

厚朴三物汤对术后肠梗阻大鼠小肠 Cajal 细胞及 iNOS 表达的影响

杨秀荣，赵晓红，陈慧，陈苏宁，于飞*
(中国医科大学 附属盛京医院，沈阳 110004)

[摘要] **目的:**以 Cajal 间质细胞(ICC)及诱导型一氧化氮合酶(iNOS)表达为切入点,观察厚朴三物汤对术后肠梗阻大鼠小肠炎症反应与神经反馈的影响,并探讨其对胃肠道运动作用的相关机制。**方法:**健康成年雄性 SD 大鼠 87 只,随机分为假手术组、模型组、厚朴三物汤低、中、高剂量组。采用手术方法造模,造模后分别给予生理盐水或不同剂量的厚朴三物汤灌胃,低、中、高剂量组给药量分别为 2.25,4.5,9 g·kg⁻¹。给药后观察各组大鼠术后不同时间的小肠推进率及小肠形态学变化,免疫组织化学法检测 ICC 细胞及 iNOS 的表达情况。**结果:**与假手术组比较,造模后大鼠小肠推进率明显下降($P<0.01$),造模后可见小肠肠管明显扩张、胀气,苏木素-伊红(HE)染色可见小肠绒毛破裂,结构不完整,黏膜下可见血管充血水肿。与盐水组比较,厚朴三物汤中、高剂量组大鼠 24,48 h 小肠推进率显著提高($P<0.01$),而且厚朴三物汤治疗后 3 组在 48 h 内大鼠小肠推进率均随时间延长而增加($P<0.01$)。HE 染色可见大鼠肠黏膜绒毛脱落及组织水肿程度较盐水组明显减轻。免疫组化显示造模后大鼠小肠 Cajal 间质细胞表达下降,iNOS 阳性表达显著升高;而厚朴三物汤治疗后 3 组 Cajal 间质细胞在 24,48 h 均显著升高,中、低剂量组 12,24 h iNOS 阳性表达明显降低($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论:**厚朴三物汤能够显著提高术后肠梗阻模型大鼠的小肠推进率,促进大鼠术后胃肠动力的恢复,其作用机制与抑制 iNOS 的产生,减轻炎症反应,同时增加 ICC 数量,保证其正常功能,从而改善肠动力障碍有关。

[关键词] 厚朴三物汤; 术后肠梗阻; Cajal 间质细胞; 诱导型一氧化氮合酶(iNOS)
[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)05-0057-06
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190507
[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181122.1607.001.html>
[网络出版时间] 2018-11-26 08:46

Effect of Houpu Sanwu Tang on Small Intestine Interstitial Cells of Cajal and iNOS in Postoperative Ileus Rats

YANG Xiu-rong, ZHAO Xiao-hong, CHEN Hui, CHEN Su-ning, YU Fei*
(Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the effect of Houpu Sanwu Tang on the postoperative ileus (POI), and observe its underlying mechanisms of action on interstitial cells of cajal (ICC) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) regulation of POI. **Method:** Totally 87 healthy adult male SD rats were randomly divided into sham operation group, saline control group and Houpu Sanwu Tang group at low, medium and high doses. Houpu Sanwu Tang low, middle and high dose groups received orally Houpu Sanwu Tang (2.25, 4.5, 9 g·kg⁻¹); Sham operation group (Sham operation) and saline control group (Saline control) received orally normal saline. Surgical procedure was used to induce the postoperative ileus. Changes in intestinal propulsion rate, intestinal mucosal injury and small intestine expression of c-kit and iNOS among these groups were detected. **Result:**

[收稿日期] 20180805(002)
[基金项目] 辽宁省科学技术计划项目(2012225021)
[第一作者] 杨秀荣,硕士,主治医师,从事脾胃病学研究,Tel:0315-3728700,Email:574056802@qq.com
[通信作者] *于飞,博士,副教授,从事脾胃病的临床与基础研究,Tel:024-96615-66311,E-mail: yuf1@sj-hospital.org

Intestinal propulsion rate was significantly higher in Houpo Sanwu Tang group than that in Saline control group ($P < 0.01$). Rats in Houpo Sanwu Tang group showed reduced intestinal mucosal injury compared with those in Saline control group. C-kit in Houpo Sanwu Tang groups was significantly increased ($P < 0.01$) at 24 h and 48 h, and iNOS in low-dose group and middle-dose group was significantly reduced ($P < 0.05$, $P < 0.01$) at 12 h and 24 h compared with those in the Saline control group. **Conclusion:** Houpu Sanwu Tang can improve the intestinal propulsion rate and the recovery in POI rats. The mechanisms are related to the inhibition of the generation of iNOS, the alleviation of inflammatory response, and increase of the number of ICC, so as to ensure its normal function, and improve the intestinal dynamic disorder.

[**Key words**] Houpu Sanwu Tang; postoperative ileus (POI); interstitial cells of Cajal (ICC); inducible nitric oxide synthase (iNOS)

术后肠梗阻 (postoperative ileus, POI) 临床又称为术后肠麻痹,是指腹部或非腹部手术后因胃肠道动力改变,不能有效传输胃肠道内容物,患者主要表现为恶心、呕吐、腹胀和排气排便延迟^[1]。一般来说,麻醉及手术后胃肠动力首先经历一个功能障碍阶段,通常持续 2~4 d,有时甚至会长达 7 d 以上,其持续时间长短与手术(尤其是结肠手术)创伤的程度、麻醉用药情况、术后疼痛、炎症反应、应激等多种因素有关^[2]。多表现为腹胀、恶心、呕吐、不能耐受固体饮食,和/或排气排便的延迟。POI 的发生可分为 2 个时期,第 1 期(早期)大约发生于手术开始到手术后 3 h 内,主要由神经反射机制介导;第 2 期开始于术后约 3~4 h,持续时间较长,主要由炎症机制介导,这也是本病目前研究的难点和重点^[3]。Cajal 间质细胞 (interstitial cells of Cajal, ICC) 是广泛分布于哺乳动物胃肠道中的一种特殊间质细胞,近年来被公认为胃肠平滑肌的起搏细胞。ICC 的改变与胃肠道动力性疾病密切相关^[4]。

POI 的持续时间也是肠道功能恢复的时间,是决定术后患者(尤其是腹部术后患者)住院时间长短的主要因素之一^[1],目前 POT 尚无规范统一的治疗,一般多采用胃肠减压,补液、支持等治疗,随着中西医结合外科的发展,中医中药的应用越来越普遍,包括中药汤剂内服、中药外用、针灸及推拿等^[5]。

厚朴三物汤出自《金匱要略·腹满寒疝宿食病脉证治第十》^[6],“痛而闭者,厚朴三物汤主之。”行气除满,去积通便,主治实热内积,气滞不行,腹部胀满疼痛,大便不通。本方由厚朴、枳实、大黄组成,方中厚朴八两为君,行气除胀满,大黄、枳实泄热导滞,适用于气滞重于积滞之证。临床研究表明厚朴三物汤具有明显的胃肠道动力促进作用,多用于治疗术后肠梗阻、肠粘连、急性肠梗阻、胃炎、胃溃疡等疾病^[7-8]。临床采用厚朴三物汤治疗本病 10 余年,

积累了丰富的临床经验,初步证实厚朴三物汤可明显缩短 POI 病程,促进胃肠动力的恢复,而且安全可靠^[7]。为进一步探讨厚朴三物汤的作用机制,本研究以 POI 大鼠为研究对象,观察厚朴三物汤对 POI 大鼠小肠炎症反应与神经反馈的影响,探讨其对促进术后胃肠动力恢复的可能机制,为临床 POI 的中药治疗提供依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级健康成年 SD 大鼠 87 只,雄性,体质量 180~230 g,由辽宁长生生物技术有限公司提供,生产合格证号 SCXK(辽)2010-0001。本动物实验经中国医科大学附属盛京医院伦理委员会批准进行。

1.2 药物及试剂 厚朴三物汤用量参考《金匱要略》^[6],姜厚朴 4.08 g,枳实 3.75 g,大黄 3.6 g,相当于生药量厚朴 24 g,炒枳实 15 g,大黄 12 g,制备成含生药量 4.5 g·kg⁻¹ 的药液。所用中药均由北京康仁堂药业有限公司提供的“全成分”中药配方颗粒^[9],大黄、姜厚朴、炒枳实批号分别为 14009801,14004081,14013821,经由中国医科大学附属盛京医院药学部吴杰中药师鉴定,符合 2015 年版《中国药典》的相关要求。兔抗大鼠诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 多克隆抗体 BA036,抗原修复液 I AR0026 (武汉博士德生物工程有限公司,批号分别为 219538,10c25c26);兔抗大鼠 c-kit 多克隆抗体 (H-300) (美国 Santa Cruz 公司,批号 sc-5535);免疫组化试剂盒,DAB 显色试剂盒 (北京中杉金桥生物技术有限公司,批号分别为 15185A10,1507020031);苏木素-伊红 (HE) 染色试剂 (北京索莱宝科技有限公司,批号 G1120)。

1.3 仪器 TB-718D 型生物组织自动包埋机 (湖北泰维科技实业有限公司);Thermo-HM340E-3 型组织切片机 (德国 Thermo 公司);NIS-Elements F3.0

图像采集系统, Nikon E800 型光学显微镜(日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 动物造模 POI 大鼠模型参照 Kalff 教授方法改良^[10], 大鼠适应性喂养 5 d 后进行实验, 予 5% 水合氯醛(6 mL·kg⁻¹) 麻醉。腹部剃毛后消毒, 铺无菌纱布, 于下腹正中作一长约 2 cm 长的切口并依次切开进腹。将盲肠及部分小肠取出, 采用全小肠擦拭法用生理盐水湿棉球擦拭, 时间共约 15 min, 将小肠回纳到腹腔, 逐层缝合, 保温, 期间注意保护肠管勿缺血坏死。造模后, 动物进行分笼饲养, 保持室温 18 ~ 27 ℃, 相对湿度 40% ~ 70%, 清洁安静, 通风良好。假手术组大鼠打开腹腔后暴露 15 min, 不对肠管进行任何操作, 随即关闭腹腔。

2.2 分组及给药方法 SD 大鼠按随机数字表法随机分为假手术组, 模型组及厚朴三物汤低、中、高剂量组; 假手术组 15 只, 其他组各 18 只。中药用量参照《中药药理学实验方法学》^[11] 按实验动物与人用药量折算表计算, 厚朴三物汤低、中、高剂量组给药量分别为 2.25, 4.5, 9 g·kg⁻¹。造模后 6, 12, 24, 36 h 给予不同剂量中药或生理盐水 1 mL 灌胃。所有大鼠术后均禁食但不禁水。

2.3 检测指标

2.3.1 观察小肠改变及小肠推进率 各组大鼠分别于术后 12, 24, 48 h 灌服墨汁 0.1 mL, 30 min 后麻醉处死, 检测小肠推进率(小肠推进率 = 墨染肠道长度/全小肠长度 × 100%), 肉眼观察肠管情况。

2.3.2 HE 染色观察小肠组织病理学改变 大鼠处死后取盲肠近端约 3 cm 小肠组织, 经脱水、透明、石蜡包埋、切片及 HE 染色等步骤后, 电子显微镜下观察小肠组织结构。

2.3.3 免疫组化法观察 ICC 细胞及 iNOS 表达 将病理包埋的石蜡切片厚 4 μm, 60 ℃ 烤片过夜, 常规脱蜡至水; 火加热 5 min, 室温冷却 30 min; iNOS 酶修复, 直接滴加抗原修复液 I, 37 ℃ 孵育 30 min。磷酸盐缓冲液(PBS) 冲洗 3 次, 每次 3 min; 3% H₂O₂ 去离子水室温孵育 30 min, PBS 冲洗 3 次, 每次 3 min; 滴加封闭用正常山羊血清, 室温孵育 45 min, 倾去勿洗; 分别滴加兔抗大鼠 iNOS 多抗(1:100) 及兔抗大鼠 c-kit 多抗(1:100), 空白片加 PBS, 37 ℃ 孵育 1 h, 4 ℃ 冰箱内过夜; 冰箱中取出切片, 室温放置 30 min, PBS 冲洗 3 次, 每次 3 min; 滴加生物素标记的二抗, 37 ℃ 孵 30 min, PBS 漂洗 3 次, 每次

3 min; (滴加辣根酶标记的链霉卵白素工作液, 37 ℃ 孵育 30 min, PBS 漂洗 3 次, 每次 3 min; DAB 显色, 取蒸馏水 1 mL, 加 DAB 试剂盒中的 A-B 按照 20:1 的比例稀释后的试剂混匀后加到切片, 室温显色, 镜下控制显色时间, 蒸馏水洗涤。苏木素复染 5 min, 脱水、透明、中性树胶封片。

2.3.4 免疫组化评分标准 iNOS 免疫组化染色以细胞浆出现棕黄色或褐色为阳性表达, c-kit 以胞膜出现棕黄色或褐色为阳性表达。参照 Remmele 等^[12] 提出的评分标准, 按照阳性细胞着色强度的深浅评分: 无着色为 0 分, 浅黄褐色为 1 分, 黄褐色为 2 分, 棕褐色为 3 分。每张片随机选取 5 个高倍镜下视野, 按照每个视野阳性细胞所占百分数计分, 阳性细胞比 < 25% 记 0 分, 25% ~ 50% 记 1 分, 50% ~ 75% 记 2 分, > 75% 记 3 分; 将上述 2 项指标相乘后得分, 0 分为阴性(-), 1 ~ 2 分为弱阳性(+), 3 ~ 4 分为阳性(++), > 5 分为强阳性(+++)。

2.4 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计分析, 计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较, 采用单因素方差分析, 组间两两比较 *lan-t* 检验, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 POI 大鼠小肠推进率的影响 与假手术组比较, 造模后 12 h 各组大鼠小肠推进率均显著下降(*P* < 0.01); 与模型组比较, 24 h 后厚朴三物汤各组小肠推进率均有上升, 中、高剂量组上升显著(*P* < 0.01); 与 12 h 低剂量组比较, 中、高剂量组小肠推进率均有上升, 48 h 低剂量组, 24, 48 h 中、高剂量组推进率均显著上升(*P* < 0.01)。见表 1。

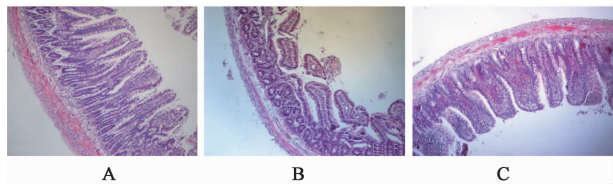
3.2 对 POI 大鼠小肠组织病理学的影响 根据小肠推进率结果, 给药后 24 h 对各组大鼠进行拍照并观察各组病理变化, 中药治疗组选择厚朴三物汤中剂量组。肉眼可见模型组 POI 大鼠小肠的肠管扩张, 胀气明显, 厚朴三物汤给药 24 h 后大鼠肠管扩张明显减轻。电子显微镜下见假手术组小肠组织绒毛、腺体排列整齐, 造模后可见小肠绒毛断裂, 腺体肿胀, 黏膜下充血水肿的病理表现。厚朴三物汤治疗 24 h 后小肠结构明显好于模型组, 肠黏膜绒毛脱落及组织水肿程度较模型组明显减轻。见图 1。

3.3 对 POI 大鼠小肠 ICC 细胞的影响 造模后 POI 大鼠 c-kit 阳性表达率显著下降(*P* < 0.01); 厚朴三物汤治疗后各组 c-kit 阳性表达率均比模型组显著上升, 其中 24, 48 h 差异显著(*P* < 0.01);

表 1 厚朴三物汤对 POI 大鼠小肠推进率的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of Houpu Sanwu Tang on intestinal propulsion rate of POI rats($\bar{x} \pm s$)						%
组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	<i>n</i>	12 h	24 h	48 h	
假手术	—	15	63.80 ± 13.00	72.80 ± 15.00	71.80 ± 6.00	
模型	—	18	29.50 ± 6.00 ¹⁾	33.67 ± 4.00 ¹⁾	47.17 ± 6.00 ¹⁾	
厚朴三物汤	2.25	18	27.67 ± 14.00	36.83 ± 7.00	52.17 ± 8.00 ³⁾	
	4.5	18	31.83 ± 10.00	58.50 ± 8.00 ^{2,3,4)}	64.67 ± 12.00 ^{2,3,4)}	
	9	18	27.00 ± 5.00	76.00 ± 11.00 ^{2,3,4)}	74.50 ± 8.00 ^{2,3,4)}	

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$;与同剂量 12 h 比较³⁾ $P < 0.01$;与厚朴三物汤低剂量比较⁴⁾ $P < 0.01$ 。

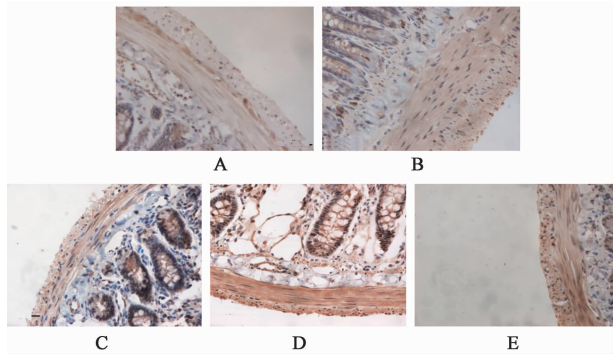


A. 假手术组;B. 模型组;C. 厚朴三物汤中剂量组
图 1 厚朴三物汤对 POI 大鼠小肠组织病理学的影响 (HE, $\times 100$)
Fig.1 Effect of Houpu Sanwu Tang on intestinal histopathology of POI rat(HE, $\times 100$)

表 2 厚朴三物汤对 POI 大鼠小肠 c-kit 免疫组化评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of Houpu Sanwu Tang on c-kit immunohistochemical score of intestinal tissue levels of POI rats($\bar{x} \pm s, n = 3$)						分
组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$		12 h	24 h	48 h	
假手术	—		4.80 ± 1.00	5.90 ± 1.92	6.40 ± 2.30	
模型	—		1.00 ± 0.08 ¹⁾	1.90 ± 0.97 ¹⁾	2.75 ± 0.85 ¹⁾	
厚朴三物汤	2.25		1.85 ± 1.39	5.30 ± 2.83 ²⁾	4.60 ± 1.88 ²⁾	
	4.5		1.40 ± 1.31	8.10 ± 1.41 ²⁾	5.35 ± 1.80 ²⁾	
	9		2.05 ± 1.28	5.10 ± 1.80 ²⁾	6.75 ± 2.69 ²⁾	

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ 。



A. 假手术组;B. 模型组;C. 厚朴三物汤低剂量组;D. 厚朴三物汤中剂量组;E. 厚朴三物汤高剂量组 (图 3 同)
图 2 给药 24 h 厚朴三物汤对 POI 大鼠小肠组织 c-kit 表达的影响 (免疫组化, $\times 400$)
Fig.2 Effect of Houpu Sanwu Tang on c-kit of intestinal tissue levels of POI rats at 24 h(IHC, $\times 400$)

0.01)。与模型组比较,厚朴三物汤低剂量组在 24,48 h iNOS 阳性表达无明显差异,中、高治疗组 iNOS 表达均有下降,各治疗组 iNOS 表达阳性率随时间延长有降低的趋势。尤其以中药低剂量组及中

12 h 各组比较,各治疗组 c-kit 阳性表达率均未升高,24 h 各治疗组 c-kit 阳性表达率均显著升高 ($P < 0.01$),其中 24 h 中剂量阳性表达率最高,甚至高于正常组 ($P < 0.01$);48 h 中药中、高剂量组表达率均显著升高 ($P < 0.01$)。见表 2,图 2。
3.4 对 POI 大鼠 iNOS 表达的影响 与假手术组比较,造模后各组 iNOS 阳性表达均显著升高 ($P < 0.01$),模型组在 48 h iNOS 阳性表达显著降低 ($P <$

药中剂量组 12,24 h 下降明显 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 3,图 3。

4 讨论

POI 是腹部外科术后常见的并发症,表现为腹胀、腹痛、肛门停止排气排便、伴有恶心呕吐症状^[13]。和其他肠梗阻不同的是该种类型肠梗阻主要以腹胀为临床表现,腹痛不明显或者仅有轻微腹痛为其特点。其病理生理学机制多包括胃肠道损伤、炎症、水肿、神经损伤等多方面^[14-16]。

ICC 主要功能有①作为胃肠平滑肌的起搏细胞产生慢波,控制胃肠道平滑肌的收缩和蠕动;②促进电活动扩布至附近平滑肌细胞;③介导胃肠道神经递质的传递^[17]。c-kit 为编码干细胞因子 (SCF) 的三型酪氨酸激酶受体 (kit 受体),该受体与 SCF 结合后,激活酪氨酸激酶功能,引起 kit 自动磷酸化,结合和激活几种第二信号分子,提供 ICCs 发育及维持正常表型所需要的信号。SCF 与 c-kit 结合后所启动的信号通路对 ICCs 的增殖、分化及表型维持至关

表 3 厚朴三物汤对 POI 大鼠小肠 iNOS 免疫组化评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of Houpu Sanwu Tang on iNOS immunohistochemical score of intestinal tissue levels of POI rats($\bar{x} \pm s, n = 3$)					分
组别	剂量/g·kg ⁻¹	12 h	24 h	48 h	
假手术	—	2. 15 ± 0. 81	1. 00 ± 1. 12	0. 90 ± 0. 85	
模型	—	7. 95 ± 1. 47 ¹⁾	8. 30 ± 1. 83 ¹⁾	3. 55 ± 1. 85 ¹⁾	
厚朴三物汤	2. 25	6. 65 ± 2. 85 ²⁾	7. 60 ± 1. 27	3. 80 ± 2. 34	
	4. 5	5. 35 ± 2. 48 ³⁾	3. 50 ± 2. 07 ³⁾	2. 90 ± 1. 90 ²⁾	
	9	7. 55 ± 1. 03	6. 80 ± 2. 10 ²⁾	3. 10 ± 1. 65	

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0. 01$;与模型组比较²⁾ $P < 0. 05$,³⁾ $P < 0. 01$ 。

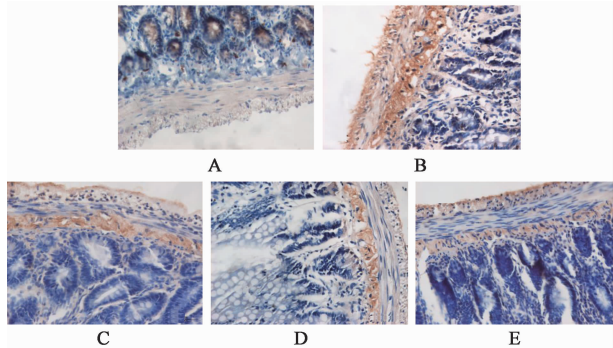


图 3 给药 24 h 厚朴三物汤对 POI 大鼠小肠组织 iNOS 表达的影响 (HE, ×400)

Fig.3 Effect of Houpu Sanwu Tang on iNOS of intestinal tissue levels of POI rats at 24 h(HE, ×400)

重要^[18-19],而 c-kit mRNA 的正常表达是维持这一信号通路的必要条件。

目前的研究表明,ICC 对胃肠道运动功能产生影响的主要有以下观点,一是 SCF 与 c-kit 结合后,使 c-kit 发生同源二聚化,激活 IP3 敏感的钙库释放钙,从而引发一系列的离子流动,最终使 ICC 形成规律的电位变化,从而起到调节胃肠运动的作用^[20-22]。二是 NO-cGMP 信号途径激活 NO-cGMP-PKG 通路。此外,有研究发现 NO 可与表达在 ICC-IM 的 cGC 受体结合产生环一磷酸鸟苷 cGMP,进而激活 NO-cGMP-PKG 通路^[23-24]。

术后肠梗阻属于中医学“肠结”的范畴,祖国医学认为,六腑以通为用,以降为顺,气机不畅,壅滞上逆,通降失常为病^[25]。腹部手术损伤而导致的骤然腑气不通、气机上逆的表现。因此在此时期治疗应以“通”为法,通腹理气,从而有助于促进术后胃肠动力,恢复其传输、吸收及消化功能。临床采用通腹攻下,理气止痛为主要治法,辨证应用中药可明显改善症状,缩短病程,提高临床疗效,优于单纯西药治疗^[26]。

本研究发现厚朴三物汤能明显提高 POI 大鼠小肠推进率,促进胃肠动力恢复。造模后大鼠小肠 c-kit 阳性表达率明显下调,而 iNOS 阳性表达率明显

上调,提示 POI 存在 ICC 的损伤及炎症反应。造模后 24 h POI 大鼠小肠的 iNOS 阳性表达率最高,这与前人 24 h 炎症反应最明显的研究结果一致^[27]。治疗后随着时间的延长 iNOS 的表达下降,12,24 h 中、低剂量组 iNOS 阳性率均降低明显,推测厚朴三物汤对 iNOS 的作用时间早于 12 h,中剂量的效果较好,48 h 后各组无统计学差异,考虑可能与肠道的自我修复有关,炎症反应随时间延长有所减轻。在实验中还观察到中药治疗后 24,48 h POI 大鼠 c-kit 的表达均上调,考虑其可能的机制为厚朴三物汤能够减少小肠组织中 Cajal 细胞的损伤,使细胞的突起增多或变长,让更多的 Cajal 细胞与平滑肌紧密联系,以恢复部分小肠平滑肌的收缩促进胃肠动力早期恢复。

综合分析,厚朴三物汤对 iNOS 及 c-kit 表达的影响,考虑其作用机制可能为①有效的抑制巨噬细胞的激活及白细胞聚集,抑制炎症因子表达,阻断 Ca²⁺ 通道,限制 NO 大量生成,通过调节肠神经-ICC-平滑肌细胞通路,来增强胃肠道平滑肌的收缩,促进胃肠蠕动功能;②厚朴三物汤能够减少 Cajal 细胞的损伤,修复手术破坏的 ICC 网络,从而促进胃肠的蠕动;③厚朴三物汤通过抑制 iNOS 的表达,使 NO 生成减少以维护 ICC 细胞结构,增强平滑肌细胞间缝隙连接,通过 NO-cGMP-PKG 通路,来增强胃肠平滑肌的收缩,促进胃肠动力,以此达到减轻肠道炎症反应。

中医药对于 POI 的治疗有着独特的优势,中药配方颗粒在临床应用多年,其安全性及临床疗效与传统饮片汤剂相当^[28-29]。为了避免在煎煮中药过程中带来的差异,本研究中采用了“全成分”中药配方颗粒。本研究在一定程度上模拟了人类 POI 的状态,从动物实验角度再次证实了厚朴三物汤有改善胃肠动力障碍的作用,其作用机制可能是通过抑制 iNOS 的表达减轻肠道炎症反应及对 ICC 的保护作用有关。本研究只初步分析了厚朴三物汤对 POI 的

炎症反应与神经反馈机制相互作用的机制,选取了 c-kit 及 iNOS 的表达作为切入点,未能全面深入地研究各种机制及其之间的相互作用,仍需其他机制方面的研究及进一步的分子水平探索予以证实。

[参考文献]

[1] 袁凯涛,石汉平. 术后肠梗阻的病因与预防[J]. 中华普通外科学文献:电子版,2010,4(6):588-591.

[2] Carroll J, Alavi K. Pathogenesis and management of postoperative ileus [J]. Clin Colon Rectal Surg,2009,22(1):47-50.

[3] Boeckstaens G E, de Jonge W J. Neuroimmune mechanisms in postoperative ileus [J]. Gut, 2009, 58(9):1300-1311.

[4] 刘桂芳,耿涛,房玉涛. 糖胃安煎剂对糖尿病胃肠病变大鼠 Cajal 间质细胞和 P 物质的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(22):127-132.

[5] 周晴晴,曹立幸,陈志强. 中医药对围手术期术后胃肠功能恢复作用的研究进展[J]. 中国中西医结合杂志,2013,33(6):858-860.

[6] 范永升,姜德友. 金匱要略[M]. 3 版. 北京:中国中医药出版社,2014:122.

[7] 李慎贤,王宝胜,王廷振. 厚朴三物汤空肠给药促进胃十二指肠术后胃肠功能恢复的临床观察[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2005,5,12(3):162-164.

[8] 张晓东,顾群浩,蔡照弟,等. 厚朴三物汤治疗不完全性肠梗阻 52 例临床观察[J]. 河北中医,2012,34(6):852-853.

[9] 王殿民. 全成分中药配方颗粒葛根汤治疗颈椎病的疗效观察[J]. 西部医学,2011,23(8):1531-1533.

[10] Kalff J C, Buchholz B M, Eskandari M K, et al. Biphasic response to gut manipulation and temporal correlation of cellular infiltrates and muscle dysfunction in rat[J]. Surgery,1999,126(3):498-509.

[11] 陈奇. 中药药理学实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1994:55.

[12] Remmele W, Stegner H E. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue [J]. Pathology, 1987, 8(3):138-140.

[13] 吴咸中. 腹部外科实践[M]. 3 版. 天津:天津科学技术出版社,2004:866-869.

[14] Kalff J C, Schraut W H, Simmons R L, et al. Surgical manipulation of the gut elicits an intestinal muscularis inflammatory response resulting in postsurgical ileus [J]. Ann Surg,1998,228(5):652-663.

[15] Ohama T, Hori M, Ozaki H. Mechanism of abnormal intestinal motility in inflammatory bowel disease: how smooth muscle contraction is reduced [J]. Smooth Muscle Res,2007,43(2):43-54.

[16] 李小玲,林中,袁园,等. 胃肠动力的神经调节[J]. 神经解剖学杂志,2012,28(2):213-216.

[17] 周英豪,吉敏,李成林. Cajal 间质细胞与胃肠道疾病[J]. 医学综述,2012,18(13):1998-2001.

[18] LI J, Goodyer C G, Fellows F, et al. Stem cell factor/ c-Kit interactions regulate human islet-epithelial cluster proliferation and differentiation[J]. Int J Biochem Cell Biol,2006,38(5/6):961-972.

[19] 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 Sci, 2006,119(15):3039-3046.

[20] 蒋峰,陈玉根. 维持 Cajal 间质细胞网络机制的研究进展[J]. 江苏医药,2017,43(18):1338-1341.

[21] Vannucchi M G. Receptors in interstitial cells of Cajal: identification and possible physiological roles [J]. Microsc Res Tech,1999,47(5):325-335.

[22] 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.

[23] Derbyshire E R, Marletta M A. Structure and regulation of soluble guanylate cyclase [J]. Annu Rev Biochem, 2012,81:533-539.

[24] Iino S, Horiguchi K, Nojyo Y, et al. Interstitial cells of Cajal contain signalling molecules for transduction of nitrenergic stimulation in guinea pig caecum [J]. Neurogastroenterol Motil,2009,21(5):542-550.

[25] 瞿金鸿,李炯侠,王子坪. “六腑以通为用”在临床中的应用[J]. 辽宁中医药大学学报,2008,10(6):21-22.

[26] 高聪,韩勇,林大勇,等. 加味桃核承气汤内服和灌肠对腹部术后早期肠梗阻神经-炎症机制的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(16):176-181.

[27] Kalff J C, Buchholz B M, Eskandari M K, et al. Biphasic response to gut manipulation and temporal correlation of cellular infiltrates and muscle dysfunction in rat[J]. Surgery, 1999,126(3):498-509.

[28] 王立茹. 鼻咽合剂不同剂型治疗慢性鼻炎咽炎疗效比对研究[J]. 陕西中医,2012,33(6):702-703.

[29] 余轶群,陈飞松. 健脾消满中药配方颗粒治疗痞满证的临床观察[J]. 北京中医,2007,26(4):229-231.

[责任编辑 周冰冰]