

茯苓甘草汤对功能性消化不良模型大鼠的改善作用机制研究[△]

曹 峰*,刘 杨,秦 源,郑子安,葛玉红,唐阿梅(贵阳中医学院基础医学院,贵阳 550025)

中图分类号 R289.3;R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)04-0473-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.04.09

摘 要 目的:研究茯苓甘草汤对功能性消化不良(FD)模型大鼠的改善作用机制。方法:取SD大鼠60只,随机分为正常组、模型组、茯苓甘草汤高剂量组(20 g/kg)、茯苓甘草汤低剂量组(10 g/kg)、联用组(茯苓甘草汤10 g/kg+多潘立酮0.004 g/kg)、多潘立酮组(0.004 g/kg),每组10只。除正常组外,其余组大鼠均灌胃冰稀盐酸建立FD模型。造模结束后,正常组和模型组大鼠灌胃等体积常温蒸馏水,其余组大鼠灌胃相应常温药物溶液(1 mL/100 g),每天1次,连续7 d。测定大鼠胃内残渣量以评价胃排空功能。采用免疫组化SP法检测胃黏膜组织中水通道蛋白3(AQP3)、胃促生长素(Ghrelin)、P物质(Substance P)的蛋白表达水平;采用蛋白印迹法检测胃黏膜组织中紧密连接蛋白1(Claudin-1)、闭锁蛋白(Occludin)、血管活性肠肽(VIP)的蛋白表达水平。结果:与正常组比较,模型组大鼠胃内残渣量明显增多($P<0.01$);胃黏膜组织中AQP3、Ghrelin蛋白阳性表达明显减少,Substance P蛋白阳性表达较多;AQP3、Ghrelin、Claudin-1、Occludin蛋白表达水平显著降低,Substance P、VIP蛋白表达水平显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较,各给药组大鼠胃内残渣量明显减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$);各给药组大鼠胃黏膜组织中AQP3、Ghrelin蛋白阳性表达较多,Substance P蛋白阳性表达较少;各给药组大鼠胃黏膜组织中AQP3、Occludin蛋白表达水平显著升高,VIP蛋白表达水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);茯苓甘草汤高剂量组、茯苓甘草汤低剂量组和联用组大鼠胃黏膜组织中Ghrelin、Claudin-1蛋白表达水平显著升高,Substance P蛋白表达水平显著降低($P<0.05$)。结论:茯苓甘草汤可能通过对大鼠胃黏膜组织中AQP3、Ghrelin、Claudin-1、Occludin蛋白表达的上调和Substance P、VIP蛋白表达的下调,从而改善FD模型大鼠水液潴留症状。

关键词 茯苓甘草汤;功能性消化不良;水通道蛋白3;胃促生长素;P物质;紧密连接蛋白1;闭锁蛋白;血管活性肠肽;脑肠轴;大鼠

Study on Improvement Effects of Fuling Gancao Decoction on Functional Dyspepsia Model Rats

CAO Feng, LIU Yang, QIN Yuan, ZHENG Zi'an, GE Yuhong, TANG Amei (College of Basic Medicine, Guiyang University of TCM, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study improvement effects of Fuling gancao decoction on functional dyspepsia (FD) model rats. METHODS: Sixty SD rats were randomly divided into normal group, model group, Fuling gancao decoction high-dose group (20 g/kg), Fuling gancao decoction low-dose group (10 g/kg), drug combination group (Fuling gancao decoction 10 g/kg + domperidone 0.004 g/kg), domperidone group (0.004 g/kg), with 10 rats in each group. Except for normal group, other groups were given icy dilute hydrochloric acid intragastrically to establish FD model. After modeling, normal group and model group were given constant volume of distilled water at room temperature intragastrically, and other groups were given relevant drug solution (1 mL/100 g) intragastrically, once a day, for consecutive 7 d. The amount of gastric residue was measured to evaluate the gastric emptying function. Immunohistochemistry SP method was used to detect the protein expression of AQP3, Ghrelin and Substance P in gastric mucosa tissue. The protein expression of Claudin-1, Occludin and VIP were detected by Western blot assay. RESULTS: Compared with normal group, the amount of gastric residue was increased significantly in model group ($P<0.01$); positive expression of AQP3 and Ghrelin protein in gastric mucosa tissue was decreased significantly, while the positive expression of Substance P protein tended to increase; the protein expression levels of AQP3, Ghrelin, Claudin-1 and Occludin were decreased significantly, while those of Substance P and VIP were increased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with model group, the amount of gastric residue was decreased significantly in administration groups ($P<0.05$ or $P<0.01$); the positive expression of AQP3 and Ghrelin protein tended to increase, while less positive expression of Substance P was found; the protein expression levels of AQP3 and Occludin in gastric mucosa tissue were increased significantly in administration groups, while those of VIP were decreased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$); the protein expression levels of Ghrelin and Claudin-1 in gastric mucosa tissue were increased significantly in Fuling gancao decoction high-dose group, Fuling gancao decoction low-dose group and drug combination group, while those of Substance P were decreased significantly ($P<0.05$). CONCLUSIONS: Fuling gancao decoction may improve the symptom of fluid retention in FD model rats by up-regulating the protein expression of AQP3, Ghrelin, Claudin-1 and Occludin and down-regulating the protein expression of Substance P and VIP in gastric mucosa tissue of rats.

[△] 基金项目:贵州省科学技术基金项目(No.黔科合J字[2012]2082号)

*副教授,博士。研究方向:中医脾胃论相关研究。电话:0851-5606103。E-mail: gzy20160907@sina.com

KEYWORDS Fuling gancao decoction; Functional dyspepsia; AQP3; Ghrelin; Substance P; Claudin-1; Occludin; Vasoactive intestinal peptide; Brain-gut axis; Rat

功能性消化不良(Functional dyspepsia, FD)是无明显胃器质性病变并以上腹部疼痛或不适、饱胀、暖气不舒、呕逆等为临床症状的消化系统疾病;其在临床上常表现为胃排空延迟,部分表现为胃液体排空延迟^[1]。FD的症状表现可归属于中医的胃虚饮停证的范畴。作为治疗胃虚饮停证的代表方剂茯苓甘草汤,我国中医经典《伤寒论》中记载其具有温胃化饮的功效,主治心下悸、胃中痞满、胃中有振水声等。本课题组前期研究也发现,茯苓甘草汤能显著促进FD模型大鼠胃中液体排空,其作用可能与提高胃底乙酰胆碱酯酶(AChE)含量、降低胃底一氧化氮(NO)含量的机制有关^[2]。已有研究证实,FD的发生过程中常伴有胃黏膜组织中多种蛋白的异常表达^[3-4]。基于此,本实验通过考察茯苓甘草汤干预治疗FD模型大鼠后对其胃黏膜组织中水通道蛋白3(AQP3)、胃促生长素(Ghrelin)、P物质(Substance P)、紧密连接蛋白1(Claudin-1)、闭锁蛋白(Occludin)、血管活性肠肽(VIP)蛋白表达的影响,探讨茯苓甘草汤治疗FD的作用机制,以期为该方剂的进一步开发和临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

FA124型电子分析天平(上海邦西仪器科技有限公司);KD-202A型石蜡切片机(浙江科迪仪器设备有限公司);CX21型光学显微镜(日本Olympus公司);Power-PAC Basic型电泳仪(美国Bio-Rad公司)。

1.2 药品与试剂

多潘立酮片(西安杨森制药有限公司,批号:170306533,规格:10 mg);AQP3、Ghrelin、Substance P、Claudin-1、Occludin、VIP和 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(一抗,英国Abcam公司,批号分别为ab125219、ab209790、ab216414、ab15098、ab216327、ab8556、ab8227);山羊抗兔辣根过氧化物酶抗体(二抗)、磷酸缓冲盐溶液(PBS, pH7.2~7.4)(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号分别为109525、ZLI-9062);十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶制备试剂盒、BCA蛋白浓度定量试剂盒、ECL超敏发光液、苏木素-伊红(HE)染色试剂盒、二氨基联苯胺(DAB)显影剂(北京索莱宝生物科技有限公司,货号分别为G1120、PC0020、PE0010、G1120、DA1010);Minute™动物细胞/组织总蛋白提取试剂盒[英文特生物(北京)技术有限公司,货号:SD-001/SN-002];水为自制蒸馏水(pH7.2~7.4)。

1.3 药材

茯苓、桂枝、甘草(炙)、生姜均购自贵州同济堂药业有限公司,经贵阳中医学院董丽莎教授鉴定为正品。茯苓甘草汤按《伤寒论》原方比例配伍:茯苓30 g、桂枝30 g、炙甘草15 g、生姜45 g。取按此比例配伍好的药材100 g,分次加水1 000、800、800 mL煎煮3次,每次40

min;滤过,合并3次滤液,于60℃缓慢蒸发至每毫升药液相当于原药材1 g(动物实验时给药剂量以原药材量计),在4℃条件下保存备用。

1.4 动物

SD清洁级大鼠60只,雌雄各半,体质量180~220 g,由长沙天勤生物技术有限公司提供[动物生产许可证号:SCXK(湘)2014-0011],由贵阳中医学院SPF级实验室饲养[动物饲养许可证号:SYXK(黔)2012-0001]。室温设为(20±2)℃,动物固体颗粒饲料由长沙天勤生物技术有限公司提供。

2 方法

2.1 分组、造模和给药

取大鼠60只,随机分为正常组、模型组、茯苓甘草汤高剂量组(20 g/kg)、茯苓甘草汤低剂量组(10 g/kg)、联用组(茯苓甘草汤10 g/kg+多潘立酮0.004 g/kg)、多潘立酮组(0.004 g/kg),每组10只。正常组大鼠灌胃常温蒸馏水0.8 mL,其余各组大鼠根据文献[2]灌胃温度为0℃、浓度为0.5 mol/L的稀盐酸0.8 mL建立大鼠FD模型。连续灌胃14 d后,正常组和模型组大鼠灌胃等体积常温蒸馏水,其余各组大鼠灌胃常温相应浓度的药物溶液1 mL/100 g(药品/药液均以蒸馏水稀释至适当浓度),每天1次,连续7 d。

2.2 大鼠胃排空功能检查

末次给药前,各组大鼠先禁食8 h,然后给予半流质饲料(固体颗粒饲料捣碎后加水调配)和碳粉混合物(2 g/只),10 min后再给予蒸馏水或相应药物。给药30 min后,处死大鼠,取胃组织在洗净前后分别称定质量,并计算胃内残渣量(胃内残渣量=胃总质量-胃净质量),以评价大鼠胃排空功能。

2.3 大鼠胃黏膜组织中AQP3、Ghrelin、Substance P的蛋白表达水平检测

采用免疫组化SP法检测。取“2.2”项下各组5只大鼠的胃组织,放入4%多聚甲醛中固定后,以自来水冲洗4 h,再以不同体积分数的乙醇(由低到高)分别脱水1 h;二甲苯透明20 min×2次;液体石蜡中浸蜡1.5 h×2次,包埋,切片(厚度为6 μ m);以常规二甲苯脱蜡15 min×2次,以不同体积分数的乙醇(由高到低)分别水化;PBS浸泡5 min,3%过氧化氢封闭10 min;PBS冲洗后分别滴加AQP3、Ghrelin、Substance P抗体(1:100),4℃孵育12 h后滴加二抗(1:300);DAB显色,自来水冲洗,苏木素复染,脱水,透明并封片镜检。于显微镜下观察胃黏膜组织中目的蛋白表达情况,阳性表达呈棕黄色。每组各蛋白随机选择5张切片,每张切片随机选择3个视野,采用Image Pro Plus 6.0软件分析光密度值以表示蛋白表达水平。

2.4 大鼠胃黏膜组织中Claudin-1、Occludin、VIP蛋白表达水平检测

采用蛋白印迹法检测。取“2.2”项下各组5只大鼠的胃组织,-80℃条件下低温保存。检测时取50 mg胃黏膜组织,按照 Minute™ 动物细胞/组织总蛋白提取试剂盒说明书方法进行总蛋白提取后,采用BCA蛋白定量试剂盒进行蛋白定量。采用SDS-PAGE凝胶制备试剂盒制备12%的分离胶和5%的浓缩胶,取蛋白50μg上样,浓缩胶80 V电泳1 h,分离胶130 V电泳1 h。根据目的蛋白分子量切胶后,60 V转膜2 h,5%脱脂奶粉封闭2 h;分别加入 Claudin-1、Occludin、VIP 蛋白抗体(1:3 000)和β-actin 抗体(1:8 000),4℃孵育24 h;TBST缓冲液冲洗3次,加入二抗(1:7 000),常温孵育2 h;TBST缓冲液冲洗3次,ECL发光液显影。以β-actin为参比,采用Image Pro Plus 6.0软件分析目的蛋白条带相对灰度值,以表示蛋白表达水平。

2.5 统计学方法

采用 SPSS17.0 软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用非参数秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 茯苓甘草汤对大鼠胃排空功能的影响

与正常组比较,模型组大鼠胃内残渣量明显增多,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠胃内残渣量明显减少,差异均有统计学意义($P < 0.05$),详见表1。

表1 各组大鼠胃排空功能的检查结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Tab 1 Gastric emptying function of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	胃内残渣量, g
正常组		0.81 ± 0.56
模型组		1.53 ± 0.17**
茯苓甘草汤高剂量组	20 g/kg	1.10 ± 0.45 ^a
茯苓甘草汤低剂量组	10 g/kg	1.06 ± 0.39 ^a
联用组	10 g/kg(茯苓甘草汤)+ 0.004 g/kg(多潘立酮)	1.15 ± 0.21 ^a
多潘立酮组	0.004 g/kg	1.09 ± 0.34 ^a

注:与正常组比较, ** $P < 0.01$;与模型组比较, ^a $P < 0.05$
Note: vs. normal group, ** $P < 0.01$; vs. model group, ^a $P < 0.05$

3.2 茯苓甘草汤对大鼠胃黏膜组织中 AQP3、Ghrelin、Substance P 蛋白表达的影响

正常组大鼠黏膜组织腺泡内 AQP3、Ghrelin 蛋白阳性表达较多,其中 Ghrelin 蛋白在黏膜至黏膜下层都有明显表达;Substance P 蛋白阳性表达较少。模型组大鼠黏膜组织腺泡内 AQP3、Ghrelin 蛋白阳性表达明显减少,其中 AQP3 蛋白表达从黏膜至黏膜下层逐步减少;Substance P 蛋白阳性表达较多,在黏膜至黏膜下层表达明显。茯苓甘草汤高剂量组、茯苓甘草汤低剂量组、联用组和多潘立酮组大鼠黏膜组织中 AQP3、Ghrelin 蛋白阳性表达较多,与正常组相似;Substance P 蛋白阳性表达较模型组明显减少。各组大鼠胃黏膜组织中 AQP3、Ghrelin、Substance P 蛋白表达的组织切片显微图见图

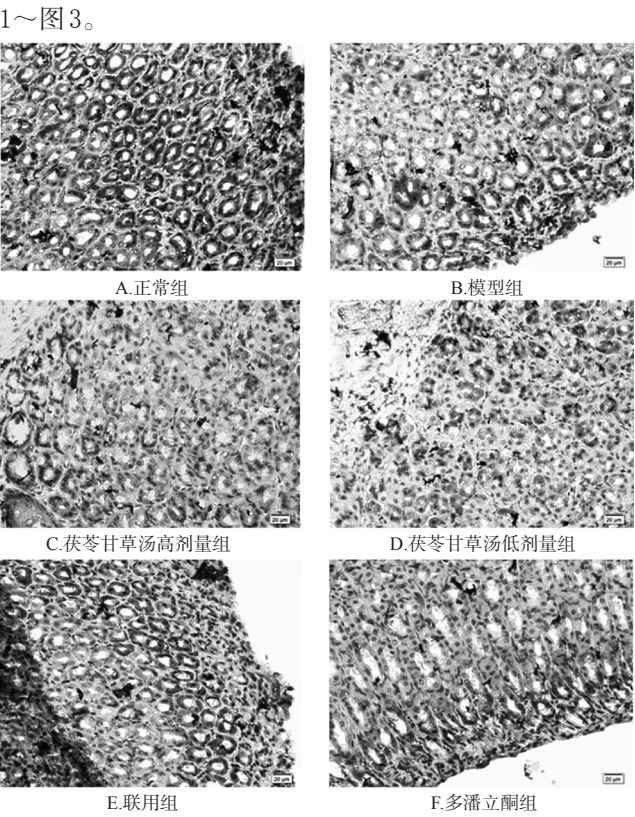


图1 各组大鼠胃黏膜组织中 AQP3 蛋白表达的组织切片显微图(苏木素染色,×400)

Fig 1 Histological micrograph of AQP3 protein expression in gastric mucosa tissue of rats in each group (hematoxylin staining, ×400)

定量分析结果显示,与正常组比较,模型组大鼠胃黏膜组织中 AQP3、Ghrelin 蛋白表达水平均显著降低,Substance P 蛋白表达水平显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较,各给药组大鼠胃黏膜组织中 AQP3 蛋白表达水平显著升高;茯苓甘草汤高剂量组、茯苓甘草汤低剂量组和联用组大鼠胃黏膜组织中 Ghrelin 蛋白表达水平显著升高,Substance P 蛋白表达水平显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。各组大鼠胃黏膜组织中 AQP3、Ghrelin、Substance P 蛋白表达水平检测结果见表2。

3.3 茯苓甘草汤对大鼠胃黏膜组织中 Claudin-1、Occludin、VIP 蛋白表达的影响

与正常组比较,模型组大鼠胃黏膜组织中 Claudin-1、Occludin 蛋白表达水平均显著降低,VIP 蛋白表达水平显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较,茯苓甘草汤高剂量组、茯苓甘草汤低剂量组和联用组大鼠胃黏膜组织中 Claudin-1 蛋白表达水平显著升高;各给药组大鼠胃黏膜组织中 Occludin 蛋白表达水平显著升高,VIP 蛋白表达水平显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各组大鼠胃黏膜组织中 Claudin-1、Occludin、VIP 蛋白表达电泳图见图4,蛋白表达水平检测结果见表3。

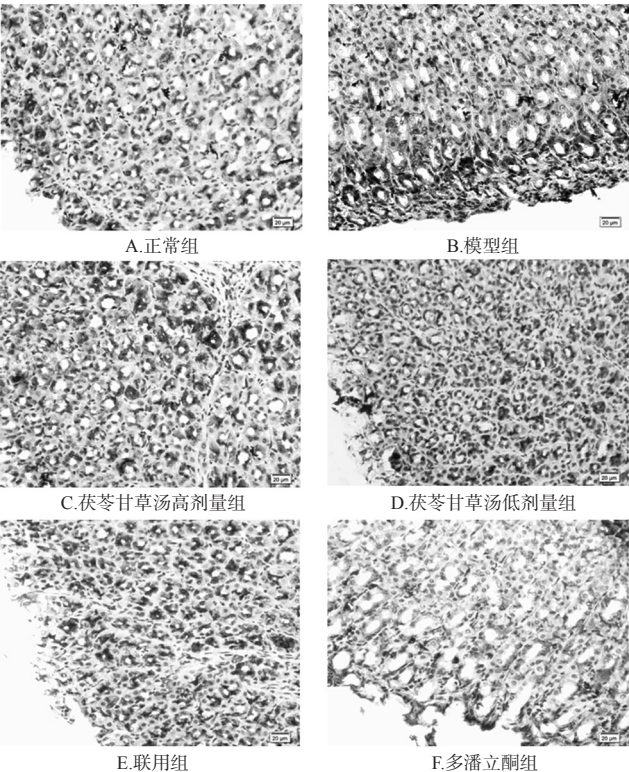


图2 各组大鼠胃黏膜组织中Ghrelin蛋白表达的组织切片显微图(苏木素染色,×400)

Fig 2 Histological micrograph of Ghrelin protein expression in gastric mucosa tissue of rats in each group (hematoxylin staining, ×400)

4 讨论

随着社会快速发展、人们工作和生活压力的不断增加,FD的发病率逐年增加,而胃和小肠排空异常是导致FD发生的主要病理生理机制之一^[5-6]。其发病原因常与脑肠轴失衡、慢性炎症、内脏感觉异常、幽门螺旋杆菌感染、精神压力及饮食失调等密切相关,发病过程较为复杂^[7]。AQP3蛋白作为跨膜转运蛋白,广泛分布于胃肠道上皮细胞层内,对水分转运起重要作用^[8]。Occludin、Claudin-1蛋白属于紧密连接家族蛋白成员,在上皮细胞和内皮细胞间作为骨架蛋白起连接作用,是胃肠黏膜屏障功能和生理结构完整性的重要保护蛋白,对维持水分子、细胞大分子等物质进行细胞旁通透有重要意义,两者的异常表达会造成胃肠黏膜紧密连接功能异常和组织渗透压失衡^[9-10]。Ghrelin蛋白是一种生长激素促分泌素受体的配体蛋白,作为垂体-下丘脑-胃肠道的媒介蛋白,其主要分布在胃肠道,在胃组织中含最高,参与能量代谢、胃肠消化蠕动、内分泌等过程,具有促进摄食的作用^[11-12]。VIP蛋白为舒血管肽,属于神经脑肠肽,在消化系统、呼吸系统等多个组织均有分布,主要分布在黏膜内分泌细胞和黏膜下神经丛和肌层,它能调节平滑肌和腺体分泌,对胃肠动力有抑制性调节作用^[13-14]。Substance P蛋白作为双向调节蛋白,在介导疼痛和炎症浸润等过程中有重要作用,与受体结合能引起血管舒张

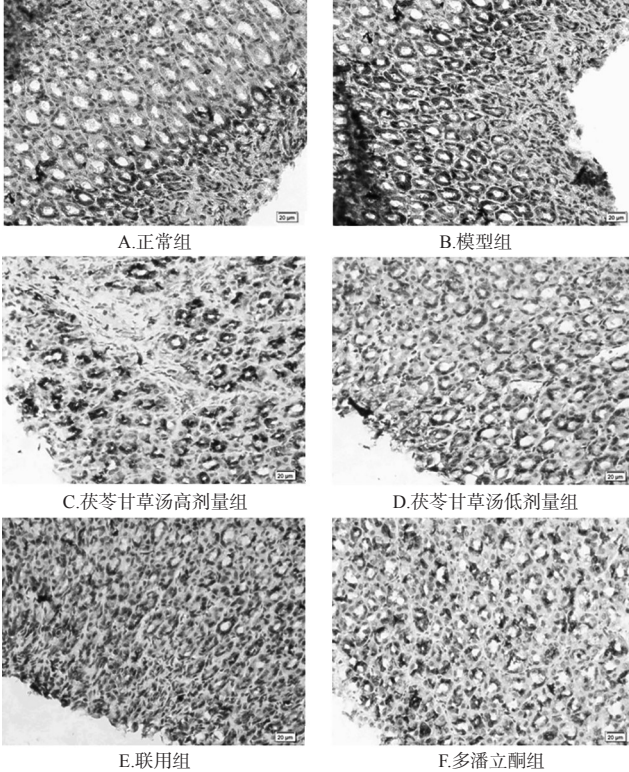


图3 各组大鼠胃黏膜组织中Substance P蛋白表达的组织切片显微图(苏木素染色,×400)

Fig 3 Histological micrograph of Substance P protein expression in gastric mucosa tissue of rats in each group (hematoxylin staining, ×400)

表2 各组大鼠胃黏膜组织中AQP3、Ghrelin、Substance P蛋白表达水平检测结果($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab 2 Protein expression levels of AQP3, Ghrelin and Substance P in gastric mucosa tissue of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	剂量	AQP3	Ghrelin	Substance P
正常组		0.57±0.21	0.58±0.20	0.33±0.13
模型组		0.33±0.18*	0.31±0.13**	0.55±0.22*
茯苓甘草汤高剂量组	20 g/kg	0.57±0.18 [#]	0.57±0.18 [#]	0.32±0.16 [#]
茯苓甘草汤低剂量组	10 g/kg	0.56±0.27 [#]	0.56±0.27 [#]	0.28±0.14 [#]
联用组	10 g/kg(茯苓甘草汤)+ 0.004 g/kg(多潘立酮)	0.58±0.10 [#]	0.53±0.22 [#]	0.22±0.23 [#]
多潘立酮组	0.004 g/kg	0.56±0.79 [#]	0.41±0.16	0.38±0.18

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$
Note: vs. normal group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; vs. model group, [#] $P<0.05$

和通透性增高,参与组织损伤,同时又可刺激胃肠蠕动等^[15]。

本研究选择多潘立酮作为阳性对照药物,其为多巴胺受体拮抗剂,临床常用来治疗FD。该药可通过拮抗多巴胺受体,扩张食管括约肌,改善幽门收缩,增强肠胃动力,促进肠胃蠕动,加快肠胃排空^[16]。本实验结果显示,经冰稀盐酸造模模拟胃虚饮停证的大鼠出现FD现象,而给予茯苓甘草汤后能明显减少大鼠胃内残渣量,表明该汤剂具有促胃肠运动作用,可改善因消化不良造

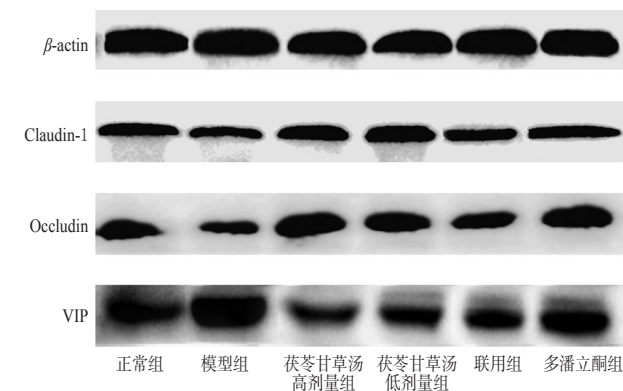


图4 各组大鼠胃黏膜组织中Claudin-1、Occludin、VIP蛋白表达电泳图

Fig 4 Electrophoresis of protein expression of Claudin-1, Occludin and VIP in gastric mucosa tissue of rats in each group

表3 各组大鼠胃黏膜组织中Claudin-1、Occludin、VIP蛋白表达水平检测结果($\bar{x} \pm s, n=5$)

Tab 3 Protein expression levels of Claudin-1, Occludin and VIP in gastric mucosa tissue of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	剂量	Claudin-1/ β -actin	Occludin/ β -actin	VIP/ β -actin
正常组		0.43 $\pm$ 0.06	0.56 $\pm$ 0.11	0.37 $\pm$ 0.09
模型组		0.13 $\pm$ 0.11*	0.20 $\pm$ 0.06**	0.59 $\pm$ 0.06*
茯苓甘草汤高剂量组	20 g/kg	0.37 $\pm$ 0.11 [#]	0.47 $\pm$ 0.12 [#]	0.38 $\pm$ 0.12 [#]
茯苓甘草汤低剂量组	10 g/kg	0.41 $\pm$ 0.15 [#]	0.54 $\pm$ 0.09 ^{##}	0.24 $\pm$ 0.01 [#]
联用组	10 g/kg(茯苓甘草汤)+ 0.004 g/kg(多潘立酮)	0.39 $\pm$ 0.12 [#]	0.51 $\pm$ 0.19 [#]	0.36 $\pm$ 0.10 [#]
多潘立酮组	0.004 g/kg	0.21 $\pm$ 0.17	0.54 $\pm$ 0.12 [#]	0.27 $\pm$ 0.07 ^{##}

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

Note: vs. normal group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; vs. model group, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$

成的胃内潴留。将不同剂量的茯苓甘草汤单用或者与多潘立酮联用,可使AQP3蛋白表达水平升高,从而促进水液代谢、减少胃内水液潴留;可使Ghrelin、Claudin-1、Occludin等连接蛋白表达水平升高,从而减轻水液潴留所致腹胀、胃动力低下的症状;可使Substance P、VIP蛋白表达水平降低,从而减轻胃肠蠕动抑制,减少血管因扩张导致的通透性增加,减轻水液积聚。而单独使用多潘立酮后,也同样对上述蛋白表现出相似的调节作用。

综上所述,茯苓甘草汤可能通过对大鼠胃黏膜组织中AQP3、Ghrelin、Claudin-1、Occludin蛋白表达的上调和Substance P、VIP蛋白表达的下调,从而改善FD模型大鼠水液潴留症状。

参考文献

[1] PORTINCASA P, MEARIN F, ROBERT M, et al. Efficacy and tolerability of cinitapride in the treatment of functional dyspepsia and delayed gastric emptying[J]. *Gastroenterol Hepatol*, 2009, 32(10):669-676.

[2] 曹峰,傅延龄.茯苓甘草汤对功能性消化不良大鼠胃底NO、ACHE影响的实验研究[J]. *贵阳中医学院学报*, 2011, 33(4):43-46.

[3] ZHANG G, XIE S, HU W, et al. Effects of electroacupuncture on interstitial cells of cajal (ICC) ultrastructure and connexin 43 protein expression in the gastrointestinal tract of functional dyspepsia (FD) rats[J]. *Med Sci Monit*, 2016. DOI:10.12659/MSM.899023.

[4] LI XL, ZHANG SS, YANG C, et al. Effect of Zhizhu pill on gastric smooth muscle contractile response and protein expression of growth hormone secretagogue receptor in functional dyspepsia rats[J]. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 2016, 36(2):210-215.

[5] 程寒,王垂杰.中西医治疗功能性消化不良研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2017, 19(10):219-221.

[6] 杨文广,刘露路,王珏,等.慢性炎症与功能性消化不良研究进展[J]. *现代医药卫生*, 2017, 33(12):1801-1803.

[7] 徐雯,王楠,丁浩然,等.广藿香对湿阻中焦证大鼠胃肠功能的影响[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(23):4649-4655.

[8] LI Z, LI B, ZHANG L, et al. The proliferation impairment induced by AQP3 deficiency is the result of glycerol uptake and metabolism inhibition in gastric cancer cells[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(7):9169-9179.

[9] 邢晓辉,李力仙,郭天林,等.Occludin蛋白与细胞间紧密连接关系及临床意义[J]. *现代生物医学进展*, 2015, 15(8):1553-1555.

[10] CUNNIFFE C, BRANKIN B, LAMBKIN H, et al. The role of Claudin-1 and Claudin-7 in cervical tumorigenesis[J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(6):2851-2857.

[11] 刘洋,钟逸凡,苏曼卿,等.顺铂处理大鼠Ghrelin的变化及意义[J]. *青岛科技大学学报*, 2017, 38(5):40-43.

[12] 孙杰,桑凯,王东晓,等.肺脾两虚型COPD模型大鼠下丘脑、胃组织Ghrelin及其受体的表达变化[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(4):124-130.

[13] 叶贝,黄永坤.P-物质、血管活性肠肽、胃泌素和5-羟色胺与胃肠功能的研究进展[J]. *国际儿科学杂志*, 2017, 44(4):249-252.

[14] 骆凤,孙国瑛,贺丽萍,等.血管活性肠肽与各系统疾病内在关联的研究进展[J]. *解剖学杂志*, 2016, 39(5):626-628.

[15] 张欢,付立波,周慧,等.P物质在痛觉调节作用的研究进展[J]. *长春师范大学学报*, 2018, 37(2):180-182.

[16] BARRETO TR, COSTOLA-DE-SOUZA C, MARGATHO RO, et al. Repeated domperidone treatment modulates pulmonary cytokines in LPS-induced acute lung injury in mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 56(6):43-55.

(收稿日期:2018-09-09 修回日期:2019-01-01)

(编辑:段思怡)