中医药专项基金(2008025); 长沙市科技局计划(K10001044-41)

[第一作者] 胡淑娟, 硕士研究生, 医师, 主要从事消化系统临床工作, E-mail: hsj2012@163.com

[通讯作者] \* 王小娟, 教授, 主任医师, Tel: 13908465978, E-mail: 158571042@qq.com

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是一种常见的功能性胃肠疾病,其发病机制复杂,目前并未完全阐明。目前在临床已使用一系列促胃肠动力药,如胃复安、多潘立酮、西沙比利等,虽有肯定的疗效,但这些药物偏重于胃肠局部功能调节,有不同程度副作用<sup>[1]</sup>,且单用西药治疗疗效不佳,而中医治疗FD可获得满意的疗效<sup>[2]</sup>。因此,寻找促胃动力中药具有现实的理论意义和实用价值。

舒胃汤是我院治疗肝胃不和之痞证的经验方,经过大量的临床验证<sup>[3]</sup>,收到了满意的疗效。本课题通过动物实验,以FD大鼠为观察对象,从cajal间质细胞(interstitial cells of cajal, ICC)、胃动素(motilin, MTL)的角度,研究此方治疗FD的作用机制,为其在临床应用中提供理论依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 健康Wistar雄性大鼠48只,体重(180±20)g,购自湖南中医药大学实验动物中心。

**1.2 药物** 舒胃汤(柴胡12g,白芍10g,香附10g,延胡索10g,川楝子8g,枳实10g,旋覆花10g等),购自湖南中医药大学附一院药剂科,多潘立酮片(西安杨森制药有限公司,批号090107137)、木香顺气丸(哈药集团世一堂制药厂,批号0809722)。药物制备方法:将中药材加5倍水煮沸后微火煮30min,过滤后收集煎液,原药渣加少量水煎煮,得二滤液,加热浓缩成浸膏,计算浸膏率。

**1.3 试剂与仪器** MTL兔抗大鼠单克隆血清(北京邦定生物公司分装:Sigma Co),Rabbit Anti-C-KIT(BA0467)(博士德生物试剂有限公司);苯酚红(天津市凯通化学试剂有限公司);JY3002型电子天平(上海精密科学仪器有限公司);LEICA DM LB<sub>2</sub>型双目显微镜(德国LEICA公司产);MoticB<sub>5</sub>显微摄像系统(麦克奥迪实业集团公司)。

## 2 方法

**2.1 造模与分组** 适应性喂养1周,称重后按随机数字表将48只大鼠随机分为6组,即对照组、模型组、舒胃汤高剂(中高组)、舒胃汤低剂组(中低组)、多潘立酮组(西药组)、木香顺气组(中成组),每组8只。除对照组每日常规饲养不予造模外,其余5组大鼠均采用夹尾刺激法<sup>[4]</sup>建立FD大鼠模型,连续刺激7d。按照大鼠与人临床用药剂量、体型系数公式 $dB = dA \times RB/RA \times (WA/WB)^{1/3}$ 计算大鼠药物剂量,多潘立酮组 $0.027 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,木香顺气组 $1.65 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,

舒胃汤高、低剂量组按生药量计为 $30.68, 7.67 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

**2.2 给药方法及样本处理** 造模结束后,给予各组相应药液ig(1次/d),对照组和模型组每日予以0.9%氯化钠 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ig,中成组、西药组、中高剂和中低组分别给予木香顺气溶液、多潘力酮溶液、舒胃汤高剂水煎液和舒胃汤低剂水煎液(均以 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ )ig,持续14d。第15天给药前禁食24h(可自由饮水),末次给药后30min各组以酚红糊(每15mL酚红加1g面粉加热成糊状)ig $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,20min后用10%乌拉坦麻醉后处死,结扎贲门和胃窦,取下整胃,沿大弯侧切开胃,以蒸馏水冲洗胃内容物计算胃排空。然后取胃窦的胃壁全层一块约 $0.5 \text{ cm} \times 0.5 \text{ cm}$ 大小,立即置于4%多聚甲醛固定2h,然后经洗涤、脱水、透明、浸蜡和石蜡包埋后,切片待测MTL,ICC含量。

## 2.3 指标检测

**2.3.1 大鼠一般情况观察** 观察并记录大鼠毛色、体重、活动、饮水、饮食等情况。

**2.3.2 饮水、食量的观察** 采用饮水、食量差值测定法<sup>[4]</sup>计算每只大鼠每日饮水、食量。

**2.3.3 胃排空测定** 参照文献[5]方法。

**2.3.4 ICC及MTL测定** 免疫组化法制备的玻片在LEICA DM LB<sub>2</sub>型双目显微镜下观察,照相;每组随机选取5张切片,在高倍镜下( $\times 200$ )随机选取5个视野,将5个视野的图像应用MIAS医学图象分析系统,进行灰度分析,测定其平均灰度值,代表免疫反应产物含量。

**2.4 统计学处理** 使用SPSS 16.0统计软件包进行数据分析。所有参数以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 大鼠行为和体态变化** 造模后,引发大鼠相互间的厮打,造模第3天可嗅到笼内秽臭,大鼠饮水、饮食量逐渐减少,至造模第7天饮水、食量明显减少,毛发枯黄、变暗、不光滑,并伴有紧张、焦虑,说明FD大鼠研究模型复制是成功的。给药后,舒胃汤高剂量组大鼠随给药天数的增加逐渐活动变多,并且饮水、饮食量增多;而模型组大鼠仍精神萎靡焦虑,蜷缩成团,不思饮食,说明高剂量舒胃汤在改善FD大鼠食少或不思饮食等症状方面作用明显。

**3.2 大鼠饮水、饮食量的改变** 见表1。

表 1 各组大鼠日均饮水及食量的比较(  $\bar{x} \pm s, n=8$  )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	日均饮水量 /mL	日均食量 /g
正常对照	-	25.84 ±0.42	26.90 ±0.41
模型	-	19.47 ±0.34 <sup>1)</sup>	18.74 ±0.71 <sup>1)</sup>
木香顺气	1.65	23.66 ±0.35	24.64 ±0.56
多潘立酮	0.027	25.71 ±0.55	26.40 ±0.53
舒胃汤	7.67	20.12 ±0.76	19.45 ±0.32
	30.68	24.80 ±0.39 <sup>2)</sup>	25.43 ±0.64 <sup>2)</sup>

注:与正常组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;与模型组相比<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ (表 2 同)。

由表 1 可知:给药后,高剂量舒胃汤能明显增加 FD 大鼠饮水、食量,与模型组相比有显著性差异 ( $P < 0.05$ );与木香顺气组相比略有升高但差异无统计学意义;与西药组相比略低但差异无统计学意义;低剂量舒胃汤与模型组相比差异无统计学意义。

### 3.3 对大鼠胃窦 ICC 表达的影响 模型组大鼠胃

窦 c-Kit 阳性 ICC 表达较对照组明显减少 ( $P < 0.05$ );舒胃汤低剂量组与模型组相比阳性表达略有增多,但差异无统计学意义;舒胃汤高剂量组与模型组相比阳性表达明显增多且差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )与木香顺气组相比阳性表达增多但差异无统计学意义,较西药组低且差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2 及图 1。

表 2 各组大鼠胃排空率与 MTL 及 ICC 表达比较(  $\bar{x} \pm s, n=8$  )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	胃排空率 /%	ICC /μm	MTL /μm
正常对照	-	84.7 ±2.8	136.03 ±11.92	125.61 ±11.50
模型	-	61.5 ±3.1 <sup>1)</sup>	180.66 ±14.59 <sup>1)</sup>	186.64 ±13.15 <sup>1)</sup>
木香顺气	1.65	72.4 ±2.5 <sup>2)</sup>	152.63 ±11.88 <sup>2)</sup>	155.23 ±12.54 <sup>2)</sup>
多潘立酮	0.027	83.6 ±2.2 <sup>2)</sup>	135.76 ±11.59 <sup>2)</sup>	121.67 ±11.59 <sup>2)</sup>
舒胃汤	7.67	66.8 ±2.0	171.01 ±10.22	182.35 ±10.38
	30.68	76.9 ±1.9 <sup>2)</sup>	149.13 ±10.37 <sup>2)</sup>	151.92 ±13.46 <sup>2)</sup>

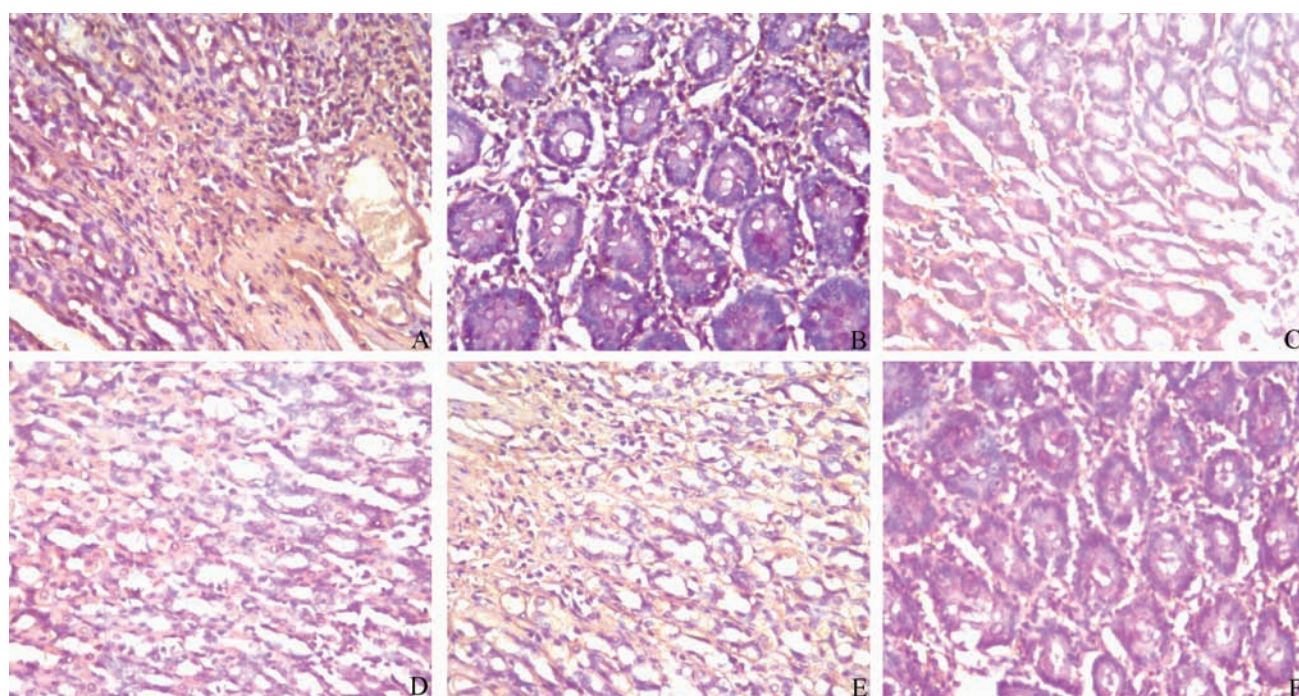


图 1 各组大鼠胃窦 ICC 表达

A. 空白组; B. 模型组; C. 木香顺气 1.65 g·kg<sup>-1</sup>组; D. 多潘立酮 0.027 g·kg<sup>-1</sup>组; E. 舒胃汤 7.67 g·kg<sup>-1</sup>组; F. 舒胃汤 30.68 g·kg<sup>-1</sup>组

3.4 对大鼠胃窦 MTL 表达的影响 模型组大鼠 MTL 表达较对照组明显降低 ( $P < 0.05$ );舒胃汤低剂量组与模型组相比略有升高,但差异无统计学意义;舒胃汤高剂量组与模型组相比明显升高且差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),与木香顺气组相比略有升高但差异无统计学意义,较西药组下降且差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2 及图 2。

3.5 胃排空率情况 见表 2。模型组大鼠胃排空率较对照组明显减少 ( $P < 0.05$ );舒胃汤低剂量组与模型组相比胃排空率升高,但差异无统计学意义;

舒胃汤高剂量组与模型组相比明显升高且差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),与木香顺气组相比略有升高但差异无统计学意义;较西药组胃排空率下降且差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

## 4 讨论

FD 的发病机制复杂多样,研究时常需要综合症状学、器官生理、细胞生物以及分子学知识,涉及到平滑肌细胞、ENS、ICC、激素、神经回路、肠脑互动等因素,研究从细胞,甚至是从分子到症状的一系列的问题。

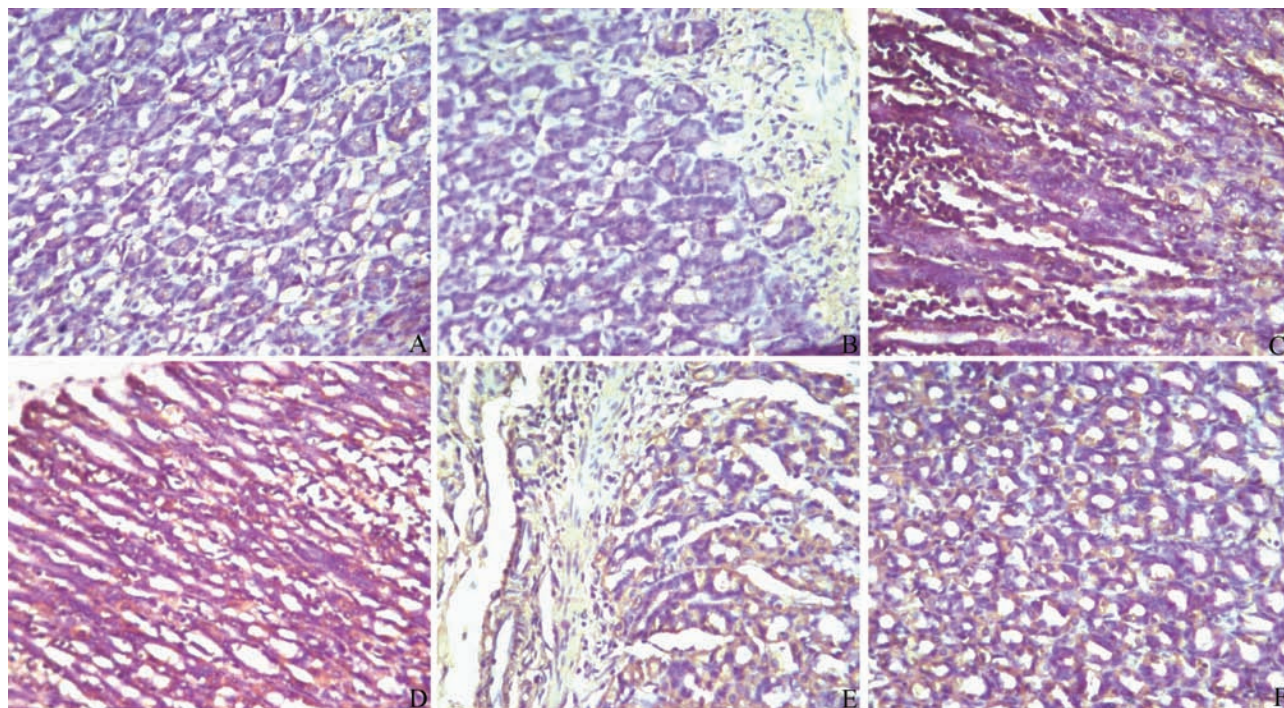


图2 各组大鼠胃窦 MTL 表达

A. 空白组; B. 模型组; C. 木香顺气  $1.65 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; D. 多潘立酮  $0.027 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; E. 舒胃汤  $7.67 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; F. 舒胃汤  $30.68 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组

研究证实 ICC 在胃肠电生理和动力发生及动力障碍机制上具有重要作用<sup>[6]</sup>。ICC 不仅是胃肠平滑肌基本电节律 (BER) 的起搏者, 作为壁内神经信息向平滑肌传送的中介, 其突起形成的网络还可传播 BER。它分布于整个胃肠道组织中, 解剖上与肠神经系统神经末梢和平滑肌细胞有着特殊而紧密的连接<sup>[7]</sup>。

作为兴奋胃肠运动的一种脑肠肽——MTL 在消化间期启动胃肠移行性复合运动 (MMC) III 相波中发挥重要作用。MTL 能刺激上消化道运动, 将胃肠内容物包括上次进食后遗留的残渣、脱落的细胞碎片和细菌等清除干净, 起着“清道夫”的作用, 促进消化间期胃排空<sup>[8]</sup>。MTL 对胃平滑肌细胞有明显的兴奋作用, 其作用于胃窦平滑肌细胞上特异性的 MTL 受体, 通过兴奋与磷脂酶 G 耦联的 Gi 蛋白, 产生三磷酸肌醇, 激发胃窦平滑肌的收缩反应<sup>[9]</sup>。

本实验发现, 模型组大鼠胃窦 c-Kit 阳性 ICC、MTL 表达与对照组比较明显减少 ( $P < 0.05$ ), 并且胃排空率明显降低, 证实了 FD 胃排空延长与 MTL 分泌下降、ICC 数量减少有关, 推测两指标的下降可能导致胃肠平滑肌松弛, 胃蠕动减弱, 从而出现胃排空时间延长等功能障碍。用舒胃汤高剂量治疗后, 与模型组相比, 大鼠胃窦 MTL 和 c-Kit 阳性 ICC 表达均增加、胃排空率显著升高 (均  $P < 0.05$ )。舒胃汤低剂与模型组相比各项指标升高但差异无统计学意义, 进一步说明舒胃汤高剂与低剂有疗效差异, 对胃肠道作用存在量效关系。综上, 舒胃汤可能通过

上调 ICC、MTL 表达, 促进胃排空, 从而改善功能性消化不良的临床症状, 达到治疗功能性消化不良的作用, 但其对 FD 的作用可能是多方面的, 具体的作用机制有待今后深入研究。

#### [参考文献]

- [1] 张煜. 中医治疗功能性消化不良述评[J]. 实用中医药杂志, 2005, 21(1): 45.
- [2] 刘鸿慧, 王垂杰. 功能性消化不良的中医治疗述评[J]. 辽宁中医学院学报, 2004, 6(2): 101.
- [3] 谭华梁, 王小娟. 舒胃汤治疗功能性消化不良肝胃不和型的临床研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(9): 93.
- [4] 郭海军, 林洁, 李国成. 功能性消化不良的动物模型研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2001, 9(3): 141.
- [5] 谭余庆, 霍海如. 桂枝汤对胃肠运动双向调节作用的研究 I. 对胃排空、肠推进的影响[J]. 中药药理与临床, 1997, 13(6): 1.
- [6] Daniel E E. Communication between interstitial cells of Cajal and gastrointestinal muscle. Neuro gastroenterol Motil, 2004, 16(1): 118.
- [7] Min K W, Sook Seo I. Intestinal cells of Cajal in the human small intestine: immunochemical and ultrastructural study[J]. Ultrastruct Pathol, 2003, 27(2): 67.
- [8] 姚泰. 生理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 188, 905.
- [9] 王玲, 周吕. 胃动素和胃泌素引起大鼠胃窦平滑肌细胞收缩的信号转导通路[J]. 生理学报, 2000, 52(4): 272.

[责任编辑 聂淑琴]