

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.15.014

六君子汤合旋覆代赭汤含药血清对大鼠胃 Cajal 间质细胞活性及钙离子浓度的影响

李玉芳^{1,2}, 乔大伟^{1,2}, 顾思佳^{1,2}, 肖云^{1,2}, 童萍^{1,2}, 孔桂美^{1,2}, 卜平^{1,2*}

(1. 扬州大学临床医学院, 江苏省扬州市南通西路 98 号, 225000; 2. 江苏省中西医结合老年病防治重点实验室)

摘要 目的 探讨六君子汤合旋覆代赭汤治疗胃食管反流病的可能作用机制。方法 将 2 月龄 Wistar 大鼠分为中药低、中、高剂量组和莫沙必利组、空白组, 每组 10 只。中药低、中、高剂量组分别予以浓度为 0.846、1.728、3.456 g/ml 六君子汤合旋覆代赭汤溶液灌胃, 莫沙必利组予以浓度 0.5 mg/ml 莫沙必利溶液灌胃, 每次均 1.5 ml/100g, 每日 2 次, 空白组予等量生理盐水灌胃, 共 5 天。第 5 天灌胃后 1h 腹主动脉取血制备含药血清。出生 10~15 天的 Wistar 大鼠 3 只, 禁食 18h 后取 2cm 左右胃窦组织培养大鼠胃 Cajal 间质细胞 (ICC), 并采用免疫荧光法鉴定。ICC 细胞稳定培养 7 天后, 分为中药低、中、高剂量组和莫沙必利组、空白组, 每组 12 个样本。调整浓度为 5×10^4 /ml 接种于 96 孔板, 12h 后加入相应含药血清, 200 μ l/孔, 分别培养 24、48、72h, 采用 MTT 法检测 ICC 细胞活性; 激光共聚焦显微镜下进行 Fluo-3-AM 荧光检测细胞内 Ca^{2+} 浓度变化。结果 稳定培养 7 天后倒置显微镜下可见 ICC 呈三角形、梭形或多边形, 核大, 周围充满胞浆, 胞体发出多条大小不等的树枝状突起, 突起与周围细胞的胞体和突起相互连接。免疫荧光染色后, 在显微镜下观察 ICC 表面 c-kit 呈阳性, 胞体和突起均明显着色, 呈绿色阳性显性。与空白组和中药低剂量组同时间相比, 中药中、高剂量组和莫沙必利组在 24、48、72h 时 ICC 活性均显著增强, Ca^{2+} 荧光强度升高 ($P < 0.05$); 在 48h、72h 时莫沙必利组 ICC 活性显著高于中药中、高剂量组, Ca^{2+} 荧光强度亦高于中药中、高剂量组 ($P < 0.05$)。结论 六君子汤合旋覆代赭汤可增强 ICC 内 Ca^{2+} 浓度, 从而提高 ICC 活性, 这可能是其治疗胃食管反流病机制之一。

关键词 六君子汤; 旋覆代赭汤; 胃食管反流; Cajal 间质细胞; 细胞活性; 钙离子

Cajal 间质细胞 (interstitial cells of Cajal, ICC) 是胃肠神经与平滑肌的中间媒介, 对从神经到平滑肌的信号传递起重要作用, 胃肠神经、ICC、平滑肌细胞共同形成复杂的控制系统^[1]。ICC 以网络形式广泛分布于胃肠道, 其数目、空间分布及超微结构改变与平滑肌收缩异常、胃潴留、反流性食管炎、十二指肠内容物逆流等胃肠功能障碍症状的发生密切相关^[2]。六君子汤功效补脾益气, 燥湿化痰。旋覆代赭汤功效降逆化痰, 益气和胃。两方治疗胃肠功能障碍疾病均有坚实的临床基础^[3-5]。在《胃食管反流病中医诊疗共识意见 (2017 年)》^[6]中六君子汤合旋覆代赭汤主治中虚气逆之证, 可以改善中虚气逆引起的反酸、泛吐清

涎、嗳气、胃脘隐痛等症状。本研究从细胞水平观察六君子汤合旋覆代赭汤是否能够影响 ICC 的活性及 Ca^{2+} 浓度, 并探讨相关机制。

1 材料与方法

1.1 动物

2 月龄 SPF 级 Wistar 大鼠 50 只, 雌雄不限, 体重 (200 $\pm$ 20) g; 出生 10~15 天 SPF 级 Wistar 大鼠 3 只, 雌雄不限, 体重 (50 $\pm$ 10) g。大鼠均购于扬州大学比较医学中心, 实验动物生产许可证: SCXK (苏) 2012-0004。大鼠适用性饲养 7 天, 每笼饲养 5 只, 12h 昼夜交替照明, 室温 (22 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C, 相对湿度 50%~60%。

1.2 药物

六君子汤方药参照《校注妇人良方》原方^[7], 由党参 6g、茯苓 6g、麸炒白术 6g、炙甘草 3g、法半夏 3g、陈皮 3g 组成。旋覆代赭汤方药参照

基金项目: 国家自然科学基金 (81673736); 江苏省研究生科研与实践创新计划 (XSJCX18-086)

* 通讯作者: bopingq@yzu.edu.cn

《伤寒论》原方^[8]，由旋覆花 9 g、人参 6 g、生姜 15 g、赭石 3 g、炙甘草 9 g、法半夏 9 g、大枣 12 枚组成。按照成人与实验动物体表面积折算^[9]，取人与大鼠换算系数 5.98，转换成六君子汤合旋覆代赭汤中剂量组药物浓度（人临床等效剂量）即 1.728 g/ml，以中剂量组浓度的 1/2、2 倍作为低、高剂量组浓度（分别为 0.846、3.456 g/ml）。莫沙必利片，5 mg/片，江苏豪森药业集团有限公司，批号：H170107，制备成终浓度 0.5 mg/ml 溶液。

1.3 主要试剂及仪器

M199 培养液（美国 Hyclone 公司，货号：SH30253.01）；胎牛血清（美国 Gibco 公司，货号：16000-044）；II 型胶原酶（上海生工生物工程有限公司，货号：A004174）；兔抗大鼠 c-kit 抗体（北京博奥森生物科技有限公司，货号 bs-20716R）；FITC 标记山羊抗兔荧光抗体（康为世纪科技有限公司，货号：CW00114）；干细胞因子（SCF，美国 PeproTech 公司，货号：400-22-10）；Fluo-3-AM（索莱宝有限公司，货号：F8841）；MTT（货号：M2128）、牛血清白蛋白（货号：V900933）、Ficoll 溶液（货号：F9378）、二甲基亚砷（DMSO，货号：D2650）、D-hanks 液（货号：H6648），均为美国 Sigma 公司产品；青霉素-链霉素溶液（货号：B540732）、水合氯醛（货号：A600288）、4% 多聚甲醛（货号：E672002）、HEPES 缓冲液（货号：B548112），均为上海生工生物工程有限公司产品。

LeicaSP8 激光共聚焦显微镜（德国 Zeiss 公司）；Multiskan MK3 全自动酶标仪（上海赛默科技生物发展有限公司）；BX53 四色正置荧光显微镜（日本 Olympus 公司）。

1.4 含药血清的制备

采用随机数字表法将 50 只 2 月龄 Wistar 大鼠分为中药低、中、高剂量组和莫沙必利组、空白组，每组 10 只。中药低、中、高剂量组和莫沙必利组大鼠分别予以相应溶液 1.5 ml/100 g 灌胃，空白组大鼠予等量生理盐水灌胃，每日早上 7:00、晚上 7:00 各灌胃 1 次，灌胃前禁食 2 h，共 5 天。第 5 天灌胃后 1 h 内用 10% 水合氯醛 3 ml/kg 腹腔注射麻醉，从腹主动脉取血，血液静置 1 h 后，以离心半径 7 cm、3000 r/min 离心 15 min，取上层血清。各组血清用孔径 0.22 μmol/L 的过滤膜过滤除菌分装于 1.5 ml EP 管中，在恒温水浴箱中 56℃ 灭活 30 min，备用。

1.5 ICC 的分离、培养、鉴定

取出生 10 ~ 15 天的 Wistar 大鼠 3 只，禁食 18 h 后，10% 水合氯醛 3 ml/kg 腹腔麻醉，在无菌条件下，取 2 cm 左右胃窦组织，仔细剥去周围血管和黏膜，D-hanks 反复冲洗 3 次，将处理好的胃窦组织切成 0.1 cm × 0.1 cm 大小，加入 II 型胶原酶消化液 37℃ 消化 30 min，消化后以离心半径 7 cm、1000 r/min 离心 3 min，弃去上清，加入 D-hanks 液反复吹打 10 min，再次以离心半径 7 cm、1000 r/min 离心 3 min，弃去上清，加入 M199 培养基应用液重悬沉淀，过 200 目网筛去除大块组织，将所得悬液加在等体积的 Ficoll 溶液上，以离心半径 7 cm、560 r/min 离心 10 min，取中间沉淀加入 M199 培养基应用液中（含 1% SCF、5% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素溶液），血球计数板计数细胞数控制在 1×10^5 /ml 左右，接种至 6 孔板上。24 h 后换液，稳定培养后每 2 ~ 3 天换液。细胞稳定培养 7 天后，用 4% 多聚甲醛固定 10 min，PBS 反复冲洗 3 次，加入封闭用山羊血清封闭 30 min，加入兔抗大鼠 c-kit 抗体（1 : 50），4℃ 冰箱孵育过夜。PBS 反复冲洗 3 次，加入 FITC 标记的山羊抗兔荧光抗体。37℃ 避光孵育 1 h，荧光显微镜下观察并拍照。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 细胞活性 采用 MTT 法检测。细胞稳定培养 7 天后，胰酶消化成细胞悬液，调整浓度为 5×10^4 /ml，接种于 96 孔板，分组同上，12 h 贴壁后开始换液并取每 12 孔加入同浓度含药血清，200 μl/孔，按组别依次加入相应血清，于培养箱分别培养 24、48、72 h 后加入 MTT 20 μl，分别孵育 4 h 后于酶标仪进行上机检测，取波长为 490 nm，测量各组细胞 OD 值。

1.6.2 Ca^{2+} 浓度 细胞稳定培养 7 天后用 D-hanks 液冲洗 2 次，避光下加入 5 μmol 的 Fluo-3-AM，37℃ 避光培养 20 min，加入 5 倍体积的含有 1% 胎牛血清的 D-hanks 液，再继续培养 40 min，用 HEPES 缓冲液洗涤细胞 3 次备用。激光共聚焦显微镜下观察细胞荧光强度并拍照，接着将不同组别含药培养基依次加入培养皿中，观察加药后显微镜下细胞荧光强度，扫描并拍照。用 NIS Elements ViewerV4.2.0 软件测定细胞内的荧光强度，将加含药血清前的细胞内 Ca^{2+} 荧光强度（FI）作为静息值 F0，连续动态扫描加药后 2 min 内的细胞荧光强度，测定峰值 Fmax，峰高（ ΔFI ）= Fmax - F0，代表含药血清引起的荧光强度的变化值。用

FI 平均变化值间接反映细胞内钙离子浓度的相对水平。

1.7 统计学方法

应用 SPSS 19.0 统计软件, 计量数据符合正态分布用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ICC 的形态观察及鉴定

稳定培养 7 天后倒置显微镜下可见 ICC 呈三角形、梭形或多边形, 核大, 周围充满胞浆, 胞体发出多条大小不等的树枝状突起, 突起与周围细胞的胞体和突起相互连接, 见彩图图 1 (前插一页)。免疫荧光染色后, 在显微镜下观察 ICC 表面 c-kit 呈绿色阳性显性, 胞体和突起均明显着色, 见彩图图 2 (前插一页)。

2.2 各组细胞不同时间细胞活性比较

表 1 示, 与空白组同时间比较, 中药低剂量组 ICC 活性差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 中药中、高剂量组和莫沙必利组 ICC 活性均显著增强 ($P < 0.05$); 与中药低剂量组同时间比较, 中药中、高剂量组和莫沙必利组 ICC 活性均显著增强 ($P < 0.05$); 与中药中剂量组同时间比较, 中药高剂量组 ICC 活性差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 在 48 h、72 h 时莫沙必利组 ICC 活性显著高于中药中、高剂量组 ($P < 0.05$)。

表 1 各组胃 Cajal 间质细胞不同时间细胞活性比较 (OD 值, $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	24 h	48 h	72 h
空白组	12	0.21 $\pm$ 0.04	0.28 $\pm$ 0.02	0.33 $\pm$ 0.03
中药低剂量组	12	0.22 $\pm$ 0.03	0.29 $\pm$ 0.02	0.34 $\pm$ 0.02
中药中剂量组	12	0.31 $\pm$ 0.04 * Δ	0.38 $\pm$ 0.05 * Δ ▲	0.44 $\pm$ 0.06 * Δ ▲
中药高剂量组	12	0.33 $\pm$ 0.05 * Δ	0.41 $\pm$ 0.04 * Δ ▲	0.45 $\pm$ 0.05 * Δ ▲
莫沙必利组	12	0.37 $\pm$ 0.05 * Δ	0.51 $\pm$ 0.05 * Δ	0.56 $\pm$ 0.06 * Δ

注: 与空白组同时间比较, * $P < 0.05$; 与中药低剂量组同时间比较, $\Delta P < 0.05$; 与莫沙必利组同时间比较, ▲ $P < 0.05$

2.3 各组细胞内 Ca^{2+} 荧光强度比较

表 2 示, 与空白组比较, 中药中、高剂量组和莫沙必利组 Ca^{2+} 荧光强度均显著增强 ($P < 0.05$); 与中药低剂量组比较, 中药中、高剂量组和莫沙必利组 Ca^{2+} 荧光强度均显著增强 ($P < 0.05$); 与中药中、高剂量组相比, 莫沙必利组 Ca^{2+} 荧光强度显著增强 ($P < 0.05$)。各组细胞内 Ca^{2+} Fluo-3-AM 荧光染色图见彩图图 3 (前插一页)。

表 2 各组胃 Cajal 间质细胞内 Ca^{2+} 荧光强度比较 (ΔFI , $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	峰高
空白组	12	153.24 $\pm$ 17.23
中药低剂量组	12	176.25 $\pm$ 35.25
中药中剂量组	12	289.57 $\pm$ 62.54 * Δ ▲
中药高剂量组	12	305.17 $\pm$ 71.24 * Δ ▲
莫沙必利组	12	416.42 $\pm$ 83.45 * Δ

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与中药低剂量组比较, $\Delta P < 0.05$; 与莫沙必利组比较, ▲ $P < 0.05$

3 讨论

前期研究发现, 胃食管反流病 (gastroesophageal reflux disease, GERD) 患者中中虚气逆证占 7.30% [1]。六君子汤中茯苓、人参、白术、甘草补气健脾, 使脾胃清阳之气上升, 陈皮、半夏除湿醒脾, 助脾气生发; 旋覆代赭汤以甘草、大枣、人参补益脾气, 生姜、赭石、旋覆花、半夏降逆止呕, 使胃气下降, 两方合用, 有补有消, 有升有降, 从而使脾胃的气机运动恢复正常。我们既往动物实验证明, 六君子汤合旋覆代赭汤可以恢复受损的大鼠食管的 ICC 的数目和结构, 其机制与上调 SCF/c-kit 信号通道, 促进 c-kit、SCF mRNA 及蛋白的表达相关 [2]。

ICC 数目的减少、结构的异常与 GERD 等众多胃肠动力障碍疾病相关 [3]。Groneberg 等 [3] 研究证明, ICC 分化异常是导致 GERD 形成的重要原因。本实验成功分离和培养了 ICC, 并通过免疫荧光鉴定了所获得的细胞即为 ICC。我们观察发现, ICC 呈三角形、梭形或多边形, 核大, 周围充满胞浆, 胞体发出多条大小不等的树枝状突起, 突起与周围细胞的胞体和突起相互连接。免疫荧光染色后, 在显微镜下观察, ICC 表面 c-kit 呈阳性, 胞体和突起均明显着色, 呈绿色阳性显性。另外, MTT 法检测结果显示, 与空白组同时间相比, 中药中剂量组、高剂量组和莫沙必利组 ICC 活性均显著增强, 在 48 h、72 h 时莫沙必利组 ICC 活性显著高于中药中、高剂量组, 从而证明了六君子汤合旋覆代赭汤和莫沙必利均可以促进 ICC 生长, 提高其活性, 但是六君子汤合旋覆代赭汤的作用效果不如莫沙必利的效果显著。

ICC 内 Ca^{2+} 水平及钙振荡 (细胞内规律性 Ca^{2+} 浓度变化) 是 ICC 产生和传导慢波的前提 [4]。研究证明, 三磷酸肌醇受体 (IP3Rs) 引起内质网钙库释放 Ca^{2+} 及线粒体 Ca^{2+} 再摄取导致的钙振荡

是引起 ICC 起搏功能的基础^[15-17]。所以, ICC 内 Ca^{2+} 浓度在维持 ICC 起搏功能及胃肠动力功能方面起着不可替代的作用。本实验结果显示, 与空白组相比, 中药中剂量组、高剂量组和莫沙必利组 Ca^{2+} 荧光强度均显著增强, 且与中药中、高剂量组相比, 莫沙必利组 Ca^{2+} 荧光强度显著增强, 从而证明了六君子汤合旋覆代赭汤和莫沙必利均可以增强 ICC 内 Ca^{2+} 浓度, 但是六君子汤合旋覆代赭汤的作用效果不如莫沙必利的效果显著。

本实验从细胞角度探讨了六君子汤合旋覆代赭汤可以提高 ICC 活性, 其机制与增强细胞内 Ca^{2+} 浓度相关, 但六君子汤合旋覆代赭汤提高 ICC 活性与增强细胞内 Ca^{2+} 浓度的具体机制仍需进一步研究。

参考文献

- [1] GIM HJ, NAM JH, LEE S, et al. Quercetin inhibits pacemaker potentials via nitric Oxide/cGMP-dependent activation and TRPM7/ANO1 channels in cultured interstitial cells of Cajal from mouse small intestine [J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 35(6): 2422-2436.
- [2] ZÁRATE N, MEARIN F, WANG XY, et al. Severe idiopathic gastroparesis due to neuronal and interstitial cells of Cajal degeneration: pathological findings and management [J]. Gut, 2003, 52(7): 966-970.
- [3] 孙小娟, 李彬, 黄耀星. 六君子汤对重症胰腺炎患者胃肠激素的影响及机制研究 [J]. 实用中西医结合临床, 2017, 17(6): 58-59.
- [4] 陈丽娟. 旋覆代赭汤治疗功能性消化不良及对胃肠激素影响的临床观察 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(2): 417-420.
- [5] 李月岚. 旋覆代赭汤治疗胃肠动力不足 30 例 [J]. 江西中医药, 2002, 33(3): 21.
- [6] 张声生, 朱生樑, 王宏伟, 等. 胃食管反流病中医诊疗专家共识意见(2017) [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2017, 25(5): 321-326.
- [7] 陈自明. 《校注妇人良方》注释 [M]. 南昌: 江西人民出版社, 1983: 63.
- [8] 张仲景. 伤寒杂病论 [M]. 刘理想, 潘秋平, 整理. 北京: 中国中医药出版社, 2014: 151.
- [9] 熊远珍. 实验动物与人用药量的新换算 [J]. 南昌大学学报: 医学版, 1997, 39(4X): 41.
- [10] 陈莉丽, 卜平. 不同证型胃食管反流患者脑肠肽特点 [J]. 世界华人消化杂志, 2015, 23(31): 5029-5034.
- [11] 陈健海, 乔大伟, 李玉芳, 等. 六君子合旋覆代赭汤对反流性食管炎大鼠食管 Cajal 间质细胞及干细胞因子/c-kit 通道的影响 [J/OI]. 中国中西医结合杂志, 2018; 1-7. (2018-11-26) [2019-03-19]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2787.R.20181126.1729.004.html>.
- [12] SHAFIK A, AHMED I, EL SIBAI O, et al. Interstitial cells of cajal in reflux esophagitis: role in the pathogenesis of the disease [J]. Med Sci Monit, 2005, 11(12): BR452-BR456.
- [13] GRONEBERG D, ZIZER E, LIES B, et al. Dominant role of interstitial cells of Cajal in nitrergic relaxation of murine lower esophageal sphincter [J]. J Physiol, 2015, 593(2): 403-414.
- [14] 陈健海, 仲捷, 王凡, 等. 胃肠道 Cajal 间质细胞起搏功能的研究进展 [J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(1): 184-188.
- [15] PAPPAS A, WELLMAN GC. Setting the pace for GI motility: ryanodine receptors and IP3 receptors within interstitial cells of Cajal. Focus on "Intracellular Ca^{2+} release from endoplasmic reticulum regulates slow wave currents and pacemaker activity of interstitial cells of Cajal" [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2015, 308(8): C606-C607.
- [16] ZHU MH, SUNG TS, O'DRISCOLL K, et al. Intracellular Ca^{2+} release from endoplasmic reticulum regulates slow wave currents and pacemaker activity of interstitial cells of Cajal [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2015, 308(8): 608-620.
- [17] LEES-GREEN R, GIBBONS SJ, FARRUGIA G, et al. Computational modeling of anoctamin 1 calcium-activated chloride channels as pacemaker channels in interstitial cells of Cajal [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2014, 306(8): 711-727.

Effects of *Liujunzi Decoction* (六君子汤) plus *Xuanfu Daizhe Decoction* (旋覆代赭汤) Contained Serum on Activity and Calcium Concentration in Rat Gastric Interstitial Cell of Cajal

LI Yufang^{1,2}, QIAO Dawei^{1,2}, GU Sijia^{1,2}, XIAO Yun^{1,2}, TONG Ping^{1,2}, KONG Guimei^{1,2}, BU Ping^{1,2}

(1. Clinical Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225000; 2. Jiangsu Provincial Key Laboratory of Integrative Chinese and Western Medicine for the Prevention and Treatment of Geriatrics)

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of *Liujunzi Decoction* (六君子汤) plus *Xuanfu Daizhe Decoction* (旋覆代赭汤) in the treatment of gastroesophageal reflux disease. **Methods** Wistar rats aged 2 months were divided into low, medium and high dose of Chinese medicine groups, a mosapride group and a blank group, with 10 rats in each group. The low, medium and high doses of Chinese medicine were administered with the concentration

of 0.846, 1.728, 3.456 g/ml *Liujunzi Decoction* (六君子汤) plus *Xuanfu Daizhe Decoction* (旋覆代赭汤). The mosapride group was given a concentration of 0.5 mg/ml mosapride solution, 1.5 ml/100 g per time, twice a day, and the blank group was given the same amount of normal saline for 5 days. On the 5th day, 1 hour after intragastric administration, blood was taken from the abdominal aorta to prepare drug-containing serum. Three Wistar rats born for 10 to 15 days were fasting for 18 hours, about 2 cm gastric sinus tissue was taken out to culture the gastric interstitial cells (ICC) of rat, and identified by immunofluorescence. After 7 days of stable culture, ICC cells were divided into low, medium and high dose groups of Chinese medicine, mosapride group and blank group, with 12 samples in each group. The concentration was adjusted to 5×10^4 /ml and inoculated into 96-well plates. After 12 hours, the corresponding drug-containing serum was added to 200 μ l/well for 24, 48 and 72 h. The activity of ICC cells was detected by MTT assay. Fluo-3-AM fluorescence was used to detect changes in intracellular Ca^{2+} concentration under laser confocal microscope. **Results** After 7 days of stable culture, the ICC showed a triangular, fusiform or polygonal shape under the inverted microscope. The nucleus was large and surrounded by cytoplasm. The cell body emitted a number of dendrites of various sizes, and the protrusions were connected with the cell bodies and protrusions of the surrounding cells. After immunofluorescence staining, the C-kit surface of ICC was positive under the microscope, and the cell bodies and protuberances were obviously stained, showing a positive green color. Compared with the blank group and the low-dose group of Chinese medicine, the ICC activity of the middle- and high-dose groups and the mosapride group were significantly increased at 24, 48, and 72 h, and the Ca^{2+} fluorescence intensity was increased ($P < 0.05$). The ICC activity of the mosapride group was significantly higher than that of the middle and high dose groups of Chinese medicine at 48 h and 72 h. The fluorescence intensity of Ca^{2+} was also higher than that of the middle and high dose groups ($P < 0.05$). **Conclusion** *Liujunzi Decoction* (六君子汤) and *Xuanfu Daizhe Decoction* (旋覆代赭汤) can enhance the concentration of Ca^{2+} in ICC and increase the activity of ICC, which may be one of the possible mechanisms for the treatment of gastroesophageal reflux disease.

Keywords *Liujunzi Decoction* (六君子汤); *Xuanfu Daizhe Decoction* (旋覆代赭汤); gastroesophageal reflux disease; Cajal interstitial cells; cell activity; calcium ion

(收稿日期: 2018-12-23; 修回日期: 2019-03-06)

编辑: 邓 媛

《中医杂志》(英文版) 欢迎投稿

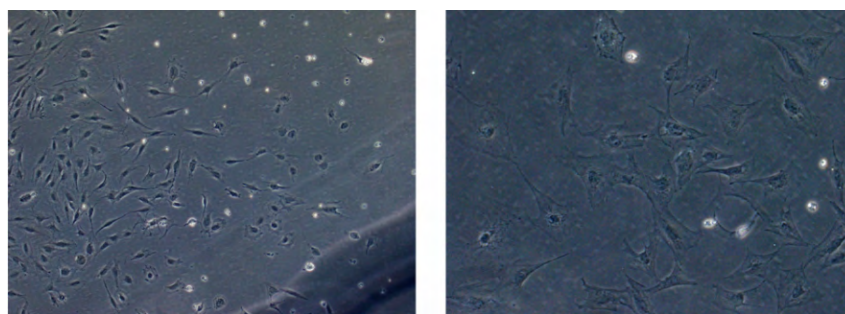
Journal of Traditional Chinese Medicine 【《中医杂志》(英文版)】(ISSN 0255-2922, CN 11-2167/R, 双月刊) 由中华中医药学会与中国中医科学院联合主办, 是我国中医药界具有权威的中医药英文科技期刊, 现发行和交换 90 多个国家和地区。

《中医杂志》(英文版) 自 1981 年创刊以来一直坚持正确的办刊宗旨, 国际影响力不断提升。2010 年入选 SCI-E (《科学引文索引》扩刊版), 2011 年获得中国中医科学院自主选题项目资助, 2013 年获得“中国科技期刊国际影响力提升计划”资助, 自 2012 年起连续被评为“中国最具国际影响力学术期刊”。本刊先后被国际知名文献数据库 MEDLINE、CA《化学文摘》、EM《医学文摘》等收录, 是 MEDLINE 收录的第一份中国出版的中医药期刊, 是 SCI 收录的 30 余种全科医学和替代医学期刊中唯一的中国传统医学综合性学术期刊。

《中医杂志》(英文版) 主要栏目包括循证研究、理论研究、基础研究、临床观察、中药研究、文献研究、思路与方法、综述等。内容以报道中医药基础、临床研究成果和科研前沿进展为主, 覆盖中医药学科各个领域。欢迎广大专家学者积极投稿。作者可直接登录本刊网站 <http://www.journaltem.com> 投稿。

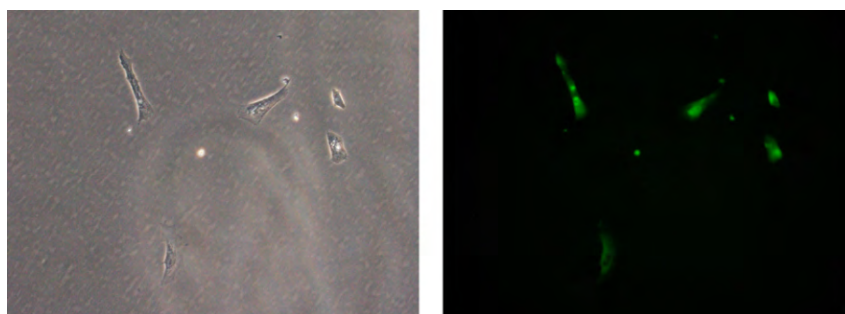
联系邮箱: jtcmen@126.com。电话: 010-64089190。

本社地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 邮政编码: 100700。



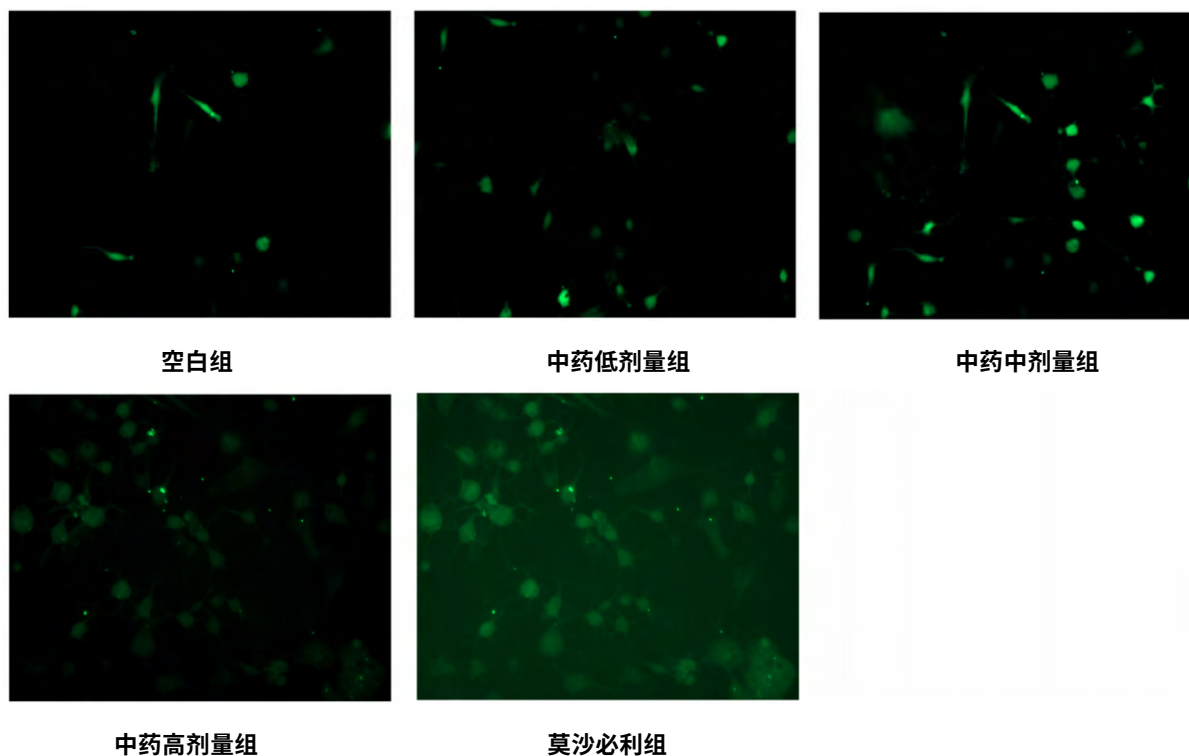
(× 100) (× 200)

图 1 胃 Cajal 间质细胞体外培养 7 天后形态



(白光下 × 200) (荧光下 × 200)

图 2 胃 Cajal 间质细胞免疫荧光鉴定



空白组

中药低剂量组

中药中剂量组

中药高剂量组

莫沙必利组

图 3 各组胃 Cajal 间质细胞内 Ca^{2+} Fluo-3-AM 荧光染色图

(本页彩图正文见第 1327 页)