

分,为阐明西黄丸治疗肝癌的物质基础及新药的研  
发提供线索和依据。

#### 参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2021, 71 (3): 209-249.
- [2] GANESAN P, KULIK L M. Hepatocellular Carcinoma [J]. Clinics in Liver Disease, 2023, 27 (1): 85-102.
- [3] 王维德. 外科证治全生集 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 36.
- [4] 周云娣. 西黄丸辅助治疗晚期原发性肝癌效果观察 [J]. 临床合理用药杂志, 2020, 13 (4): 73-75.
- [5] WU J S, NIU Q, YUAN J, et al. Novel compound cedrelone inhibits hepatocellular carcinoma progression via PBLD and Ras/Rap1 [J]. Exp Ther Med, 2019, 18 (6): 4209-4220.
- [6] ZHANG B C, YIN X N, SUI S G. Resveratrol inhibited the progression of human hepatocellular carcinoma by inducing autophagy via regulating p53 and the phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B pathway [J]. Oncol Rep, 2018, 40 (5): 2758-2765.
- [7] JIANG Y, QIAN Y, HONG H, et al. Morin protects chicks with T-2 toxin poisoning by decreasing heterophil extracellular traps, oxidative stress and inflammatory response [J]. Br Poult Sci, 2023, 64 (5): 614-624.
- [8] SIVARAMAKRISHNAN V, DEVARAJ S N. Morin fosters apoptosis in experimental hepatocellular carcinogenesis model [J]. Chem Biol Interact, 2010, 183 (2): 284-292.
- [9] MONTGOMERY E J, XING E, CAMPBELL M J, et al. Constitutively active androgen receptor in hepatocellular carcinoma [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23 (22): 13768.
- [10] DAUKI A M, BLACHLY J S, KAUTTO E A, et al. Transcriptionally active androgen receptor splice variants promote hepatocellular carcinoma progression [J]. Cancer Res, 2020, 80 (3): 561-575.
- [11] COCCIADIFERRO L, MICELI V, GRANATA O M, et al. Merlin, the product of NF2 gene, is associated with aromatase expression and estrogen formation in human liver tissues and liver cancer cells [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2017, 172: 222-230.
- [12] JEON Y, YOO J E, RHEE H, et al. YAP inactivation in estrogen receptor alpha-positive hepatocellular carcinoma with less aggressive behavior [J]. Exp Mol Med, 2021, 53 (6): 1055-1067.
- [13] MATSUSHIMA-NISHIWAKI R, YAMADA N, HATTORI Y, et al. SERMs (selective estrogen receptor modulator), acting as estrogen receptor  $\beta$  agonists in hepatocellular carcinoma cells, inhibit the transforming growth factor- $\alpha$ -induced migration via specific inhibition of AKT signaling pathway [J]. PLoS One, 2022, 17 (1): e0262485.
- [14] MOON H, RO S W. MAPK/ERK signaling pathway in hepatocellular carcinoma [J]. Cancers (Basel), 2021, 3 (12): 3026-3045.
- [15] HAO Y L, FANG H C, ZHAO H L, et al. The role of microRNA-1 targeting of MAPK3 in myocardial ischemia-reperfusion injury in rats undergoing sevoflurane preconditioning via the PI3K/Akt pathway [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2018, 315 (3): 380-388.

#### • 基础研究 •

## 余甘露促进胃肠动力治疗食积大鼠作用机制的研究

何文慧 吴冬枝 刘楠楠 林凤飞

**【摘要】 目的** 探究余甘露治疗食积大鼠的作用机制。**方法** 随机将 20 只大鼠分成正常对照组、模型恢复组、阳性对照组和实验组,每组 5 只。采用猪油灌胃法构建食积大鼠模型,造模后给药 2 周,观察大鼠一般状态、体质量、进食量、胃残留率、肠推进率等变化。HE 染色法探究食积大鼠胃肠组织病理情况。ELISA 法检测各组大鼠血清中胃动素(MTL)、P 物质(SP)、胃促生长素(Ghrelin)、生长抑素(SS)和血管活性肠肽(VIP)含量变化。**结果** 造模后,与正常对照组相比,食积大鼠精神萎靡、进食量减少、胃残留率增加,小肠推进缓慢。给药后,阳性对照组和实验组的食积症状明显缓解,血清中 MTL、SP 和 Ghrelin 的含量明显增加,而 SS 和 VIP 含量明显降低。**结论** 余甘露治疗食积大鼠的作用机制可能与调节大鼠血清中 MTL、SP、Ghrelin、VIP 和 SS 的水平有关。

**基金项目:** 福州市科技计划项目(2020-WS-79)

**作者单位:** 福建省福州市第二医院骨科研究所,福州 350007

**通信作者:** 林凤飞, Email: 596558644@qq.com

**DOI:** 10.20148/j.fmj.2024.02.033

【关键词】余甘露；食积；胃残留率；肠推进率

【中图分类号】R573.9 【文献标识码】A 【文章编号】1002-2600(2024)02-0122-04

余甘子是福建本地常用药材,《福建中草药》中记载其可消食化滞,治食积呕吐、腹痛、泄泻<sup>[1]</sup>。可见,余甘子具有广泛的药用价值和广阔的开发应用前景。值得关注的是,在福州民间常用盐炙余甘子制备余甘露用于食积的治疗,疗效显著,然其作用机制不明确,限制了其应用。有报道显示,血清中胃动素(motilin, MTL)对胃肠运动及胃蛋白酶的分泌有促进调节作用;P 物质(substance P, SP)对胃肠纵行肌和环行肌有双重收缩效应,可促进胃排空;胃促生长素(Ghrelin)能够促胃动力和胃酸分泌、保护胃黏膜;血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)和生长抑素(somatostatin, SS)能够抑制性调节胃肠运动<sup>[2-5]</sup>。本研究利用猪油灌注法构建了食积大鼠模型,通过观察各组大鼠血清中 MTL、SP、Ghrelin、SS 和 VIP 的含量,初步探究其治疗食积的作用机制,为其后续进一步开发利用奠定实验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂和仪器

(1) 主要试剂:枸橼酸莫沙比利片由亚宝药业集团股份有限公司提供,规格:5 mg/片,批号:230203。无水乙醇、二甲苯和 4% 多聚甲醛均购于国药集团化学试剂有限公司。苏木素和伊红均购于 Solarbio 公司。大鼠 VIP、SP、SS、Ghrelin 和大鼠 MTL 试剂盒均购于酶免试剂盒服务平台。(2) 主要仪器:iD3 多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)用于实验中所有紫外—可见吸收光谱和吸光度的采集。病理切片扫描影像系统(Inte-Medic 公司)用于实验中 HE 染色扫描采集。

### 1.2 动物

清洁级 SD 大鼠,雄性,260~270 g,由吴氏实验动物提供,质量合格证号:No. 110322241100-353042。

### 1.3 方法

**1.3.1 余甘露制备** 根据福州民间方法进行余甘露的制备。(1) 选取新鲜余甘子 500 g,洗净,晾干;(2) 粗盐 100 g,溶解于 500 mL 超纯水中;(3) 将余甘子泡入盐水中,置于无菌容器中于室温下密封保存至表面起霜,即获得余甘露。

**1.3.2 造模** 取 20 只 SD 大鼠,按体质量随机选取 5 只作为正常对照组,其他作为食积组。按体质量

1 mL/100 g 对大鼠进行灌胃,正常对照组给予生理盐水灌胃,食积组给予猪油灌胃,正常饲养,灌胃 2 周后,通过观察大鼠活动状态、体质量、腹围、进食量、便质、胃肠道病理等特征,考察其是否造模成功<sup>[6-8]</sup>。

**1.3.3 给药** 造模后,将食积组随机分成 3 组,包括模型恢复组、阳性对照组和实验组。按体质量 1 mL/100 g 给药,模型恢复组给予生理盐水灌胃,阳性对照组给予枸橼酸莫沙比利溶液灌胃(0.4 mg/100 g),实验组给予余甘露灌胃,连续给药 10 d。

**1.3.4 胃残留率及肠推进率检测** 给药 10 d 后,各组大鼠禁食不禁水 24 h,给药 30 min 后,每只大鼠以 5% 墨汁 3 mL 灌胃,20 min 后取出胃体,滤纸擦干后称胃全重,剪开胃体,弃去胃内容物后,称量胃净重。根据文献[9]计算出各组胃残留率,胃残留率=(胃全重-胃净重)/(墨汁重量+给药重量)×100%。同时,取出小肠平铺于空白纸上,量取小肠总长度和墨汁推进长度,计算小肠推进率,小肠推进率=墨汁推进距离(cm)/小肠总长度(cm)×100%。

**1.3.5 HE 染色** 将取出的胃窦和十二指肠经 4% 多聚甲醛固定 24 h 后,进行脱水、包埋和切片,随后依次经苏木素、伊红染色,制片,最后通过病理切片扫描影像系统观察对比正常对照组和食积组的区别。

**1.3.6 血清样本采集** 各组大鼠给药 10 d 后,利用一次性采血针对大鼠进行尾静脉取血,于促凝管中,3 000 r/min 离心 5 min,血液分层后取上层液体,即为血清,置于-80℃下储存,备用。

### 1.4 统计分析

采用 GraphPad Prism 9 执行统计分析,数据表示为平均值±标准差,并且通过方差分析(ANOVA)确定两组之间差异是否有统计学意义。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 大鼠组织常规病理检查

如图 1 所示,各组大鼠胃组织基本正常,胃黏膜上皮细胞排列整齐,胃腺管排列紧密规则、呈单柱状,无明显炎性细胞浸润。小肠绒毛排列整齐,呈舌状,十二指肠腺排列紧密,整体均未见溃疡、

糜烂等其他显著病理改变。

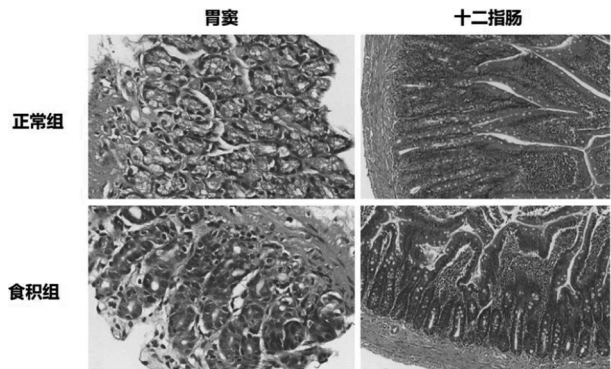


图 1 大鼠胃窦和十二指肠的病理组织

2.2 各组大鼠体质量变化

如表 1 所示，与正常对照组相比，造模后各组大鼠体质量均增加缓慢；给药后阳性对照组和实验组的大鼠体质量增长明显快于模型恢复组。

表 1 各组大鼠体质量比较 (n=5, g,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	造模前	造模后	给药后
正常对照组	273.33±4.13	363.48±3.87	428.80±5.48
模型恢复组	266.00±6.16	303.44±10.61 <sup>①</sup>	336.40±27.42 <sup>①</sup>
阳性对照组	274.60±7.63	315.60±13.38 <sup>①</sup>	373.20±6.09 <sup>②</sup>
实验组	265.33±2.25*	309.50±9.52 <sup>②</sup>	361.70±7.32 <sup>②</sup>

注：与正常对照组比较，<sup>①</sup> $P<0.05$ ，<sup>②</sup> $P<0.001$ 。

2.3 各组大鼠进食量变化

如表 2 所示，给药前其他各组日进食量明显低于正常对照组；而给药后各组大鼠日进食量明显增加。阳性对照组和实验组的进食量明显高于模型恢复组。

表 4 各组血液指标比较 (n=5, pg/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	MTL	SP	Ghrelin	VIP	SS
正常对照组	126.94±12.64	121.42±10.74	1185.7±91.80	104.14±4.11	90.23±10.46
模型恢复组	96.39±7.83	90.99±6.78	904.33±52.10 <sup>①</sup>	119.94±11.59	233.45±16.92 <sup>①</sup>
阳性对照组	105.97±9.78	111.19±10.58	1105.67±56.52 <sup>②</sup>	106.67±6.52	114.14±11.14 <sup>②</sup>
实验组	112.78±7.99	109.01±9.56	1148.33±84.54 <sup>②</sup>	104.77±5.33	114.71±11.69 <sup>②</sup>

注：①与正常对照组比较， $P<0.001$ ；②与模型恢复组比较， $P<0.001$ 。

经猪油灌胃法造模后，大鼠出现精神萎靡、活动量减少、进食量减少、体质量增加缓慢、便质干燥有脂肪粒等特征。经余甘露治疗后，发现食积大鼠攻击率明显减低、活动量增加、便质脂肪粒减少、腹围变小。

表 2 各组大鼠进食量比较 (n=5, g,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	给药前	给药后
正常对照组	115.00±6.08	137.67±4.04
模型恢复组	64.50±3.53 <sup>①</sup>	86.67±2.52
阳性对照组	65.36±2.47 <sup>①</sup>	103.33±4.04 <sup>②</sup>
实验组	69.1±2.14 <sup>①</sup>	101.67±3.51 <sup>②</sup>

注：①与正常对照组比较， $P<0.001$ ；②与模型恢复组比较， $P<0.05$ 。

2.4 胃残留率及肠推进率

表 3 显示，与正常对照组相比，其他各组的胃残留率明显较高，而肠推进率相对较低。阳性对照组和实验组的胃残留率明显低于模型恢复组，而肠推进率则高于模型恢复组。

表 3 各组大鼠胃排空及肠推进情况比较 (n=5, %,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	胃残留率	肠推进率
正常对照组	34.67±3.80	90.19±5.04
模型恢复组	68.85±6.07 <sup>①</sup>	75.65±6.94 <sup>②</sup>
阳性对照组	54.54±5.19 <sup>③</sup>	82.01±3.95
实验组	50.01±5.58 <sup>④</sup>	83.72±3.28

注：与正常对照组比较，<sup>①</sup> $P<0.001$ ，<sup>②</sup> $P<0.05$ ；与模型恢复组比较，<sup>③</sup> $P<0.05$ ，<sup>④</sup> $P<0.001$ 。

2.5 各组血液指标变化

如表 4 所示，给药后，与正常对照组相比，其他各组大鼠血清中的 MTL、SP 和 Ghrelin 水平均较低，阳性对照组和实验组高于模型恢复组，其中以 Ghrelin 尤为明显。而大鼠血清中 VIP 和 SS 的水平，其他各组均低于模型恢复组，尤其 SS。

3 讨论

食积在西医上归属于功能性消化不良，多表现为纳差、腹胀、便秘等特征<sup>[10]</sup>。本研究的食积大鼠体质量、精神状态、活动量、进食量、便质等方面的特征，均与功能性消化不良的临床特征相一致。且解剖后，可见大鼠胃肠胀气、腹满。HE 染

色结果表明食积大鼠的胃窦和十二指肠均无器质性变化。这表明本研究已成功构建食积大鼠模型。

体质量和进食量结果表明, 余甘露治疗明显改善食积大鼠体质量增加缓慢和进食量减少的症状。胃残留率和肠推进率结果表明, 实验组和阳性对照组与模型恢复组相比均有一定的差异, 且实验组和阳性对照组的结果相当。这说明食积大鼠经余甘露治疗后, 大大地改善了食积大鼠腹胀、食满的症状, 具有促进肠胃蠕动的功效。上述结果表明, 余甘露具有较好的治疗食积大鼠的功效。

为初步探究余甘露治疗食积大鼠的作用机制, 本研究检测了各组大鼠血清中 MTL、SP、Ghrelin、SS 和 VIP 的含量变化。本研究实验结果表明, 与模型恢复组相比, 经余甘露治疗后的食积大鼠血清中的 MTL、SP 和 Ghrelin 水平升高, 其中以 Ghrelin 尤为明显, 而 VIP 和 SS 的水平降低, 尤其 SS。这表明余甘露治疗食积大鼠的作用机制可能与调节大鼠血清中 MTL、SP、Ghrelin、VIP 和 SS 的水平, 促进胃肠动力有关。

综上, 本研究根据福州民间传统方法制备了余甘露, 并构建了食积大鼠模型, 初步探讨了其治疗食积大鼠的作用机制, 为后续研发余甘子相关食积成药提供了理论依据以及临床前研究资料。

## 参考文献

- [1] 钟益宁. 余甘子叶有效化学成分及其抗肿瘤作用的研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2011.
- [2] 余朝辉, 郑珊娇. 白枳养胃汤对功能性消化不良大鼠血清和组织中 MTL、GAS 和 VIP 含量的影响 [J]. 中药药理与临床, 2015, 31 (4): 200-201.
- [3] 江垠霓, 王冬妮, 吴浩忠, 等. 广东神曲对食积小鼠胃肠动力及 Cx43、BDNF 的调节影响 [J]. 中南药学, 2023, 21 (9): 2269-2274.
- [4] 甄建华, 李晓菲, 于河, 等. 谷晓红食积因素对昆明小鼠血清 IgA 及肺脏与结肠组织 SIgA、SP、VIP 含量的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33 (9): 3862-3865.
- [5] 李淑婷, 吴黎, 杨家霖, 等. 小儿感冒宁颗粒对脾虚型功能性消化不良大鼠胃肠运动及血清胃肠激素水平的影响 [J]. 中国现代中药, 2023, 25 (10): 2219-2127.
- [6] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1082-1083.
- [7] 王丽芳, 高文远, 徐鑫, 等. 神曲鲜干品组方对食积小鼠胃肠动力及肠道菌群调整的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23 (4): 20-24.
- [8] 方肇勤. 大鼠/小鼠辨证论治实验方法学 [M]. 北京: 科学技术出版社, 2009: 100.
- [9] 邢建峰, 封卫毅, 侯家玉. 小鼠胃排空及小肠推进实验方法的探讨 [J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26 (4): 50-52.
- [10] 汪受传. 中医儿科学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2010: 15, 110.

## • 基础研究 •

# MALDI-TOF MS 技术鉴定皮肤癣菌的可行性分析

陆璇<sup>1</sup> 郭建<sup>2</sup> 韩智庆<sup>1</sup> 简勇进<sup>1</sup> 黄惠明<sup>1</sup> 洪和泉<sup>1</sup>

**【摘要】** 目的 探讨基质辅助激光解析电离飞行时间质谱 (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS) 技术在临床鉴定皮肤癣菌的应用价值及其可行性。**方法** 使用 MALDI-TOF-MS 鉴定 113 株皮肤癣菌, 鉴定结果与传统形态学鉴定方法和多位点序列分型 (multilocus sequence typing, MLST) 鉴定结果进行比较, 评价 MALDI-TOF MS 鉴定技术对皮肤癣菌的鉴定情况。**结果** 使用 MALDI-TOF-MS 技术鉴定 113 株皮肤癣菌, 与传统形态学鉴定方法和 MLST 结果相比, 106 株 (93.8%) 正确鉴定到种水平, 7 株 (6.2%) 鉴定错误。其中红色毛癣菌的鉴定结果正确率达到 96.3%, 须癣毛癣菌复合群的鉴定正确率达到 91.5%。**结论** 目前, MALDI-TOF-MS 技术对皮肤癣菌鉴定准确性高, 可较准确鉴定出临床常见的红色毛癣菌和须癣毛癣菌复合群。

**【关键词】** 皮肤癣菌; MALDI-TOF-MS; 鉴定

**【中图分类号】** R446.5 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2024)02-0125-04

**基金项目:** 漳州市自然科学基金资助项目 (ZZ2021J12)

**作者单位:** 1 福建省漳州市皮肤病防治院, 漳州 363000; 2 同济大学附属东方医院, 上海 200120

**通信作者:** 洪和泉

**DOI:** 10.20148/j.fmj.2024.02.034