·方药纵横·

DOI:10.13463/j.cnki.jlzyy.2026.09.021

柴胡桂枝干姜汤对慢性结石性胆囊炎豚鼠Cajal间质细胞钙离子调节蛋白的影响

邓 静，赵 锋

（宁夏回族自治区中医医院/宁夏回族自治区中医研究院肝胆脾胃科，银川 750021）

摘要：目的 研究柴胡桂枝干姜汤（CGGD）对慢性结石性胆囊炎豚鼠Cajal间质细胞（ICCs）数量及钙信号通路相关蛋白的影响。方法 选用SPF级1～2月龄健康雄性豚鼠36只，分为对照组，慢性结石胆囊炎豚鼠模型组，柴胡桂枝干姜汤中药低、中、高剂量组及阳性治疗组，每组6只。对照组喂食正常饲料，其余组喂食高脂致石饲料造模8周。造模完成后，柴胡桂枝干姜汤低、中、高剂量组分别灌胃柴胡桂枝干姜汤8.2、16.4、32.8 g/kg；阳性治疗组给予熊去氧胆酸胶囊54.2 mg/kg；对照组、模型组给予等量生理盐水；每日2次，持续8周。实验结束后，采集豚鼠胆囊组织，HE染色观察组织病理学变化、免疫组化检测c-KIT、RYR1的表达；Western blot检测c-KIT、IP_3R蛋白表达；免疫荧光检测c-KIT与Fluo-4-AM标记Ca^{2+}的共定位情况；采用ELISA法检测胆囊组织中IP_3含量。结果 与对照组比较，模型组胆囊萎缩，胆汁体积较大，呈清亮淡黄色，组织大量炎性细胞浸润，充血水肿；胆囊组织c-KIT、IP_3R、Ca^{2+}、IP_3表达均降低。与模型组比较，柴胡桂枝干姜汤中、高剂量组与阳性治疗组病理损伤明显改善，c-KIT、IP_3、Ca^{2+}、IP_3R、RYR1水平明显升高（$P<0.05$，$P<0.01$）。结论 柴胡桂枝干姜汤能够影响慢性结石性胆囊炎中ICCs表达及IP_3R/RYR1介导的钙信号通路，升高ICCs内Ca^{2+}浓度，改善胆囊病理状态，为治疗慢性结石性胆囊炎提供了新的思路和方法。

关键词：柴胡桂枝干姜汤；慢性结石性胆囊炎；Cajal间质细胞

中图分类号：R259 **文献标志码：**A **文章编号：**1003-5699(2026)09-1189-07

Effects of Chaihu Guizhi Ganjiang Decoction on the calcium ion regulatory proteins in ICCs in chronic calculous cholecystitis

DENG Jing, ZHAO Feng

(Department of Hepatobiliary, Spleen and Stomach, Ningxia Hui Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine & Academy of Traditional Chinese Medicine, Yinchuan 750021, China)

Abstract: Objective To study the effects of Chaihu Guizhi Ganjiang Decoction (CGGD) on the number of interstitial cells of Cajal (ICCs) and calcium signaling pathway-related proteins in chronic calculous cholecystitis. **Methods** Thirty-six SPF grade healthy male guinea pigs aged 1-2 months were selected and divided into the control group, chronic calculous cholecystitis model group, CGGD low-, medium- and high-dose groups and positive treatment group, with 6 animals in each group. The control group was fed with normal chow while the remaining groups were fed with high-fat lithogenic chow for 8 weeks. After the completion of modeling, the CGGD low-, medium-, and high-dose groups were gavaged with 8.2, 16.4, and 32.8 g/kg CGGD, respectively, while ursodeoxycholic acid capsules of 54.2 mg/kg were given to the positive treatment group, and equal amounts of saline

基金项目：宁夏自然科学基金项目（2023AAC03697）

作者简介：邓 静（1984—），女，硕士，副主任医师，主要从事肝病的中西医结合防治研究

were given to the control group and the model group, all twice a day for 8 weeks. At the end of the experiment, guinea pig gallbladder tissue was collected, and histopathological changes were observed by HE staining. The expression of c-KIT and RYR1 was detected by immunohistochemistry, and Western blot was used to detect the protein expression of c-KIT and IP_3R. Immunofluorescence was used to detect the co-localization of c-KIT and Fluo-4-AM-labeled Ca^{2+}, and ELISA was used to detect the content of IP_3 in gallbladder tissue. **Results** Compared with the control group, the gallbladder in the model group was atrophied, the volume of bile was larger and clear yellowish, and the tissue was infiltrated by a large number of inflammatory cells, congested and edematous. The expression of c-KIT, IP_3R, Fluo-4 AM, and IP_3 in gallbladder tissue was reduced. Compared with the model group, the symptoms were significantly improved in the CGGD medium- and high-dose groups and the positive treatment group. The expression of c-KIT, IP_3, Fluo-4 AM, IP_3R and RYR1 was significantly elevated in gallbladder tissue (P<0.05). **Conclusion** CGGD can increase the intracellular Ca^{2+} concentration in ICCs by affecting the expression of ICCs and the IP_3R/RYR1-mediated calcium signaling pathway in chronic calculous cholecystitis, thereby improving the pathological state of the gallbladder, which provides a new idea and method for the treatment of chronic calculous cholecystitis.

Keywords: Chaihu Guizhi Ganjiang Decoction; chronic calculous cholecystitis; interstitial cells of Cajal; calcium ion regulatory protein

Cajal 间质细胞（interstitial cells of Cajal，ICCs）是广泛分布于哺乳动物胃肠道的非神经的特殊间质细胞，它与神经细胞和平滑肌细胞通过缝隙连接蛋白相连，在神经调控胃肠运动过程中起重要作用[1]。ICCs 在胃肠道中起着起搏器的作用，是胃肠正常运动的基础条件[2]。起搏电流在培养的 ICC 中自发发生，并与线粒体 Ca^{2+} 瞬变有关，ICCs 中的起搏电流与节律性线粒体 Ca^{2+} 摄取也被来自内质网的 IP_3 依赖性 Ca^{2+} 释放抑制剂与内质网 Ca^{2+} 再摄取抑制剂阻断[3-4]。胃肠道炎症致消化道动力障碍性疾病与分布在该部位的 ICCs 的数量、形态结构及功能改变存在密切关系，胆石症患者胆囊中的 ICCs 密度明显降低[5]，这表明 ICCs 丢失可能导致胆囊运动不足与胆结石形成。

中医治疗慢性结石性胆囊炎应以清热利湿、理气活血为基本原则[6-8]。柴胡桂枝干姜汤（Chaihu Guizhi Ganjiang Decoction，CGGD）见于《伤寒论·辨太阳病脉证并治下》，具有和解少阳、温化寒饮功效[9]。醋北柴胡可提高慢性胆囊炎患者胆囊收缩能力[10]，具有疏肝解郁功效；桂枝温通经脉助阳化气；干姜减轻炎症水肿；天花粉清除胆囊内的湿热之邪，减轻炎症反应；黄芩治疗湿热内蕴、热毒壅盛之症；煅牡蛎收敛固涩之性有助于减少胆汁的外泄，促进胆囊的愈合；炙甘草甘温调和诸药[11]。临床上发现柴胡桂枝干姜汤治疗慢性结石性胆囊炎具有明显效果[12]，然而其具体机制需进一步研究。研究[13]表明，柴胡可影响胃癌组织中 ICCs 的活性以及 ICCs 内 Ca^{2+} 浓度，提示柴胡桂枝干姜汤可能通过类似途径调节胆囊 ICCs 的功能，改善慢性结石性胆囊炎。本研究探讨柴胡桂枝干姜汤对慢性结石性胆囊炎中 ICCs 数量及钙离子信号通路相关蛋白的影响，以进一步揭示其治疗慢性结石性胆囊炎的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级 1～2 月龄健康豚鼠 36 只，雄性，体质量 200～250 g，由四川省动物专委会养殖场提供，许可证号：SCXK（川）2021-0037。动物实验在四川里来思诺生物科技有限公司动物房中完成，实验动物使用许可证号：SYXK（川）2021-0246，环境等级为屏障系统，温度 20℃～26℃，相对湿度 30%～70%，12 h 日/12 h 夜光照循环，按照 3 只/笼饲养。本研究已通过我院伦理委员会审批（科伦理第 2023-022 号）。

1.2 实验药物及试剂 柴胡桂枝干姜汤方药组成：醋北柴胡 10 g，桂枝 10 g，干姜 10 g，天花粉 15 g，黄芩 10 g，煅牡蛎（先煎）30 g，炙甘草 6 g，由宁夏中医医院暨中医研究院提供。熊去氧胆酸胶囊，安士（中山）制药有限公司。DAB 试剂盒，ZL1-9018，北京中杉金桥生物有限公司。苏木素染液，LM10N13，北京百灵威科技有限公司。苏木素分化液，G1039，Servicebio。苏木素返蓝液，G1040，Servicebio。免疫组化一抗（c-KIT），347321，

ZENBIO。免疫组化二抗HRP标记山羊抗兔，GB22303，Servicebio。一抗（RYR1），CSB-PA020619LA01HU，华美生物。BCA蛋白浓度测定试剂盒，P0009，Beyotime。Goat Anti-Rabbit IgG（H+L）HRP，S0001，Affinity。Western blot一抗（c-KIT），18696-1-AP，proteintech。β-actin，AC026；IP_3，A4436；Abclonal。Fluo-4 AM（钙离子荧光探针，2 mM），S1060，Beyotime。免疫荧光一抗（c-KIT），AF6153，Affinity。免疫荧光二抗FITC标记山羊抗兔，GB22303，Servicebio。伊红染液，YE2080，合肥博美生物科技有限责任公司。牛血清，GC305010，Servicebio。Mouse IP_3 ELISA KIT，ZC-38628，上海茁彩生物科技有限公司。

1.3 主要仪器 微量低速台式离心机，WTL-4K，湖南湘仪实验仪器开发有限公司。脱水机，TSJ-Ⅱ，常州市中威电子仪器有限公司。包埋机，BMJ-Ⅲ，常州郊区中威电子仪器厂。石蜡切片机，RM2016，上海徕卡仪器有限公司。修复仪，A80400011，Thermo Shandon Limited。组化笔，BC004，北京兰杰柯科技有限公司。数码三目显微摄像系统，BA400 Digital，麦克奥迪实业集团有限公司。数据图像分析系统，Halo 101-WL-HALO-1，Indica labs（USA）。垂直电泳槽，JY-SCZ4+，北京君意东方电泳设备有限公司。四块胶迷你垂直电泳转印槽，80241ES05，Yeasen。数据图像分析系统，Halo 101-WL-HALO-1，Indica labs（USA）。酶标仪，SpectraMAX Plus384，美谷分子仪器有限公司。

1.4 分组与造模 正常对照组全程饲喂常规豚鼠维持饲料（主要成分：苜蓿粉、玉米粉、麸皮、黄豆粉、鱼粉、酵母粉、酪蛋白、蔗糖、猪油、食盐及维生素，符合GB 14924实验动物配合饲料标准）。模型组饲喂高脂致石饲料，配方为：82.5%豚鼠维持基础料＋15%猪油＋2%胆固醇＋0.5%胆酸。

1.5 给药方法 造模完成后灌胃给药8周，每天灌胃给药2次，柴胡桂枝干姜汤中药低、中、高剂量组分别给予8.2、16.4、32.8 g/kg的柴胡桂枝干姜汤；阳性治疗组给予54.2 mg/kg熊去氧胆酸胶囊；对照组、模型组给予等量生理盐水。

1.6 样本采集与检测

1.6.1 样本采集 实验结束后，戊巴比妥钠腹腔注射50 mg/kg麻醉豚鼠，麻醉后无菌条件下剖开腹部找到胆囊，用组织剪在胆囊颈部离断，观察胆囊外部形态，纵行剖开胆囊观察状态。记录胆汁浑浊程度及颜色。收集豚鼠血清与胆囊于−80℃保存，另取部分胆囊4%多聚甲醛固定液中固定，用于染色。

1.6.2 胆囊组织病理学变化 固定豚鼠胆囊组织，组织经脱水、透明、浸蜡包埋、切片后脱蜡至水，苏木精染色5～10 min，盐酸酒精溶液分化约3 s，弱碱性水溶液返蓝，入醇溶性伊红3 min，脱水、透明剂透明、中性树胶封固。使用显微摄像系统采集400倍图像，观察豚鼠胆囊组织病理学变化。

1.6.3 胆囊组织c-KIT、RYR1阳性表达 采用免疫组化染色观察各组胆囊c-KIT、RYR1阳性表达。多聚甲醛固定石蜡切片脱蜡至水，PBS洗3次进行抗原修复。3%过氧化氢孵育25 min，阻断内源性过氧化物酶。滴加牛血清，室温20 min进行封闭。滴加配好的一抗c-KIT（1:200）、RYR1（1:50），切片平放于湿盒内4℃孵育过夜。PBS洗3次滴加二抗HRP标记山羊抗兔（1:100），37℃ 30 min；PBS洗3次。DAB显色液显色。苏木素复染3 min，脱水封片。使用显微摄像系统采集400倍图像。使用Halo数据分析系统计算每张图像阳性面积占比（% DAB positive tissue）。

1.6.4 胆囊组织c-KIT、IP_3R蛋白表达 Western blot观察c-KIT蛋白的表达情况。从胆囊组织中提取总蛋白，BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。将蛋白质样本与SDS-PAGE上样缓冲液混合，恒定电压下进行电泳。使用转膜仪将蛋白质从凝胶转移到PVDF膜上，转移完成后，封闭缓冲液封闭2 h。将膜与稀释至适当浓度的一抗β-actin（1:50 000），c-KIT（1:2 000）、IP_3R（1:2 000）在封闭缓冲液中4℃孵育过夜。二抗Goat Anti-Rabbit IgG（H+L）（1:8 000）孵育2 h。使用适当的ECL显色底物进行显色反应，用Tanon荧光图像分析系统软件V2.0（5200 Multi，Tanon）对条带进行曝光，并以目的蛋白积分光密度（IOD）表示。

1.6.5 胆囊组织中ICC中Ca^{2+}的共定位情况 石蜡切片脱蜡至水，抗原修复20 min，PBS洗3次。阻断内源性过氧化物酶。牛血清封闭：室温孵育30 min以上。加一抗c-KIT（1:100）4℃过夜，4℃孵育过夜。加二抗（FITC标记山羊抗兔），37℃孵育30 min；PBS洗3次。加入Fluo-4 AM工作液，20℃～37℃孵育10～60 min进行荧光探针装载，PBS洗3次。DAPI复染细胞室温孵育10 min，封片。检测各组

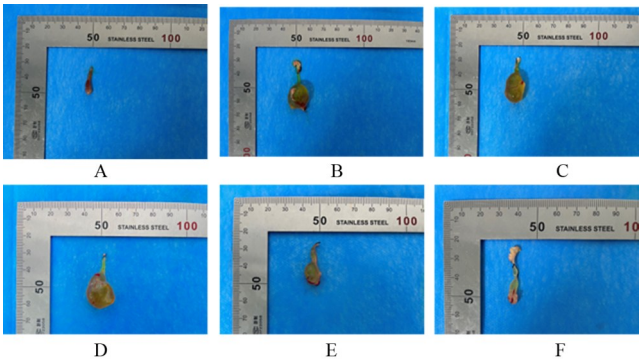
ICC 细胞中 Ca^{2+} 浓度变化情况，使用显微摄像系统采集 400 倍图像。使用 Halo 数据分析系统计算每张图像阳性面积占比（% positive tissue）。

1.6.6 各组豚鼠胆囊组织中 IP_3 表达 试剂盒采用夹心法酶联免疫吸附试验（ELISA）按照试剂盒说明书进行检测，用酶标仪在 450 nm 波长处测定吸光度，计算样品浓度。

1.7 统计学方法 用 SPSS 26.0 统计分析软件进行单因素方差分析（one-way ANOVA），数据以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。多样本均数间比较采用 one-way ANOVA 检验，以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组胆囊外部形态状态观察 喂养 8 周后，无菌条件下快速分离胆囊组织并观察，对照组胆囊浆膜红润透明有少量血管附着于外表面。与对照组比较，模型组、中药低、中剂量组胆囊萎缩，胆囊内的胆汁体积较大，呈清亮淡黄色。中药高剂量组、阳性治疗组症状明显改善，没有明显的水肿充血，有少量炎性细胞浸润。见图 1。



注：A. 对照组；B. 模型组；C. 中药低剂量组；D. 中药中剂量组；E. 中药高剂量组；F. 阳性治疗组

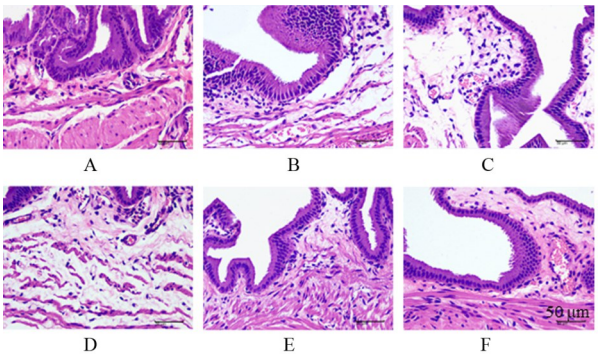
图 1 各组胆囊外部形态状态观察

2.2 HE 染色观察各组胆囊组织病理学变化 对照组胆囊组织无充血或明显的炎性细胞浸润。与对照组比较，模型组、中药低剂量组胆囊组织可见固有层水肿，并伴有炎性细胞浸润，以淋巴细胞为主，出现成纤维细胞增生，肌纤维排列稀疏。中药中剂量组的病变程度有所减轻，中药中、高剂量组、阳性治疗组症状明显好转，没有明显的水肿充血，有少量炎性细胞浸润。见图 2。

2.3 各组豚鼠胆囊组织 ICCs 中 c-KIT 与 Fluo-4 AM 标记 Ca^{2+} 的共定位比较 与对照组相比，模型组豚鼠胆囊组织 c-kit、Fluo-4 AM 的共定位阳性面积占比显著降低（$P<0.01$）。与模型组相比，中药中剂量组、中药高剂量组、阳性治疗组豚鼠胆囊组织 c-kit 与 Fluo-4 AM 的共定位阳性面积占比均升高（$P<0.05$，$P<0.01$），反映胞内游离 Ca^{2+} 浓度的相对水平升高。见表 1，图 3。

2.4 各组豚鼠胆囊组织 c-KIT 表达比较 免疫组化结果显示，对照组豚鼠胆囊组织可见丰富的 c-KIT 阳性表达（棕黄色深染）。与对照组比较，模型组胆囊组织 c-KIT 阳性表达量显著降低（$P<0.05$）。与模型组比较，中药低剂量组 c-KIT 阳性表达量升高（$P<0.05$），中药中剂量组、中药高剂量组及阳性治疗组升高更为显著（$P<0.01$）。Western blot 检测结果进一步证实了上述趋势，与对照组比较，模型组 c-KIT 蛋白相对表达量极显著降低（$P<0.01$）；与模型组比较，中药中剂量组、中药高剂量组及阳性治疗组 c-KIT 蛋白表达均显著升高（$P<0.01$）。见表 2，图 4，图 5。

2.5 各组豚鼠胆囊组织中 IP_3R 表达比较 与对照组比较，模型组豚鼠胆囊组织中 IP_3R 蛋白表达降低（$P<0.01$）。与模型组比较，中药高剂量组、阳性治疗组豚鼠胆囊组织中 IP_3R 蛋白表达升高（$P<0.01$）；中药中剂量组 IP_3R 蛋白表达升高（$P<0.05$）。见表 3，图 6。



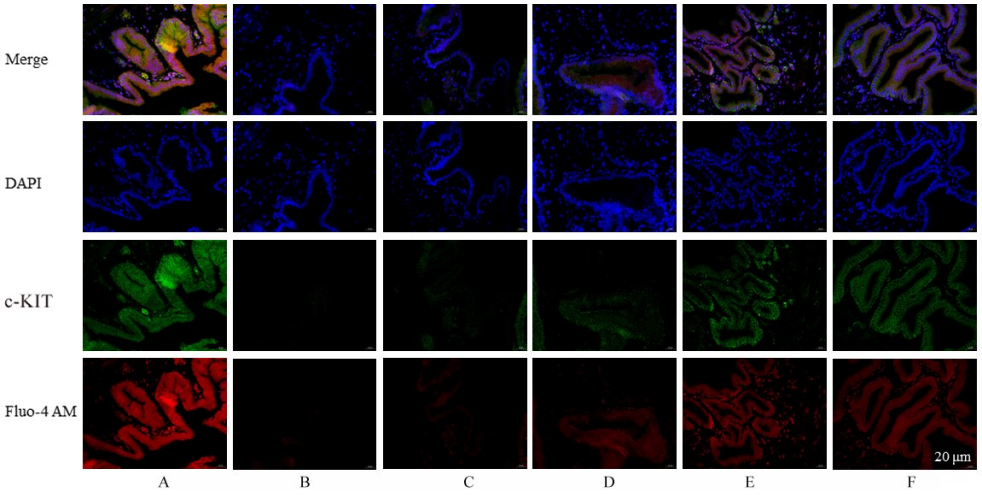
注：A. 对照组；B. 模型组；C. 中药低剂量组；D. 中药中剂量组；E. 中药高剂量组；F. 阳性治疗组

图 2 各组胆囊组织病理学变化（HE 染色，×400）

表 1 各组豚鼠 c-kit 与 Fluo-4 AM 共定位阳性面积占比统计结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$） %

组别	共定位阳性面积占比
对照组	12.20±0.89
模型组	0.03±0.00##
中药低剂量组	0.18±0.06
中药中剂量组	1.34±0.40△
中药高剂量组	3.41±0.31△△
阳性治疗组	4.45±1.39△△

注：与对照组比较，## $P<0.01$；与模型组比较，△$P<0.05$，△△$P<0.01$



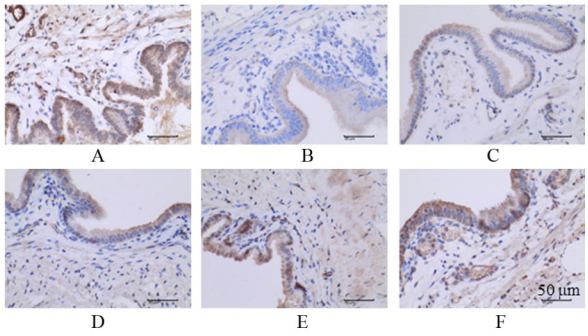
注：A.对照组；B.模型组；C.中药低剂量组；D.中药中剂量组；E.中药高剂量组；F.阳性治疗组

图3 免疫荧光观察胆囊组织ICCs中Ca^{2+}浓度变化情况（×400）

表2 各组豚鼠c-KIT阳性面积占比与WB蛋白相对表达量比较（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

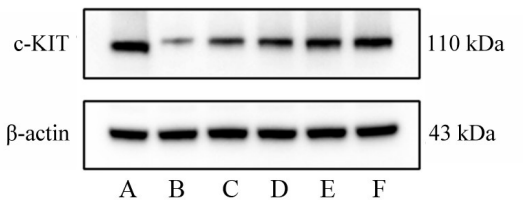
组别	c-KIT阳性组织占比/%	WB蛋白相对表达水平
对照组	13.11±0.82	1.00±0.12
模型组	0.97±0.56#	0.16±0.04##
中药低剂量组	3.06±0.73△	0.29±0.04
中药中剂量组	4.46±0.46△△	0.38±0.05△△
中药高剂量组	8.11±1.77△△	0.59±0.03△△
阳性治疗组	8.53±0.79△△	0.65±0.15△△

注：与对照组比较，# $P<0.05$，## $P<0.01$；与模型组比较，△$P<0.05$，△△$P<0.01$



注：A.对照组；B.模型组；C.中药低剂量组；D.中药中剂量组；E.中药高剂量组；F.阳性治疗组

图4 各组豚鼠胆囊组织c-KIT表达ICCs数量比较（免疫组化染色，×400）



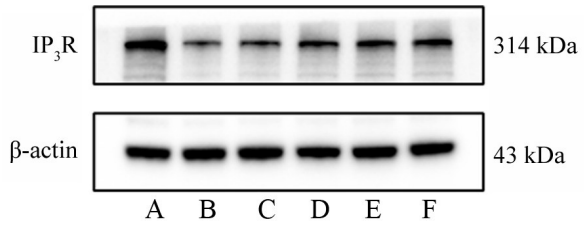
注：A.对照组；B.模型组；C.中药低剂量组；D.中药中剂量组；E.中药高剂量组；F.阳性治疗组

图5 各组豚鼠胆囊组织Western blot检测c-KIT蛋白表达比较

表3 各豚鼠胆囊组织中IP_3R表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	蛋白相对表达水平
对照组	1.00±0.10
模型组	0.17±0.02##
中药低剂量组	0.24±0.06
中药中剂量组	0.42±0.12△
中药高剂量组	0.59±0.15△△
阳性治疗组	0.71±0.18△△

注：与对照组比较，## $P<0.01$；与模型组比较，△$P<0.05$，△△$P<0.01$



注：A.对照组；B.模型组；C.中药低剂量组；D.中药中剂量组；E.中药高剂量组；F.阳性治疗组

图6 Western blot检测胆囊组织IP_3R表达

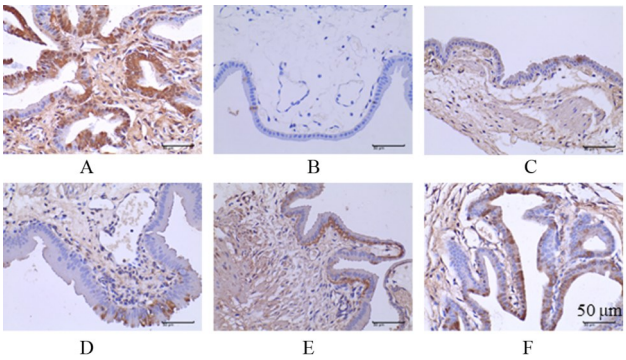
2.6 各组豚鼠胆囊组织中RYR1表达比较 与对照组比较，模型组豚鼠胆囊组织中RYR1蛋白表达降低（$P<0.01$）；与模型组比较，中药高剂量组、阳性治疗组豚鼠胆囊组织中RYR1蛋白表达升高（$P<0.01$）；中药中剂量组RYR1蛋白表达升高（$P<0.05$）。见表4，图7。

2.7 各组豚鼠胆囊组织中IP_3比较 与对照组比较，模型组豚鼠胆囊组织中IP_3含量降低（$P<0.01$）；与模型组比较，中药高剂量组、阳性治疗组豚鼠胆囊组织中IP_3含量升高（$P<0.01$）；中药中剂量组IP_3含量升高（$P<0.05$）。见表5。

表4 RYR1阳性面积占比统计结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$） %

组别	阳性组织
对照组	26.53±3.46
模型组	0.05±0.02##
中药低剂量组	1.98±1.45
中药中剂量组	4.52±0.73△
中药高剂量组	9.85±2.89△△
阳性治疗组	17.35±1.43△△

注：与对照组比较，## $P<0.01$；与模型组比较，△$P<0.05$，△△$P<0.01$



注：A. 对照组；B. 模型组；C. 中药低剂量组；D. 中药中剂量组；E. 中药高剂量组；F. 阳性治疗组

图7 各组豚鼠胆囊组织中RYR1表达比较（免疫组化染色，×400）

表5 各组豚鼠胆囊组织中IP_3比较（$\bar{x}\pm s$，$n=3$） ng/mL

组别	IP_3
对照组	2.22±0.20
模型组	0.91±0.12##
中药低剂量组	1.21±0.15△
中药中剂量组	1.58±0.24△△
中药高剂量组	1.76±0.10△△
阳性治疗组	1.73±0.09△△

注：与对照组比较，## $P<0.01$；与模型组比较，△$P<0.05$，△△$P<0.01$

3 讨论

慢性结石性胆囊炎属于中医学“胆胀”“胁痛”范畴，病机为湿热内蕴、气滞血瘀，导致胆腑通降失调，胆汁排泄不畅，日久炼液成石[14]。本研究中模型组豚鼠胆囊出现明显萎缩、胆汁淤积呈清亮淡黄色、组织充血水肿并伴大量炎性细胞浸润，这些病理改变与临床慢性结石性胆囊炎的典型特征高度一致[15]，表明本实验造模成功。柴胡桂枝干姜汤出自《伤寒论》，具有和解少阳、温化寒饮、利胆和胃功效[16-17]。本研究发现，柴胡桂枝干姜汤中剂量组、高剂量组及阳性治疗组能显著改善上述胆囊病理损伤，减轻炎性细胞浸润和水肿，提示柴胡桂枝干姜汤对慢性结石性胆囊炎具有良好的治疗作用，但其深层机制尚需进一步阐明。

ICCs是消化道及胆道系统中一类特殊的间质细胞，通过产生慢波电位并介导电节律，在平滑肌收缩调控中充当“起搏器”角色[18]。在中医理论视域下，ICCs维持胆道正常节律运动的功能，与中医学“胆主疏泄”“气机调畅”的生理功能高度契合；当ICCs受损时，胆囊运动迟缓，胆汁淤积，恰似“气机郁滞”之象。本研究中模型组胆囊组织c-KIT（ICCs特异性标志物）的免疫组化阳性面积和蛋白表达量均较对照组显著降低，证实慢性结石性胆囊炎确实伴随ICCs数量减少或标志物下调。给予柴胡桂枝干姜汤干预后，c-KIT表达回升，且呈明显的剂量依赖性，表明柴胡桂枝干姜汤能够有效恢复胆囊组织中ICCs数量或促进其表型标志物的重新表达，从而缓解“气机郁滞”状态，重建胆囊正常的舒缩节律。

ICCs产生起搏电流的核心机制依赖于细胞内Ca^{2+}的节律性振荡。线粒体Ca^{2+}瞬变以及内质网通过IP_3R和RYR通道释放Ca^{2+}，是ICCs维持自发节律性电活动的关键环节[3-4]。为验证柴胡桂枝干姜汤是否影响ICCs内Ca^{2+}信号，本研究采用Fluo-4 AM钙离子荧光探针与c-KIT免疫荧光双标染色，结果显示，柴胡桂枝干姜汤能够显著提高ICCs内的Ca^{2+}浓度。IP_3作为第二信使，与内质网上的IP_3R结合后触发Ca^{2+}释放[19]；RYR1主要介导“钙诱导的钙释放”（CICR）机制，两者协同调控内质网Ca^{2+}向胞浆的转运[20]。为进一步探索Ca^{2+}升高的上游分子机制，本研究检测了内质网钙释放通路中关键受体IP_3R和RYR1以及配体IP_3的含量，结果提示，柴胡桂枝干姜汤可能通过促进IP_3生成，增强IP_3R通道开放活性。RYR1可能是柴胡桂枝干姜汤调控Ca^{2+}信号的靶点，或是病理过程中受损较重、恢复潜力较大的靶点。柴胡桂枝干姜汤能显著恢复RYR1表达，表明该方剂可修复内质网“钙库”释放通道的功能，促进胞浆内Ca^{2+}浓度回升，重建ICCs的活性。本研究存在一定局限性，柴胡桂枝干姜汤为复方制剂，需通过成分分离进一步鉴定其有效成分。未来课题组将结合分子对接技术和特异性通路抑制剂/激动剂，深入探究柴胡桂枝干姜汤关键药效物质与RYR1、IP_3R的直接相互作用，以期为中医药治疗慢性结石性胆囊炎提供更坚实的实验依据。

综上所述，柴胡桂枝干姜汤可剂量依赖性增加胆囊ICCs数量（上调c-KIT），并上调IP_3、IP_3R及RYR1表达，修复内质网钙释放功能，升高ICCs内Ca^{2+}浓度，恢复其起搏活性，从而改善胆囊动力障碍与胆汁淤积，提示柴胡桂枝干姜汤具有良好应用前景。

参考文献：

[1] KAJI N, HORI M. Interstitial cells of Cajal in gastrointestinal inflammatory diseases[J]. Journal of Smooth Muscle Research, 2023, 59:1-13.

[2] CHOE A S, TANG B, SMITH K R, et al. Phase-locking of resting-state brain networks with the gastric basal electrical rhythm[J]. Public Library of Science One, 2021, 16(1): e0244756.

[3] DRUMM B T, SUNG T S, ZHENG H, et al. The effects of mitochondrial inhibitors on Ca^{2+} signalling and electrical conductances required for pacemaking in interstitial cells of Cajal in the mouse small intestine[J]. Cell Calcium, 2018, 72: 1-17.

[4] SANDERS K M, KOH S D, WARD S M. Interstitial cells of cajal as pacemakers in the gastrointestinal tract[J]. Annual Review of Physiology, 2006, 68:307-343.

[5] JUNG M S, HAN M H, PARK T I, et al. Relationship between gallstones and interstitial cells of Cajal in the gallbladder[J]. Medicine (Baltimore), 2022, 101(28):e29851.

[6] 王绮云,陈文滨.中西医结合治疗胆热脾寒型慢性胆囊炎30例临床观察[J].中国民族民间医药, 2021, 30(17):120-122.

[7] 徐晶莹.祛瘀化石汤治疗慢性结石性胆囊炎（气滞血瘀型）的临床观察[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2023.

[8] 张晓彤,李玲玲,曹志群.曹志群教授辩证施治胆结石经验[J].黑龙江中医药, 2015, 44(3):40-41.

[9] 李云虎,田凤艳,王春勇,等.85例柴胡桂枝干姜汤病例资料回顾性分析[J].中国中医基础医学杂志, 2022, 28(6): 944-947.

[10] 顾瑞,陆瑶瑶,戴洪山,等.柴胡桂枝干姜汤加味治疗胆热脾寒型慢性胆囊炎疗效及对炎症因子、胆囊功能及胃肠功能的影响[J].中国实验方剂学杂志, 2019, 25(17):64-69.

[11] 刘明翰.柴胡桂枝干姜汤的方证研究[D].南京:南京中医药大学, 2022.

[12] 沈铭轩.加味柴胡桂枝干姜汤治疗胆热脾寒型慢性胆囊炎的疗效观察[J].内蒙古中医药, 2024, 43(10):21-23.

[13] RHEE P L, LEE J Y, SON H J, et al. Analysis of pacemaker activity in the human stomach[J]. Journal of Physiology-London, 2011, 589(24):6105-6118.

[14] 张丽慧.赵文霞治疗胆汁反流性胃炎合并慢性胆囊炎经验[J].中医学报, 2019, 34(6):1205-1208.

[15] 肖芳,谢微杳.急性胆囊炎的中医治疗[J].中国中医急症, 2020, 29(8):1492-1495.

[16] 朱子奇,郑立升.柴胡桂枝干姜汤加味治疗胆热脾寒型慢性胆囊炎疗效观察[J].中国中西医结合消化杂志, 2007, 15(5):334-335.

[17] 李霞．柴胡桂枝干姜汤加味治疗胆热脾寒型慢性胆囊炎疗效观察[J]．中医临床研究, 2015, 7(14):87-88.

[18] CHOI E L, TAHERI N, TAN E, et al. The crucial role of the interstitial cells of Cajal in neurointestinal diseases[J]. Biomolecules, 2023, 13(9):1358.

[19] MIKOSHIBA K. The IP_3 receptor/Ca^{2+} channel and its cellular function[J]. Biochemical Society Symposium, 2007, 74:9-22.

[20] KOBAYASHI T, YAMAZAWA T, KUREBAYASHI N, et al. RyR1-mediated Ca^{2+}-induced Ca^{2+} release plays a negligible role in excitation-contraction coupling of normal skeletal muscle[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2025, 122(34): e2500449122.

（**责任编辑**：张海洋　**收稿日期**：2025-12-05）