

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.07.014

实验研究

香砂六君子汤对功能性消化不良模型大鼠胃敏感性及十二指肠 5-羟色胺、TRPV1 表达的影响

赵静怡^{1,2}, 赵鲁卿², 朱春洋^{1,2}, 张声生^{2*}

1. 北京中医药大学, 北京市朝阳区北三环东路 11 号, 100029; 2. 首都医科大学附属北京中医医院

摘要 目的 探讨香砂六君子汤治疗功能性消化不良的可能作用机制。方法 36 只雄性 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、香砂六君子汤组, 每组 12 只。模型组和香砂六君子汤组采用碘乙酰胺灌胃 + 夹尾刺激法制备功能性消化不良大鼠模型。香砂六君子汤组予香砂六君子汤 (浓度为 0.7875 g/ml) 1 ml/100 g 灌胃, 空白组、模型组予等量生理盐水灌胃, 每日 1 次。7 天后 HE 染色观察大鼠胃组织形态; 检测大鼠胃敏感性; qPCR 法检测大鼠十二指肠中瞬时感受器电位香草酸受体亚型 1 (TRPV1) mRNA 的含量; ELISA 法检测大鼠十二指肠 5-羟色胺 (5-HT) 含量; 免疫荧光双标染色法检测大鼠十二指肠中 TRPV1 蛋白和 5-HT 的表达和分布。结果 各组大鼠胃组织形态均正常。与空白组比较, 模型组胃敏感性显著升高 ($P < 0.01$), 与模型组比较, 香砂六君子汤组胃敏感性降低 ($P < 0.01$); 模型组大鼠十二指肠 5-HT 含量、TRPV1 mRNA 表达较空白组显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 香砂六君子汤组大鼠十二指肠 5-HT 含量、TRPV1 mRNA 表达明显下降 ($P < 0.01$); TRPV1 蛋白与 5-HT 共表达于十二指肠, 模型组 TRPV1 蛋白和 5-HT 表达较空白组增多, 而香砂六君子汤组表达较模型组减少。结论 香砂六君子汤能下调功能性消化不良模型大鼠十二指肠 TRPV1 和 5-HT 的表达水平, 从而缓解胃高敏状态, 可能是其治疗功能性消化不良的作用机制之一。

关键词 功能性消化不良; 香砂六君子汤; 5-羟色胺; 瞬时感受器电位香草酸受体亚型 1; 胃敏感性

功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 是指具有餐后饱胀、早饱、上腹痛、上腹烧灼感症状至少 1 项, 经过常规临床评估排除相关器质性病变的临床综合征^[1]。流行病学调查显示, 本病全球范围的发病率为 10% ~ 30%^[2], 且有逐年上升的趋势, 严重影响患者的生活质量。近年来, 随着本病发病机制研究的逐渐深入, 十二指肠在 FD 发病机制中发挥的作用受到了越来越多的关注^[3]。研究^[4]显示, 十二指肠结构和功能的异常会引起其对酸、脂类、变应原等刺激的高敏感, 肠神经丛接受刺激信号, 通过胃肠反射引起胃的高敏, 进而产生上腹痛、早饱等 FD 相关症状。

有研究^[5-6]提示, 脾虚气滞是 FD 病机的关键, 健脾理气是 FD 的核心治则。香砂六君子汤具有健脾益气、理气和胃的功效。香砂六君子汤治疗 FD 临床疗效确切稳定, 其作用机制可能与影响脑-肠

的神经传导, 减轻 FD 内脏高敏状态有关^[7-9]。目前认为瞬时感受器电位香草酸受体亚型 1 (TRPV1) 参与 FD 患者内脏高敏状态的调控^[10], TRPV1 表达上调或活化可导致包括 5-羟色胺 (5-HT) 的多种局部感觉神经递质释放^[11], 并进一步激活下游神经, 传导神经冲动, 使内脏敏感性升高, 产生痛觉过敏^[12]。本研究旨在探究香砂六君子汤对 FD 模型大鼠十二指肠 TRPV1 水平及 5-HT 表达的影响, 揭示香砂六君子汤治疗 FD 的可能作用机制。

1 材料

1.1 实验动物

36 只体重约 30 g 健康雄性 SD 大鼠, 10 日龄, SPF 级, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 实验动物使用许可证号: SYXK (京 2018-0006)。动物饲养条件: 室温 20 ~ 26℃, 日温差 ≤ 4℃, 相对湿度 40% ~ 70%, 相通区域静压差 ≥

基金项目: 国家自然科学基金 (81774215)

* 通讯作者: zhss2000@163.com; (010)52176634

10 Pa, IVC 设备饲养, 换气次数 ≥ 15 次, 空气洁净度 7 级, 氨浓度 $\leq 14 \text{ mg/m}^3$, 噪声 $\leq 60 \text{ dB}$, 动物照度 15 ~ 20 lx, 昼夜明暗交替时间 12 h/12 h, 所有动物均自由采食灭菌饲料、饮用灭菌水。

1.2 实验药物

香砂六君子汤组成: 党参 15 g, 麸炒白术 10 g, 茯苓 10 g, 炙甘草 5 g, 砂仁 5 g, 木香 10 g, 陈皮 10 g, 法半夏 10 g, 中药饮片及煎剂由首都医科大学附属北京中医医院煎药室提供, 采用人与动物临床等效剂量, 参照《现代医学实验动物学》^[13] 中动物给药剂量规范, 制作含生药量为 0.7875 g/ml 的中药煎剂。

1.3 主要试剂与仪器

碘乙酰胺 (Sigma 公司, 批号 I6125); 5-HT ELISA 试剂盒 (CUSABIO 公司, 批号 CSB-E08364r); TRPV1 抗体 (GeneTex 公司, 批号 GTX54762); 5-HT 抗体 (Abcam 公司, 批号 ab66047); 4', 6-二脒基-2-苯基吡啶 (DAPI) 染色液 (Zsbio 公司, 批号 ZLI-9557); Triton X-100 (批号 T8200)、磷酸盐缓冲液 (PBS) 粉末 (批号 P1010)、4% 组织细胞固定液 (批号 P1110)、蔗糖 (批号 S8270)、苏木精伊红 (HE) 染色液 (批号 G1120)、RNAwait (非冻型组织 RNA 保存液, 批号 SR0020)、牛血清白蛋白 (BSA, 批号 A8020) 均为 Solarbio 公司产品; Trizol 总 RNA 提取试剂 (Invitrogen 公司, 批号 15596026); GoTaq™ qPCR Master Mix (批号 A6002)、GoScript™ Reverse Transcription System (批号 A5000), 均为 Promega 公司产品; FITC 标记驴抗山羊 IgG 抗体 (批号 bs-0294D-FITC)、Cy5 标记的驴抗兔 IgG 抗体 (批号 bs0295d-cy5), 均为 Bioss 公司产品; 异氟烷 (河北一品制药股份有限公司, 批号 H19980141); 戊巴比妥钠 (Sigma 公司, 批号 P3761)。

多重实时荧光定量 PCR 仪 (CFX384 型, 美国 Bio-Rad 公司); 荧光显微镜 (BX53 型, 日本奥林巴斯公司); 冰冻切片机 (CM1950 型)、石蜡包埋机 (EG1150 型)、全自动染色机 (ST5020 型), 均为德国 Leica 公司产品; 低温离心机 (3K15 型, 德国 Sigma 公司); 超净台 (51029705 型, 美国 Thermofisher 公司); 冷冻高速离心机 (1-1 SPK 型, 美国 Sartorius 公司); 电子恒压器 (Distender II 型, 加拿大 G&J Electronics 公司), 电生理记录仪 (PL3504 型, 澳大利亚 AD Instrument 公司), 匀浆

机 (98537 型, 美国 Biospec 公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药

36 只大鼠采用随机数字表法分为空白组、模型组、香砂六君子汤组, 每组 12 只。模型组和香砂六君子汤组采用碘乙酰胺灌胃 + 夹尾刺激法制备 FD 大鼠模型^[14-15]。模型组和香砂六君子汤组自 10 日龄起予 0.1% 的碘乙酰胺与 2% 的蔗糖混合液 0.2 ml 灌胃, 每日 1 次, 持续 6 天。空白组予 2% 蔗糖溶液, 0.2 ml 灌胃, 每日 1 次, 持续 6 天。灌胃结束后, 各组大鼠正常饲养至 7 周龄。7 周龄起模型组和香砂六君子汤组进行夹尾刺激, 两组大鼠将每组 4 只大鼠同笼, 用长海绵钳夹大鼠尾巴远端 1/3 处, 以不破皮为度, 令其暴怒, 寻衅与其他大鼠撕打, 以激怒全笼大鼠, 每次连续不断地刺激 30 min, 每 4 h 刺激 1 次, 每日 3 次, 连续刺激 7 天。随着打斗的加剧, 大鼠可能被抓伤, 为避免炎症干扰, 用 0.15% 碘伏涂擦受伤部位控制感染。自 8 周龄起, 香砂六君子汤组给予香砂六君子汤煎剂灌胃给药, 灌胃量 1 ml/100 g 大鼠。空白组、模型组分别给予等量生理盐水, 均为每日 8 点准时灌胃, 每日 1 次, 连续灌胃 7 天。模型组和香砂六君子汤组在灌胃期间继续予以相应的夹尾刺激。实验结束后各组大鼠分别采用随机数字表法分成 2 个亚组, 每个亚组 6 只, 分别进行胃敏感性检测和组织取材。

2.2 观察指标及方法

2.2.1 胃敏感性测定 采用电子恒压器测定胃敏感性^[16]。预先禁食 24 h。使用 2% 异氟烷以 600 ml/min 流量持续 2 min 实施短暂麻醉, 将连接球囊 (最大体积 20 ml) 的聚乙烯管用石蜡油润滑后, 经口轻柔插入胃中, 并以两根金属电极连接大鼠两侧斜方肌, 电子恒压器连接聚乙烯管, 用以向置于大鼠胃内的球囊施加压力, 电生理记录仪连接电极, 用以记录肌肉活动。待大鼠苏醒后开始对球囊施加梯度递增的压力, 记录球囊体积变化及肌电数据, 以此反映大鼠胃敏感性。

2.2.2 HE 染色观察胃组织形态 灌胃结束后预先禁食 24 h。实验当天, 予腹腔注射 2% 戊巴比妥钠 (1 ml/100 g) 麻醉后, 取大鼠胃组织组织, 置于 4% 多聚甲醛中固定, 脱水、包埋、切片, 厚度 8 μm 。用二甲苯溶液脱蜡, 乙醇梯度水化, 再依次进行 HE 染色液染色, 经二甲苯透明后使用中性树

胶封片，显微镜下观察拍照。

2.2.3 qPCR 法检测十二指肠 TRPV1 mRNA 表达 剪取部分十二指肠，置于预冷的 RNA 保存液，Trizol 法提取大鼠十二指肠总 RNA，测定 RNA 浓度及纯度后，取相应的 RNA 在反转录酶催化下合成 cDNA，每个标本均进行 TRPV1 mRNA 和 β -actin 的 qPCR 检测。qPCR 反应选用 Promega 公司 GoTaq™ qPCR Master Mix 定量扩增反应体系，反应总体积为 20 μ l：预混液 10 μ l，无核酸酶水 (Nuclease-Free Water) 2 μ l，前后引物各 2 μ l，目的 cDNA 4 μ l。qPCR 反应条件：1) 热启动激活：95℃ 2 min，1 个循环；2) 变性：95℃ 15 s，60℃ 1 min，40 个循环；3) 60 ~ 95℃ 绘制熔点曲线。每个样品重复 2 次，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 TRPV1 的 mRNA 表达水平， $\Delta\Delta Ct = (Ct_{\text{待测组目的基因}} - Ct_{\text{待测组内参基因}}) - (Ct_{\text{对照组目的基因}} - Ct_{\text{对照组内参基因}})$ 。TRPA1、 β -actin 引物序列见表 1，由北京博迈德基因技术有限公司合成。

表 1 TRPV1、 β -actin 基因引物序列

引物名称	引物序列 (5' to 3')	产物大小 (bp)
TRPV1	上游 CACCTTGCTGTCACCCTGTT	181
	下游 CGTTCTCCGTCGCTTCCTT	
β -actin	上游 ACTCTGTCTGGATTGGTGGC	155
	下游 AGAAAGGCTGTAAACGCAGC	

注：TRPV1，瞬时感受器电位香草酸受体亚型 1 基因

2.2.4 ELISA 法检测十二指肠 5-HT 含量 将大鼠十二指肠组织迅速剪碎，加入 500 μ l 预冷的 PBS 溶液，置于匀浆机中进行组织研磨匀浆，使用低温离心机进行离心：温度 4℃，离心力 10000 g，离心半径 8.5 cm，转速：10444 r/min，时间 10 min。取上清液为待测样品，采用酶联免疫分析法，按照试剂盒说明的各项步骤进行检测。根据酶标仪检测得到样品的吸光值 (检测波长为 450 nm)，利用标准曲线的二次方程式计算得出待检样品中 5-HT 的浓度。

2.2.5 免疫荧光法检测十二指肠 TRPV1 蛋白和 5-HT 表达 剪取部分十二指肠，置于 4% 多聚甲醛

中固定 30 min，转移至 30% 蔗糖脱水 48 h。使用 OCT 包埋液将组织包埋，转移至 -80℃ 冰箱使组织完全冰冻后进行切片，厚度：5 ~ 7 μ m。免疫组化笔在冰冻切片上圈出组织范围，将 0.3% Triton X-100 溶液滴加在组织上，每个组织 100 μ l，室温静置 10 min，吸干液体，PBS 清洗 5 min 3 次；每个组织滴加 100 μ l 封闭液 (PBS + 0.3% Triton X-100 + 5% BSA)，室温放置 1 h；1% BSA 按比例配置抗体：一抗：兔抗大鼠 TRPV1 多克隆抗体 (1 : 200)、山羊抗大鼠 5-HT 多抗 (1 : 400)，二抗：FITC 标记驴抗山羊 IgG 抗体 (1 : 100)、Cy5 标记的驴抗兔 IgG 抗体 (1 : 100)，每个组织滴加 100 μ l，一抗 4℃ 孵育过夜，二抗室温避光孵育 1 h，之后每个组织滴加含 DAPI 的封片剂封片，尽快荧光显微镜下观察拍照。

2.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD-*t* 检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠胃敏感性比较

表 2 示，在 20、40、60、80 mmHg 胃内球囊压力刺激下，模型组大鼠胃敏感性指标均高于空白组大鼠 ($P < 0.01$)，香砂六君子汤组大鼠胃敏感性均明显低于模型组 ($P < 0.01$)。

3.2 各组大鼠胃组织形态学结果

图 1 示，HE 染色结果显示，干预结束时各组大鼠胃组织均结构完整，形态清晰，细胞排列整齐，无明显炎症反应表现。

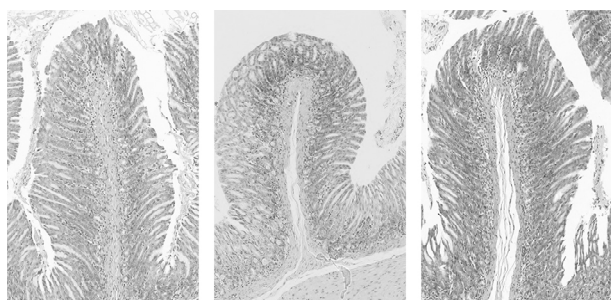
3.3 各组大鼠十二指肠 TRPV1 mRNA 表达及 5-HT 含量比较

表 3 示，与空白组比较，模型组十二指肠 TRPV1 mRNA 表达及 5-HT 含量水平明显升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，香砂六君子汤组 TRPV1 mRNA 表达及 5-HT 含量水平明显下降 ($P < 0.01$)。

表 2 各组大鼠不同胃内球囊压力刺激下胃敏感性比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	20 mmHg	40 mmHg	60 mmHg	80 mmHg
空白组	6	1.27 $\pm$ 0.06	4.27 $\pm$ 0.44	4.71 $\pm$ 0.60	11.38 $\pm$ 1.86
模型组	6	2.74 $\pm$ 0.06*	9.62 $\pm$ 0.21*	11.12 $\pm$ 1.51*	24.47 $\pm$ 1.38*
香砂六君子汤组	6	2.02 $\pm$ 0.07 Δ	6.55 $\pm$ 0.64 Δ	6.74 $\pm$ 0.47 Δ	18.58 $\pm$ 1.17 Δ

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



空白组 模型组 香砂六君子汤组

图 1 各组大鼠胃组织形态 (HE 染色, $\times 10$)

表 3 各组大鼠十二指肠 TRPV1 mRNA 及 5-HT 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TRPV1 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	5-HT (ng/ml)
空白组	6	0.81 $\pm$ 0.04	1.28 $\pm$ 0.01
模型组	6	1.59 $\pm$ 0.19*	262.63 $\pm$ 10.20*
香砂六君子汤组	6	1.13 $\pm$ 0.04 $^{\Delta}$	134.20 $\pm$ 12.36 $^{\Delta}$

注: TRPV1, 瞬时感受器电位香草酸受体亚型 1; 5-HT, 5-羟色胺; 与空白组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$

3.4 各组大鼠十二指肠 TRPV1 蛋白、5-HT 表达和分布

免疫荧光双标染色以同时观察 TRPV1 蛋白和 5-HT 的表达和分布。其中 TRPV1 显示为 Cy5 标记的红色荧光, 5-HT 显示为 FITC 标记的绿色荧光, 细胞核显示为蓝色。结果显示, 十二指肠可同时看到红色荧光、绿色荧光和蓝色荧光, 其中绿色荧光聚集在十二指肠组织的部分上皮细胞内, 而红色荧光散在于十二指肠黏膜上皮、固有层和黏膜下层, 蓝色荧光均匀分布于固有层。在模型组中, 红色、绿色荧光对比空白组数量多、范围大; 而香砂六君子汤组中, 红色荧光和绿色荧光的数量和范围均减少。这提示模型组 TRPV1 蛋白和 5-HT 表达量均增多, 而经香砂六君子汤治疗后其水平下调。

4 讨论

FD 属于中医学“胃痞”病范畴, 其病位在胃, 主要涉及肝脾二脏, 肝为发病的重要因素, 脾为发病的关键环节, 脾虚气滞是本病的关键病机, 健脾理气是本病的核心治则^[5-7]。香砂六君子汤是治疗脾虚气滞证的经典方。方中以党参益气健脾, 补中益胃为君; 白术健脾燥湿为臣; 佐以茯苓渗湿健脾, 陈皮、木香芳香醒脾、理气止痛, 砂仁、半夏芳香化湿; 以甘草为使, 调和诸药。研究显示, 本方可明显缓解 FD 患者上腹痛、餐后腹胀、早饱等症状, 上调 FD 大鼠脑和消化道中的神经肽水平^[7-9], 这一机制可能与通过影响“脑肠轴”的

神经信号传导, 减轻 FD 内脏高敏状态有关。

内脏高敏存在于约 1/3 的 FD 患者中, 是 FD 的重要病理机制之一, 其与包括疼痛在内的严重上腹部症状有关, 胃组织对各种刺激的感觉阈值降低, 感受性增强, 表现为对一定强度刺激的反应性增高和/或引起各种感觉的压力或容量阈值降低^[17-19]。本研究证实, FD 模型大鼠胃对球囊扩张的刺激呈高敏感状态, 对机械刺激感受阈值降低, 疼痛异常放大。

十二指肠的黏膜屏障受损、十二指肠黏膜低程度炎症及十二指肠高敏在 FD 发生的病理生理过程中起着非常重要的作用^[20-22]。十二指肠高敏感的形成依赖于 TRPV1 等化学感受器的信号接受、传导作用, 故 TRPV1 是从内脏高敏机制入手治疗 FD 的潜在靶点^[23-24]。TRPV1 在 FD 患者上消化道存在广泛均匀的表达, 且表达水平较健康人显著升高^[25]。研究^[26]显示, $\alpha 2$ -肾上腺素受体激动剂右旋美托咪啶可通过下调 TRPV1 水平抑制内脏敏感性发挥镇痛作用。在本研究中, 香砂六君子可能通过下调十二指肠 TRPV1 的表达水平, 产生与 $\alpha 2$ -肾上腺素受体激动剂右旋美托咪啶类似的作用。

5-HT 是重要的外周神经递质, 参与胃肠道接受的多种物理、化学刺激的脑-肠神经传导^[29-31]。本研究结果显示, FD 大鼠十二指肠 5-HT 含量显著增多, 免疫荧光染色结果显示 TRPV1 蛋白与 5-HT 在大鼠十二指肠共同表达, 这可能提示 TRPV1 与 5-HT 共同参与了脑-肠间的信号传导, 是 FD 内脏高敏的关键因子。FD 大鼠十二指肠黏膜 TRPV1 过表达, 可能导致局部 5-HT 合成释放增多, 从而引发下游一系列内脏敏感性及相关通路的激活。而香砂六君子汤组大鼠十二指肠 5-HT 含量降低, 荧光强度减弱, 说明香砂六君子汤可以下调 FD 大鼠十二指肠 5-HT 的含量, 提示香砂六君子汤的疗效机制可能是通过下调 TRPV1 在十二指肠的表达水平, 减少 5-HT 的释放及其介导的脑-肠神经传导通路的激活, 由此缓解内脏高敏感。

本研究显示, FD 大鼠存在胃的高敏, 而香砂六君子汤可显著缓解其高敏状态, 这一作用可能是通过抑制十二指肠 TRPV1 表达、下调局部 5-HT 水平, 进而影响神经传导实现的。这不但为香砂六君子汤治疗 FD 的作用机制提供了证据支持, 也提示 TRPV1 可能成为治疗 FD 的潜在靶点。本研究亦存在不足, 如未使用 TRPV1 的拮抗剂处理, 不能明确验证 TRPV1 与 5-HT 存在相互作用; 十二指肠部

位与胰腺相邻,取材时不能完全排除胰酶对组织的影响。

参考文献

- [1] TACK J, TALLEY NJ, CAMILLERI M, et al. Functional gastroduodenal disorders [J]. *Gastroenterology*, 2006, 130(5):1466-1479.
- [2] MAHADEVA S, GOH KL. Epidemiology of functional dyspepsia: a global perspective [J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(17):2661-2666.
- [3] LEE KJ, TACK J. Duodenal implications in the pathophysiology of functional dyspepsia [J]. *J Neurogastroenterol Motil*, 2010, 16(3):251-257.
- [4] TALLEY NJ. Functional dyspepsia: new insights into pathogenesis and therapy [J]. *Korean J Intern Med*, 2016, 31(3):444-456.
- [5] 张声生, 陈贞, 许文君, 等. 基于“寒、热、虚、实”二次辨证的 565 例功能性消化不良证候分布特点研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2008, 23(9):84-86.
- [6] 张声生, 赵鲁卿, 王垂杰, 等. 基于“寒热虚实”辨证治疗功能性消化不良: 患者评价结局的随机对照试验 [J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(1):67-73.
- [7] ZHANG S, ZHAO L, WANG H, et al. Efficacy of modified LiuJunZi decoction on functional dyspepsia of spleen-deficiency and qi-stagnation syndrome: a randomized controlled trial [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2013, 13:54. doi: 10.1186/1472-6882-13-54.
- [8] LV L, WANG FY, MA XX, et al. Efficacy and safety of XiangshaLiuJunzi granules for functional dyspepsia: a multi-center randomized double-blind placebo-controlled clinical study [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(30):5589-5601.
- [9] LIU J, LI F, TANG XD, et al. XiangshaLiuJunzi decoction alleviates the symptoms of functional dyspepsia by regulating brain-gut axis and production of neuropeptides [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 15:387. doi: 10.1186/s12906-015-0913-z.
- [10] HAMMER J, FÜHRER M, PIPAL L, et al. Hypersensitivity for capsaicin in patients with functional dyspepsia [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2008, 20(2):125-133.
- [11] HURTADO-ZAVALA JI, RAMACHANDRAN B, AHMED S, et al. TRPV1 regulates excitatory innervation of OLM neurons in the hippocampus [J]. *Nat Commun*, 2017, 8:15878. doi: 10.1038/ncomms15878.
- [12] TACK J, CAMILLERI M. New developments in the treatment of gastroparesis and functional dyspepsia [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2018, 43:111-117. doi: 10.1016/j.coph.2018.08.015.
- [13] 施新猷. 现代医学实验动物学 [M]. 北京:人民军医出版社, 2000:335.
- [14] 吴震宇, 张声生, 李培彩, 等. 碘乙酰胺灌胃联合夹尾应激诱导大鼠 FD 模型的建立及评价 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2015, 23(7):462-466.
- [15] 吴震宇, 张声生, 张恒玉, 等. 简述功能性消化不良动物模型的建立与评价方法 [J]. *世界华人消化杂志*, 2015, 23(32):5190-5195.
- [16] UCHIDA M, KOBAYASHI O, IWAMOTO C, et al. Effects of L-tryptophan on gastric emptying evaluated by breath test in relation to gastric accommodation evaluated by Barostat in rats [J]. *J Pharmacol Sci*, 2015, 127(2):229-231.
- [17] CARBONE F, TACK J. Gastroduodenal mechanisms underlying functional gastric disorders [J]. *Dig Dis*, 2014, 32(3):222-229.
- [18] PARK SY, ACOSTA A, CAMILLERI M, et al. Gastric motor dysfunction in patients with functional gastroduodenal symptoms [J]. *Am J Gastroenterol*, 2017, 112(11):1689-1699.
- [19] SIMREN M, TORNBLÖM H, PALSSON OS, et al. Visceral hypersensitivity is associated with GI symptom severity in functional GI disorders: consistent findings from five different patient cohorts [J]. *Gut*, 2016, 150(4):255-262.
- [20] VANHEEL H, VICARIO M, VANUYTSEL T, et al. Impaired duodenal mucosal integrity and low-grade inflammation in functional dyspepsia [J]. *Gut*, 2014, 63(2):262-271.
- [21] SCHWARTZ MP, SAMSOM M, SMOUT AJ. Chemospecific alterations in duodenal perception and motor response in functional dyspepsia [J]. *Am J Gastroenterol*, 2001, 96(9):2596-2602.
- [22] BUSCHMANN MM, SHEN L, RAJAPAKSE H, et al. Occludin OCEL-domain interactions are required for maintenance and regulation of the tight junction barrier to macromolecular flux [J]. *Mol Biol Cell*, 2013, 24(19):3056-3068.
- [23] BRATTEN J, JONES MP. Prolonged recording of duodenal acid exposure in patients with functional dyspepsia and controls using a radiotelemetry pH monitoring system [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2009, 43(6):527-533.
- [24] MARKOV AG, VESHNYAKOVA A, FROMM M, et al. Segmental expression of claudin proteins correlates with tight junction barrier properties in rat intestine [J]. *J Comp Physiol B*, 2010, 180(4):591-598.
- [25] BARBERA R, FEINLE C, READ NW. Abnormal sensitivity to duodenal lipid infusion in patients with functional dyspepsia [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 1995, 7

- (11):1051-1057.
- [6] BARBERA R, FEINLE C, READ NW. Nutrient-specific modulation of gastric mechanosensitivity in patients with functional dyspepsia [J]. Dig Dis Sci, 1995, 40(8):1636-1641.
- [7] 史孝敏, 彭燕. 辣椒素受体 1 在功能性消化不良上消化道中的表达及其意义 [J]. 胃肠病学, 2016, 21(7):414-418.
- [8] LIU Y, LIU W, WANG X, et al. Dexmedetomidine relieves acute inflammatory visceral pain in rats through the ERK pathway, toll-like receptor signaling, and TRPV1 channel [J]. J Mol Neurosci, 2018, 66(2):279-290.
- [9] GERSHON MD. 5-Hydroxytryptamine (serotonin) in the gastrointestinal tract [J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2013, 20(1):14-21.
- [10] GERSHON MD. Serotonin is a sword and a shield of the bowel: serotonin plays offense and defense [J]. Trans Am Clin Climatol Assoc, 2012, 123:268-280.
- [11] BAYGUINOV PO, HENNIG GW, SMITH TK. Calcium activity in different classes of myenteric neurons underlying the migrating motor complex in the murine colon [J]. J Physiol, 2010, 588(3):399-421.

Effects of *Xiangsha Liujunzi Decoction* (香砂六君子汤) on Gastric Sensitivity and Expressions of 5-HT and TRPV1 in Duodenum of Functional Dyspepsia Model Rats

ZHAO Jingyi^{1,2}, ZHAO Luqing², ZHU Chunyang^{1,2}, ZHANG Shengsheng²

1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029; 2. Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University

ABSTRACT Objective To explore possible mechanism of *Xiangsha Liujunzi Decoction* (香砂六君子汤, XSLJZ) in treating functional dyspepsia (FD). **Methods** A total of 36 male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into blank group, model group and XSLJZ group, with 12 rats in each group. The model group and the XSLJZ group were administrated with iodoacetamide by gavage combined with tail clamping to establish FD rat models. The XSLJZ group was given 1 ml/100 g (concentration of 0.7875 g/ml) XSLJZ by gavage, while the blank group and the model group were given equal volume of normal saline by gavage, once a day. After 7 days, gastric tissue morphology was observed by HE staining, and rat's gastric sensitivity was detected. Transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) mRNA content in duodenum was detected by qPCR, and 5-hydroxytryptamine (5-HT) content in duodenum was detected by ELISA. Immunofluorescent double labelled staining was applied to detect expressions and distributions of TRPV1 protein and 5-HT in duodenum. **Results** The gastric histomorphology in the 3 groups was normal. Compared with the blank group, the gastric sensitivity was significantly increased in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, the gastric sensitivity was decreased ($P < 0.01$). The expression of TRPV1 mRNA and the content of 5-HT in duodenum in the model group were significantly increased compared with the blank group ($P < 0.01$). Compared with the model group, the expression of TRPV1 mRNA and the content of 5-HT in duodenum in the XSLJZ group were significantly decreased ($P < 0.01$). The TRPV1 protein were expressed in the duodenum along with 5-HT, and the expressions of TRPV1 protein and 5-HT in the model group were more than those in the blank group, while the expression in the XSLJZ group were decreased compared with those in the model group. **Conclusion** XSLJZ can reduce expression levels of duodenal TRPV1 and 5-HT in FD rats to relieve gastric hypersensitivity, which may be one of its mechanisms in treating FD.

Keywords functional dyspepsia; *Xiangsha Liujunzi Decoction* (香砂六君子汤); 5-hydroxytryptamine; transient receptor potential vanilloid type 1; gastric sensitivity

(收稿日期: 2019-07-08; 修回日期: 2019-11-02)

[编辑: 王利芬]