

枳实含药血清对大鼠胃窦平滑肌细胞收缩效应及细胞内钙离子浓度、钙调蛋白表达的影响

李东鑫, 凌江红, 王煜姣, Akarayosapong Pichamon, 宁海恩, 张智, 刘培凤

■背景资料

胃动力障碍疾病是临床常见胃肠道疾病之一, 是以胃肠运动异常、出现胃平滑肌收缩下降、张力低的一系列疾病, 中药枳实在促胃动力方面研究前人已经做过许多报道, 但其具体的促胃动力机制还不十分明确, 而在 Ca^{2+} 及钙调蛋白分子水平的研究还未有相关报道.

李东鑫, 凌江红, 王煜姣, Akarayosapong Pichamon, 宁海恩, 张智, 刘培凤, 广西医科大学第一附属医院中医科广西壮族自区南宁市 530021

李东鑫, 在读硕士, 主要从事中西医结合治疗临床消化系统疾病的研究.

广西自然科学基金资助项目, No. 2013GXNSFAA019139

广西中医药民族医药继承创新工程攻关课题基金资助项目, No. GZGG13-04

广西高校科学技术研究重点项目基金资助项目, No. 2013ZD013

作者贡献分布: 此课题由凌江红设计; 实验研究过程由凌江红指导, 李东鑫、凌江红、王煜姣、Akarayosapong Pichamon、宁海恩、张智及刘培凤共同操作完成; 研究所用试剂由凌江红提供; 论文写作由凌江红与李东鑫完成.

通讯作者: 凌江红, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院中医科.

459183870@qq.com

电话: 0771-5356515

收稿日期: 2014-12-16 修回日期: 2015-01-16

接受日期: 2015-01-22 在线出版日期: 2015-03-18

National Minority Medicine, No. GZGG13-04; Guangxi Science and Technology Research Fund for Colleges and Universities, No. 2013ZD013

Correspondence to: Jiang-Hong Ling, Professor, Chief Physician, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 459183870@qq.com

Received: 2014-12-16 Revised: 2015-01-16

Accepted: 2015-01-22 Published online: 2015-03-18

Abstract

AIM: To observe the effect of drug-containing serum of single herb immature bitter orange on cell contraction, intracellular Ca^{2+} concentration and calmodulin expression in rat antral smooth muscle cells.

METHODS: Rat drug-containing serum of immature bitter orange was prepared using the routine method. The drug-containing serum was divided into different concentration groups (10%, 20%, and 50% drug-containing serum), and normal serum was used as a blank control. Antral smooth muscle cells were extracted using enzymatic method and cultured. The effect of each group of serum on antral smooth muscle cell contraction was observed under an inverted microscope. The changes of intracellular Ca^{2+} concentration in the antral smooth muscle cells were tested using confocal laser scanning microscopy. Calmodulin expression in antral smooth muscle cells was detected using immunohistochemical method.

RESULTS: The effect of drug-containing serum of immature bitter orange on antral smooth muscle cell contraction and intracellular Ca^{2+}

Effect of drug-containing serum of immature bitter orange on cell contraction, intracellular Ca^{2+} concentration and calmodulin expression in rat antral smooth muscle cells

Dong-Xin Li, Jiang-Hong Ling, Yu-Jiao Wang, Akarayosapong Pichamon, Hai-En Ning, Zhi Zhang, Pei-Feng Liu

Dong-Xin Li, Jiang-Hong Ling, Yu-Jiao Wang, Akarayosapong Pichamon, Hai-En Ning, Zhi Zhang, Pei-Feng Liu, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: Guangxi Natural Science Foundation, No. 2013GXNSFAA019139; Guangxi Research Fund for Inheritance and Innovation Projects of Chinese

■同行评议者

唐文富, 教授, 主任医师, 四川大学华西医院中西医结合科

fluorescence intensity was dose-dependent. Cell contraction and intracellular Ca^{2+} fluorescence intensity increased with the increase of drug concentration ($P < 0.05$). Antral smooth muscle cell contraction and intracellular Ca^{2+} fluorescence intensity differed significantly between the 20% and 50% drug-containing serum groups and the blank control group ($P < 0.05$). Antral smooth muscle intracellular calmodulin expression differed significantly between the 50% drug-containing serum group and the blank control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The drug-containing serum of immature bitter orange can promote antral smooth muscle cell contraction possibly *via* mechanism related to the increase of intracellular Ca^{2+} concentration and the modulation of calmodulin expression.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Immature bitter orange; Drug-containing serum; Smooth muscle cell; Ca^{2+} ; Calmodulin

Li DX, Ling JH, Wang YJ, Pichamon A, Ning HE, Zhang Z, Liu PF. Effect of drug-containing serum of immature bitter orange on cell contraction, intracellular Ca^{2+} concentration and calmodulin expression in rat antral smooth muscle cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(8): 1224-1230 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1224.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1224>

摘要

目的: 观察单味中药枳实含药血清对大鼠胃窦平滑肌细胞收缩效应及细胞内 Ca^{2+} 、钙调蛋白表达的影响。

方法: 按照血清药理学通法制备大鼠枳实含药血清, 将血清分为枳实组(10%、20%、50%枳实含药血清)、空白血清对照组, 酶解法提取胃窦平滑肌细胞并进行培养, 倒置显微镜下观察各组对胃窦平滑肌细胞收缩效应, 激光共聚焦显微镜技术检测各组加药前后胃窦平滑肌细胞内 Ca^{2+} 浓度变化, 免疫组织化学方法观察各组对胃窦平滑肌细胞内钙调蛋白的表达。

结果: 10%、20%、50%枳实含药血清对胃窦平滑肌细胞收缩及细胞内 Ca^{2+} 荧光强度的影响呈药物剂量依赖关系, 细胞收缩、细胞内 Ca^{2+} 荧光强度随药物浓度的增高而增强($P < 0.05$), 20%、50%枳实含药血清与空白

血清对照组对胃窦平滑肌细胞收缩、细胞内 Ca^{2+} 荧光强度差异有统计学意义($P < 0.05$), 50%枳实组与空白血清对照组对胃窦平滑肌细胞内钙调蛋白表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。

结论: 枳实含药血清可以促进胃窦平滑肌细胞收缩, 其机制可能与增加细胞内 Ca^{2+} 浓度、调节钙调蛋白的表达有关。

© 2015版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 枳实; 含药血清; 平滑肌细胞; 钙离子; 钙调蛋白

核心提示: 10%、20%、50%枳实含药血清对胃窦平滑肌细胞的收缩及其对细胞内 Ca^{2+} 荧光强度的影响呈对应关系, 50%枳实含药血清可增强胃窦平滑肌细胞内钙调蛋白的表达, 这提示着枳实含药血清对胃窦平滑肌细胞的收缩、细胞内 Ca^{2+} 变化、钙调蛋白的表达有着相关性。

李东鑫, 凌江红, 王煜姣, Akarayosapong Pichamon, 宁海恩, 张智, 刘培凤. 枳实含药血清对大鼠胃窦平滑肌细胞收缩效应及细胞内钙离子浓度、钙调蛋白表达的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23(8): 1224-1230 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/1224.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i8.1224>

0 引言

枳实是一种重要的理气药, 归脾、胃经, 具有破气消积、化痰散痞的作用, 用于积滞内停、痞满胀痛、泻痢后重、大便不通、痰滞气阻胸痹、结胸、胃下垂^[1]等症。枳实的破气作用较强, 临床上常与其他药物组方, 如“枳实消痞丸”、“枳实导滞丸”、“枳术丸”等^[2-5], 对胃肠运动功能障碍有良好的调整作用。有研究^[6]证实枳实含药血清对大鼠胃肠平滑肌条有兴奋作用。胃肠平滑肌的收缩活动与胞内 Ca^{2+} 浓度变化密切相关, 而调控细胞内 Ca^{2+} 释放也是调控平滑肌舒缩活动的有效途径^[7]。钙调蛋白是一种广泛存在于生物体的 Ca^{2+} 结合蛋白, 钙调蛋白能与 Ca^{2+} 结合, 形成有活性的 Ca^{2+} , 并能与靶蛋白相互作用产生一系列的生理效应使平滑肌收缩^[8]。本研究将从细胞水平进一步证实枳实的促胃动力作用, 并基于钙离子的变化及钙调蛋白的表达来探讨其作用机制。

■ 研究前沿

近年来对枳实组方用药促胃肠动力的药理药效及枳实成分提取的研究较多, 对单味枳实的促胃肠动力机制研究较欠缺, 许多涉及细胞分子水平的研究还待解决。

■ 相关报道

杨秀丽就有关枳实在胃肠动力方面机制的报道, 枳实对胃肠的作用因动物种属和功能状态不同而异, 其作用机制与胆囊收缩素(CCK)、生长抑素(SS)、H1受、P物质等都有着相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 枳实、吗丁啉均由广西医科大学第一附属医院药房提供。50只SPF级SD大鼠购自广西医科大学实验动物中心。II型胶原酶购自美国GIBCO公司; M199培养液购自美国Hyclone公司; 青霉素-链霉素溶液、0.25%胰酶+0.02%EDTA、D-Hanks液购自杭州吉诺生物医药技术有限公司; 胎牛血清购自美国SCIENCELL公司; 水合氯醛、25%戊二醛购自成都科龙试剂公司; Fluo-3-AM购自北京泛博生物化学有限公司。

1.2 方法

1.2.1 动物含药血清的制备与血清分组: 按文献[9,10]制备含药血清, 取SD大鼠18只, 雌雄不限, 用简单随机分组法分为枳实组、空白血清对照组, 分别予枳实煎液[(按成人60 kg/人)临床用药量的10倍, 按1:5容积比, 用蒸馏水浸泡30 min, 煎煮2次(30 min/次)后, 过滤, 去渣取汁, 合并滤液加热蒸发, 制成1.015 kg/L水煎浓缩液, 4℃保存备用]、生理盐水灌胃, 灌胃量1.5 mL/100 g, 2次/d, 间隔12 h, 共3 d; 于末次灌胃后1 h后10%水合氯醛腹腔麻醉, 从腹主动脉取血, 置真空采血管室温下静置至有血清析出, 3000 r/min离心20 min, 分离血清, 同组血清混合后, 置于56℃水浴中灭活30 min, 用0.22 μm微孔滤膜过滤除菌, 置-20℃保存备用。假设所提取的枳实含药血清浓度为100%, 用胎牛血清稀释成10%、20%、50%的枳实含药血清浓度(如10%的枳实组配置: 10 mL枳实含药血清+90 mL胎牛血清)。

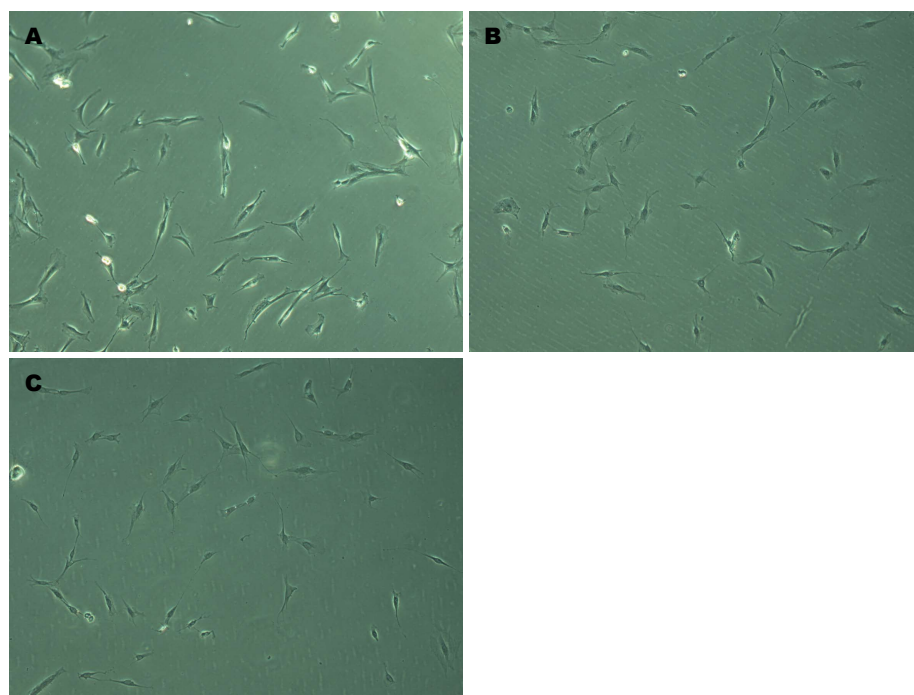
1.2.2 胃平滑肌细胞的提取及培养: 参考相关文献[11,12]中的SD大鼠胃窦平滑肌细胞的分离方法并进行适当调整, 取SD大鼠2只, 雌雄不限, 禁食8 h, 不禁水, 用10%水合氯醛腹腔麻醉, 开腹取胃窦, 所取胃窦长约3 cm, 行胃小弯切开, 用D-Hanks液冲洗3次, 在解剖显微镜下行胃黏膜层的剥离, 剩下的肌条切成0.1 cm×0.1 cm大小的条块。取到的肌条放入含有II型胶原酶(用不含血清的M199配成1.3 mg/mL)的消化液中, 在37℃水浴箱消化30 min, 消化后再离心1000 r/min、5 min, 用D-Hanks液重悬沉淀, 吹打10 min, 再1000 r/min离心5 min, 吸去D-Hanks液, 加入培养基(含有M199, 100 U/mL青霉素和100 mg/L链霉素, 20%胎牛血清), 吹打均匀后, 用200目筛网过滤后形成细胞悬液,

分装到细胞培养瓶中培养, 每瓶约4 mL细胞悬液, 放入37℃、50 mL/L CO₂培养箱中培养。每隔3 d换液1次, 倒置显微镜下观察细胞生长情况。待细胞达到80%时, 经胰蛋白酶消化传代^[13]。当细胞生长稳定后, 用血球计数板计数细胞数在1×10⁵/mL左右, 台盼蓝染色确定细胞活力在80%左右时可用于检测。

1.2.3 枳实含药血清对胃窦平滑肌细胞收缩效应的影响: 将上述符合要求的细胞加入24孔培养板中, 每个孔250 mL细胞悬液, 平均分为5组, 每组4个孔, 待细胞贴壁后, 分别加入10%枳实组、20%枳实组、50%枳实组、空白血清对照组, 每个孔板加入50 μL含药血清, 反应1 min后, 加入2.5%的戊二醛固定, 后放入倒置显微镜下观察细胞并拍照。后用Image-Pro Plus 6.0测量不同组的胃窦平滑肌细胞的长轴变化。

1.2.4 枳实含药血清对胃窦平滑肌细胞内Ca²⁺浓度的影响: 将培养稳定的平滑肌细胞制成细胞悬液加入培养皿中, 平均分为5组, 置于37℃恒温箱待细胞贴壁后经D-Hanks液清洗, 在避光的情况下加入0.1 mL(10 μmol/L, 含有5 μL/mL的Pluronic F-127)Fluo-3-AM标记细胞内Ca²⁺, 于37℃恒温箱中避光孵育60 min, 再经D-Hanks液清洗后, 在激光共聚焦显微镜下上机检测。测定时将培养皿置于载物台上, 寻找最佳视野, 分别加入上述5组配置好的含药血清, 动态扫描细胞内Ca²⁺荧光强度(fluorescent intensity, FI)的变化, 用FI平均变化值来间接反映细胞内游离Ca²⁺浓度的相对水平。先检测加药前的FI值(静息值), 加药物后再次测量FI值(峰值), 峰高(ΔFI) = 峰值-静息值, 代表药物引起的FI变化值^[14], 细胞荧光强度使用自带软件NIS测定。

1.2.5 免疫组织化学方法观察各组胃窦平滑肌细胞内钙调蛋白的表达: 将培养稳定的细胞种于24孔板中的细胞爬片内, 平均分为4组, 每组6个孔, 当细胞贴壁稳定后, 分别加入上述4组含药血清, 每个孔板加入50 μL含药血清, 反应2 min后, 加入冰冻甲醇固定10 min, 5%脱脂奶粉封闭10 min, 加入一抗(calmodulin antibody 1:50), 4℃冰箱孵育过夜, PBS液冲洗3遍, 加入结合荧光素山羊抗兔IgG抗体(1:100)标记二抗, 37℃培养箱孵育1 h, 抗淬灭封片液封片后置荧光显微镜下观察并拍照。设每一组中留1孔不加一抗仅加二抗孵育的样本作阴性对照。以胞浆着色为染色阳性细胞。免疫组织化学结



创新亮点

本实验通过制备枳实含药血清, 通过观察枳实含药血清对胃窦平滑肌细胞收缩效应, 再从其对细胞内钙离子浓度、钙调蛋白表达的影响探讨枳实的促胃动力机制。

图 1 胃窦平滑肌细胞的收缩变化($\times 100$)。A: 10%枳实组; B: 20%枳实组; C: 50%枳实组。

表 1 各组大鼠胃窦平滑肌细胞收缩效应的比较 ($n = 10$, mean \pm SD)

分组	加药后细胞的长度(μm)	细胞收缩百分比(%)
空白血清对照组	60.38 \pm 10.33	—
10%枳实组	59.34 \pm 9.40	1.51 \pm 2.20
20%枳实组	51.55 \pm 7.85 ^{bd}	14.36 \pm 1.90
50%枳实组	41.62 \pm 7.89 ^{bdf}	31.25 \pm 1.47

^b $P < 0.01$ vs 空白血清对照组; ^d $P < 0.01$ vs 10%枳实组; ^f $P < 0.01$ vs 20%枳实组。

果根据染色阳性细胞数和染色强度分别评分。以随机15个100倍视野阳性细胞数所占百分比打分: 0分为阳性细胞数 $\leq 5\%$, 1分为阳性细胞数占6%-25%, 2分为阳性细胞数占26%-50%, 3分为阳性细胞数占51%-75%, 4分为阳性细胞数 $> 75\%$; 染色强度: 0分无染色, 1分淡绿色, 2分绿色, 3分深绿色。两者乘积 > 1 分为阳性, ≤ 1 分为阴性^[15]。

统计学处理 完全随机设计两样本比较的 t 检验分析各组之间对胃窦平滑肌细胞收缩效应及对细胞内钙离子浓度影响的差异, 完全随机设计四格表资料 χ^2 检验分析各组对钙调蛋白表达的差异, 数据采用SPSS16.0统计软件包进行统计分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 枳实含药血清对胃窦大鼠胃平滑肌细胞收

缩效应的影响 10%、20%、50%枳实组对胃窦平滑肌细胞收缩的影响呈药物剂量依赖关系, 细胞收缩随药物浓度的增高而增强, 20%枳实组、50%枳实组与空白血清对照组对胃窦平滑肌细胞收缩比较差异有统计学意义($P < 0.01$)(表1, 图1)。

2.2 枳实含药血清对大鼠胃窦平滑肌细胞内总 Ca^{2+} 的影响 10%、20%、50%的枳实含药血清对细胞内 Ca^{2+} 荧光强度呈药物剂量依赖关系, 细胞内 Ca^{2+} 荧光强度随剂量的增加而增强, 50%枳实组对细胞内 Ca^{2+} 荧光强度影响最大, 20%枳实组与空白血清对照组对细胞内 Ca^{2+} 荧光强度比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 50%枳实组与空白血清对照组对细胞内 Ca^{2+} 荧光强度比较差异有统计学意义($P < 0.01$)(表2, 图2)。

2.3 胃窦平滑肌细胞内钙调蛋白表达水平 10%、20%、50%的枳实含药血清对大鼠胃

应用要点

钙离子、钙调蛋白与平滑肌的收缩有着密切相关, 本研究证实枳实促胃动力机制可能与此相关, 并对枳实的临床用药可以提供相应的理论依据。

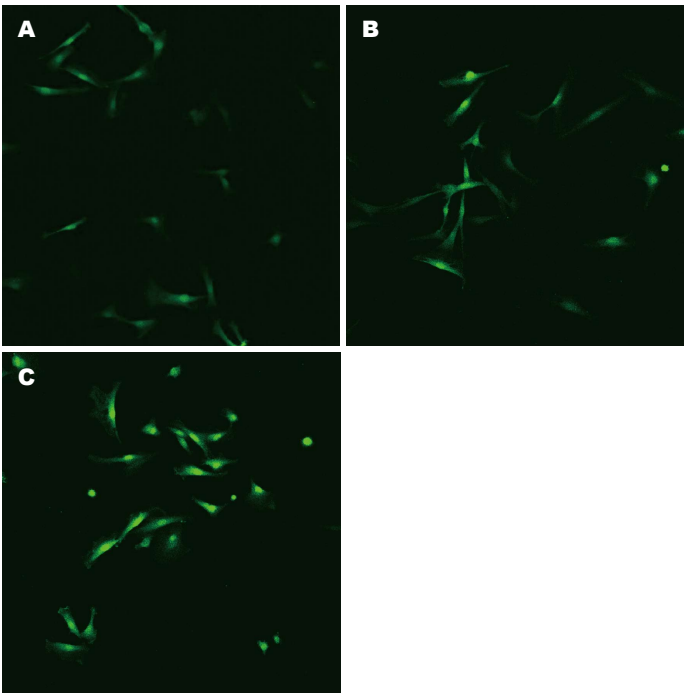


图 2 平滑肌细胞内Ca²⁺的荧光强度(×200). A: 10%枳实组; B: 20%枳实组; C: 50%枳实组.

表 2 各组胃窦平滑肌细胞内总Ca²⁺的变化 (n = 10, mean ± SD, a.u)

分组	峰高
空白血清对照组	756.07 ± 276.03
10%枳实组	878.19 ± 561.37
20%枳实组	1205.98 ± 251.94 ^{ac}
50%枳实组	1475.07 ± 280.42 ^{bde}

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 空白血清对照组; ^cP<0.05, ^dP<0.01 vs 10%枳实组; ^eP<0.05 vs 20%枳实组.

窦平滑肌细胞内钙调蛋白表达阳性率分别为40.0%、53.3%、86.7%, 随着血清中枳实浓度的增加, 阳性率增加. 统计学比较中只有空白血清对照组与50%枳实组的比较差异有统计学意义(P<0.05)(表3, 图3).

3 讨论

枳实行滞降泄力强, 长于破滞气、行痰湿、消积滞、除痞满, 为胃肠气分药, 在治疗胃肠疾病的经验由来已久, 《名医别录》中枳实有“降胸胁痰癖, 逐停水, 破结实, 消胀满……胁风痛, 安胃气, 止溏泄”的记载. 前人在动物实验中发现枳实煎液可明显提高小鼠小肠碳末推进率^[16,17], 能改善功能性消化不良大鼠的胃排空^[18-20], 可增加兔离体胃底平滑肌条的张力^[21], 枳实厚朴提取液能显著改善左旋精氨酸所致的大鼠胃动力障碍^[22]. 本研究结果显示

20%、50%浓度的枳实含药血清与空白血清对照组相比能增加胃窦平滑肌细胞的收缩, 本研究从细胞水平上进一步证实了枳实的促胃动力作用.

有相关研究^[23,24]证实枳实促胃动力作用机制可能与P物质、下丘脑内的胆囊收缩素与生长抑素等有关, 而具体的机制还未十分明确. 在胃肠平滑肌收缩与舒张的信号转导机制中, 细胞内游离Ca²⁺作为一种重要的第二信使广泛的参与细胞的运动、分泌、代谢和分化等多种细胞功能活动的调节, 平滑肌的收缩变化跟胞外Ca²⁺内流、细胞内Ca²⁺的释放密切相关, 高浓度Ca²⁺可引起平滑肌收缩, 低浓度的Ca²⁺可引起平滑肌舒张^[25]. 本研究中结果显示低中高浓度的枳实含药血清对胃窦平滑肌细胞收缩及细胞内Ca²⁺荧光强度的影响呈药物剂量依赖关系, 细胞收缩、细胞内Ca²⁺荧光强度随药物浓度的增高而增强, 枳实含药血清对平滑肌细胞的收缩效应可能跟增加细胞内Ca²⁺浓度有关, 实验中所用的细胞缓冲液是无钙的D-Hanks液, 结合上述理论我们可以推断枳实含药血清促进胃窦平滑肌细胞的收缩可能是通过调节细胞内钙库Ca²⁺的释放增加细胞内Ca²⁺浓度来完成的. 关于细胞内钙库Ca²⁺的释放, 胞内存在两种钙释放通道, 肌醇三磷酸(IP3)和RYP(ryanodine)受体通道, 将Ca²⁺从钙库中释放出来^[26]. 钙调蛋白是细胞内Ca²⁺信号

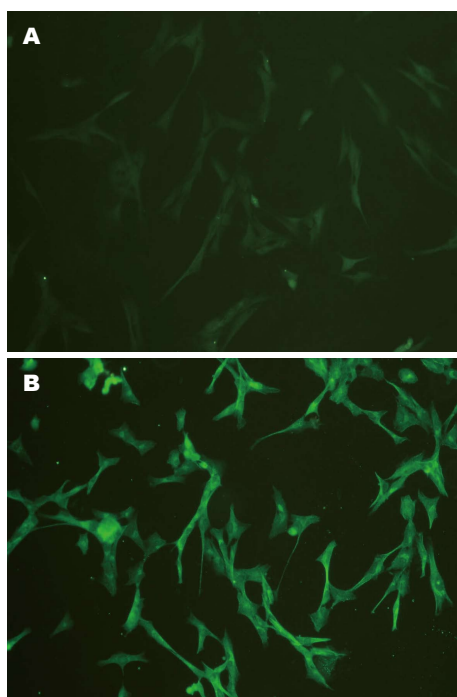


图 3 各组对平滑肌细胞内钙调蛋白的表达($\times 200$)。A: 空白血清对照组; B: 50%枳实组。

传导途径中的主要信号转导分子, 介导调控由 Ca^{2+} 引起的一系列生理生化反应, 参与并调节细胞的增生、分化、运动等基本代谢过程^[27]。当细胞内 Ca^{2+} 浓度增高时, 通过一系列的反应使钙调蛋白结合蛋白磷酸化, 肌丝滑行使平滑肌细胞收缩^[28-30]。有研究^[31]证实钙调蛋白可能参与IP3协调的 Ca^{2+} 从钙池的释放, 本研究中结果显示50%枳实组对胃窦平滑肌细胞内钙调蛋白表达最明显, 基于上述分析, 枳实含药血清可能通过调节钙调蛋白的表达、平滑肌细胞内 Ca^{2+} 浓度增加来参与胃窦平滑肌细胞的收缩。其具体的促胃动力机制还需进一步从IP3通道的分子水平来研究。总之, 枳实对胃肠运动调节的机制是个十分复杂的过程, 本研究在枳实促胃动力机制的方面提供了一些研究方向, 为做下一步的研究奠定了基础。

4 参考文献

- 1 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 1部. 北京: 化学工业出版社, 2005; 172
- 2 何新华. 枳实消痞丸加减治疗功能性消化不良47例临床观察. 当代医学 2013; 5: 155-156
- 3 杨开来. 加味枳实消痞汤治疗糖尿病胃轻瘫60例. 中国中西医结合消化杂志 2012; 20: 33-34
- 4 李媛, 董乃娥, 郭玉成. 枳实导滞丸对小鼠胃排空和小肠推进的影响. 承德医学院学报 2008; 25: 212-213
- 5 陈建永, 邱建荣, 潘锋, 丁勇. 枳实丸加减治疗胃食管反流病的临床观察. 中国中西医结合杂志 2004; 24: 25-27

表 3 各组胃窦平滑肌细胞内钙调蛋白的表达

分组	阳性数(n)	阴性数(n)	阳性率(%)
空白血清对照组	5	10	33.3
10%枳实组	6	9	40.0
20%枳实组	8	7	53.3
50%枳实组	13	2	86.7 ^a

^a $P < 0.05$ vs 空白血清对照组。

同行评价

本文有一定的理论指导价值。

- 6 刘昉, 叶峰, 王锐, 邱根全, 蔡云, 孙焯. 枳实及其含药血清对慢传输性便秘大鼠离体肠平滑肌条的作用. 北京中医药大学学报 2010; 33: 402-405
- 7 Sanders KM. Regulation of smooth muscle excitation and contraction. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20 Suppl 1: 39-53 [PMID: 18402641 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2008.01108]
- 8 杨丽亚, 高苗. 钙调蛋白的药用研究. 西北药学杂志 2008; 23: 124-125
- 9 陈宁, 宋冬雪, 凌娜, 徐昶儒. 中药血清药理学方法的研究进展. 北京联合大学学报 2014; 28: 40-43
- 10 葛金文, 朱惠斌, 贺蓉, 王宇红, 贺石林. 关于中药血清药理学方法的再思考. 中南地区第八届生理学学术大会论文集 2012: 12-13
- 11 谢燕东, 杨琦, 王景杰, 黄裕新. SD大鼠胃窦平滑肌细胞分离方法的改进. 山西医科大学学报 2011; 42: 772-774
- 12 陈明镭, 罗和生. 单个胃肠道平滑肌细胞的分离及其细胞膜离子通道检测. 武汉大学学报 2008; 29: 9-12
- 13 《解剖学报》编辑部. 《动物细胞培养—基本技术和特殊应用指南》出版. 解剖学报 2014; 4: 464
- 14 信芳杰, 徐璐. Ghrelin对豚鼠胃窦平滑肌细胞钙离子浓度的影响及与NO关系研究. 现代生物医学进展 2010; 10: 216-220
- 15 吕学霞, 于燕妮, 陈杨, 万昌武, 张华, 官志忠. 钙调蛋白在氟中毒大鼠肝组织中的表达. 中国地方病防治杂志 2008; 23: 165-167
- 16 刘莉洁, 魏义全, 寻庆英, 杨德治. 组胺受体在枳实调节小鼠小肠运动中的作用. 东南大学学报 2001; 20: 144-146
- 17 陈玮. 枳实、白术水煎液对胃肠排空推进的作用. 黑龙江医药 2010; 23: 437-438
- 18 梅学仁, 申秀萍, 王宇伟, 张道莹. 枳实丸对胃肠道功能的影响. 中国药科大学学报 2002; 33: 112-114
- 19 朱金照, 张志坚, 张捷. 中药枳实对功能性消化不良大鼠胃排空的影响. 中国临床药理学杂志 2005; 14: 291-294
- 20 朱金照, 冷恩仁, 陈东风, 史洪涛, 桂先勇. 味中药促胃肠动力作用的筛选研究. 第三军医大学学报 2000; 22: 436-438
- 21 张启荣, 李莉, 陈德森, 彭吉霞, 王新文. 厚朴、枳实、大黄、陈皮对兔离体胃底平滑肌运动的影响. 中国中医药科技 2008; 15: 279-280
- 22 尹爱武, 高鹏飞, 麻黎伟. 厚朴枳实配伍对大鼠胃动力的影响. 中国实验方剂学杂志 2011; 17: 175-177
- 23 宋婷婷, 寻庆英, 魏义全, 杨德治, 殷晓进, 刘莉洁. 枳实对大鼠小肠电活动影响的下丘脑作用机制研究. 中国中西医结合杂志 2006; 26: 55-58
- 24 王翠芬, 杨德治, 魏义全, 寻庆英. 枳实对大鼠胃肠电活动影响的初步研究. 东南大学学报 2001; 20: 153-154
- 25 吴斌, 齐清会. 平滑肌细胞内钙水平对胃肠动力的调节. 国外医学 2005; 25: 97-100

- 26 周华, 宋洁, 胡金兰, 马嵘, 孔德虎. 平滑肌细胞上的钙库操纵性通道. 生理科学进展 2005; 36: 369-371
- 27 梁婧. 钙调蛋白的研究进展. 临床口腔医学杂志 2010; 26: 500-501
- 28 Kim HR, Appel S, Vetterkind S, Gangopadhyay SS, Morgan KG. Smooth muscle signalling pathways in health and disease. *J Cell Mol Med* 2008; 12: 2165-2180 [PMID: 19120701 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00552]
- 29 Mizuno Y, Isotani E, Huang J, Ding H, Stull JT, Kamm KE. Myosin light chain kinase activation and calcium sensitization in smooth muscle in vivo. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; 295: C358-C364 [PMID: 18524939 DOI: 10.1152/ajpcell.90645.2007]
- 30 Pfitzer G, Sonntag-Bensch D, Brkic-Koric D. Thiophosphorylation-induced Ca(2+) sensitization of guinea-pig ileum contractility is not mediated by Rho-associated kinase. *J Physiol* 2001; 533: 651-664 [PMID: 11410624 DOI: 10.1111/j.1469-7793.2001.t01-2-00651]
- 31 卢敏. 钙调蛋白在介导大鼠结肠平滑肌细胞Ca²⁺内流的作用机制. 医学临床研究 2010; 27: 577-578, 581

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围. 其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%.