

柴芍和胃颗粒对大鼠免疫性胃炎的保护作用

李 敏¹, 王承华², 王 欣¹, 李卫东^{1*}

1. 北京大学医学部基础医学院 药理学系, 北京 100191

2. 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091

摘 要: **目的** 探讨柴芍和胃颗粒对大鼠免疫性胃炎的保护作用及其机制。**方法** 以弗氏完全佐剂制备免疫性胃炎大鼠模型。将模型大鼠随机分为模型组, 三九胃泰颗粒阳性对照组, 柴芍和胃颗粒 (0.8、1.6、3.2 g/kg 剂量) 组, 另设对照组; 于开始造模后第 28 天 ig 给药, 连续给药 28 d。在造模不同时间称大鼠体重, 给药结束后检测大鼠血清中 NO、白细胞介素-2 (IL-2) 水平, 胃组织匀浆谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性、丙二醛 (MDA) 水平, 观察胃组织病理学改变。**结果** 与模型组相比, 柴芍和胃颗粒低、中、高剂量组大鼠血清 NO 水平分别降低 20.53%、63.95%、69.85%; 使大鼠胃黏膜组织匀浆中 GSH-Px 的活性分别增加 16.11%、16.11%、30.33%, MDA 水平分别降低 5.37%、25.4%、34.69%; 使大鼠血清 IL-2 水平有增加的趋势, 以高剂量组作用明显, 但与模型组相比差异不显著。病理组织学观察可见, 模型组大鼠胃黏膜的固有层内出现结缔组织增生及淋巴小结增多, 黏膜肌层增厚, 平滑肌纤维走向紊乱, 炎性细胞浸润严重; 柴芍和胃颗粒低、中、高剂量组大鼠黏膜层增生及其炎性浸润均有不同程度的减轻和恢复。**结论** 柴芍和胃颗粒对大鼠胃黏膜损伤具有一定的保护作用, 其机制可能与其增强抗氧化酶活性、减轻自由基损伤和抑制脂质过氧化物反应有关。

关键词: 柴芍和胃颗粒; 免疫性胃炎; 抗氧化; 脂质过氧化; 一氧化氮

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2012)12-2453-05

Protection of Chaishao Hewei Granule on autoimmune gastritis in rats

LI Min¹, WANG Cheng-hua², WANG Xin¹, LI Wei-dong¹

1. Department of Pharmacology, School of Basic Medical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China

2. Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China

Abstract: **Objective** To investigate the protection and mechanism of Chaishao Hewei Granule (CHG) on autoimmune gastritis in rats. **Methods** The model of autoimmune gastritis of rats was established by Freund's complete adjuvant. The rats were randomly divided into control, model, Sanjiu Weitai Granule (positive control), low-, mid-, and high-dose (0.8, 1.6, and 3.2 g/kg) CHG groups. After the day 28 of modeling, the rats were ig administered for continuous 28 d. The body weight of rats was measured at different time points of modeling. After the last administration, the contents of nitric oxide (NO) and interleukin-2 (IL-2) in serum and glutathione peroxidase (GSH-Px) and maleic dialdehyde (MDA) in gastric homogenate were determined, and the changes of gastric histopathology were observed. **Results** Compared with the model group, the low-, mid-, and high-dose CHG could decrease the contents of NO in rats by 20.53%, 63.95%, and 69.85%, respectively, increase the activities of GSH-Px in gastric homogenate by 16.11%, 16.11%, and 30.33%, respectively, and decrease the levels of MDA in gastric homogenate by 5.37%, 25.4%, and 34.69% obviously. CHG could make the level of IL-2 increase, more obviously in the high-dose CHG group, but there was no significant difference compared with the model group. Gastric mucosal histopathology showed desmoplasia and lymphoid nodules in mucosal lamina propria of rats in the model group; The muscularis mucosa was thickened, the smooth muscle fibers were disordered, and the infiltration of inflammatory cells was severe. In CHG treatment groups in various doses, there were varying degrees of restoration and mitigation in inflammatory infiltration. **Conclusion** CHG has protective action on gastric mucosal damage and the mechanism may be related to increasing the activity of anti-oxidase, scavenging free radicals, and inhibiting the lipid peroxidation.

Key words: Chaishao Hewei Granule (CHG); autoimmune gastritis; anti-oxidation; lipid peroxidation; nitric oxide (NO)

中医学认为, 从慢性浅表性胃炎至慢性萎缩性 虚血瘀, 因而以健脾、化瘀为治疗大法。柴芍和胃 胃炎乃至肠化、异增, 病程绵长, 基本病机当为脾 颗粒由白芍、娑罗子、姜半夏、黄芩、川楝子、延

收稿日期: 2012-03-12

作者简介: 李 敏 (1980—), 女, 北京人, 硕士, 研究方向为免疫药理学。Tel: (010)82801473 E-mail: limin991424@yahoo.com.cn

胡索、柴胡、广藿香、砂仁、炒吴茱萸、木香、黄连、生姜、大枣、炙甘草等组成。方中柴胡疏肝理气，延胡索行气活血止痛，白芍、甘草养血柔肝、缓急止痛，大枣、炒吴茱萸健脾燥湿，全方共奏疏肝、理气、止痛、运脾、燥湿、调中之功效。前期研究表明，柴芍和胃颗粒可通过提高胃黏液中氨基己糖与磷脂的量来加强胃黏液屏障，从而修复胃黏膜损伤，抑制腺体的萎缩、肠化与增生^[1]。本实验采用弗氏完全佐剂制备免疫性胃炎大鼠模型，进一步探讨柴芍和胃颗粒的胃保护作用及其机制。

1 材料

1.1 药品与试剂

柴芍和胃颗粒浸膏，陕西安康北医大制药股份有限公司，批号 20080801，每克浸膏相当于生药 5.78 g；三九胃泰颗粒，湖南三九南开制药有限公司生产，批号 0809051。NO、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)检测试剂盒，南京建成生物工程研究所；弗氏完全佐剂，Sigma 公司。所用其余试剂为市售分析纯。

1.2 动物

SD 大鼠，雄性，体质量(150±10) g，由北京大学医学部实验动物科学部提供，许可证号：SCXK(京)2006-0008。

1.3 仪器

Du-640 型紫外分光光度计，Beckmancoulter 公司；IX71 型倒置荧光相差显微镜，Olympus 公司；SN-695B 型放射免疫 C 计数器，上海核所日环光电仪器有限公司。

2 方法

2.1 模型制备与分组及给药^[1]

取 SD 大鼠 20 只，断头处死，剖腹取胃，用生理盐水冲洗胃内容物直至干净，分离胃黏膜置匀浆管内，用玻璃匀浆机制成匀浆，加生理盐水制成 10% 匀浆液，加入等量弗氏完全佐剂制成乳化液。取 SD 大鼠 48 只，其中 8 只作为对照组不做处理；其余大鼠于左、右腹股沟皮下和背部 3 点各 sc 0.4 mL 上述乳化液进行免疫，15 d 后再以同样方法 sc 1 次，造成免疫性胃炎模型。造模后将模型大鼠随机分为模型组、三九胃泰颗粒(2.0 g/kg)阳性对照组、柴芍和胃颗粒(0.8、1.6、3.2 g/kg)组，于开始造模后第 28 天开始 ig 给药，每天给药 1 次，连续给药 28 d。

2.2 检测与观察指标

2.2.1 体质量变化

分别于造模前及造模第 28、

40、56 天检测各组大鼠体质量。

2.2.2 血清 NO 水平检测^[2] 末次给药结束后，各组大鼠禁食约 12 h，摘眼球取血 3~4 mL，3 500 r/min 离心 20 min，取血清，按 NO 试剂盒操作说明测定血清 NO 水平。

2.2.3 IL-2 水平测定 给药结束后，大鼠禁食不禁水 12 h，摘眼球取血，EDTA-Na₂ 抗凝，3 500 r/min 离心 10 min，取上清，置 4 ℃ 保存待测。按 IL-2 测定说明书测定 IL-2 水平。

2.2.4 胃黏膜组织匀浆中 GSH-Px 活性与 MDA 水平检测^[3] 末次给药次日大鼠采血后断头处死，低温条件下快速剖取胃组织，冰冷生理盐水冲洗，滤纸吸干，称质量后剪碎，置于匀浆器中(匀浆器的末端置于含冰块的冷水中)，用 5 倍(质量)生理盐水匀浆，3 500 r/min 离心 10 min，取上清，置 4 ℃ 保存待测。严格按 GSH-Px、MDA 试剂盒的操作要求测定 GSH-Px 活性和 MDA 水平。

2.2.5 病理组织学观察 末次给药后，各组大鼠禁食 24 h，断头处死，打开腹腔取出胃，沿胃大弯剪开，冰生理盐水冲洗，10% 甲醛固定 3 d 后，在胃体部和胃窦部各选择一黏膜纵向部位，石蜡包埋，5 μm 切片，作 HE 染色，光镜下观察(×100)大鼠胃黏膜层炎症浸润程度。

2.3 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用方差分析。所有数据用 SPSS 10.0 统计软件进行处理。

3 结果

3.1 对免疫性胃炎模型大鼠体质量的影响

造模前，各组大鼠体质量均一，组间比较无显著性差异。造模第 28 天(开始给药第 1 天)，模型组大鼠体质量明显低于对照组($P < 0.05$)，随着造模时间延长，模型组大鼠体质量增长缓慢，至造模第 40、56 天，体质量均明显轻于对照组($P < 0.05$)。柴芍和胃颗粒 3.2 g/kg 组大鼠至实验结束时，体质量明显增加，与模型组相比差异显著($P < 0.05$)，提示柴芍和胃颗粒可以明显改善免疫性胃炎大鼠胃肠道吸收能力。结果见表 1。

3.2 对免疫性胃炎模型大鼠血清 NO 和 IL-2 水平的影响

与对照组相比，模型组大鼠血清 NO 水平明显升高($P < 0.01$)；与模型组相比，柴芍和胃颗粒组给药 28 d 后，大鼠血清 NO 水平明显降低，中、高剂量组效果更明显($P < 0.01$)。结果见表 2。

表 1 柴芍和胃颗粒对免疫性胃炎模型大鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of CHG on body weight of rats with autoimmune gastritis ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组 别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	体质量 / g			
		造模前	造模第 28 天	造模第 40 天	造模第 56 天
对照	—	220.0±3.8	358.8±14.6	390.0± 9.3	415.0±16.0
模型	—	216.9±5.3	323.8±20.7*	346.3±18.5*	368.8±24.2*
柴芍和胃颗粒	0.8	219.4±4.2	315.0±19.3	346.3±13.0	370.0±14.1
	1.6	220.0±3.8	325.0±15.1	355.9±16.9	381.3±14.6
	3.2	219.4±4.2	318.8±20.3	361.3±18.9	390.0±15.1 [▲]
三九胃泰	2.0	219.4±3.2	318.8±22.3	347.5±21.2	375.0±22.0

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [▲] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [▲] $P < 0.05$ vs model group

与对照组相比,模型大鼠血清 IL-2 水平有所降低,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$);柴芍和胃颗粒组给药 28 d 后,大鼠血清 IL-2 水平有升高趋势,其中以高剂量组的作用较明显,但与模型组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果见表 2。

3.3 对免疫性胃炎模型大鼠胃黏膜匀浆中 GSH-Px 活性和 MDA 水平的影响

与对照组相比,模型组大鼠胃黏膜组织匀浆中 GSH-Px 活性明显降低 ($P < 0.05$);与模型组相比,柴芍和胃颗粒组给药 28 d 后,大鼠胃黏膜组织匀浆中 GSH-Px 活性升高,以中、高剂量组作用更明显 ($P < 0.05, 0.01$),并呈良好的量效关系。结果见表 3。

与对照组相比,模型组大鼠胃黏膜匀浆中 MDA 水平明显升高 ($P < 0.01$);与模型组相比,柴芍和胃颗粒组给药 28 d 后,大鼠胃黏膜匀浆中 MDA 水平降低,以中、高剂量组作用更明显 ($P < 0.05, 0.01$),并呈良好的量效关系。结果见表 3。

表 2 柴芍和胃颗粒对免疫性胃炎模型大鼠血清 NO 和 IL-2 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effects of CHG on NO and IL-2 levels in serum of rats with autoimmune gastritis ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组 别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	NO / (μmol·L ⁻¹)	IL-2 / (pg·mL ⁻¹)
对照	—	15.39± 5.22	2.49±0.71
模型	—	60.39±12.85**	2.35±0.53
柴芍和胃颗粒	0.8	47.99±16.75	2.09±0.65
	1.6	21.77± 5.53 ^{▲▲}	2.22±0.32
	3.2	18.21± 4.86 ^{▲▲}	2.71±0.75
三九胃泰	2.0	22.37± 5.17 ^{▲▲}	2.27±0.92

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{▲▲} $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; ^{▲▲} $P < 0.01$ vs model group

表 3 柴芍和胃颗粒对免疫性胃炎模型大鼠胃黏膜匀浆中 GSH-Px 活性和 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effects of CHG on GSH-Px and MDA levels in gastric mucosal homogenate of rats with autoimmune gastritis ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组 别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	GSH-Px / (U·mg ⁻¹)	MDA / (nmol·mg ⁻¹)
对照	—	2.42±0.50	2.75±0.92
模型	—	2.11±0.18*	6.14±0.64**
柴芍和胃颗粒	0.8	2.45±0.14 [▲]	6.47±1.44
	1.6	2.54±0.17 [▲]	4.58±0.68 [▲]
	3.2	2.75±0.25 ^{▲▲}	4.01±0.77 ^{▲▲}
三九胃泰	2.0	2.77±0.39 ^{▲▲}	5.31±1.47

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; [▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$ vs model group

3.4 免疫性胃炎模型大鼠胃黏膜病理组织学观察

对照组大鼠胃黏膜层完整,腺体排列整齐,浆膜层完整。模型组大鼠胃黏膜的固有层内出现结缔组织增生及淋巴小结增多,黏膜肌层增厚,平滑肌纤维走向紊乱,并成束地伸入胃腺之间,炎性细胞浸润严重。三九胃泰组大鼠部分胃黏膜缺损,黏膜肌层增厚较模型组明显减轻,黏膜下层炎性细胞浸润少见。柴芍和胃颗粒 0.8 g/kg 剂量组大鼠胃黏膜被新生的胃上皮细胞和腺细胞覆盖,黏膜层有炎性浸润,但较模型组少,黏膜下层有部分小动脉血管内皮肿胀、增生,偶见炎性浸润;柴芍合胃颗粒 1.6 g/kg 剂量组大鼠胃黏膜愈合情况较好,黏膜下血管未见明显病理改变,有少量炎性细胞浸润;柴芍合胃颗粒 3.2 g/kg 剂量组大鼠胃黏膜基本完整,胃上皮细胞与腺细胞形态及分布良好,黏膜下微循环未见明显病理改变,浆膜层完整。结果见图 1。

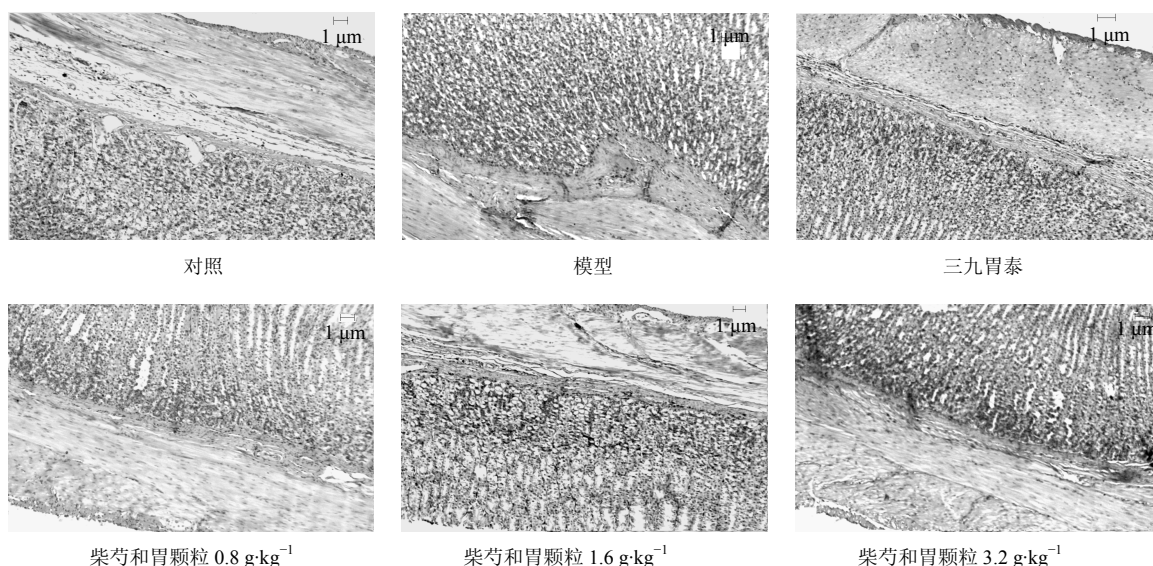


图 1 各组大鼠胃黏膜病理组织学观察

Fig. 1 Pathological observation of gastric mucosa in each group

4 讨论

造成慢性胃炎的病因较多,其中自身免疫系统紊乱是免疫性胃炎的重要病因之一^[1]。前期实验表明,柴芍和胃颗粒明显减轻甲硫咪唑致慢性浅表性胃炎小鼠胃黏膜炎症和损伤,保护胃黏膜,作用机制可能与其增加小鼠胃黏膜氨基己糖的量、提高黏膜磷脂和 PGE₂ 的水平、降低血清胃泌素水平有关^[4]。有研究显示,肠上皮化生与胃癌有密切关系,可能是胃黏膜对致癌因素的一种反应^[5]。本实验采用的免疫性胃炎大鼠模型的病理组织学变化类似于慢性萎缩性胃炎,主要表现为胃黏膜有大量炎性细胞浸润、肠上皮化生及胃腺非典型性增生或萎缩、胃小凹扩张、黏膜肌层增厚。柴芍和胃颗粒给药后,对模型大鼠胃黏膜充血水肿、炎性细胞浸润、黏膜肌层增厚、胃小凹扩张及肠上皮化生等病理改变均有不同程度的对抗作用,其中对肠上皮化生的抑制作用显著,表明其可能对延缓、预防胃癌的发生有一定益处。

氧自由基作为炎症介质与慢性胃炎有密切关系,也是急性胃黏膜损伤一个重要起始因子和独立的致病因素^[6]。在病理状态下,机体产生大量氧自由基,它们攻击生物膜磷脂中多不饱和脂肪酸而引发脂质过氧化,使生物膜受损、蛋白质变性、DNA 损伤及细胞坏死。MDA 可与脂质过氧化中间产物交联,进而损伤膜结构,因此 MDA 水平是脂质过氧化物损伤的特征性指标。SOD、GSH-Px 能够清

除氧自由基,抗胃黏膜上脂质过氧化,使氧自由基维持在低水平,不致造成胃黏膜上皮细胞损伤,是胃黏膜细胞的保护因子。本实验结果表明,柴芍和胃颗粒可有效地发挥抗氧化作用,降低胃黏膜匀浆中 MDA 水平,提高 GSH-Px 活性,表明其对增加胃黏膜保护因子,减少黏膜上皮损失有益。

早期或小剂量 NO 可抑制内皮素(ET)产生,增加胃黏膜血流量,具有细胞保护作用^[7]。当诱生型 NO 合酶(iNOS)被激活释放大量的 NO 时,过量的 NO 一方面发挥其自由基(或继发生成的高活性羟自由基)性质的细胞毒作用,直接损害胃黏膜血管内皮细胞,刺激 NO 更多释放,形成恶性循环;另一方面 NO 失去对 ET 的抑制,胃组织 NO 浓度随胃萎缩程度的加深而显著增加,过度释放的 NO 能诱发肿瘤。因此,超生理水平的 NO 对胃黏膜和胃动力有不利影响。本实验通过检测模型大鼠血清 NO 的量以确定柴芍和胃颗粒在 NO 方面的影响,结果发现其能使模型大鼠升高的血清 NO 水平明显降低。

IL-2 可促进 T 细胞活化和增殖,从而增强免疫功能。本实验结果表明,柴芍和胃颗粒 3.2 g/kg 组有提高血清 IL-2 水平的趋势,提示该药可能是通过提高 IL-2 水平,即增强胃黏膜防御因子,削弱攻击因子,达到抗溃疡作用。

综上所述,柴芍和胃颗粒能够提高免疫性胃炎大鼠抗氧化酶活性、减轻自由基损伤和抑制脂质过

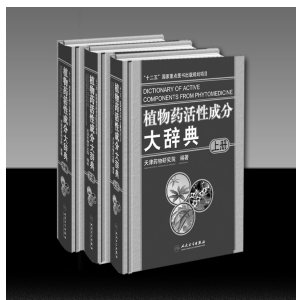
氧化物反应等,增强胃黏膜的防御机能,发挥细胞保护作用,这可能是其治疗慢性胃炎的机制之一。

参考文献

- [1] 王欣,李敏,许文频,等.柴芍和胃颗粒对小鼠慢性浅表性胃炎模型的影响[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(1): 76-79.
- [2] 王德俊,孙云,盛树青.养胃冲剂对免疫性胃炎胃黏膜组织学的影响[J].浙江中西医结合杂志,2002,12(10): 600-604.
- [3] 王睿琦,侯培珍,刘文滨,等.疏肝和胃颗粒对大鼠实验性慢性浅表性胃炎的治疗研究[J].内蒙古中医药,2008,27(1): 55-57.
- [4] 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.
- [5] 钱岳年,胡毅华,王利,等.萎缩性胃炎治疗前后胃镜及活检病理对比观察[J].中西医结合杂志,1986,6(9): 532.
- [6] Shimizu T, Lee T, Shoji H, et al. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine excretion in children before and after therapy for eradication of *Helicobacter pylori* infection[J]. *Acta Paediatr*, 2003, 92(9): 1026-1028.
- [7] 刘劲松,侯晓华.一氧化氮对胃粘膜保护机制的实验研究[J].华中科技大学学报,2004,33(5): 592-595.

“十二五”国家重点图书出版规划项目

《植物药活性成分大辞典》(上、中、下册)



植物中的活性成分是植物药发挥疗效的物质基础,植物活性成分研究是阐释植物药的生物活性、临床疗效和毒性的必要手段,也是新药发现和创制的可行途径,更是中药药效物质基础研究、质量控制以及配伍合理性及作用规律研究的前提和基础。近些年来,随着国际上植物化学以及天然药物化学学科的迅速发展,大量的植物活性成分被研究和报道,形成大量、丰富的植物活性成分研究的信息源。但是,这些资料作为原始文献散在于成千上万的中外学术期刊上,不能满足读者对植物活性成分的系统了解、方便查阅和迅速掌握的需要。

天津药物研究院在国家科技部和原国家医药管理局新药管理办公室支持下,在建立“植物活性成分数据库”的基础上,组织科研人员经过几年的艰苦努力编纂了大型工具书《植物药活性成分大辞典》。本套书分上、中、下共三册,共收载植物活性成分 8 719 个,共约 700 万字。正文中每个活性成分包含英文正名、中文正名、异名(异名之间用分号隔开)、化学名、结构式、分子式和分子量、理化性状(晶型、熔点、溶解性、旋光、紫外、红外、质谱、氢谱和碳谱)、植物来源、生物活性等项内容。并于下册正文后附有三种索引——植物药活性成分中文名、植物药活性成分英文名和植物拉丁名索引。全书涵盖大量国内外专业期刊的翔实数据,内容丰富、信息量大,具有反映和体现信息趋时、简便实用的特色;作者在注重数据科学性、系统性的同时,着眼于全球药物研发前沿需求与我国市场实际应用的结合,为新药研究人员选题、立项、准确评价成果提供快速、简便、有效的检索途径,为植物药的开发生、利用提供疗效优异、结构独特的活性分子或先导化合物。

本套书的出版必将为我国“十二五”医药事业发展和天然药物产业发展提供翔实而可靠的科学数据和技术支撑,为促进植物药资源的利用,重大创新药物的研究以及促进特色产业的可持续发展提供趋时的数据资源和检索途径。

该书已批准列入“十二五”国家重点图书出版规划项目,于 2011 年 11 月由人民卫生出版社出版发行,大 16 开精装本,每套定价 588 元。