

鼠腹泻和肠道黏膜炎情况,但其发挥疗效的物质基础和深层机制还有待进一步探讨,可通过网络药理学、肠道微生物生态等探讨可能的物质基础和分子机制。

参考文献:

[1] Lalla R V, Peterson D E. Treatment of mucositis, including new medications[J]. *Cancer J*, 2006, 12(5): 348-354.  
[2] Van Vliet M J, Harmsen H J, De Bont E S, et al. The role of intestinal microbiota in the development and severity of chemotherapy-induced mucositis[J]. *PLoS Pathog*, 2010, 6(5): e1000879.  
[3] Gibson R J, Keefe D M, Lalla R V, et al. Systematic review of agents for the management of gastrointestinal mucositis in cancer patients[J]. *Support Care Cancer*, 2013, 21(1): 313-326.  
[4] 付航,刘喜平,李沛清,等.敦煌平胃丸治疗慢性萎缩性胃炎癌前病变48例[J]. *中医研究*, 2015, 28(1): 20-22.  
[5] 党民卿,王道坤.萎胃灵1号对慢性萎缩性胃炎癌前病变患者中医证候及病理组织学的影响[J]. *西部中医药*, 2016, 29(7): 1-3.

[6] Bowen J M, Stringer A M, Gibson R J, et al. Probiotic treatment reduces chemotherapy-induced diarrhea and weight loss[J]. *Cancer Biol Ther*, 2007, 6(9): 1449-1454.  
[7] Kesik V, Uysal B, Kurt B, et al. Ozone ameliorates methotrexate-induced intestinal injury in rat[J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8(17): 1623-1628.  
[8] Al-Dasooqi N, Sonis S T, Bowen J M, et al. Emerging evidence on the pathobiology of mucositis[J]. *Support Care Cancer*, 2013, 21(7): 2075-2083.  
[9] Zhang Y, Zhang B, Dong L, et al. Potential of Omega-3 polyunsaturated fatty acids in managing chemotherapy-or radiotherapy-related intestinal microbial dysbiosis[J]. *Adv Nutr*, 2019, 10(1): 133-147.  
[10] Chen D, Zhao J, Cong W. Chinese herbal medicines facilitate the control of chemotherapy-induced side effects in colorectal cancer: progress and perspective[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 12(9): 1442.  
[11] 郑红刚,朴炳奎.浅议放疗化疗毒副作用的中医病因[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2007, 13(10): 751-752.

## 舒肝解郁胶囊联合莫沙必利对功能性消化不良大鼠胃黏膜 CRF、C-KIT 表达的影响

包瑞玲<sup>1</sup>, 刘文滨<sup>2\*</sup>, 丁瑞峰<sup>3</sup>, 黎敏<sup>3</sup>, 赵丽红<sup>4</sup>, 段姝婷<sup>1</sup>, 张玲<sup>2</sup>

(1. 内蒙古科技大学包头医学院, 内蒙古 包头 014000; 2. 内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院中医科, 内蒙古 包头 014010; 3. 内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院消化科, 内蒙古 包头 014010; 4. 内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院心功能科, 内蒙古 包头 014010)

**摘要:**目的 观察舒肝解郁胶囊联合莫沙必利对功能性消化不良大鼠胃黏膜 CRF、C-KIT 表达的影响。方法 建立功能性消化不良(FD)大鼠模型,30只Wistar雄性大鼠随机分为空白组、模型组、舒肝解郁+莫沙必利组,每组10只,灌胃2周。灌胃结束后处死大鼠,记录大鼠体质量变化、胃残留率,免疫组化及Western blot检测胃组织CRF、C-KIT的表达。结果 与空白组比较,模型组体质量下降、胃残留率增加,胃组织CRF表达升高,C-KIT表达降低( $P < 0.05$ );与模型组比较,舒肝解郁+莫沙必利组体质量增加、胃残留率下降,胃组织CRF表达降低,C-KIT表达增加( $P < 0.05$ )。结论 夹尾法及不规则饲养法可成功制备FD大鼠模型;舒肝解郁胶囊联合莫沙必利片可改善FD大鼠病症,其机制可能与下调胃CRF、上调胃C-KIT的表达相关。

**关键词:**舒肝解郁胶囊;莫沙必利片;功能性消化不良;CRF;C-KIT

中图分类号:R285.5

文献标志码:B

文章编号:1001-1528(2021)02-0506-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2021.02.042

消化不良是临床上最常见的症状之一,在众多的患者中,仅有较少的消化不良患者存在器质性损害,大多数患者考虑为功能性消化不良。功能性消化不良(functional

dyspepsia,FD)被定义为来自胃和十二指肠区域的临床症状,多表现为恶心、呕吐、餐后饱胀感、上腹痛等症状,并且排除可以解释这些症状的器质性改变及代谢性异常。

收稿日期:2019-06-10

基金项目:内蒙古自治区教育厅资助项目(NJZY7265)

作者简介:包瑞玲(1994—),女,蒙古族,硕士,从事消化系统相关疾病研究。Tel:13142646601, E-mail:1532127246@qq.com

\*通信作者:刘文滨(1970—),男,主任医师,副教授,从事中医内科脾胃病研究。Tel:13947258855, E-mail:liuwenbinctm@163.com

FD全球的发病率为11.5%~29.2%，亚洲地区约为8%~23%<sup>[1]</sup>。而且FD患者常常伴随有抑郁、焦虑及躯体化障碍等精神心理障碍，存在异常的人格特征，多有负性生活事件和生活应激事件的经历。部分学者研究发现舒肝解郁胶囊联合莫沙必利片可有效改善FD患者临床症状，本实验通过建立FD大鼠模型，予以舒肝解郁胶囊联合莫沙必利片干预，观察其对大鼠体质量、胃残留率、胃黏膜促肾上腺皮质激素释放因子(CRF)及干细胞因子受体(C-KIT)表达的影响。

### 1 材料

1.1 动物 30只健康雄性Wistar大鼠，由内蒙古医科大学实验动物中心提供[许可证号SCXK(蒙)2015-0001]，体质量(160±20)g；动物房温度22~24℃。

1.2 药物与试剂 舒肝解郁胶囊(四川济生堂药业有限公司生产，批号Z20174037，0.36g/粒)；枸橼酸莫沙必利分散片(鲁南制药有限公司生产，批号H20031110，5mg/片)；CRF抗体(英国abcam公司，货号ab8901)；C-KIT抗体(南昌英俊科技开发有限公司，货号AF4701)。

### 2 方法

2.1 造模与分组 夹尾刺激+不规律饲养法<sup>[2]</sup>造模。30只Wistar雄性大鼠适应性饲养7d，随机分为空白组、模型组、舒肝解郁+莫沙必利组，每组10只。空白组不加任何干预，自然饲养，其余各组依照上述造模方法处理，造模1周。造模结束后，空白组、模型组每只大鼠以生理盐水1mL/100g灌胃；舒肝解郁+莫沙必利组以莫沙必利1.37mg/kg、1mL/100g灌胃；舒肝解郁胶囊以15mg/mL、1mL/100g灌胃，大鼠与人临床用药剂量、体型系数公式 $[dB = dA \times RB/RA \times (WA/WB) / 3]$ 分别配制悬浊液。每周测量大鼠体质量，根据体质量变化调整用药剂量。

2.2 体质量 记录造模期间大鼠体质量变化。

2.3 胃残留率测定 实验第21天，各组大鼠禁食不禁水24h，每只大鼠予1mL/100g营养半固体米糊(10g羧甲基纤维素钠、16g奶粉、8g糖、8g淀粉及250mL蒸馏水共同配制)灌胃，40min后予20%乌拉坦(1mL/100g)腹腔麻醉后进行开腹，将大鼠肠胃分离，结扎贲门和幽门取胃，滤纸吸干水分称胃全重( $m_1$ )，沿胃大弯侧剪开，去除胃内容物，PBS缓释液清洗胃，滤纸吸干，称得胃净重( $m_2$ )，胃内残留物质量占营养半固体米糊质量的百分比为胃残留率，测胃残留率= $[(m_1 - m_2) / \text{营养半固体米糊质量}] \times 100\%$ 。

2.4 观察各组大鼠胃黏膜CRF、C-KIT的表达情况

2.4.1 Western blot 距幽门0.5cm处取2块胃窦壁组织(1cm×1cm)，分别装入4%甲醛容器及冻存管中保存，将冻存管迅速放置液氮罐中等待检测。将组织从液氮中取出，裂解提取蛋白，BCA法测定蛋白浓度、制胶及上样、电泳、蛋白质电转移和膜封闭、抗原抗体反应、显影、漂洗、定影、最后清水冲洗晾干保存、扫描，用IPP软件对扫描图象的目的条带进行灰度分析。

2.4.2 免疫组化 取材，固定，脱水浸蜡，包埋，切片，捞片，烤片，微波炉抗原修复—滴加5%BSA封闭液，室温20min；滴加适当稀释的一抗，4℃过夜，PBS(pH7.4)洗3次，2min/次；滴加生物素化山羊抗兔IgG，室温20min，PBS洗；滴加试剂SABC，室温20min，PBS洗4次，5min/次；DAB显色，苏木素轻度复染，在通风橱中晾干后，中性树胶封片—显微拍照。每张切片选择互不重叠的视野在显微镜下观察，测定单位面积的阳性细胞数表达(平均光密度)，代表其表达情况。具有临床病理工作5年以上经验的两名病理医生阅片。

2.5 统计学分析 所有数据均使用SPSS 25.0统计软件进行统计学分析，首先进行方差齐性、正态分布检验，计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示，多组间比较选用单因素方差分析，方差齐时选用LSD检验，方差不齐时选用非参数cruskal-wallis检验； $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

### 3 结果

3.1 各组大鼠体质量变化值及胃残留率 与空白组比较，模型组体质量下降( $P < 0.05$ )，与模型组比较，舒肝解郁+莫沙必利组体质量上升( $P < 0.05$ )，见表1；与空白组比较，模型组胃残留率升高( $P < 0.05$ )，提示模型组胃动力减弱；与模型组比较，舒肝解郁+莫沙必利组胃残留率下降( $P < 0.05$ )，见表2，符合FD大鼠模型。

表1 各组大鼠体质量差值比较(g,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	体质量变化
空白组	116.83±34.15
模型组	25.50±17.00*
舒肝解郁+莫沙必利组	88.73±17.45*▲

注：与空白组比较，\* $P < 0.05$ ；与模型组比较，▲ $P < 0.05$ 。

表2 各组大鼠胃残留率比较(%,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	胃残留率
空白组	46.97±5.20
模型组	84.80±4.63*
舒肝解郁+莫沙必利组	63.75±5.11*▲

注：与空白组比较，\* $P < 0.05$ ；与模型组比较，▲ $P < 0.05$ 。

3.2 胃黏膜CRF表达情况 与空白组比较，模型组、舒肝解郁+莫沙必利组胃CRF表达升高( $P < 0.05$ )；与模型组比较，舒肝解郁+莫沙必利组胃CRF的表达降低( $P < 0.05$ )，见表3~4、图1。

表3 Western blot检测各组大鼠胃CRF表达(%,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	CRF
空白组	0.99±0.00
模型组	2.04±0.15*
舒肝解郁+莫沙必利组	1.54±0.25*▲

注：与空白组比较，\* $P < 0.05$ ；与模型组比较，▲ $P < 0.05$ 。

3.3 胃黏膜C-KIT表达情况 与空白组比较，模型组、舒肝解郁+莫沙必利组胃C-KIT表达降低( $P < 0.05$ )；与模型组比较，舒肝解郁+莫沙必利组胃C-KIT的表达升高( $P < 0.05$ )，见表5~6、图2。

**表 4 免疫组化法检测各组大鼠胃黏膜 CRF 表达比较 ( $\mu\text{m}$ ,  $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )**

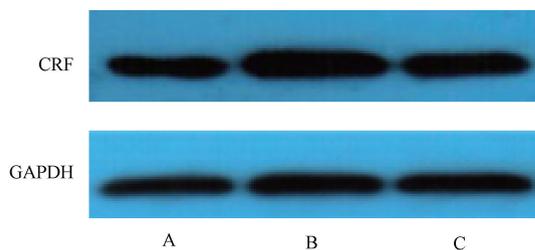
组别	CRF
空白组	0.15±0.13
模型组	0.74±0.07*
舒肝解郁+莫沙比利组	0.55±0.09*▲

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,▲ $P<0.05$ 。

**表 5 Western blot 检测各组大鼠胃 C-KIT 的表达 ( $\%$ ,  $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )**

组别	C-KIT
空白组	0.99±0.00
模型组	0.34±0.05*
舒肝解郁+莫沙比利组	0.66±0.11*▲

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,▲ $P<0.05$ 。



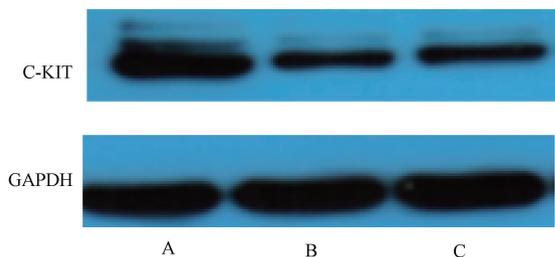
注: A 为空白组、B 为模型组、C 为舒肝解郁+莫沙比利组。

**图 1 Western blot 检测各组大鼠胃窦组织 CRF 蛋白表达**

**表 6 免疫组化法检测各组大鼠胃 C-KIT 的表达 ( $\mu\text{m}$ ,  $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )**

组别	C-KIT
空白组	0.66±0.10
模型组	0.07±0.05*
舒肝解郁+莫沙比利组	0.34±0.11*▲

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,▲ $P<0.05$ 。



注: A 为空白组、B 为模型组、C 为舒肝解郁+莫沙比利组。

**图 2 Western blot 检测各组大鼠胃窦组织 C-KIT 蛋白表达**

#### 4 讨论

FD 是多种因素参与的疾病,其中胃十二指肠动力异常、内脏高敏感、精神因素是其公认的发病机制<sup>[3]</sup>。目前部分学者将舒肝解郁胶囊联合莫沙必利用于功能性胃肠病治疗中。舒肝解郁胶囊由刺五加及贯叶金丝桃组成,贯叶金丝桃是目前国内外报道最多、作用机制最明确的抗抑郁单方中药,主要用于轻中度抑郁患者的治疗<sup>[4-6]</sup>。莫沙必利为选择性 5-HT<sub>4</sub> 受体激动剂,通过兴奋胃肠道胆碱能中间神经元及肌间神经丛 5-HT<sub>4</sub> 受体,促进乙酰胆碱释放,增

加胃蠕动,促进胃排空。舒肝解郁胶囊联合莫沙必利可有效改善 FD 患者临床症状,降低复发率<sup>[7-8]</sup>。本实验应用夹尾及不规律饮食法制备 FD 大鼠模型,模型组大鼠体质量下降,胃残留率增加。应用舒肝解郁胶囊联合莫沙必利治疗,FD 大鼠体质量增加,胃残留率下降,有效改善 FD 大鼠病症。

内脏高敏感是导致 FD 发生的重要发病机制之一。研究显示约 34%~64% FD 患者存在对胃扩张的高敏感<sup>[9-12]</sup>。Caldarella 等<sup>[13]</sup>研究发现 FD 患者不仅对胃底扩张的敏感性增强,而且对胃窦扩张呈现出高敏状态。而在应激反应中 CRF 起着举足轻重的作用,CRF 是一种重要的神经内分泌肽,主要分布于中枢神经系统中与应激反应相关的区域,也存在于如胃肠道等外周区域。CRF 通过迷走中枢及外周途径参与了胃肠道应激反应过程<sup>[14]</sup>,可抑制副交感神经和提高交感神经活动,是调解下丘脑-垂体-肾上腺皮质系统的关键。在慢性应激小鼠中 CRF 含量增高,经治疗后 CRF 浓度降低,胃排空率增加,从而减弱内脏敏感性<sup>[15-16]</sup>。FD 大鼠胃 CRF 阳性细胞表达数较空白组增高。予以舒肝解郁胶囊联合莫沙必利片治疗后,胃 CRF 阳性细胞数及 WB 表达明显下降。舒肝解郁胶囊联合莫沙必利对 FD 大鼠病症治疗效果明显,其作用机制可能是通过下调胃 CRF 的表达,减弱内脏高敏感相关。

Cajal 间质细胞 (ICC) 作为胃肠道的慢性起搏细胞,分布在胃肠道的各个部位,越来越多的研究表明,Cajal 间质细胞的减少可导致胃肠道动力障碍<sup>[17-18]</sup>。而几乎所有 ICC 都特异性表达 C-KIT 受体<sup>[19]</sup>,C-KIT 受体又称干细胞因子受体,干细胞因子 (SCF) 与 C-KIT 通过胞外结构域 1~3 区结合后激活一系列的信号分子,从而调节 ICC 的增值、分化、发育和结构的完整性<sup>[20-21]</sup>,C-KIT 的表达下降可导致 ICC 表型转化异常,失去相应的功能<sup>[22]</sup>。本实验表明舒肝解郁胶囊联合莫沙必利片可上调 C-KIT 的表达,改善胃动力,促进胃排空,达到治疗功能性消化不良的目的。也有研究发现 C-KIT 的过度激活导致 ICC 发生变化可能是胃肠道内脏敏化发生的重要的基础<sup>[23-25]</sup>。本实验验证舒肝解郁胶囊联合莫沙必利对功能性消化不良病症具有明显治疗意义,以期舒肝解郁胶囊的临床应用提供理论依据。

#### 参考文献:

[1] Ghoshal U C, Singh R, Chang F Y, et al. Epidemiology of uninvestigated and functional dyspepsia in Asia: facts and fiction [J]. *J Neurogastroenterol Motil*, 2011, 17 (3): 235-244.

[2] 郭海军,林洁,李国成,等. 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): 141-142.

[3] 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组,中华医学会消化病学分会胃肠功能性疾病协作组. 中国功能性消化不良专家共识意见(2015年,上海)[J]. *中华消化杂志*, 2016, 36(4): 217-229.

- [ 4 ] 王建军, 厉倬学, 郑浩涛, 等. 舒肝解郁胶囊治疗抑郁发作急性期的 Meta 分析[J]. 中成药, 2019, 41(1): 90-96.
- [ 5 ] 王含彦, 郭冬梅, 唐 珍, 等. 舒肝解郁胶囊的抗抑郁作用及其机制[J]. 中成药, 2018, 40(1): 187-190.
- [ 6 ] 傅锦华. 新型抗抑郁中药舒肝解郁胶囊对抑郁模型大鼠的作用机制研究[D]. 长沙: 中南大学, 2014.
- [ 7 ] 吴启斌, 谢崇凡, 冯晓霞. 舒肝解郁胶囊联合莫沙必利治疗功能性消化不良疗效观察[J]. 重庆医学, 2011, 40(21): 2149-2150.
- [ 8 ] 董志超, 王云溪, 歧红阳. 莫沙必利联合舒肝解郁胶囊与单药应用治疗功能性消化不良的临床疗效观察[J]. 现代预防医学, 2012, 39(7): 1848-1850.
- [ 9 ] Boeckstaens G E, Hirsch D P, Kuiken S D, et al. The proximal stomach and postprandial symptoms in functional dyspeptics[J]. *Am J Gastroenterol*, 2002, 97(1): 40-48.
- [ 10 ] Rhee P L, Kim Y H, Son H J, et al. Evaluation of individual symptoms cannot predict presence of gastric hypersensitivity in functional dyspepsia [J]. *Dig Dis Sci*, 2000, 45 ( 8 ): 1680-1684.
- [ 11 ] Tack J, Caenepeel P, Fischler B, et al. Symptoms associated with hypersensitivity to gastric distention in functional dyspepsia [J]. *Gastroenterology*, 2001, 121(3): 526-535.
- [ 12 ] Mertz H, Fullerton S, Naliboff B, et al. Symptoms and visceral perception in severe functional and organic dyspepsia [J]. *Gut*, 1998, 42(6): 814-822.
- [ 13 ] Caldarella M P, Azpiroz F, Malagelada J R, et al. Antro-fundic dysfunctions in functional dyspepsia[J]. *Gastroenterology*, 2003, 124(5): 1220-1229.
- [ 14 ] Paschos K A, Kolios G, Chatzaki E. The corticotropin-releasing factor system in inflammatory bowel disease: prospects for new therapeutic approaches [J]. *Drug Discov Today*, 2009, 14 (13-14): 713-720.
- [ 15 ] Böhmelt A H, Nater U M, Franke S, et al. Basal and stimulated hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in patients with functional gastrointestinal disorders and healthy controls[J]. *Psychosom Med*, 2005, 67(2): 288-294.
- [ 16 ] Kritas S K, Saggini A, Cerulli G, et al. Corticotropin-releasing hormone, microglia and mental disorders [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2014, 27(2): 163-167.
- [ 17 ] Yun H Y, Sung R, Kim Y C, et al. Regional distribution of interstitial cells of Cajal (ICC) in human[J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2010, 14(5): 317-324.
- [ 18 ] Adad S J, E Silva G B, Jammal A A. The significantly reduced number of interstitial cells of Cajal in chagasic megacolon (CM) patients might contribute to the pathophysiology of CM[J]. *Virchows Archiv*, 2012, 461(4): 385-392.
- [ 19 ] 杨晓娟. 重症急性胰腺炎相关性 MiR-551b-5p 对 ICC 细胞 C-KIT 基因的表达和细胞内钙离子浓度的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2016.
- [ 20 ] De Biasi S, Bianchini E, Nasi M, et al. Th1 and Th17 proinflammatory profile characterizes iNKT cells in virologically suppressed HIV+ patients with low CD 4/CD8 ratio[J]. *Aids*, 2016, 30(17): 2599-2610.
- [ 21 ] Bashamboo A, Taylor A H, Samuel K, et al. The survival of differentiating embryonic stem cells is dependent on the SCF-KIT pathway [J]. *J Cell Science*, 2006, 119 ( 15 ): 3039-3046.
- [ 22 ] Torihashi S, Nishi K, Tokutomi Y, et al. Blockade of kit signaling induces transdifferentiation of interstitial cells of Cajal to a smooth muscle phenotype [J]. *Gastroenterology*, 1999, 117(1): 140-148.
- [ 23 ] 丁瑞峰, 王爱鱼, 王宏杰, 等. 内脏高敏感大鼠结肠 Cajal 间质细胞 C-KIT 表达增加[J]. 基础医学与临床, 2012, 32(5): 566-569.
- [ 24 ] Eshraghian A, Eshraghian H. Interstitial cells of Cajal: a novel hypothesis for the pathophysiology of irritable bowel syndrome [J]. *Can J Gastroenterol*, 2011, 25(5): 277.
- [ 25 ] Ghaith O, El-Halabi M, Hashash J G, et al. Investigational agents for the irritable bowel syndrome[J]. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 2010, 19(10): 1161-1178.