

· 实验研究 ·

# 肠润方对功能性便秘大鼠结肠Cajal间质细胞及c-kit/SCF信号通路的影响<sup>※</sup>

● 肖秋平<sup>1</sup> 洪燕秋<sup>2</sup> 耿学斯<sup>1▲</sup> 文磊<sup>3</sup>

**摘要** 目的:研究肠润方对功能性便秘大鼠结肠Cajal间质细胞及c-kit/SCF信号传导通路的影响,揭示滋阴行气法治疗功能性便秘的可能作用机制。方法:选取SD大鼠72只,随机分为空白组、模型组、麻仁丸组以及肠润方高、中、低剂量组。利用复方地芬诺脂制备功能性便秘大鼠模型,造模成功后,分别使用肠润方低、中、高剂量水煎剂(5.5、11、22g/kg/d)及麻仁丸-生理盐水混悬液(0.3g/kg/d)灌胃进行干预。通过免疫组化法、Western-Blot及RT-PCR法检测大鼠结肠组织中c-kit、SCF的分布及蛋白与基因表达水平。结果:与空白组相比,模型组大鼠结肠组织c-kit、SCF蛋白及mRNA表达水平均显著降低( $P<0.01$ );同模型组相比,肠润方高、中剂量组结肠组织c-kit、SCF蛋白及mRNA表达水平显著升高( $P<0.01$ ),免疫组化结果显示c-kit、SCF的表达与肠润方剂量呈正相关。结论:功能性便秘与结肠ICC表达减少,功能异常相关,肠润方通过调控c-kit、SCF表达,恢复c-kit/SCF信号转导通路,恢复ICC对胃肠道节律的正常调控来治疗功能性便秘。

**关键词** 功能性便秘;肠润方;Cajal间质细胞;c-kit/SCF通路

功能性便秘(function constipation, FC)是消化系统常见病、难治病,全球发病率逐渐上升。FC的发生与多种因素相关,但发病机制尚未完全阐明。研究显示,伴有结肠动力障碍的FC患者占相当比例<sup>[1]</sup>。目前普遍认为Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)的异常是导致胃肠道动力障碍性疾病的一个重要原因,ICC特异性表达的酪氨酸蛋白激酶生长因子受体(Tyrosine kinase growth factor receptor, c-kit)及其

配体干细胞因子(stem cell factor, SCF)结合所启动的信号通路对ICC生长发育及功能的维持至关重要。中医认为便秘的反复发生主要由于阴血不足,肠道失润,或气虚气滞,推动无力,或两者兼并。基于“运脾滋阴”治法的肠润方在前期临床研究中取得确切疗效<sup>[2-3]</sup>。本研究旨在探讨肠润方对FC大鼠结肠ICC及c-kit/SCF信号系统的影响,揭示滋阴行气法治疗FC、改善结肠动力的可能作用机制。

## 1 资料与方法

**1.1 动物** 健康SD大鼠72只,雌雄各半,体重(220±20)g,由厦门大学实验动物中心采购提供,许可证号:SYXK(闽)2013-0006。饲料、垫料来源同上,饲养室温度20℃~25℃,湿度45%~55%。

**1.2 药物与试剂** 肠润方(炒白术20g,玄参15g,麦冬15g,火麻仁15g,枳实15g,槟榔15g),肠润方水煎剂:将95g生药饮片浸泡于蒸馏水中(蒸馏水略没过饮片即可)1h后回流煮沸30min,滤出药液,再加入蒸

※基金项目 国家自然科学基金面上项目(No.81774306);福建省自然科学基金面上项目(No.2017D0008);厦门市科技局指导性项目(No.3502Z20189057)

▲通讯作者 耿学斯,男,主任医师,博士研究生导师。研究方向:盆底结直肠功能和动力有关的疾病发病机制及中西医结合诊疗的研究。E-mail:xmgck@sina.com

• 作者单位 1.福建中医药大学附属厦门中医院/厦门市盆底动力学重点实验室(福建 厦门 361009);2.北京中医药大学(北京 100029);3.厦门大学医学院(福建 厦门 361000)

馏水(蒸馏水略没过饮片即可),同法煮沸 30min,过滤。将两次得到的滤液混合,在 3500rpm 离心滤液 10min,药液旋蒸浓缩至 47.5mL,得到 200% 肠润方水煎液。实验前配制含生药量分别为 0.5g/ml、1g/ml 和 2g/ml 的肠润方水煎液。

麻仁丸:福州海王金象中药制药有限公司(批号:1805042);复方地芬诺酯:新乡市常乐制药有限公司(批号:17040952);PBS 磷酸缓冲液(索莱宝公司,批号:P1010);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天公司,批号:P0010S);PVDF 膜(迈博瑞公司,批号:R7EA3809G);c-kit 抗体(Thermo Fisher 公司,批号:34-8800);SCF 抗体(Abcama 公司,批号:ab64677);IgG 抗体(Abcama 公司,批号:ab150077),RNA 提取试剂盒(Promega 公司,批号:LS1040);逆转录试剂盒(Promega 公司,批号:A5001);RT-PCR 试剂(全式金公司,批号:AQ101-03);免疫组化染色试剂盒(索莱宝公司,批号:SP0041)。

**1.3 分组与造模** 72 只健康 SD 大鼠正常喂养和观察 1 周,随机分为空白组、模型组、麻仁丸组以及肠润方高、中、低剂量组,共 6 组,每组 12 只。根据课题组前期实验造模方法造模<sup>[4]</sup>,空白组予蒸馏水 2.2 ml/次,2 次/天灌胃,模型组、麻仁丸组、肠润方组予复方地芬诺脂 10mg/kg/d 灌胃,连续灌胃 14 天。各组均于末次给药 30min 后以 0.2mL/20g 的墨汁灌胃,记录大鼠首粒黑便排出时间、6h 内的排便粒数和大便性状,通过 SPSS 22.0 统计软件进行分析,验证便秘模型成功制备。

**1.4 药物干预** 造模成功后,空白组、模型组均予蒸馏水 1ml/100g/天,2 次/天灌胃;麻仁丸组予规格为 0.6g/粒的麻仁丸按成人(60kg)日服剂量 2.4g 换算成 SD 大鼠剂量 0.3g/kg/d,2 次/d 灌胃;肠润方高、中、低剂量组根据《中药药理实验方法学》计算出中药人鼠等效剂量,按成人(60kg)日服剂量 95g 换算成 SD 大鼠服用剂量为低剂量组 5.5g/kg/d,中剂量组 11g/kg/d,高剂量组 22g/kg/d,2 次/d 灌胃,各组连续灌胃 14 天后进行取材。

**1.5 标本采集** 末次给药结束后,禁食不禁水 12h,颈椎脱臼处死动物,打开大鼠腹腔取 2cm 结肠肠管共 2 份,1 份经生理盐水清洗后用 OTC 保鲜剂固定,液氮保存待 western blot 及 RT-PCR 测定,1 份固定于中性福尔马林中,以待免疫组化测定。

**1.6 免疫组织化学法检测** 取放于 4% 多聚甲醛固定的组织,经脱水、包埋制成连续切片。石蜡切片脱

蜡后进行抗原修复。用组化笔画圈围住组织,滴加 3% 过氧化氢灭活内源酶活性。加山羊血清封闭液封闭非特异性位点,室温 10min。甩掉封闭液,圈内滴加一抗(1:1000 稀释的兔抗鼠 c-kit 或 1:1000 稀释的兔抗鼠 SCF)盖住组织,放入湿盒内 4℃ 过夜。二抗(1:3000 稀释的羊抗兔 IgG)室温孵育 10min。链霉菌抗生物素-过氧化物酶溶液在室温下孵育 10min, DAB 显色。苏木素复染细胞核,自来水冲洗反蓝,1% 盐酸酒精分化 3 秒,自来水冲洗三分钟,脱水,中性树脂封片。用 Definiens Tissue Studio™ 图象分析系统,测定各组 c-kit、SCF 阳性细胞的平均光密度值(average optical density,AOD)。

**1.7 Western Blot 检测** 取大鼠结肠组织样品,加入蛋白裂解液混匀,冰上静置 10~15min,12000rpm 离心 10min,取上清液,重复离心,BCA 蛋白测定试剂盒测得待测样品的蛋白浓度。进行 SDS-PAGE 电泳,转膜,PVDF 膜取出置于含 5% 奶粉的 TBST 中,室温慢慢摇封闭 1h,一抗(1:1000 稀释的兔抗鼠 c-kit 或 1:1000 稀释的兔抗鼠 SCF)放置低速摇床上 4℃ 过夜。TBST 漂洗 3 次,10min/次,室温孵育辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗(1:3000 稀释的羊抗兔 IgG)低速孵育 1h, TBST 漂洗 3 次,10min/次。ECL 工作液浸润 PVDF 膜,避光显影,Tubulin 作为内参照。

**1.8 RT-PCR 检测** 取液氮冻存新鲜结肠组织,提取总 RNA,测定 RNA 浓度,RNA 电泳测定其完整性。经 promega 反转录试剂盒操作,所得 cDNA 进行 RT-PCR 检测。反应体系共 10μL。经 ABI Primer Express10 软件设计荧光定量 PCR 引物,由大连宝生物工程有限公司合成。各检测指标引物序列见表 1。热循环参数如下:95℃ 30s 为第一阶段,1 个循环;95℃ 5s,60℃ 30s 为第二阶段,45 个循环。以 β-actin 基因为内参照。CFX96Manager 软件分析结果。

表 1 c-kit、SCF、β-actin 引物序列

基因名称	引物名称	引物序列
c-kit	c-KIT-F	GACAGTTGCCCTGAAGATGC
	c-KIT-R	GCCAAGCAGGTTTACAATATTCA
SCF	SCF-F	TCAAGGACTTTCATGCTGGCAT
	SCF-R	ATTCCTAAGGGAAGCTGGCTGC
β-actin	β-ACTIN-F	CTGGCTCCTAGCACCATGAA
	β-ACTIN-R	AAAACGCAGCTCAGTAACAGTC

**1.9 统计学方法** 数据采用 SPSS 22.0 软件进行统计学处理。数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较

若满足正态性且方差齐时采用单因素方差分析LSD法和SNK法,若方差不齐,采用DunnettT3法进行方差检验和两两比较,若数据非正态分布采用秩和检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 便秘模型建立情况 实验过程中,无大鼠死亡,

表明复方地芬诺酯法制备FC模型具有安全性、稳定性。模型组、麻仁丸组及肠润方高中低各剂量组在大鼠首粒黑便排出时间、6h内粪便排出颗粒数量以及粪便重量与空白组比较均有统计学差异( $P<0.05$ ),表明FC大鼠模型成功复制。见表2。

表2 6组大鼠排便情况比较( $\bar{x} \pm s$ )

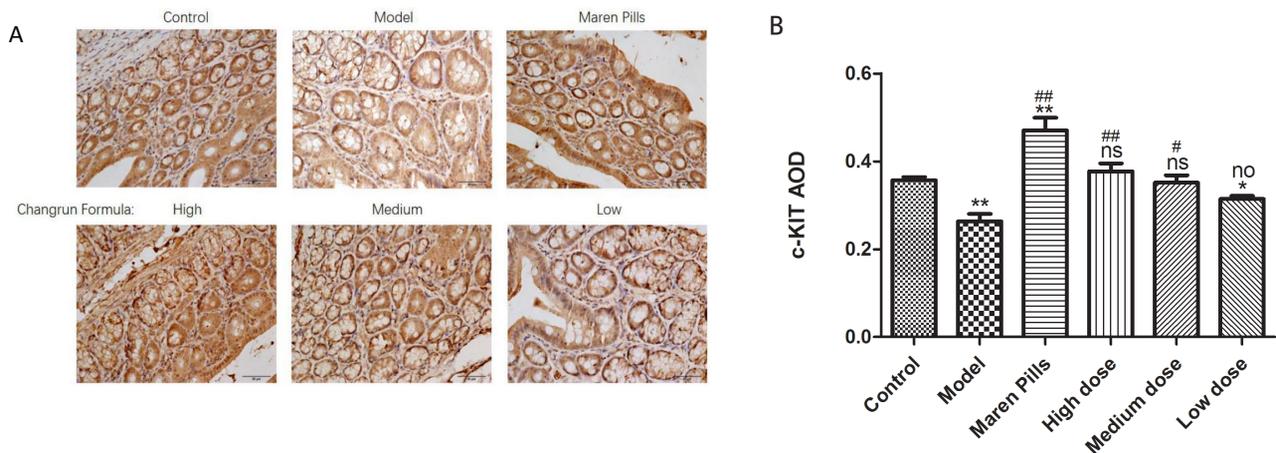
组别	N	首次排便时间(min)	排便颗粒(个)	粪便重量(g)
空白组(Control)	12	82.67±8.28	12.50±1.69	2.62±0.46*
模型组(Model)	12	178.58±17.40*	6.25±0.89*	1.28±0.23*
麻仁丸组(Maren Pills)	12	176.67±24.49*	6.33±1.20*	1.18±0.25*
肠润方高剂量组(High dose)	12	153.42±21.56*	6.17±1.03*	1.40±0.29*
肠润方中剂量组(Medium dose)	12	191.50±19.72*	5.42±1.34*	1.24±0.36*
肠润方低剂量组(Low dose)	12	156.58±17.66*	6.00±0.81*	1.48±0.21*

注:与空白组比较,\* $P<0.05$

2.2 免疫组化检测大鼠结肠组织中c-kit、SCF的分布与表达 c-kit、SCF均分布于结肠组织和间隙。从c-kit的表达情况分析,结果显示:与空白组比较,模型组和肠润方低剂量组的c-kit表达量均显著降低( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ ),肠润方高剂量组和中剂量组与空白组比较无显著差异( $P>0.05$ ),而麻仁丸组的c-kit表达量显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,麻仁丸组、肠润方高剂量组和中剂量组的c-kit表达量均显著升高( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ ),而肠润方低剂量组与模型组比较无显著差异( $P>0.05$ )。其中,肠润方高、中、低剂量

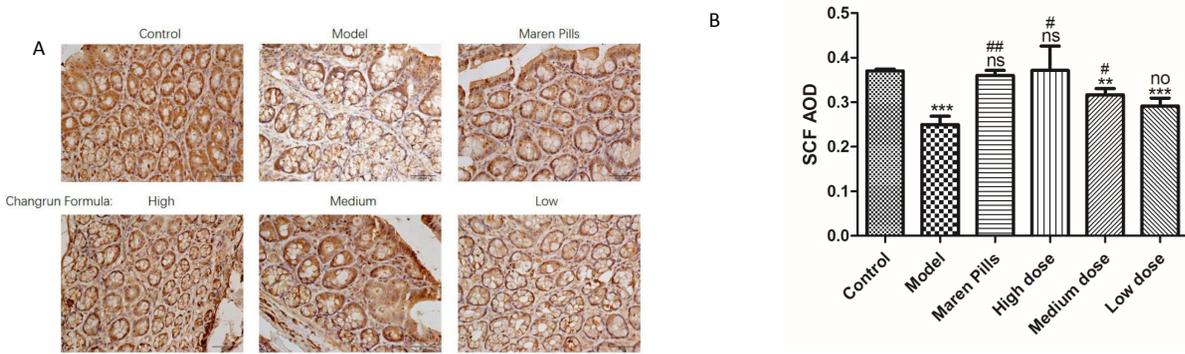
组的c-kit表达量呈逐渐下降的趋势。见图1。

从SCF的表达情况分析,结果显示:与空白组比较,模型组和肠润方中剂量组和低剂量组的SCF表达量均显著降低( $P<0.001$ 或 $P<0.01$ ),而麻仁丸组和肠润方高剂量组与空白组比较无显著差异( $P>0.05$ );与模型组比较,麻仁丸组、肠润方高剂量组和中剂量组的SCF表达量均显著升高( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ ),而肠润方低剂量组与模型组比较无显著差异( $P>0.05$ )。其中,肠润方高、中、低剂量组的SCF表达量呈逐渐下降的趋势。见图2。



注:与Control组比较,\*\* $P<0.01$ ,\* $P<0.05$ ,<sup>ns</sup> $P>0.05$ ;与Model组比较,### $P<0.01$ ,# $P<0.05$ ,<sup>no</sup> $P>0.05$ 。

图1 免疫组化检测各组大鼠结肠中c-kit分布与表达情况(SP×400)



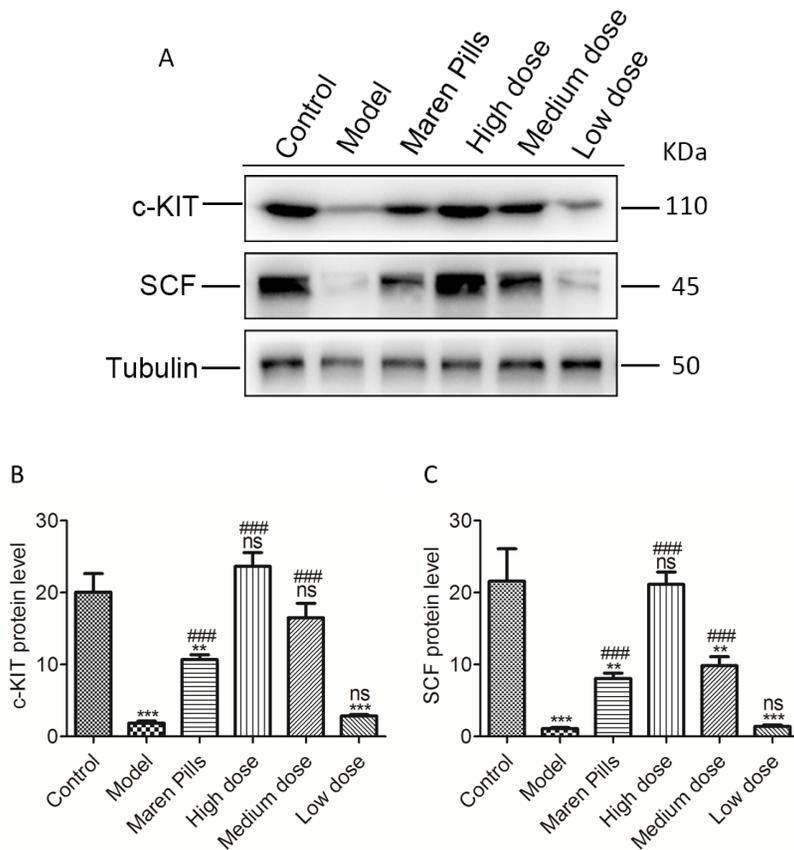
注:与Control组比较,\*\*\* $P < 0.001$ ,\*\* $P < 0.01$ ,\* $P < 0.05$ ,<sup>#</sup> $P > 0.05$ ;与Model组比较,### $P < 0.001$ ,## $P < 0.01$ ,# $P < 0.05$ ,<sup>no</sup> $P > 0.05$ 。

图2 免疫组化检测各组大鼠结肠中SCF分布与表达情况(SP×400)

**2.3 Western Blot 检测各组大鼠结肠组织中 c-kit、SCF 蛋白的表达** 与空白组比,模型组、麻仁丸组、肠润方低剂量组 c-kit 表达显著降低 ( $P < 0.001$  或  $P < 0.01$ ),中、高剂量组无显著差异 ( $P > 0.05$ );与模型组比,麻仁丸组及肠润方高、中剂量组 c-kit 表达显著升高 ( $P < 0.001$ ),肠润方低剂量组无显著差异 ( $P >$

0.05)。见图3A、3B。

与空白组比,模型组、麻仁丸组、肠润方中、低剂量组 SCF 表达显著降低 ( $P < 0.001$  或  $P < 0.01$ ),高剂量组无显著差异 ( $P > 0.05$ );与模型组比,麻仁丸组、肠润方高、中剂量组 SCF 表达显著升高 ( $P < 0.001$ ),低剂量组无显著差异 ( $P > 0.05$ )。见图3A、3C。



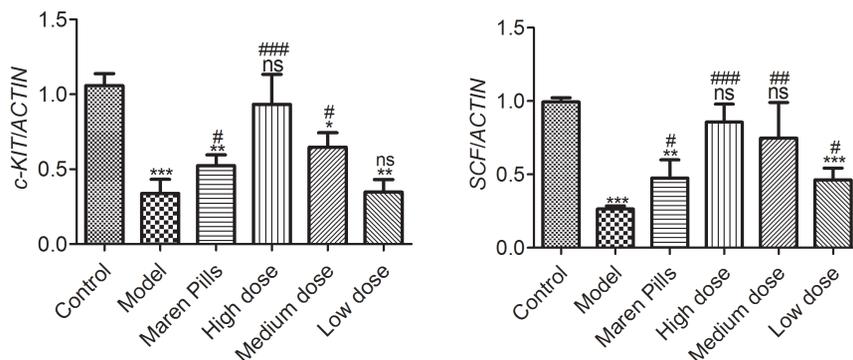
注:与Control组比较,\*\*\* $P < 0.001$ ,\*\* $P < 0.01$ ,\* $P < 0.05$ ,<sup>#</sup> $P > 0.05$ ;与Model组比较,### $P < 0.001$ ,## $P < 0.01$ ,# $P < 0.05$ ,<sup>no</sup> $P > 0.05$ 。

图3 western blot 检测大鼠结肠组织 c-kit、SCF 的蛋白水平

**2.4 RT-PCR 检测各组大鼠结肠组织中 c-kit、SCF mRNA 的表达** 与空白组比,模型组、麻仁丸组、肠润方中、低剂量组 c-kit mRNA 表达显著降低( $P < 0.001$  或  $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),高剂量组无明显差异( $P > 0.05$ );与模型组相比,麻仁丸组、肠润方高剂量组、中剂量组中 c-kit 表达显著升高( $P < 0.001$  或  $P < 0.05$ ),

低剂量组无显著差异( $P > 0.05$ )。见图4。

与空白组相比,模型组、麻仁丸组、肠润方低剂量组中 SCF mRNA 表达均显著降低( $P < 0.001$  或  $P < 0.01$ ),高、中剂量组无明显差异( $P > 0.05$ );与模型组相比,麻仁丸组、肠润方高、中、低剂量组均显著升高( $P < 0.001$  或  $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。见图4。



注:与 Control 组比较,\*\*\* $P < 0.001$ ,\*\* $P < 0.01$ ,\* $P < 0.05$ ,<sup>ns</sup> $P > 0.05$ ;与 Model 组比较,### $P < 0.001$ ,## $P < 0.01$ ,# $P < 0.05$ ,<sup>ns</sup> $P > 0.05$ 。

图4 RT-PCR 检测大鼠结肠组织 c-kit、SCF mRNA 表达水平

### 3 讨论

肠道平滑肌与心脏相同,也表现其自主的电节律性,它起源于肌间神经丛周围的起搏细胞,称为 Cajal 间质细胞。ICC 通过自发产生的节律性慢波控制肠道收缩的节点、频次与方向,慢波由肠神经-ICC-平滑肌细胞网络间的缝隙连接传播,最终引发平滑肌的周期收缩<sup>[5]</sup>。ICC 介导胃肠道肌电活动的起搏,同时也是肠内神经元向胃肠道平滑肌细胞传递信号的必要条件<sup>[6]</sup>,因此它被认为对胃肠运动的调控至关重要。ICC 的缺失和功能受损直接影响了胃肠道的正常运动,可引起便秘、糖尿病胃轻瘫、功能性消化不良等胃肠动力障碍性疾病。在 FC 患者中相当一部分人表现为结肠排空迟缓,而结肠动力减弱是造成这些患者排空迟缓的原因。充分的证据显示<sup>[7-9]</sup>,FC 的发生与 ICC 的改变密切相关。研究表明<sup>[10-11]</sup>,慢传输型便秘(STC)患者结肠组织中 ICC 数量与体积较正常人明显降低。一项对 20 例重度便秘患者结肠次全切除术的病理研究显示,有 60% 的患者出现 ICC 发育不全<sup>[12]</sup>。本研究采用复方地芬诺脂制备 FC 大鼠肠动力障碍模型,通过免疫组化法对大鼠结肠组织进行观察,模型组 c-kit、SCF 的表达明显降低,证实 ICC 参与了 FC 的发病机制。

在 ICC 的发育、分化及表型的维持中 c-kit、SCF

及其组成的 c-kit/SCF 信号通路扮演了重要的角色。c-kit 是由人染色体 4q11~12 的原癌基因 c-kit 编码的跨膜蛋白,由于其特异性表达于 ICC,ICC 可以通过标记 c-kit 抗体来识别。c-kit 在胞外配体结合区与神经元表达的配体干细胞因子 SCF 结合,SCF 发生二聚化后 c-kit 单体结构发生改变,产生均聚,导致细胞膜上氨基残基的自动磷酸化,启动 SCF/c-kit 信号通路,介导各种第二信号分子调节 ICC 的细胞功能<sup>[13]</sup>。研究表明<sup>[14]</sup>,ICC 与平滑肌细胞都来源于 Kit 阳性的前体细胞群,接受 Kit 信号转导的 Kit 阳性前体细胞保留 Kit 的表达并发展为功能性 ICC,而未经该途径转导的 Kit 阳性前体细胞则成为平滑肌细胞,提示 Kit 信号在对 ICC 种群的发育和维持至关重要。Tong W 等<sup>[15]</sup>研究发现,对小鼠注射抗 c-kit 单克隆抗体阻断 c-kit 后,小鼠肠内 ICC 几乎消失,监测电节律变化显示慢波活动丢失,局部应用 SCF 后发现经 c-kit 信号阻断的 ICC 数量和空肠电节律恢复,提示 SCF 激活的 c-kit 信号通路是调控 ICC 存活和增殖的关键途径。在本研究中,与空白组相比,模型组 c-kit、SCF 在结肠组织的表达明显降低,c-kit、SCF 蛋白及其基因表达水平下降。免疫组化结果显示 c-kit、SCF 的表达与肠润方剂量呈正相关,经肠润方(高、中剂量组)治疗,大鼠结肠组织 c-kit、SCF 蛋白及 c-kit mRNA、SCF mRNA 表达明显升

高,说明FC的发生及ICC的改变与c-kit、SCF表达异常、c-kit/SCF信号通路受阻相关,实验进一步表明肠润方治疗FC是通过介导c-kit、SCF mRNA的表达,提高c-kit、SCF蛋白的表达,从而修复c-kit/SCF信号通路,提高ICC的数量和功能,促使ICC恢复对胃肠道节律的正常调控。

中医认为正虚邪恋,缠绵不愈,正气不足是导致慢性便秘的根本原因。FC病机在于阴血不足,肠道失润,亦或是气虚气滞,推动无力,或两者兼有。治疗便秘时不应局限于通便,而应从患者自身整体状况出发,发挥中医整体把握、病症兼顾、平衡阴阳及调和气血的优势,改善便秘症状的同时减少其并发症,从而提高患者生存质量。基于上述认识,笔者提出“以补通秘”的治疗原则,其目的是通便不用泻药,通过健脾行气、滋阴润肠,促进肠道蠕动而达到标本兼治。肠润方是以“滋阴行气”为基本治法,具有滋阴益气、行气润肠的功效。肠润方治疗FC临床疗效显著,有效提高患者生存质量,近期有效率达90.0%,随访3个月有效率67.5%<sup>[2-3]</sup>。方中君药白术甘温补虚,归脾、胃经,既可补气又兼健脾,脾气健运则胃得以行其津液,胃肠分泌旺盛,蠕动增强,津行肠润而运肠,则肠枯便停之势得缓。玄参苦、咸、微寒,壮水之主,启肾水而能治肠燥舟停之液干;麦冬甘、寒,益阴生津,在《药品化义》尚有“治虚人元气不运,胸腹虚气痞满”的补气之说,玄参、麦冬配伍,增液益气而水流舟行,与方中其他药物相伍,泻而不峻,润而不膩,二者共为臣药。火麻仁甘、平,归脾、胃、大肠经,质润多脂,滋阴养血,润肠通便,善于治疗津血亏虚之肠燥便秘;枳实苦、辛、微寒,具有行气导滞,通导肠腑积滞的功效;槟榔辛温,行气布津,归胃与大肠二经,与方中诸味滋阴药物配伍开辛润之用,三者共为臣使之药。火麻仁配伍白术可益气养阴润肠;枳实配伍白术,取枳术丸之意,益气行津濡润肠道,起到消补兼施的作用;槟榔破气消积,配伍枳实,行胃肠之积滞通调肠道。诸药相合,共奏健脾行气、滋阴润肠之功,具有补重于消,寓消于补,以补为通的特点。

本研究表明,肠润方可明显提高c-kit、SCF蛋白表达及c-kit、SCF mRNA的表达水平,通过修复c-kit/SCF信号系统恢复ICC对胃肠道电节律的正常调控,达到促进肠道蠕动,恢复胃肠道动力的作用。前期研究表明<sup>[4]</sup>,肠润方亦可通过激活P38MAPK信号通路调控AQP3、AQP9的表达,起到促进黏膜分泌黏液润滑肠道作用。肠润方治疗便秘具有多靶点的优势,通过

整体调控而达到行气润肠的效果,进一步阐明基于滋阴行气法的中医药治疗FC的现代医学机制。

## 参考文献

- [1]Shahid S, RamzanZ, MaurerAH, et al. Chronic idiopathic constipation: more than a simple colonic transit disorder.[J]. Journal of clinical gastroenterology, 2012, 46(2): 150-154.
- [2]耿学斯,肖秋平,陈焯镛. 中西医结合经验性治疗功能性便秘38例临床研究[J]. 福建中医药大学学报, 2011, 21(6): 17-20.
- [3]耿学斯,肖秋平. 中西医结合经验性疗法对功能性便秘患者临床疗效及生活质量的影响[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(4): 1004-1007.
- [4]耿学斯,罗春华,肖秋平,等. 肠润方对功能性便秘大鼠结肠黏膜AQP3、AQP9表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016,31(11): 4699-4703.
- [5]TakedaYukari, Sean-MWard, Kenton-MSanders, et al. Effects of the gap junction blocker glycyrrhetic acid on gastrointestinal smooth muscle cells[J]. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology, 2005, 288(4): G832-G841.
- [6]Seidler-Barbara-Kettenberger-Anna Klein Sabine. Interstitial cells of Cajal integrate excitatory and inhibitory neurotransmission with intestinal slow-wave activity[J]. 2013.
- [7]ZhuF, Xu S, Zhang Y, et al. Total Glucosides of Paeony Promote Intestinal Motility in Slow Transit Constipation Rats through Amelioration of Interstitial Cells of Cajal[J]. PLoS One, 2016, 11(8): e160398.
- [8]Kashyap P, Gomez-PinillaPJ, PozoMJ, et al. Immunoreactivity for Ano1 detects depletion of Kit-positive interstitial cells of Cajal in patients with slow transit constipation.[J]. Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society, 2011, 23(8): 760-765.
- [9]Mostafa RM, MoustafaYM, HamdyH. Interstitial cells of Cajal, the Maestro in health and disease.[J]. World journal of gastroenterology, 2010, 16(26): 3239-3248.
- [10]Lyford GL, HeCL, SofferE, et al. Pan-colonic decrease in interstitial cells of Cajal in patients with slow transit constipation.[J]. Gut, 2002, 51(4): 496-501.
- [11]He CL, BurgartL, WangL, et al. Decreased interstitial cell of cajal volume in patients with slow-transit constipation.[J]. Gastroenterology, 2000, 118(1): 14-21.
- [12]CohenM, Cazals Hatem D, Duboc H, et al. Evaluation of interstitial cells of Cajal in patients with severe colonic inertia requiring surgery: a clinical-pathological study[J]. Colorectal Disease, 2017, 19(5): 462-467.
- [13]Kim HJ, KimN, KimYS, et al. Changes in the interstitial cells of Cajal and neuronal nitric oxide synthase positive neuronal cells with aging in the esophagus of F344 rats.[J]. PloS one, 2017, 12(11): e186322.
- [14]Al-ShboulOthmanA. The importance of interstitial cells of cajal in the gastrointestinal tract[J]. Saudi Journal of Gastroenterology, 2013, 19(1): 3.
- [15]Tong W, JiaH, ZhangL, et al. Exogenous stem cell factor improves interstitial cells of Cajal restoration after blockade of c-kit signaling pathway. [J]. Scandinavian journal of gastroenterology, 2010, 45(7-8): 844-851.

(收稿日期:2020-03-09)

(本文编辑:金冠羽)