

“朴实方”对慢传输型便秘小鼠结肠Cajal细胞及SCF/c-Kit信号通路的影响

赵向东¹ 王贝贝¹ 李芳娴¹ 曹永清² 王可为³

(1. 广州中医药大学附属深圳市中医院, 广东深圳 518000; 2. 上海中医药大学附属龙华医院, 上海 230023; 3. 南京中医药大学附属南京中医院, 江苏南京 210022)

摘要 目的:观察朴实方对慢传输型便秘(STC)模型小鼠结肠Cajal间质细胞(ICC)及干细胞因子(SCF)/酪氨酸激酶受体(c-Kit)信号通路的影响,探索朴实方治疗STC的作用机制。方法:50只ICR小鼠随机分为正常组、模型组、阳性对照组(普芦卡必利,每日灌胃给药量为0.3 mg/kg)和朴实方高、低剂量组(每日灌胃给药量分别为17.0、8.5 g/kg),每组10只。除正常组外,其余各组小鼠采用复方地芬诺酯混悬液连续灌胃2周构建STC模型。造模成功后各给药组每日分别予相应药物灌胃,正常组和模型组每日灌胃给予同体积生理盐水,各组均连续灌胃2周。干预完成后,使用活性炭灌胃法测定各组小鼠肠道推进率,苏木精-伊红(HE)染色比较各组小鼠结肠组织学特征,酶联免疫吸附(ELISA)法检测各组小鼠血清SCF含量,蛋白质免疫印迹(Western blot)法检测各组小鼠结肠组织c-Kit蛋白、SCF蛋白表达情况,酶联实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)法检测各组小鼠结肠组织c-Kit mRNA、SCF mRNA表达。结果:模型组小鼠肠道推进率明显低于正常组($P < 0.01$),各给药组小鼠肠道推进率均明显高于模型组($P < 0.01$)。模型组小鼠结肠肌层厚度降低,腺体数量减少且充血、水肿,各给药组小鼠结肠组织病理改变较模型组减轻,以朴实方高剂量组和阳性对照组改善更为显著。模型组小鼠血清SCF含量和结肠组织c-Kit mRNA、SCF mRNA及c-Kit、SCF蛋白相对表达量均明显低于正常组($P < 0.01$);朴实方高、低剂量组及阳性对照组小鼠血清SCF含量明显高于模型组($P < 0.01$),结肠组织c-Kit mRNA、SCF mRNA及c-Kit、SCF蛋白相对表达量均明显高于模型组($P < 0.05$, $P < 0.01$)。上述指标各给药组间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论:朴实方可以提高STC模型小鼠肠道推进率,改善小鼠结肠组织病理,其可能通过上调结肠组织中c-Kit和SCF的表达,激活SCF/c-Kit信号通路,促进结肠ICC增殖,增强肠道蠕动,从而改善STC模型小鼠便秘状态。

关键词 功能性便秘;慢传输型便秘;朴实方;Cajal细胞;SCF/c-Kit信号通路

基金项目 上海市进一步加快中医药事业发展三年行动计划项目[ZY(2018-2020)-CCCX-1007];深圳市科技计划项目[JCYJ20220531092203007];南京市中医药青年人才培养计划(ZYQ20042)

慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)是功能性便秘的一种,以结肠传输功能障碍,肠内容物通过缓慢为主要特点,主要症状为排便困难,并伴有排便频次降低、粪便干燥坚硬等表现^[1]。本病全球发病率为14%,其中我国发病率为4.0%~10.0%^[2-3]。便秘会增加结直肠癌发病风险,诱发心脑血管疾病,常伴有焦虑、抑郁、睡眠障碍等,严重影响患者的生活质量^[4]。现代研究发现,Cajal间质细胞(interstitial cells of cajal, ICC)在胃肠道动力障碍性疾病中具有重要作用^[5]。ICC的特异受体酪氨酸激酶受体(c-Kit)及其天然配体干细胞因子(stem cell factor, SCF)构成的信号途径对ICC的发生、发育及功能维持具有重要的调控作用^[6]。

朴实方为龙华医院曹永清教授治疗便秘的经验方,基于四君子汤化裁,加入枳实、厚朴、丹参等以活血行气、健脾益气,治疗便秘临床疗效显著^[7]。本研究使用复方地芬诺酯建立STC小鼠模型,观察朴实方对STC模型小鼠SCF/c-Kit信号通路的影响,以挖掘朴实方治疗STC的作用机制,为临床用药提供科学依据。

1 实验材料

1.1 实验动物 SPF级8周龄ICR雄性小鼠50只,体质量(27 ± 2)g,购自上海史莱克实验动物有限公司,许可证号:SCXK(沪)2017-0005。饲养于上海中医药大学动物中心,饲养温度为16~22℃,相对湿度45%~55%,自由饮水与进食,昼夜光照交替12h。本

实验经上海中医药大学实验动物伦理委员会批准(批准编号:PZSHUTCM19030835)。

1.2 实验药物 朴实方冻干粉:朴实方药物组成为党参20 g、茯苓15 g、白术20 g、厚朴15 g、枳实15 g、丹参30 g,饮片均购自上海中医药大学附属龙华医院中药房。中药饮片加入1100 mL超纯水,完全浸泡30 min,大火煮沸后转小火再煎煮30 min,将药液倒出,剩余药材重复上述步骤再次煎煮。2次水煎药液合并、过滤、蒸发浓缩、冷冻干燥,冻干粉置于-20℃环境中保存备用。实验开始前先配制成浓度为1.70 g/mL(高剂量)的母液,再取部分母液用超纯水稀释成0.85 g/mL(低剂量)浓度使用。复方地芬诺酯片(常州康普药业有限公司,批号1807013),研磨成粉,用蒸馏水配制成浓度1 mg/mL的混悬液。琥珀酸普芦卡必利片(prucalopride, Janssen Cilag S. P.A公司,批号IEL0X00),研磨成粉,用蒸馏水配制成浓度0.03 mg/mL的混悬液。

1.3 主要试剂 活性炭(2018090716,广州鸿生炭业化工有限公司),阿拉伯树胶(2018040506,合肥博美生物科技责任有限公司),SCF酶联免疫吸附(ELISA)法试剂盒(00502072019,上海司鼎生物科技有限公司),RNA逆转录试剂盒(FSQ-101,日本TOYOBO公司),BCA蛋白试剂盒(P0012S,碧云天生物技术有限公司)。

1.4 主要仪器 荧光定量PCR分析仪(STEPONE,美国ABI公司),Mini pate spinner(MPS1000,美国Labnet公司),稳压稳流电泳仪(DYY-6B,北京六一生物科技有限公司),高速冷冻离心机(450R,德国Eppendorf公司),数显恒温水浴锅(HH-1,上海梅香仪器有限公司),台式低速冷冻离心机(L535R,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司),荧光倒置显微镜(IX71,日本OLYMPUS公司),冻干机(Alpha2-4/LD plus,德国CHRIST公司),旋转蒸发器(R220SE,上海巴玖实业有限公司)。

2 实验方法

2.1 分组与造模 50只ICR小鼠适应性饲养1周后随机分为正常组、模型组、阳性对照组和朴实方低、高剂量组,每组10只。除正常组外,其余各组小鼠予复方地芬诺酯混悬液灌胃造模,给药剂量为每日10 mg/kg,1次/d,连续14 d^[8]。当小鼠出现进食减少、体质量减轻和大便粒型小、干硬等表现时,表明造模成功。正常组以等量生理盐水灌胃,1次/d,连续14 d。此期间若出现小鼠死亡,则予补足,以确保造模完成后各组鼠数均为10只。

2.2 给药 造模完成后,阳性对照组灌胃给予琥珀酸普芦卡必利混悬液0.3 mg/(kg·d),朴实方高、低剂量组分别灌胃给予相应中药溶液17.0、8.5 g/(kg·d),正常组、模型组每日灌胃给予同体积生理盐水,各组均每日灌胃1次,给药体积均为0.1 mL/10 g,连续14 d。

2.3 取材 末次给药结束后,各组小鼠禁食不禁水24 h,管饲法灌胃0.2 mL 5%活性炭,30 min后眼眶采血,脱颈椎处死,取肠管进行肠道推进功能检测,完成后截取适当长度结肠,使用PBS溶液将结肠内的粪便清洗干净,截取3段长1~2 cm的结肠组织,其中1段浸泡于10%多聚甲醛中,2段放入冻存管并立即转移至-80℃冰箱冻存,以待后续检测使用。

2.4 指标检测

2.4.1 测定炭末推进率观察肠道推进功能 各组小鼠灌胃活性炭30 min后,取包括胃和直肠末端在内的整个肠管,在肠道保持充分松弛情况下量取其肠道总长度及活性炭染色的肠管长度,计算炭末推进率(即为肠道推进率)。炭末推进率(%)=(炭末前沿至幽门的距离/肠道总长度)×100%。

2.4.2 苏木精-伊红(HE)染色法观察结肠组织学特征 取浸泡于10%多聚甲醛中固定的各组小鼠结肠组织,按照脱水、透明、浸蜡、包埋的顺序处理,切片、捞片、烤片,依次予二甲苯、无水乙醇、95%乙醇、80%乙醇浸泡,自来水漂洗,苏木素、盐酸染色,自来水返蓝,1%伊红染色,最后使用95%乙醇、无水乙醇脱水,二甲苯脱水透明,中性树胶封片,显微镜下观察并拍照。

2.4.3 ELISA法检测血清SCF水平 取各组小鼠血清,按ELISA试剂盒说明书上的方法检测小鼠血清中SCF含量。

2.4.4 RT-PCR法检测结肠组织SCF、c-Kit mRNA表达 取冻存的各组小鼠结肠组织约100 mg,采用Trizol法提取细胞总RNA,按照逆转录试剂盒说明书操作,将RNA反转录合成cDNA;然后进行实时定量PCR,严格按照SYBR试剂盒操作,反转录体系为20 μL,上下游引物各1.5 μL,cDNA使用2 μL,反应条件为首先95℃持续2 min进行预变性,随后95℃持续5 s,60℃持续10 s,连续35~40个循环后检测溶解曲线。反应结束后得到Ct值,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算mRNA相对表达量。引物序列见表1。

2.4.5 蛋白质免疫印迹(Western blot)法检测结肠组织SCF、c-Kit蛋白表达 取冻存的各组小鼠结肠组织,快速研磨碾碎,收集蛋白样品,测定浓度;加

入适量浓缩的SDS-PAGE蛋白上清缓冲液进行电泳及转膜;转膜结束后,将PVDF膜室温封闭1 h, PBST冲洗3次;二抗孵育,重复上述操作。采用化学发光检测系统,将PVDF膜加入化学发光底物,后将其置入增光屏的暗盒中曝光,扫描图片显影、定影。以GAPDH单抗检测作为内参对照,使用Image J软件分析各组蛋白的表达。

表1 c-Kit、SCF及内参引物序列

引物	序列	产物长度/bp
c-Kit	上游引物: 5'-AACGATGTGGGCAAGAGTTC-3'	146
	下游引物: 5'-CCTCGACAACCTTCCATTGT-3'	
SCF	上游引物: 5'-ACGTGGACCAGTGAAGAAC-3'	158
	下游引物: 5'-TTGCACATTTCAGCATTCCCTC-3'	
GAPDH	上游引物: 5'-TTGCACATTTCAGCATTCCCTC-3'	146
	下游引物: 5'-CCATTGTCAGTGGCAAAG-3'	

2.5 统计学方法 使用SPSS 22.0软件对数据进行统计学分析。本研究所有计量资料均符合正态分布,使用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。正常组和模型组比较采用两独立样本 t 检验;模型组与各给药组比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组小鼠肠道推进率比较 模型组小鼠的肠道推进率明显低于正常组($P < 0.01$),朴实方高、低剂量组及阳性对照组小鼠肠道推进率明显高于模型组($P < 0.01$)。各给药组组间肠道推进率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

表2 各组小鼠肠道推进率比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	肠道推进率/%
正常组	10	58.22±4.64
模型组	10	39.61±3.61**
朴实方低剂量组	10	54.76±4.17##
朴实方高剂量组	10	60.85±3.75##
阳性对照组	10	55.48±2.87##

注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,### $P < 0.01$ 。

3.2 各组小鼠结肠组织学特征比较 正常组小鼠结肠黏膜表面光滑,可见大量腺体,无明显水肿充血;模型组小鼠结肠肌层厚度降低,腺体数量减少,出现明显充血、水肿;朴实方高剂量组及阳性对照组小鼠结肠组织肌层厚度较模型组明显增加,腺体数量增加,排列较整齐,充血水肿明显改善;朴实方低剂量组小鼠结肠黏膜组织病理改变仅轻度改善。见图1。

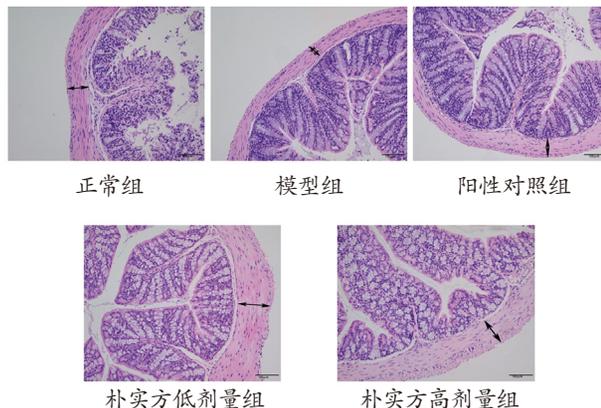


图1 各组小鼠结肠组织病理表现(HE, ×200)

3.3 各组小鼠血清SCF含量比较 模型组小鼠血清SCF含量显著低于正常组($P < 0.01$);朴实方高、低剂量组和阳性药物组小鼠血清SCF含量明显高于模型组($P < 0.01$);各给药组组间SCF含量比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

表3 各组小鼠血清SCF含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	SCF/(pg/mL)
正常组	10	46.46±1.57
模型组	10	26.33±2.11**
朴实方低剂量组	10	39.59±1.61##
朴实方高剂量组	10	42.02±1.44##
阳性对照组	10	39.48±0.99##

注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,### $P < 0.01$ 。

3.4 各组小鼠结肠组织SCF mRNA、c-Kit mRNA相对表达量比较 模型组小鼠结肠组织SCF mRNA、c-Kit mRNA相对表达量显著低于正常组($P < 0.01$);朴实方高、低剂量组和阳性对照组小鼠上述指标明显高于模型组($P < 0.01$);上述指标各给药组组间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表4。

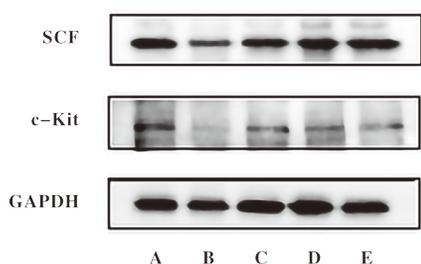
表4 各组小鼠结肠组织SCF mRNA、c-Kit mRNA相对表达量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	SCF mRNA	c-Kit mRNA
正常组	10	1	1
模型组	10	0.50±0.11**	0.51±0.08**
朴实方低剂量组	10	0.79±0.07##	0.67±0.04##
朴实方高剂量组	10	0.85±0.09##	0.80±0.04##
阳性对照组	10	0.81±0.14##	0.62±0.03##

注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,### $P < 0.01$ 。

3.5 各组小鼠结肠组织SCF、c-Kit蛋白表达比较 模型组小鼠结肠组织SCF、c-Kit蛋白相对表达量明显低于正常组($P < 0.01$);朴实方高、低剂量组和阳性对照组小鼠上述蛋白相对表达量均明显

高于模型组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 上述指标各给药组组间比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图2、表5。



注: A-正常组; B-模型组; C-朴实方低剂量组; D-朴实方高剂量组; E-阳性对照组。

图2 各组小鼠结肠组织SCF、c-Kit蛋白电泳图

表5 各组小鼠结肠组织SCF、c-Kit蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	SCF蛋白	c-Kit蛋白
正常组	10	0.73 ± 0.06	0.43 ± 0.04
模型组	10	0.39 ± 0.04**	0.20 ± 0.02**
朴实方低剂量组	10	0.59 ± 0.07#	0.36 ± 0.04#
朴实方高剂量组	10	0.70 ± 0.04##	0.41 ± 0.04##
阳性对照组	10	0.62 ± 0.06#	0.37 ± 0.05##

注: 与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

4 讨论

慢传输型便秘是以肠道传输功能减退为特点的顽固性便秘, 本病发病机制复杂, 目前普遍认为与肠道神经系统紊乱、ICC细胞损伤、胃肠道激素水平异常、神经递质紊乱、肠道菌群失调、精神心理因素、肠道平滑肌形态和功能异常等因素相关^[4]。由于本病病因复杂, 症状顽固, 临床治疗往往难以取得满意效果。目前主要的治疗手段有外科手术、中西药物治疗、针灸、物理疗法及心理精神治疗等, 其中口服西药包括促动力药、容积性泻药、渗透性泻药、刺激性泻药、润滑剂等。本研究的阳性药物普芦卡必利是新型二氢苯并咪唑甲酰胺衍生物的代表药物, 可特异并选择性激动和表达肠神经系统神经元5-羟色胺(5-HT)受体, 诱导肠道大幅推进性收缩, 具有显著的促动力作用。

本研究采用复方地芬诺酯灌胃诱导小鼠结肠传输功能紊乱。复方地芬诺酯是用于治疗腹泻的传统药物, 长期服用会导致大肠中的水分被过度吸收, 抑制肠道运动并引起便秘, 但它不影响造模小鼠的正常生理功能, 并接近便秘的临床症状, 是一种有效的功能性便秘造模药物^[9]。

中医学对便秘的认识由来已久,《伤寒论·辨脉

法》提出:“其脉浮而数, 能食, 不大便者, 此为实, 名曰阳结也。……名曰阴结也。”曹永清教授认为STC的主要病机是中焦失调、气郁湿阻、血瘀肠络^[7], 自拟“朴实方”, 临床疗效显著。朴实方由党参、茯苓、白术、枳实、厚朴、丹参组成。其中党参、茯苓、白术为该方主药, 来源于四君子汤。原方中人参为君, 甘温益气, 健脾养胃; 臣以苦温之白术, 健脾燥湿, 加强益气助运之力; 佐以甘淡的茯苓, 健脾渗湿, 苓术相配, 则健脾祛湿之功益著。STC患者大便困难, 腑气不通, 故加厚朴宽肠下气、化滞除胀, 枳实行气消积, 二药共用调畅气机而除痞满, 以消无形之气滞; 辅以丹参活血通络。

目前STC的发病机制尚未完全明确, 研究发现Cajal间质细胞的数量和功能异常可导致肠道传输功能紊乱, 而Cajal间质细胞数量与表型的改变与SCF/c-Kit通路密切相关^[10]。Cajal间质细胞主要分布于结肠神经系统和平滑肌之间, 是胃肠道平滑肌的慢波起搏细胞, 参与慢波的形成, 介导肠道神经信号传导, 从而调控胃肠道肌肉收缩功能^[11-13]。STC的发病机制与胃肠道运动能力下降有关, 而起源于环肌和纵肌交界区内的慢波可通过各肌层Cajal间质细胞传导电信号来影响胃肠道运动功能^[14]。本研究结果表明, 模型组小鼠肠道推进率明显降低, 经过朴实方和琥珀酸普芦卡必利干预后明显改善, 小鼠的肠道运动能力明显加强, 其中朴实方高、低剂量和琥珀酸普芦卡必利疗效相当, 可供临床参考。本研究还发现朴实方对STC模型小鼠肠道运动能力的改善无明显剂量依赖性, 可为临床用药的合理剂量提供依据。

c-Kit是ICC的特异性标志物, 属受体酪氨酸激酶家族第3亚类, 与其配体SCF结合后所启动的信号通路, 对ICC的发育、分化及表型维持至关重要, 是直接反映ICC数量和密度的标签。有学者研究发现, STC患者结肠组织c-Kit mRNA及其蛋白表达降低, 提示SCF/c-Kit信号通路在结肠Cajal细胞减少、结肠传输障碍所引起的STC中发挥重要作用^[15-16]。ICC配体SCF来源于神经元细胞和平滑肌细胞, 可促进ICC的发生和分化, 并维持其正常的生理功能^[17]。研究表明, ICC细胞的数量及功能和SCF/c-Kit信号通路密切相关。SCF是c-Kit的天然配体, 每个c-Kit单体都通过细胞外结构域与SCF结合。在SCF二聚化之后, c-Kit单体的结构发生变化并产生同源二聚化, 导致细胞膜中氨基酸残基的自动磷酸化并刺激各种第2信号分子来调节ICC的细胞功能^[6]。本研究发现, STC模型小鼠的结

肠肌层厚度降低,腺体数量减少且充血、水肿,血清SCF含量下降,结肠组织c-Kit、SCF mRNA及其蛋白表达均显著下降,经朴实方和琥珀酸普芦卡必利治疗后上述病理表现和指标都得到明显改善,各给药组小鼠血清SCF含量和结肠组织c-Kit、SCF mRNA及其蛋白表达比较差异均无统计学意义,说明朴实方在对SCF便秘小鼠的治疗过程中可以激活SCF/c-Kit信号通路,修复ICC并增加其数量。

综上,朴实方可提高小鼠肠道推进率,改善小鼠结肠组织结构,上调结肠组织中c-Kit和SCF的表达,激活SCF/c-Kit信号通路,促进结肠ICC增殖,增强肠道蠕动,从而改善小鼠便秘状态。本研究初步阐释了朴实方治疗STC的作用机制,然而中药复方具有多成分、多靶点作用,课题组拟进一步探讨朴实方有效成分及其他作用靶点,深入研究其作用机制,从而更好地指导临床用药。此外,本实验中朴实方达到和普芦卡必利相似的治疗效果,比预期结果好,可能存在其他作用机制出现了叠加效果,也值得设计相关实验以进一步研究。

参考文献

- [1] BHARUCHA A E, LACY B E. Mechanisms, evaluation, and management of chronic constipation[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158 (5): 1232.
- [2] SUARES N C, FORD A C. Prevalence of, and risk factors for, chronic idiopathic constipation in the community: systematic review and meta-analysis[J]. *Am J Gastroenterol*, 2011, 106 (9): 1582.
- [3] LONG Y, HUANG Z, DENG Y, et al. Prevalence and risk factors for functional bowel disorders in South China: a population based study using the Rome III criteria[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2017, 29 (1): 12897. doi: 10.1111/nmo.12897.
- [4] 朱国栋, 朱安龙. 慢传输型便秘病因机制研究进展[J]. *医学综述*, 2020, 26 (23): 4623.
- [5] YUN H Y, SUNG R, KIM Y C, et al. Regional distribution of interstitial cells of Cajal (ICC) in human stomach[J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2010, 14 (5): 317.
- [6] 田姣, 王宝西, 江逊. 胃肠道Cajal间质细胞与干细胞因子/c-kit信号系统的研究进展[J]. *临床儿科杂志*, 2013, 31 (4): 385.
- [7] 赵向东, 曹永清, 徐向. 基于中医传承辅助系统的曹永清治疗便秘用药规律研究[J]. *国际中医中药杂志*, 2020, 42 (6): 583.
- [8] 阳艾玲, 闫怡欣, 何昊, 等. 四种小鼠功能性便秘模型制备的比较研究[J]. *中国医学工程*, 2019, 27 (3): 1.
- [9] 贾红慧, 袁洁, 李强华, 等. 实验条件对复方地芬诺酯小鼠便秘模型的影响[J]. *中药药理与临床*, 2008, 24 (4): 70.
- [10] 高丽鹏, 朱书斌, 刘金响, 等. 基于SCF/c-kit通路探讨中医药调控Cajal细胞治疗慢传输型便秘的研究进展[J]. *现代消化及介入诊疗*, 2021, 26 (6): 779.
- [11] LIES B, BECK K, KEPPLER J, et al. Nitrergic signalling via interstitial cells of Cajal regulates motor activity in murine colon[J]. *J Physiol*, 2015, 593 (20): 4589.
- [12] DRUMM B T, REMBETSKI B E, MESSERSMITH K, et al. Pacemaker function and neural responsiveness of subserosal interstitial cells of Cajal in the mouse colon[J]. *J Physiol*, 2020, 598 (4): 651.
- [13] STREUTKER C J, HUIZINGA J D, DRIMAN D K, et al. Interstitial cells of Cajal in health and disease. Part I: normal ICC structure and function with associated motility disorders[J]. *Histopathology*, 2007, 50 (2): 176.
- [14] 杨环月, 王志民, 张振, 等. Cajal间质细胞与结肠动力[J]. *中国现代普通外科进展*, 2016, 19 (10): 837.
- [15] TONG W D, LIU B H, ZHANG L Y, et al. Expression of c-kit messenger ribonucleic acid and c-kit protein in sigmoid colon of patients with slow transit constipation[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2005, 20 (4): 363.
- [16] ZHANG X, ZHENG F J, ZHANG Z. Therapeutic effect of *Cistanche deserticola* on defecation in senile constipation rat model through stem cell factor/C-kit signaling pathway[J]. *World J Gastroenterol*, 2021, 27 (32): 5392.
- [17] EPPERSON A, HATTON W J, CALLAGHAN B, et al. Molecular markers expressed in cultured and freshly isolated interstitial cells of Cajal[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2000, 279 (2): C529. doi: 10.1152/ajpcell.2000.279.2.C529.

第一作者: 赵向东 (1980—), 男, 医学博士, 主任医师, 研究方向为中西医结合诊治肛肠疾病。

通讯作者: 王可为, 医学硕士, 主治中医师。kowi1231@163.com

收稿日期: 2023-05-20

编辑: 吴宁

