

胃香乐方对功能性消化不良大鼠胃动素及胃窦 Cajal 间质细胞超微结构的影响 *

禄保平¹ 陈晓乐² 刘湘花¹

(1.河南中医药大学基础医学院,河南 郑州 450046;2.上海中医药大学博士生 2016 级,上海 201203)

摘要:目的 观察胃香乐方对功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)模型大鼠的防治效果并探讨其机理。方法 60 只大鼠随机分为模型组,胃香乐方高、中、低剂量组,莫沙必利对照组和空白组。采用复合病因法复制 FD 模型,分别以相应药物灌胃 14 d,计算胃排空率、小肠推进率,测定血浆胃动素(motilin, MTL)水平,电镜下观察胃窦 Cajal 间质细胞超微结构并进行定量分析。结果 莫沙必利组和胃香乐方各组胃排空率、小肠推进率均显著高于模型组($P<0.05$),尤以中剂量组和莫沙必利组效果最好;与模型组相比,莫沙必利组和胃香乐方各组 MTL 均明显升高($P<0.01, P<0.05$),尤以中剂量组效果最佳;与模型组比较,莫沙必利组和胃香乐方各组大鼠胃窦 Cajal 间质细胞超微结构均明显改善;与模型组及莫沙必利组比较,胃香乐方各组线粒体数量和 Vv、 δ 、 δ_m 均明显增加($P<0.01, P<0.05$)。结论 胃香乐方具有促进胃肠动力、防治功能性消化不良的作用。

关键词:胃香乐方;消化不良;胃肠运动;胃动素;胃窦 Cajal 间质细胞;超微结构

doi:10.3969/j.issn.1672-2779.2020.01.049

文章编号:1672-2779(2020)-01-0118-03

Effect of Weixiangle Prescription on Motilin and Gastric Antrum Cajal Interstitial Cells Ultrastructure of Functional Dyspepsia Rats

LU Bao-ping¹, CHEN Xiao-le², LIU Xiang-hua³

(1.Basic Medical School of He'nan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;

2.Grade 2016 Doctoral Student of Shanghai University of Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Abstract: Objective To explore the preventive and therapeutic effect and mechanisms of Weixiangle Prescription(WXP)on functional dyspepsia rats. **Methods** 60 rats were randomly divided into model group, big-dosage, medium-dosage and small-dosage group of WXP, mosapride group and control group. Each was respectively perfused with corresponding drug for 14 days after the functional dyspepsia models were duplicated by complex etiological method. The gastric emptying rate and the small intestine propulsion rate were calculated, the motilin level of blood plasma was measured, the ultrastructure of gastric antrum Cajal interstitial cells was observed under electric microscope, and quantitative analysis of which were carried out. **Results** Compared with control group, the gastric emptying rate and the small intestine propulsion rate of mosapride group and each WXP group increased obviously ($P<0.05$), especially the medium-dosage group and mosapride group. Compared with model group, the MTL level of mosapride group and each WXP group significantly increased($P<0.01$ or $P<0.05$), especially the medium-dosage group. Compared with control group, the gastric antrum Cajal interstitial cells ultrastructure of mosapride group and each WXP group were obviously improved. Compared with control group and mosapride group, the number of mitochondria and Vv, δ , δ_m of each WXP group increased obviously ($P<0.01$ or $P<0.05$). **Conclusion** WXP has the effect of promoting gastrointestinal motility and treating functional dyspepsia.

Keywords: Weixiangle Prescription, Functional Dyspepsia, Gastrointestinal Motility, Motilin, Gastric Antrum Cajal Interstitial Cells, Ultrastructure

FD 是临床常见的消化系统疾病之一。近年来,其发病率呈逐年升高趋势。现代医学认为,本病主要系因胃肠运动障碍所致,治疗主要采用促胃肠动力等药物,但其作用单一,疗效不稳定,且易复发,副反应多^[1]。胃香乐方(由鸡内金、砂仁、黄连、吴茱萸、莱菔子、槟榔、公丁香、黑米等组成)是首届全国名中医、河南中医药大学第二附属医院毛德西教授治疗 FD 的基本方,经长期临床观察,疗效显著。本文在既往研究的基础上^[2],观察了胃香乐方对 FD 模型大鼠胃排空率、小肠推动率、胃动素、胃窦 Cajal 间质细胞超微结构等的影响。现报告如下。

* 基金项目:河南省高等学校重点科学项目[No. 16A360022];河南中医药大学河南省研究生教育创新培养基地导师创新基金项目[No. 2016CXJDD05]

1 材料与方法

1.1 药物 胃香乐方:药材购自河南中医药大学第二附属医院精品中药房,经河南中医药大学中药学专家鉴定为正品,按要求配制成相应浓度药液;枸橼酸莫沙必利片:鲁南贝特制药有限公司生产,批号 20150603;生理盐水:四川科伦药业股份有限公司生产,批号 A15083301-2;水合氯醛:郑州派尼化学试剂厂生产,批号 20150614。

1.2 动物 SPF 级 SD 大鼠,体重 160~220 g,购自河南省实验动物中心,许可证号:SCXK(豫)2015-0004。动物饲养于河南中医药大学第二附属医院中心实验室独立通风笼盒(IVO)系统中,实验单位使用许可证号:SYXK(豫)2011-0002。

1.3 试剂 大鼠血浆胃动素检测试剂盒:上海将来实业股

份有限公司提供，批号201511。

1.4 仪器 Sigma3K30台式多功能高速冷冻离心机（德国希格玛离心机有限公司）；MoticB5显微摄像系统（麦克奥迪实业集团公司）；JEM-1400透射电子显微镜（日本OLYMPUS株式会社）；紫外可见分光光度计（北京普析通用仪器有限责任公司）；超低温冰箱（Thermo Fisher Scientific公司）；恒温水浴箱（新康医疗器械有限公司）；LKBIII型超薄切片机（瑞典LKB公司）。

1.5 方法

1.5.1 动物分组 8周龄SPF级SD大鼠60只，雌雄各半，给予SPF级饲料适应性喂养1周后，采用随机数字表法随机分为模型组、胃香乐方高、中、低剂量组，莫沙必利对照组和空白组。

1.5.2 模型建立 除空白组外，其余各组采用复合病因造模法建立FD模型。即采用“不规则饮食+过度劳倦法+慢性束缚应激+倒悬摇晃+适度夹尾”的方法，连续21天。

1.5.3 给药方法 造模结束后，胃香乐方高、中、低剂量组分别给予 $50.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $25.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $12.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量的胃香乐方药液；莫沙必利组给予 $1.4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量的枸橼酸莫沙必利混悬液；空白组和模型组均给予等容量的生理盐水。每天下午3时灌胃1次，连续14 d。

1.5.4 标本采集 末次给药后禁食24 h，各组动物均予营养性半固体糊 0.5 mL 灌胃，30 min后腹腔内注射 8 mL/kg 剂量水合氯醛溶液，麻醉后打开腹腔，用止血钳结扎胃幽门部和贲门部，快速用一次性负压采血针从腹主动脉采血 5 mL ， 3000 r/min ，低温离心15 min，提取上清液置于 $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存；同时迅速取出完整的胃，取胃窦壁（距幽门 0.5 cm 的胃壁组织）全层约 $0.5\text{ cm}\times 0.5\text{ cm}$ 2块，投入 2.5% 戊二醛固定液内，做好标记，低温保存，以备电镜检测。

1.5.5 指标测定 ①计算胃排空率：取出完整的胃，用滤纸吸干后称全重，然后沿胃大弯剪开胃体，洗去胃内容物后擦干，称净重。胃排空率=【灌胃量-（胃重-胃净重）】 \div 灌胃量 $\times 100\%$ ；②计算小肠推进率：取出小肠，轻轻剥离后直铺于白纸上，测量幽门至回盲肠部全长及幽门至黑色半固体糊前沿的距离。小肠推进率=幽门至黑色半固体糊前沿的距离 \div 幽门至回盲部全长 $\times 100\%$ ；③血浆MTL测定：采用酶联免疫法（ELISA），按照试剂盒说明操作；④Cajal间质细胞超微结构测定：由河南中医药大学透射电镜室协助完成。采用生物细胞立体计量学中的点分析法，对大鼠胃窦部组织Cajal间质细胞中的线粒体进行体密度（Vv）、比表面（S）、比膜面（Sm）测定。

1.5.6 统计学方法 采用SPSS 17.0统计分析软件进行统计学分析。计量资料符合正态分布者用均数±标准差（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，偏态资料用中位数（四分位数间距）表示。各组样本数据符合正态分布且各自总体方差齐时，组间差别采用完全随机设计资料的方差分析，通过均数比较

模块中的One-Way ANOVA完成，组间两两比较采用LSD多重比较检验；方差不齐者各组间比较采用Dunnett's T3法。资料不满足正态性者，采用秩和检验。检验水准 $\alpha=0.05$ ， $P\leq 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 胃香乐方对FD大鼠胃排空率、小肠推进率的影响 见表1。

表1 胃香乐方对FD大鼠胃排空率、小肠推进率的影响
($\bar{x}\pm s$, %)

组别	鼠数	胃排空率	小肠推进率
空白组	8	81.31 ± 6.45	67.38 ± 1.74
模型组	8	$42.38\pm 4.76^{\Delta}$	$43.91\pm 3.16^{\Delta}$
莫沙必利组	8	$69.51\pm 4.29^*$	$64.60\pm 3.39^*$
高剂量组	8	$67.14\pm 4.36^*$	$61.11\pm 2.03^*$
中剂量组	8	$73.35\pm 2.47^*$	$63.54\pm 3.36^*$
低剂量组	8	$68.10\pm 1.59^*$	$58.41\pm 1.58^*$

注：与空白组比较 $^{\Delta}P<0.01$ ；与模型组比较 $^*P<0.05$

由表1可以看出，模型组胃排空率和小肠推进率均明显降低，与空白组比较，差异均有显著统计学意义($P<0.01$)，说明造模是成功的。各治疗组胃排空率和小肠推进率均明显升高，与模型组比较，差异均有统计学意义($P<0.05$)；中剂量组与莫沙必利组比较，差异均无统计学意义($P>0.05$)，与高、低剂量组比较，差异均有统计学意义($P<0.05$)，说明各治疗组均能增加胃排空率和小肠推进率，而以胃香乐方中剂量组和莫沙必利组效果最好，二者疗效相当。

2.2 胃香乐方对FD大鼠MTL的影响 见表2。

表2 胃香乐方对FD大鼠胃动素的影响 ($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

组别	鼠数	MTL
空白组	8	107.16 ± 39.87
模型组	8	$36.61\pm 9.11^{\Delta}$
莫沙必利组	8	$51.94\pm 15.74^*$
高剂量组	8	$57.42\pm 16.16^*$
中剂量组	8	$114.79\pm 12.94^{**}$
低剂量组	8	$72.27\pm 14.11^*$

注：与空白组比较 $^{\Delta}P<0.01$ ；与模型组比较 $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$

由表2可以看出，模型组MTL明显降低，与空白组比较，差异有显著统计学意义($P<0.01$)。各治疗组MTL均明显升高，与模型组比较，差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 0.01)；中剂量组与莫沙必利组和高、低剂量组比较，差异均有统计学意义($P<0.05$)，说明各治疗组均能升高MTL水平，而以胃香乐方中剂量组效果最好。

2.3 胃香乐方对FD大鼠胃窦Cajal间质细胞超微结构的影响

2.3.1 电镜下胃窦Cajal间质细胞超微结构的变化 模型组大鼠胃窦Cajal间质细胞形态结构改变明显，胃窦Cajal间质细胞与周围细胞和平滑肌之间的连接较少，大

多线粒体肿胀。与模型组相比，各治疗组均有明显改善。

2.3.2 电镜下胃窦 Cajal 间质细胞中线粒体的变化 空白组线粒体数量和 Vv、 δ 、 δ_m 均正常（照片 1）；模型组线粒体数量明显减少，Vv、 δ 、 δ_m 均降低，并出现较多脂褐素（照片 2）；莫沙必利组线粒体数量减少，Vv、 δ_m 降低， δ 增加，亦出现脂褐素（照片 3）；低剂量组线粒体数量明显增加，Vv、 δ 、 δ_m 均增加（照片 4）；中剂量组线粒体数量明显增加，Vv、 δ 、 δ_m 均增加（照片 5）；高剂量组线粒体数量增加，Vv、 δ 、 δ_m 均增加（照片 6）。

2.3.3 胃窦 Cajal 间质细胞中线粒体变化的定量分析 见表 3。

表 3 各组大鼠胃窦 Cajal 间质细胞中线粒体 Vv、 δ 、 δ_m 比较
($\bar{x} \pm s$, %)

组别	鼠数	Vv	δ	δ_m
空白组	30	5.34±0.74	1.19±0.32	25.18±2.31
模型组	30	2.33±0.52 ^{△△}	0.85±0.23 [△]	5.91±1.38 ^{△△}
莫沙必利组	30	3.39±0.61*	0.97±0.31	4.51±0.66
高剂量组	30	19.05±0.90**	1.34±0.29*	23.00±0.99**
中剂量组	30	28.22±1.83**	1.41±0.39*	36.65±2.58**
低剂量组	30	8.78±0.96**	1.25±0.37*	18.52±1.40**

注：与空白组比较 $^{\triangle}P<0.05$, $^{\triangle\triangle}P<0.01$ ；与模型组比较 $*P<0.05$, $^{**}P<0.01$

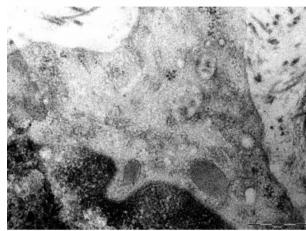
由表 3 可以看出，模型组 Vv、 δ 、 δ_m 均明显降低，与空白组比较，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 0.01)。胃香乐方低、中、高剂量组 Vv、 δ 、 δ_m 均明显升高，与模型组和莫沙比利组比较，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 0.01)；尤以中剂量组效果最佳。



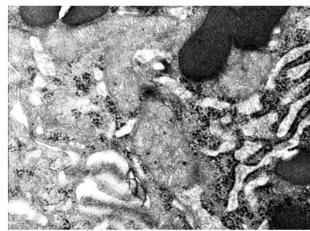
照片 1 空白组



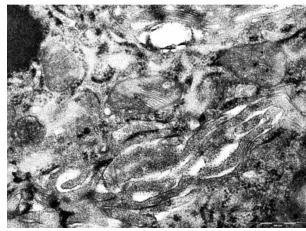
照片 2 模型组



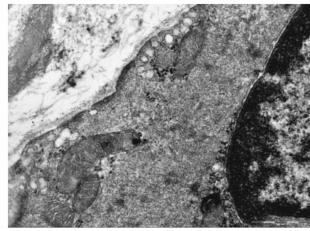
照片 3 莫沙必利组



照片 4 低剂量组



照片 5 中剂量组



照片 6 高剂量组

3 讨论

FD 是常见的消化内科疾病，具有发病率高、易于反复等显著特点^[3]。其发病主要与胃肠动力障碍有关，同时与精神心理因素也密不可分，多数 FD 患者存在不同程度的抑郁、焦虑、恐怖等心理问题^[4-5]。本病属中医学“胃脘痛”“痞满”“嗳气”等病证范畴，其发病与感受外邪、劳倦过度、情志失调、饮食不节、先天禀赋不足等因素相关，病位在胃，与肝脾关系密切^[6]。诸多医家临床实践表明，中医药在治疗 FD 和预防其复发方面效果突出，优势明显，值得深入研究^[7-8]。

毛德西教授系首届全国名中医，从医已 60 年，临床擅治疗脾胃病及内科疑难杂症。他认为，FD 的基本病机为脾胃失运，气机失调，治疗应从脾、胃、肝入手，以健脾疏肝、益气滋阴治其本，以消食化积治其标，并创立治疗 FD 的基本方——胃香乐方。该方由鸡内金、砂仁、黄连、吴茱萸、莱菔子、槟榔、公丁香、黑米等药物组成，功擅消食化积，疏肝和胃，降逆消痞，经长期临床应用，对 FD 饮食内停肝气犯胃证效果显著。该方不仅是效果卓著的胃肠动力剂，同时也是良好的精神心理调节剂。

本研究表明，胃香乐方各剂量组和莫沙必利组大鼠胃排空率和小肠推进率均明显高于模型组 ($P < 0.05$)，尤以中剂量组和莫沙必利组效果最佳；与模型组相比，各治疗组胃动素均显著升高 ($P < 0.05$ 或 0.01)，尤以中剂量组效果最佳；与模型组比较，各治疗组大鼠胃窦 Cajal 间质细胞形态结构及胃窦 Cajal 间质细胞与周围细胞和平滑肌之间的连接均明显改善；与模型组及莫沙必利组比较，胃香乐方各组线粒体数量和 Vv、 δ 、 δ_m 均明显增加 ($P < 0.05$ 或 0.01)。说明胃香乐方能够通过增加胃排空率和小肠推进率、升高胃动素水平，改善胃窦 Cajal 间质细胞形态结构、增加线粒体数量等途径，发挥其防治 FD 的作用。

研究结果还提示，胃香乐方的临床疗效与用药剂量并不成正比，以中剂量组效果最佳，从而为临床合理用药和名老中医经验推广应用提供了科学依据。

参考文献

- [1] 邵长乐, 陈婉珍, 朱方石. 中医治疗功能性消化不良的疗效机制研究[J]. 四川中医, 2019, 37(8): 189-192.
- [2] 毛德西. 毛德西方药心悟[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 138-140.
- [3] 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): 234-244.
- [4] 欧阳华, 姜红建, 李强. 功能性消化不良的抗抑郁焦虑药物治疗研究[J]. 山西医药杂志, 2019, 48(21): 2634-2635.
- [5] 刘永林, 黄文豪. 112 例功能性消化不良患者的心理状况分析[J]. 医学理论与实践, 2014, 27(10): 1313-1314.
- [6] 张声生, 赵鲁卿. 功能性消化不良中医诊疗专家共识意见(2017)[S]. 中华中医药杂志, 2017, 32(6): 2595-2598.
- [7] 韦德锋, 韦维, 刘熙荣, 等. 情志因素影响功能性消化不良的临床研究概况[J]. 湖南中医杂志, 2018, 34(11): 174-176.
- [8] 刘俊宏, 汪龙德, 毛兰芳, 等. 功能性消化不良中医药研究进展[J]. 甘肃中医药大学学报, 2017, 34(6): 91-94.

(本文编辑:张文娟 本文校对:苗艳艳 收稿日期:2019-12-24)