

胃痞汤对慢性萎缩性胃炎大鼠作用的实验研究

赵敏 单亮 李强

摘要 目的 探讨健脾化痰解毒复方胃痞汤对慢性萎缩性胃炎(CAG)模型大鼠胃黏膜上皮细胞病理改变的影响。方法 采用致癌化学物质N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍配合饥饱失常、耗气泻下法建立CAG脾虚模型。采用免疫组化法检测胃黏膜萎缩、肠上皮化生等病理变化。结果 模型对照组胃黏膜萎缩、肠上皮化生均较正常组明显增加($P < 0.01$)；胃痞汤预防组、高、中、低剂量组较模型对照组明显降低(均 $P < 0.01$)。结论 胃痞汤防治CAG的作用机制与其通过降低胃黏膜萎缩、肠上皮化生有关,对萎缩发生有一定的治疗作用。

关键词 慢性萎缩性胃炎 健脾化痰解毒法 胃痞汤 胃黏膜萎缩

Effect of Weipitang in Chronic Atrophic Gastritis Rats with Spleen Deficiency. Zhao Min, Shan Liang, Li Qiang. Second Affiliated Hospital of Anhui Medical College Acupuncture Hospital, Anhui Medical College Pharmacy, Anhui 230061, China

Abstract Objective To explore the effect of weipitang, a compound of invigorating spleen and removing blood stasis and toxic substance, on pathologic changes of gastric mucosal cells of chronic atrophic gastritis(CAG). **Methods** CAG model with syndrome of spleen deficiency was established by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) and irregular fasting combined with purgative drugs. Changes of gastric mucous atrophy and intestinal metaplasia in gastric mucous were observed with HE technique and immunohistochemical stain. **Results** Gastric mucous atrophy and intestinal metaplasia in gastric mucous of the model group were more obvious than those of the normal group($P < 0.01$); but decreased in the three different dosage of Weipitang groups($P < 0.01$). **Conclusion** The mechanism of weipitang in preventing CAG may be reducing gastric atrophy and intestinal metaplasia. Weipitang has some therapeutic effect on CAG.

Key words Chronic atrophic gastritis(CAG); Therapeutic method of invigorating spleen and removing blood stasis and toxic substance; Weipitang; Atrophy of gastric mucosa

慢性萎缩性胃炎(CAG)是公认的胃癌前疾病,由于病程较长,疾病多由实转虚,以虚症和虚实夹杂症最常见。建立稳定可靠的动物模型是对CAG进行深入研究的关键。建立CAG病症结合模型来研究健脾化痰解毒法对CAG大鼠的影响,可望为CAG的病理和治疗研究提供有用的工具。为进一步探讨其作用机制,笔者进行了健脾化痰解毒复方胃痞汤对CAG模型大鼠胃黏膜上皮细胞病理改变影响的实验研究,报告如下。

材料与方法

1. 材料:(1)实验动物:清洁级Wistar大鼠100只,由安徽医科大学实验动物中心提供,体重120~140g,雄性。(2)饲料:清洁级动物专用饲料,由南京中医药大学实验动物中心提供。(3)造模试剂及药物:N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG, N-methyl-N'-nitrosoguanidine),由日本东京株

氏会社提供(纯度99%)。小承气汤,健脾化痰解毒复方胃痞汤由安徽中医学院第一附属医院植物药深加工中心提供,主要由黄芪40g、白术30g等药物组成。

2. 方法:(1)CAG动物模型的复制:参照文献[1]方法,采用MNNG饮用液自由饮用法造模。将实验动物随机分为3组。对照组正常喂养,模型组和预防组以MNNG饮用液代替饮用水,每天更换,让大鼠尽量饮用。(2)脾虚造模:采用饥饱失常加耗其泻下法造模,参照文献[2]方法加以改良。实验第5周开始模型组开始采用隔日喂食,自由饮MNNG饮用液。实验第6周开始,采用小承气汤液灌胃,2毫升/(只·天)。(3)分组与给药方法:清洁级Wistar大鼠100只,由安徽医科大学实验动物中心提供,合格证:皖医实验动物准第01号。随机分为正常对照(对照)组10只;CAG脾虚模型(模型)组,胃痞汤高、中、低剂量组,维霉素组,每组各15只。胃痞汤预防组从造模开始即按15g/kg(相当于成人用量的7.5倍),2毫升/(只·天)胃痞汤灌胃,含原生药1.5g。预防组不进行脾虚造模,实验第8周末,禁食禁水12h后处死,做病理观察,结果见胃黏膜腺体萎缩,出现肠化生或不典型增生,表明造模成功。将模型组随机分为3组,即胃痞汤高、中、低剂量组。于第9周开始灌胃,对照组灌胃0.85%氯化钠液,2毫升/(只·天);高剂量组按30g/kg(相当于成人用量的15倍)灌

作者单位:230061 合肥,安徽中医学院第二附属医院/安徽中医学院附属针灸医院药剂科(赵敏);230088 合肥,安徽新华学院药学院(单亮);335000 鹰潭,江西天施康中药股份有限公司(李强)

通讯作者:单亮,电子信箱:shanliang325@163.com

胃 2 毫升/(只·天),含生药量 3g;中剂量组按 20g/kg(相当于成人用量的 10 倍)灌胃 2 毫升/(只·天),含生药量 2g;低剂量组按 10g/kg(相当于成人用量的 5 倍)灌胃 2 毫升/(只·天),含生药量 1g。维霉素组按 0.2g/kg 灌胃 2 毫升/(只·天),灌胃共 4 周,于第 12 周末,禁食禁水 12h 后处死。(4)标本制备:脱颈椎处死动物,剖取全胃,沿胃大弯剪开,取腺胃各

部组织,10% 中性甲醛固定,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋。常规切片,切片厚度 4~5 μ m。苏木精-伊红 AB-PH2.5PAS 和中性红染色。具体操作见文献[3],OLMPUS BX60 常规光学显微镜下行切片观察,包括:胃黏膜萎缩、肠化生。萎缩、肠化生等病理学诊断由安徽医科大学病理学教研室老师盲法作出。病理图片见图 1(He, $\times 200$)。

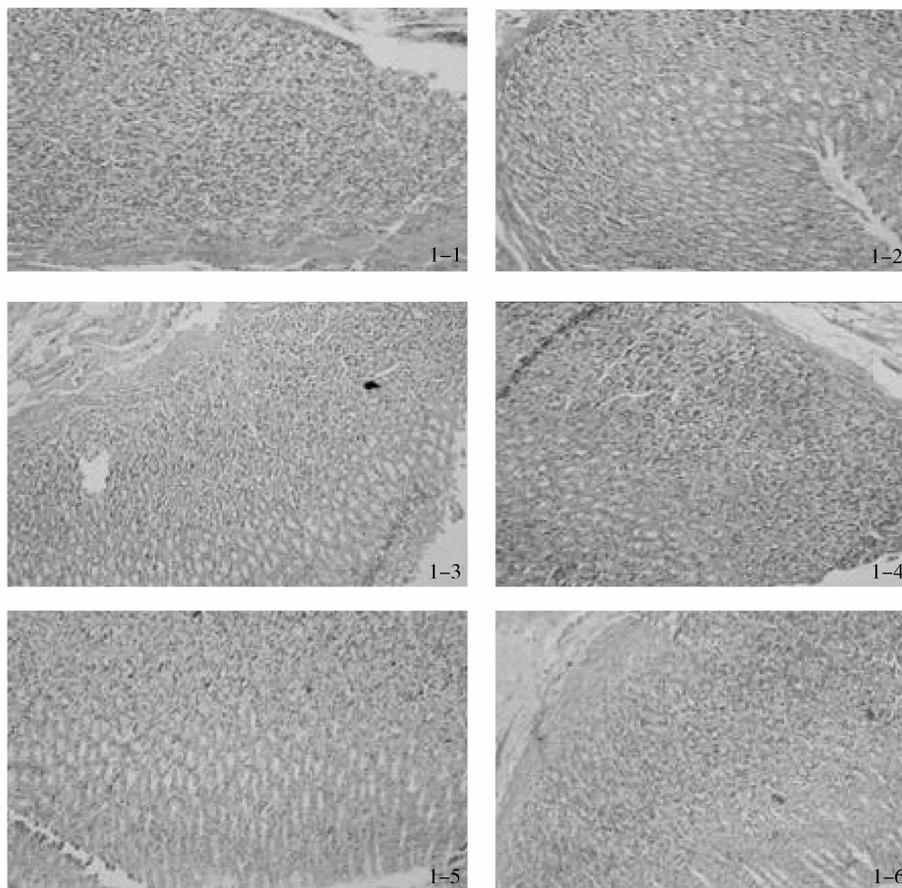


图 1-1 模型组(黏膜上皮不完整,黏膜腺体有不同程度的萎缩,腺体间隙增宽,腺体体积缩小,可见较多炎细胞。)图 1-2 正常组(胃黏膜上皮细胞完整,上皮细胞多呈单层柱状排列,腺体排列整齐,大小基本一致,未见炎细胞或仅少量散在淋巴细胞浸润。)图 1-3 大剂量组(腺体密集、排列整齐,部分腺腔有轻度扩张,炎细胞浸润不明显。)图 1-4 中剂量组(腺体排列整齐,部分腺腔有轻度扩张,炎细胞浸润不明显。)图 1-5 小剂量组(腺体较密集,排列较规则整齐,腺体间隙略增宽,可见少量炎细胞浸润。)图 1-6 对照组(可见腺体数量减少,体积较小,排列稀疏,间质有慢性炎细胞浸润)

3. 统计学处理方法:采用 SPSS 14.0 软件进行数据统计。各组的萎缩数、肠化生数进行 χ^2 检验,各组萎缩程度进行多组间比较的秩和检验。

结 果

1. 各组大鼠一般表现:CAG 脾虚模型大鼠逐渐有毛色枯槁无泽,易脱落,拱背,肛周污染,食量减少,喜扎堆,耳色淡白,体形偏小。正常组及预防组未出现上述情况。胃痞汤高剂量组在灌胃 2 周后症状改善,

治疗 4 周后基本恢复正常。中、低剂量组虽有不同程度恢复,但不及高剂量组。各组胃黏膜萎缩和肠化生数的比较结果见表 1。

2. 各组胃黏膜萎缩程度的比较:结果见表 2。

将各组萎缩程度发生鼠数做多组间比较的秩和检验,其 $\chi^2 = 60.80, P < 0.01$,说明各组间存在有统计学意义的差距。为进一步分析,做两组间的比较,CAG 脾虚模型组与对照组相比, $\chi^2 = 21.21, P < 0.01$,

表1 各组胃黏膜萎缩和肠化生数的比较[n(%)]

| 组别 | 动物数 | 萎缩数 | 肠化生数 |
|------|-----|-----------------------|-----------------------|
| 模型组 | 15 | 14(93.33) | 10(66.67) |
| 胃痞汤 | | | |
| 预防组 | 15 | 2(13.33) ^Δ | 0(0.00) ^Δ |
| 高剂量组 | 15 | 2(13.33) ^Δ | 2(13.33) ^Δ |
| 中剂量组 | 15 | 4(26.67) ^Δ | 4(26.67) ^Δ |
| 低剂量组 | 15 | 5(33.33) | 5(33.33) |
| 对照组 | 10 | 0(0.00) ^Δ | 0(0.00) ^Δ |

统计方法 χ^2 ,^Δ与模型组比较, $P < 0.01$

表2 各组胃黏膜萎缩程度的比较(n)

| 组别 | 动物数 | 正常 | 轻度萎缩 | 中度萎缩 | 重度萎缩 |
|------|-----|----|------|------|------|
| 模型组 | 15 | 1 | 3 | 3 | 6 |
| 胃痞汤 | | | | | |
| 预防组 | 15 | 13 | 2 | 2 | 0 |
| 高剂量组 | 15 | 13 | 2 | 2 | 0 |
| 中剂量组 | 15 | 11 | 3 | 3 | 0 |
| 低剂量组 | 15 | 10 | 2 | 2 | 0 |
| 对照组 | 10 | 10 | 0 | 0 | 0 |

说明造模成功。预防组及各剂量治疗组与模型组相比, χ^2 分别为21.49、21.49、17.00、14.06,均 $P < 0.01$,说明中药胃痞汤不仅能防止胃黏膜的萎缩,同时能明显改善胃黏膜的萎缩程度,以正常或轻度病变为主。

讨 论

CAG是中医在临床治疗上较有特点和优势的病种之一。胃痞汤是治疗CAG的经验方,对于该病的治疗,主张“虚”“瘀”“毒”的相互作用,其本为虚,其标为瘀、毒,在发病过程中三者又相互影响,基于这一认识,在多年临床经验的基础上,提出健痞化瘀解毒这一治法,并精选药物组方而成治疗CAG的有效中药复方制剂,该方治疗CAG,可明显改善各种临床症状,其临床疗效得到胃镜,病理等检测的证实。MNNG是一种较强的化学致癌剂,能够直接作用于胃黏膜引起癌变的致癌剂,其致癌机制可能是导致细胞DNA的损伤,致DNA的甲基化而引发癌变^[3,4],常用来诱发实验性胃癌及癌前病变。目前对CAG模型报道较多,但造模时间较长,费用较高,动物的死亡率也较高,对CAG病症结合模型的研究较少^[5]。用MNNG制作胃腺癌模型时,未癌变的大鼠胃黏膜则出现萎缩,肠上皮化生及不典型增生等CAG癌前病变

的表现^[6]。

复制出的CAG模型,其病理改变较为典型,在此基础上配合饥饱失常及耗气泻下法造成脾虚模型^[7]。从病理及大鼠一般表现说明造模成功。为今后临床及药理研究打下了良好的基础。造模成功的同时,观察了胃痞汤对CAG模型的预防及治疗作用。发现CAG预防组胃黏膜上皮基本完整,腺管排列整齐,部分胃窦黏膜较薄,胃小凹下陷,多数腺管上皮细胞大小一致,胃黏膜萎缩、肠化生及两者并见的出现率也较低。表明胃痞汤能预防致癌化学物质对大鼠胃黏膜的伤害,能有效防止发生萎缩,甚至癌变。这体现了肿瘤防治的最佳模式,早期发现前期病变并进行有效的早期干预。同时胃痞汤对已发生胃黏膜萎缩的大鼠有较好的治疗作用,CAG胃痞汤高剂量治疗组胃黏膜上皮基本完整,腺管排列整齐,部分胃窦黏膜较薄,胃小凹下陷,多数腺管上皮细胞大小一致,其中、低剂量组也有不同的作用。胃黏膜萎缩、肠化生及两者并出现率也较低。说明胃痞汤能预防胃黏膜萎缩的发生,并能逆转已发生的萎缩,从而阻止其发生癌变。

实验表明胃痞汤不仅能预防致癌化学物质对大鼠胃黏膜的伤害,而且能逆转已发生的萎缩。对临床上用此法治疗CAG患者后复查胃镜,亦能达到此效果。其作用机制将在以后的实验中进一步探讨。

参 考 文 献

- 李兰珍,朱向东,段永强,等. 胃炎灵对慢性萎缩性胃炎大鼠胃组织氧化与抗氧化系统的作用[J]. 中国中医基础医学杂志,2008,14(3):186-187
- 徐珊,周嘉鹤,王常松,等. 慢性萎缩性胃炎证病结合模型的复制[J]. 中国中医药科技,2008,15(1):6-8
- 赵岩,傅兵,赵大华,等. 萎胃康颗粒剂治疗慢性萎缩性胃炎的实验研究[J]. 中国中西医结合消化杂志,2008,16(4):229-231
- 林一帆,王成利,王阳,等. 加味四君子汤对MNNG诱导大鼠胃癌的预防作用[J]. 中国中西医结合消化杂志,2006,14(5):291-293
- 王伟,朱方石,吴晓燕. 慢性萎缩性胃炎中医药治法分类研究[J]. 世界华人消化杂志,2008,16(32):3692-3695
- 岳双冰,张仲海,马经野,等. 大鼠慢性萎缩性胃炎癌前病变血瘀证模型的研制[J]. 中国中西医结合消化杂志,2009,17(2):123-125
- 史斌,周俊琴,李赫楠,等. 解毒活血方对萎缩性胃炎大鼠胃动素含量的研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(6):1406-1407

(收稿:2009-12-29)

(修回:2010-04-07)