

健脾解毒活血汤对幽门螺杆菌相关性胃炎 脾胃湿热证模型小鼠 IL-1 β 、GAS 的影响

胡锦涛¹, 蒋士生², 肖梅英³, 徐琳本³, 李勇敏¹

(1. 湖南省中医药研究院附属医院, 湖南 长沙, 410006;

2. 湖南省中医药研究院, 湖南 长沙, 410006;

3. 湖南省中医药研究院中药研究所, 湖南 长沙, 410013)

[摘要] 目的: 观察健脾解毒活血汤对幽门螺杆菌相关性胃炎(HAG)脾胃湿热证模型小鼠血清白介素-1 β (IL-1 β)、胃泌素(GAS)及胃内组织Hp感染数的影响, 为研制新型抗Hp感染的中药提供实验依据。方法: 选取40只SPF级昆明小鼠为实验对象, 将其随机分为空白组、模型组、西药组和中药组, 每组各10只。采用Hp菌液灌胃以建立HAG脾胃湿热证小鼠模型, 西药组予以奥美拉唑钠肠溶胶囊灌胃, 中药组予以健脾解毒活血汤灌胃, 均连续给药14d。观察比较各组小鼠血清IL-1 β 、GAS与胃内组织Hp感染情况。结果: 模型组小鼠血清IL-1 β 、GAS的含量较空白组明显升高($P < 0.01$, $P < 0.05$); 与模型组比较, 中药组和西药组血清IL-1 β 显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$), GAS水平2组无明显差异。模型组小鼠胃组织Hp感染数较空白组明显增加($P < 0.01$), 中药组和西药组胃组织Hp感染数较模型组显著降低($P < 0.05$)。结论: 健脾解毒活血汤对HAG脾胃湿热证模型小鼠血清IL-1 β 及Hp感染数有明显改善作用, 但对GAS影响不大, 在一定程度上可有效治疗脾胃湿热型HAG。

[关键词] 胃炎; 幽门螺杆菌; 脾胃湿热证; 健脾解毒活血汤; IL-1 β ; GAS; 实验研究

[中图分类号] R259.733 **[文献标识码]** A DOI: 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2019.10.059

Effect of Jianpi Jiedu Huoxue decoction on interleukin-1 β and gastrin in mice with Helicobacter pylori-associated gastritis with spleen-stomach damp-heat syndrome

HU Jinyang¹, JIANG Shisheng², XIAO Meiyong³, XU Linben³, LI Yongmin¹

(1. The Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan, China;

2. Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan, China;

3. Institute of Chinese Materia Medica, Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410013, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of Jianpi Jiedu Huoxue decoction on the serum levels of interleukin-1 β (IL-1 β) and gastrin (GAS) and the number of cells with Helicobacter pylori (Hp) infection in gastric tissue in mice with Hp-associated gastritis (HAG) with spleen-stomach damp-heat syndrome, and to provide an experimental basis for the development of new traditional Chinese medicine (TCM) drugs for Hp infection. Methods: A total of 40 specific pathogen-free Kunming mice were selected and randomly divided into blank group, model group, Western medicine group, and TCM group, with 10 mice in each group. A mouse model of HAG with spleen-stomach damp-heat syndrome was established by Hp bacterial solution by gavage. The mice in the Western medicine group were given omeprazole sodium enteric-coated capsules by gavage, and those in the TCM group were given Jianpi Jiedu Huoxue decoction by gavage; both groups were treated for 14 days. The serum levels of IL-1 β and GAS and Hp infection in gastric tissue were compared between groups. Results: The model group had significantly higher serum levels of IL-1 β and GAS than the blank group ($P < 0.01$, $P < 0.05$); compared with the model group, the TCM group and the Western medicine group had a significant reduction in the serum level of IL-1 β ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while there was no significant difference in the level of GAS. Compared with the blank group, the model group had a significant increase in the number of cells with Hp infection in gastric tissue

基金项目: 湖南省教育厅资助项目(编号:12A104)

第一作者: 胡锦涛, 女, 主治医师, 研究方向: 脾胃病的中医药诊治

通讯作者: 蒋士生, 男, 研究员, 研究方向: 脾胃病的中医药诊治, E-mail: 664210847@qq.com

($P < 0.01$), and compared with the model group, the TCM group and the Western medicine group had a significant reduction in the number of cells with Hp infection in gastric tissue ($P < 0.05$). Conclusion: Jianpi Jiedu Huoxue decoction can significantly improve serum IL-1β level and number of cells with Hp infection in mice with HAG with spleen-stomach damp-heat syndrome, with little effect on GAS, and thus exerts a certain therapeutic effect on HAG with spleen-stomach damp-heat syndrome.

[Key words] gastritis; Helicobacter pylori; spleen-stomach damp-heat syndrome; Jianpi Jiedu Huoxue decoction; interleukin-1β; gastrin; experimental study

幽门螺旋杆菌(helicobacter pylori, Hp)感染是慢性胃炎尤其是慢性活动性胃炎中最主要的病因,感染后胃黏膜发生的炎症反应为幽门螺杆菌相关性胃炎(helicobacter pylori associated gastritis, HAG)。按照 correa 模式所述,从 Hp 感染→慢性非萎缩性胃炎→慢性萎缩性胃炎→肠上皮化生→异型增生→胃癌的演变过程看, Hp 起先导作用,且其引起的慢性非萎缩性胃炎是致病的启动因子^[1]。因此,根除 Hp 可显著减缓癌前病变的进展。研究表明, Hp 与机体是一个相互斗争的过程,感染 Hp 后,细胞内活性氧(ROS)水平上升形成核苷酸寡聚化结构域(NOD)样炎性小体受体蛋白 3(NL-RP3),并活化半胱氨酸蛋白酶-1(caspase-1),释放白介素-1β(IL-1β),继而发生细胞焦亡形成炎症^[2]。另一方面,胃泌素(Gastrin, GAS)几乎对整个胃肠道均有作用,刺激胃酸分泌以利胃蛋白酶活化, Hp 感染后刺激 GAS 释放增多,导致胃黏膜炎症^[3]。

本课题组在前期研究中总结出,健脾解毒活血法及方药在治疗脾胃湿热型 HAG 的方面效果显著^[4]。本研究在此基础上,观察健脾解毒活血汤对脾胃湿热型 HAG 模型小鼠胃黏膜组织以及血清 IL-1β、GAS 的影响,为研发新型的抗 Hp 中成药提供实验依据。

1 实验材料

1.1 动物 选取无特定病原体(SPF)级美国癌症研究所(ICR)小鼠 40 只,雌雄各半,体质量 18~20g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,动物许可证号:SCXK(湘)43004700000022]。

1.2 药物 健脾解毒活血方由党参、白术、茯苓、陈皮、山药、败酱草、蒲公英、佩兰、黄连、砂仁等组成(由湖南省中医药研究院附属医院中药房提供)。中药配制:将健脾解毒活血方药加清水 200ml 浸泡 30min 后以武火煎至沸腾,改文火煎煮 30min,同样方法再煎煮 1 次后将 2 次药汁合并,将药汁浓度调整至每毫升含原药材 1.2g,并用离心机去除药汁中残渣,以 4℃ 保存备用。奥美拉唑钠肠溶胶囊(万邦德利药集团股份有限公司,批号:C10B181201)。

1.3 试剂与仪器 Hp 菌株和人工湿热箱(湖南中医药研究院附属医院中心实验室提供);Hp 试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司提供,编号:MST-8027);IL-1β、GAS 酶联免疫检测(长沙天心区永诺化学试剂经营部完成);TD5 台式低速离心机(湖南中医药研究院中药所提供)。

2 实验方法

2.1 动物分组与造模 选择 40 只 ICR 小鼠进行适应性饲

养,编号后随机分为空白组 10 只及造模组 30 只。空白组正常饲养,不予接种 Hp,每天仅以 0.9% 氯化钠注射液灌胃。造模组采用 Hp 菌液灌胃法制备成 HAG 小鼠模型,方法:ICR 小鼠禁食 24h 后,取 50% 0.1ml 乙醇灌入小鼠胃内,1h 后再将 0.5ml Hp 菌株(10^9 个/ml)灌入胃中,隔天灌胃 1 次,共 5 次,灌胃前 6h 和灌胃后 30min 内禁食禁水。每天置于人工湿热箱环境中 8h,给予高脂、高糖食材共 4 周(基础饲料 60%,猪油 12%,蔗糖 18%,胆固醇 3%,蛋黄粉 7%)。末次灌胃和造模 2h 后,随机选取 2 只小鼠进行胃组织细菌培养和尿素酶试验,试验阳性可证明造模成功。造模成功后将 30 只小鼠随机分为模型组、西药组和中药组,每组各 10 只。

2.2 给药方法 按照小鼠与人体表面积比值换算公式计算小鼠用药剂量。西药组予以奥美拉唑钠肠溶胶囊灌胃,给药剂量 5mg/kg,2 次/d;中药组予以健脾解毒活血汤灌胃,给药剂量 1.2g/kg,2 次/d,模型组小鼠灌胃等剂量 0.9% 氯化钠注射液。上述 3 组小鼠均连续给药 14d。

2.3 观察指标 1)IL-1β、GAS。实验结束后,于小鼠眼眶静脉丛取血清测定 IL-1β、GAS。2)胃组织 Hp 感染情况。参照悉尼分级系统^[5]将胃黏膜组织 HE 染色后进行切片,并进行胃 Hp 感染分级, Hp 呈深红色,背景红色。Hp(-):无 Hp(<2 个红点);Hp(+):局部少量 Hp(2~10 个红点);Hp(++):10~50 个红点;Hp(+++):>50 个红点。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组小鼠血清 IL-1β、GAS 水平比较 与空白组比较,模型组小鼠血清 IL-1β、GAS 水平显著升高;与模型组比较,中药组和西药组小鼠血清 IL-1β 明显降低,差异均有统计学意义;血清 GAS 比较,差异无统计学意义。(见表 1)

表 1 各组小鼠血清 IL-1β、GAS 水平比较($\bar{x} \pm s$, pg/ml)

组别	只数	IL-1β	GAS
空白组	10	133.7 ± 26.7	55.7 ± 7.5
模型组	10	201.6 ± 29.6 ^a	68.2 ± 8.6 ^b
中药组	10	153.3 ± 29.5 ^c	58.9 ± 7.6
西药组	10	167.7 ± 26.9 ^d	61.5 ± 7.3

注:与空白组比较,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$;与模型组比较,^c $P < 0.01$,^d $P < 0.05$ 。

3.2 各组小鼠胃组织 Hp 感染情况比较 与空白组比较,模型组小鼠胃组织 Hp 感染的动物数明显增加;与模型组比较,中药组和西药组小鼠胃组织 Hp 感染动物的数量显著减少,差异有统计学意义。(见表 2)

表 2 各组小鼠胃组织 Hp 感染情况比较

组别	只数	HP(-)	HP(+)	HP(++)	HP(+++)
空白组	10	8	2		
模型组	10	1 ^a	2 ^a	4 ^a	3 ^a
中药组	10	3 ^b	5 ^b	2 ^b	0 ^b
西药组	10	3 ^b	4 ^b	2 ^b	1 ^b

注:与空白组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

4 讨 论

中医学认为,“正气存内,邪不可干”“邪之所凑,其气必虚”,疾病的发展取决于人体内正邪斗争的情况,Hp 致病与人体正气不足有关。Hp 具有中医学六淫湿热邪气之属性,因此导致 HAG 患者多有湿热证候,脾胃湿热又是在脾胃疾病变化过程中正邪交争最剧烈的阶段。因此,在治疗此类疾病时应以扶正祛邪为治疗总则,从“虚、湿、热”着手,以“健脾益气、理气化湿、清热解毒”为法,应用健脾解毒活血方通过调整全身及胃黏膜局部的屏障作用,起到提高机体防御功能,达到清除 Hp、改善临床症状的目的。故本实验以肥甘饮食损伤脾胃作为内湿的病因,湿热环境作为外湿的因素来制备模型,既符合脾胃湿热成因,又满足 HAG 模型需要的病证结合模型。

健脾解毒活血汤由党参、白术、茯苓、陈皮、山药、败酱草、蒲公英、黄连等组成。党参味甘,性平,入脾、肺二经,健脾不燥,滋养胃阴而不湿,故全方以党参为君以补脾益气;白术甘温味厚,阳中之阴,可升可降,入脾、胃二经,是补益脾胃、散湿除痹、消食除痞之要药。白术健脾以助气血生化之源,茯苓健脾渗湿,与白术相配共为臣以加强党参补脾益气之效;并联合败酱草、黄连、蒲公英以加强清热解毒之功,薏苡仁、山药、砂仁、佩兰为佐药以健脾化湿,加强醒脾化浊去腐作用。陈皮、木香行气健脾、消食利湿;甘草益气和、调和诸药为使。现代药理研究认为,党参具有保护胃黏膜、抑酸、抗溃疡的作用^[6];白术具有抑酸、调节免疫、保护胃黏膜、抗溃疡之效^[7];茯苓中主要成分茯苓多糖能抑菌、降胃酸及调节免疫作用,对消化性溃疡具有很好的预防效果^[8];山药含淀粉酶、多酚氧化酶等物质^[9],药食两用,可健脾益胃助消化;黄连具有抑制 Hp、抗氧化、调节免疫、保护胃黏膜、抗溃疡等作用^[10]。以上各药配伍,祛邪不伤正,扶正不滞邪,共奏健脾益气、理气化湿、清热解毒之功。

本实验结果表明,脾胃湿热证 HAG 小鼠模型血清 IL-1 β 、GAS 的含量显著升高,胃组织 Hp 感染数量明显增加。与模型组比较,中药组和西药组小鼠胃组织 Hp 感染动物数量有所减少($P < 0.05$),血清 IL-1 β 有所下降($P < 0.05$),但血清 GAS 无明显差异。结果表明,健脾解毒活血汤在 IL-1 β 含量及 Hp 感染数上有明显疗效,但对 GAS 影响不明

显。由此考虑,健脾解毒活血汤组方治疗脾胃湿热证 HAG 可能与其抑制 IL-1 β 的表达来减少细胞凋亡,从而减轻胃黏膜炎症有关。

参考文献

- [1] 谢勇,吕农华.幽门螺杆菌相关性胃炎和胃癌前期病变的发病机制[J].胃肠病学和肝病学杂志,2008,17(7):537-538.
- [2] Kameoka S, Kameyama T, Hayaashi T, et al. Helicobacter pylori induces IL-1 β protein through the inflammasome activation in differentiated macrophagic cells[J]. Biomed Res, 2016, 37(1): 21-27.
- [3] 彭玄杰,陈锦春,屠玲丽.幽门螺杆菌、胃泌素与慢性胃炎的关系[J].临床消化病杂志,2000,11(4):155-156.
- [4] 胡锦涛.健脾清热化湿汤治疗脾虚湿型 Hp 阳性慢性非萎缩性胃炎的临床研究[D].长沙:湖南中医药大学,2013.
- [5] Moorchung N, Srivastava AN, Gupta NK, et al. Gytoki negene polymorphisms and the pathology of chronic gastritis[J]. Singapore Med J, 2007, 48(5): 447-454.
- [6] 韦美秀.党参的药理研究及临床应用概况[J].广西医学,1998,20(4):635-637.
- [7] 李雯,尹华.白术化学成分的药理作用研究进展[J].海峡药学,2012,24(3):9-10.
- [8] 张敏,高晓红,孙晓萌,等.茯苓的药理作用及研究进展[J].北华大学学报,2008,9(1):63-68.
- [9] 赵宏,谢晓玲,万金志,等.山药的化学成分及药理研究进展[J].今日药学,2009,19(3):49-51.
- [10] 崔学军.黄连及其有效成分的药理研究进展[J].中国药师,2006,9(5):469-470.

(收稿日期:2019-06-28)

华佗奇方愈王允心病

华佗是三国时期著名的医学家。他一生勤奋,对劳动人民有着深厚感情,为我国医学事业作出了卓越贡献,而且还是个爱国者。东汉末年,奸相董卓篡权,朝中司徒王允联合一些亲信准备刺杀他,但均告失败,忧虑致病,久治不愈,请华佗来诊治。华佗切完脉提笔列方。王允适逢有客来访临时走开。回来时,他看了华佗开的药方简直怒发冲冠,立即要捉拿华佗问斩。

原来华佗写的药方是:以大人之盖世庸才须知:情知无数定,胜超凡夫宿意;情知短命当速死,以螳臂挡车何用?怒发冲冠气绝,治不得。思虑万千终无用,疗疾治国功未成。身难愈,疾难除,连人带财去也,环顾四壁空空。巧取庸人之令,计谋神仙早定。除大人尘缘,心中当令清醒。病入膏肓者,活该命终!

后来,药方让王允的好友士孙瑞看了,他读道:“以情胜情,以怒治思疗身疾,连环巧计除心病。”原来药方是封藏头书信,每句开首一字连读,竟是治病和救国良方。王允拍手称绝。后来他果然设下连环计,让吕布将董卓除掉,便派人携重金遍访华佗以谢。但华佗却云游四周,为广大的民众治病去了。(http://paper.cntcm.com.cn/html/content/2019-10/09/content_619161.htm)