

# 枳术颗粒对慢性萎缩性胃炎大鼠胃组织 COX-2 和 VEGF 表达的影响

赵凡<sup>1</sup>, 唐德才<sup>2\*</sup>, 张硕<sup>2</sup>, 郭秀霞<sup>2</sup>, 尹刚<sup>2</sup>, 戴建国<sup>2</sup>

(1. 南京中医药大学翰林学院, 江苏泰州 225300; 2. 南京中医药大学, 南京 210046)

**[摘要]** **目的:**观察枳术颗粒对慢性萎缩性胃炎(CAG)大鼠的疗效,并探讨其作用机制。**方法:**选取已建立 CAG 模型的大鼠,分为模型组,胃复春(0.86 g·kg<sup>-1</sup>)组,枳术颗粒高、中、低剂量(20,10,5 g·kg<sup>-1</sup>)组。用蛋白免疫印迹法(Western blot),免疫组化及实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)方法检测胃组织中环氧合酶-2(COX-2),血管内皮生长因子(VEGF)蛋白及 mRNA 的表达。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠胃黏膜腺腔结构不完整,炎细胞浸润黏膜全层,体重增长率降低,COX-2, VEGF 蛋白及 mRNA 表达显著增加( $P < 0.01$ );与模型组比较,枳术颗粒高、中、低剂量组及胃复春组均显著增加 CAG 大鼠体重增长率( $P < 0.01$ ),下调大鼠胃组织 COX-2, VEGF 蛋白及 mRNA 表达( $P < 0.01$ );与胃复春组比较,枳术颗粒高、中、低剂量组均显著增加 CAG 大鼠体重增长率( $P < 0.01$ ),高剂量组可下调大鼠胃组织 COX-2, VEGF 蛋白及 mRNA 表达,但无明显差异。**结论:**枳术颗粒可加快大鼠体重增长,使 CAG 大鼠胃黏膜组织得到改善和恢复。其作用机制可能为下调胃黏膜破坏因子 COX-2, VEGF 的表达,起到预防及治疗作用。

**[关键词]** 枳术颗粒; 慢性萎缩性胃炎; 环氧合酶 2; 血管内皮生长因子

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)24-0150-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2016240150

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160929.0947.044.html>

**[网络出版时间]** 2016-09-29 9:47

## Effect of Zhizhu Granules on Expressions of VEGF and COX-2 in Rat Model with Chronic Atrophic Gastritis

ZHAO Fan<sup>1</sup>, TANG De-cai<sup>2\*</sup>, ZHANG Shuo<sup>2</sup>, GUO Xiu-xia<sup>2</sup>, YIN Gang<sup>2</sup>, DAI Jian-guo<sup>2</sup>

(1. Hanlin College, Nanjing University of Chinese Medicine, Taizhou 225300, China;

2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect of Zhizhu granules on the rat model with chronic atrophic gastritis (CAG). **Method:** The rat model with chronic atrophic gastritis was established, and divided into model group, positive control group (Weifuchun, 0.86 g·kg<sup>-1</sup>), and Zhizhu granules high, medium and low-dose (20, 10, 5 g·kg<sup>-1</sup>) groups. The mRNA and protein expressions of cyclooxygenase-2 (COX-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) were detected by Western blot, immunohistochemical (IHC) and Real-time PCR method. **Result:** Compared with normal group, model group showed incomplete gastric mucosa gland cavity structure, obvious inflammatory cell infiltration, significant decreasing in weight growth rate, and significant increase in COX-2 and VEGF protein and mRNA expressions ( $P < 0.01$ ). Compared with model group, Zhizhu granules high, medium and low-dose groups and Weifuchun group showed significant increase in CAG rats' body weight growth rate ( $P <$

**[收稿日期]** 20160309(023)

**[基金项目]** 江苏省中医药管理局课题项目(HZ07066);南京中医药大学基础研究与重点培育项目(10XJC01);南京中医药大学青年基金项目(13XZR07)

**[第一作者]** 赵凡, 硕士, 助教, 从事脾胃病中医药研究, Tel:0523-80639515, E-mail: zhaofan-s@163.com

**[通讯作者]** \*唐德才, 博士, 教授, 从事临床中药学研究, Tel:025-85811010, E-mail: talknow@163.com

0.01), decrease in COX-2, VEGF protein and mRNA expressions in rat gastric tissues ( $P < 0.01$ ). Compared with Weifuchun group, Zhizhu granules high, medium and low-dose groups showed significant increase in CAG rats' body weight growth rate ( $P < 0.01$ ), high-dose group could decrease the expression of COX-2, VEGF protein and mRNA expressions in rat gastric tissues, with no significant difference. **Conclusion:** Zhizhu granules can increase the growth of the body weight of rats, and also alleviate pathological morphology in stomach tissues. Zhizhu granules show the preventive and therapeutic effects by down-regulating the expressions of COX-2 and VEGF.

[**Key words**] Zhizhu granules; chronic atrophic gastritis (CAG); cyclooxygenase-2 (COX-2); vascular endothelial growth factor (VEGF)

慢性萎缩性胃炎 (chronic atrophic gastritis, CAG) 是消化系统常见病和疑难病, 主要以胃黏膜固有腺体萎缩、数量减少或消失为病理特征, 常伴有肠上皮化生及不典型增生, 有癌变危险。1975 年 WHO 将 CAG 列为胃癌的癌前疾病 (状态) 之一。中医认为, CAG 病程缠绵, 日久脏腑功能失调, 脾失健运, 胃失和降, 则“气滞、湿阻、血瘀”等<sup>[1-2]</sup>相互作用, 逐渐形成积聚, 导致胃癌发生。

枳术丸出自李东垣《内外伤辨惑论》中“易水张先生枳术丸: 治痞, 消食, 强胃”, 为易水学派创始人张元素所创, 由枳实、白术、荷叶组成, 可补益脾气, 健脾行气消痞。临床研究亦证实枳术丸加减对功能性消化不良、胃食管反流、厌食、便秘等<sup>[3-5]</sup>多种胃肠道功能失调疾病的疗效显著。导师唐德才教授根据多年临床经验, 在枳术丸基础上去荷叶, 加莪术、蒲公英研制枳术颗粒, 治疗 CAG 及胃癌术后患者效果显著。前期研究显示枳术颗粒可明显改善甚至逆转胃黏膜萎缩的病变, 可促进胃黏膜的修复和再生; 明显增加胃内游离酸和总酸度, 使胃肠道激素水平恢复正常<sup>[6]</sup>。为阐明其作用机制, 本研究通过枳术颗粒对 CAG 大鼠胃组织中环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2), 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 蛋白及 mRNA 水平的影响, 探讨枳术颗粒治疗 CAG 的机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 健康雄性 SD 大鼠, 由南京中医药大学动物实验中心提供, 合格证号 SCXK (苏) 2012-0001。

**1.2 药品与试剂** 炒白术、炒枳实、莪术、蒲公英购自南京中医药大学百草堂门诊部, 经南京中医药大学药学院吴德康教授鉴定分别为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* 的根茎, 芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* 的干燥果实, 姜科植物温郁金

*Curcuma wenyujin* 的干燥根茎以及菊科植物蒲公英 *Taraxacum mongolicum* 的干燥全草; 均符合 2010 年版《中华人民共和国药典》标准。枳术颗粒的配制: 称取枳术颗粒组方药材饮片 (5 500 g), 按照枳实-白术-莪术-蒲公英 1:2:1:1.5 配比, 水煎 2 次, 第 1 次 10 倍量水浸泡 1 h, 莪术提油, 药渣与余药水煎 1.5 h, 第 2 次 8 倍量水煎 1 h, 滤过, 合并 2 次药液, 浓缩后制成浸膏。浸膏及莪术油密封包装保存于 4 ℃ 冰箱中备用。每次用药时将提取的莪术油按与浸膏比混匀于药液中使用。胃复春片 (杭州胡庆余堂药业有限公司, 批号 121469), 脱氧胆酸钠 (Solarbio 公司, 批号 1226A024), 氨水 (西陇化工股份有限公司, 批号 1403091), 链霉菌抗生素蛋白-过氧化物酶连结法 (SP 法) 试剂盒 (福州迈新公司, 批号 KIT9902), Trizol (Invitrogen 公司, 批号 I15596-026); cDNA 第一链合成试剂盒 (Fermentas 公司, 批号 K1622); 实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) Master Mix (Toyobo 公司, 批号 QPK201); BCA (南京凯基生物科技发展有限公司, 批号 204VC87D); COX-2, VEGF,  $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin) 抗体 [艾博抗 (上海) 贸易有限公司, 批号分别为 #5RTH39, #6KLL20, #2LHO57]; 二抗 (Jackson 公司, 批号 S4DF41)。引物序列由南京金斯瑞科技有限公司合成, GAPDH (111 bp): 上游 5'-TCAAGAAGGTGGTGAAGCAG-3', 下游 5'-AGGTGGAAGAATGGGAGTTG-3'; VEGF (112 bp): 上游 5'-AGACTCCGGTGTGGTCTTTC-3', 下游 5'-TCGTGTTTCTGGAAGTGAGC-3'; COX2 (114 bp): 上游 5'-CCTTCCTTCGGAATTCAATC-3, 下游 5'-TGGAGAAAGCTTCCCAACTT-3'。

**1.3 仪器** LEICA DM 1000 型光学显微镜 (德国 Leica 公司); 164-5051 型电泳仪, Gel Doc XR 型凝胶成像仪 (美国 Bio-Rad 公司); MultiGene Gradient 型 PCR 循环仪 (美国 Labnet 公司), DA7600 型荧光定量 PCR 循环仪 (中山达安公司), DYY-6B 型核酸

电泳仪(北京六一公司), Image-Pro Plus 6.0 型免疫组化彩色图像分析系统(美国 Media Cybernetics 公司)。

## 2 方法

**2.1 造模方法** 正常组大鼠每日正常给水给食,用生理盐水灌胃;CAG 模型组大鼠每日给予 0.1% 的氨水溶液饮用,以  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  脱氧胆酸钠溶液灌胃,配合饥饱失常法(进食 2 d,禁食 1 d),连续 10 周,灌胃按  $0.01 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$  标准进行。每天观察大鼠的状态,每隔 2 周随机抽取模型组大鼠 2 只处死,取胃组织沿胃大弯剪开用生理盐水洗净后放入 10% 甲醛溶液中固定,再进行包埋、切片、苏木素伊红(HE)染色。10 周末判断模型成功与否,造模成功标准参考中国慢性胃炎共识意见<sup>[7]</sup>:光镜下显示胃黏膜固有腺体减少。在造模期间每周称量大鼠体重,连续观察其体重变化。

**2.2 分组与给药** 造模成功后,将 CAG 模型大鼠随机分为 CAG 模型组,胃复春( $0.86 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组,枳术颗粒高、中、低剂量( $20, 10, 5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组,每组 8 只。枳术颗粒各组每次灌胃前取莪术油 3.8 mL 按与浸膏 1 kg 混匀,用蒸馏水配成质量浓度 2, 1, 0.5  $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混悬溶液;胃复春组将胃复春溶于蒸馏水中配成  $0.086 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液。按照  $0.01 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$  标准进行灌胃,正常组及模型组给予生理盐水灌胃,连续治疗 4 周。第 4 周实验末处死大鼠,取胃组织,沿胃大弯剪开,清洗,进行肉眼观察。将每个胃组织标本剪为 2 份,一份用 10% 中性甲醛固定胃组织,另一份放入缓冲溶液中,  $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。

体重增长率 = (末次体重/初始体重 - 1)  $\times 100\%$

**2.3 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 COX-2 及 VEGF 蛋白表达** 提取胃组织蛋白,经 BCA 试剂盒测定蛋白含量后,进行电泳,转膜,5% 脱脂奶粉  $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$  封闭 1 h。分别加入 COX-2 抗体(1:600), VEGF 抗体(1:800),  $\beta$ -actin 抗体(1:4 000),  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  孵育过夜,二抗室温孵育 2 h,室温放置 1 min。经洗涤、显影、定影、扫描后,以目的条带/内参条带表示蛋白相对表达量。

**2.4 免疫组化方法检测 COX-2 及 VEGF 蛋白表达**

取固定好的胃黏膜组织,常规石蜡包埋,按照 SP 法完成免疫组化染色,切片二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化,抗原修复,灭活酶,洗涤,加入一抗(1:100)  $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$  湿盒孵育 2 h,洗涤,加入 HRP 标记二抗,洗涤, DAB 染色,苏木素复染,盐酸-甲醇分化,乙醇脱水,二甲苯透明,封片。光镜下观察切片阳性表达情况,高倍

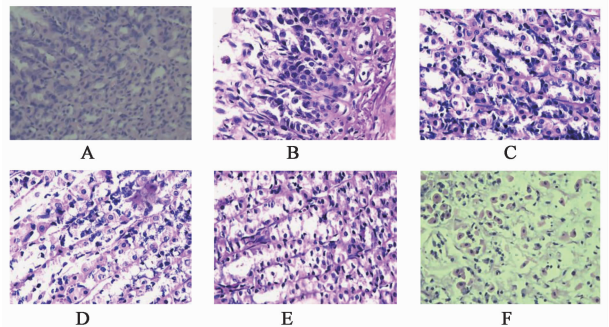
视野下每张切片随机选取 5 个视野,运用 Image-Pro Plus 6.0 免疫组化彩色图像分析系统对图片进行定量分析,测定图片 COX-2 及 VEGF 阳性表达的积分吸光度 IA 等,从而反映 COX-2, VEGF 在组织中的表达强度。

**2.5 Real-time PCR 检测 COX-2 及 VEGF mRNA 表达** 取适量组织提取 RNA 后,测定样品 260 nm 和 280 nm 波长处吸光度,测定其纯度和浓度。合成 cDNA,进行 PCR 反应,反应条件:  $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$  5 min;  $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$  15 s,  $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$  20 s,  $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$  40 s, 40 个循环。以 GAPDH 作为内参,以  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法来计算目的基因相对表达量。

**2.6 统计学方法** 采用 SPSS 16.0 统计软件,计量数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,计量资料采用单因素方差分析及 *t* 检验。  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 不同时期 CAG 大鼠病理形态学改变** 正常大鼠胃黏膜组织厚度正常,腺腔结构完整,无或极少炎细胞浸润;2 周 CAG 模型大鼠胃黏膜厚度基本正常,腺体结构基本完整,有少量炎细胞浸润;4 周大鼠胃黏膜厚局部变薄,黏膜层有炎细胞浸润,腺体排列稍不规整;6 周大鼠胃黏膜厚度变薄,腺上皮细胞脱落,腺腔结构不完整,有大量炎细胞浸润;8 周大鼠胃黏膜厚度变薄,腺上皮细胞脱落,腺腔结构不完整,炎细胞浸润胃黏膜全层;10 周大鼠胃黏膜变薄,几乎无腺上皮细胞,腺腔结构不完整,甚至萎缩消失,炎细胞浸润黏膜全层,大部分细胞发生嗜酸性改变,黏膜基层增厚。见图 1。



A. 正常组; B~F. 模型(2, 4, 6, 8, 10 周)组

图 1 不同时期 CAG 大鼠胃组织病理学形态(HE 染色,  $\times 400$ )

Fig. 1 Pathological morphology of gastric tissue of CAG rats in different stages(HE,  $\times 400$ )

**3.2 枳术颗粒对大鼠体重的影响** 与正常组比较,胃复春组及枳术颗粒各组大鼠体重增长率显著增高( $P < 0.01$ );与模型组比较,胃复春组及枳术颗粒中、高剂量组大鼠体重增长率显著增高

( $P < 0.01$ ) ; 与胃复春组比较, 枳术颗粒高、中剂量组大鼠体重增长率显著增高 ( $P < 0.01$ ), 且枳术颗

粒低、中、高剂量组大鼠体重增长率逐级增加。见表 1。

表 1 枳术颗粒对 CAG 大鼠体重增长的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 1 Effect of Zhizhu granules on weight growth of CAG rats ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	体重/g		增长率/%
		初始	4 周	
正常	-	528.53 $\pm$ 31.65	593.80 $\pm$ 32.14	14.44 $\pm$ 2.00
模型	-	419.13 $\pm$ 17.52	471.05 $\pm$ 24.74	12.69 $\pm$ 0.38
胃复春	0.86	427.77 $\pm$ 20.15	503.81 $\pm$ 11.58	17.76 $\pm$ 0.73 <sup>1,2)</sup>
枳术颗粒	5	429.92 $\pm$ 10.30	490.65 $\pm$ 26.24	14.11 $\pm$ 0.44 <sup>1,3)</sup>
	10	429.27 $\pm$ 8.21	529.88 $\pm$ 37.68	23.29 $\pm$ 0.73 <sup>1,2,3)</sup>
	20	439.17 $\pm$ 10.40	569.18 $\pm$ 40.35	29.64 $\pm$ 0.74 <sup>1,2,3)</sup>

注: 与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ; 与胃复春组比较<sup>3)</sup> $P < 0.01$  (表 2 ~ 4 同)。

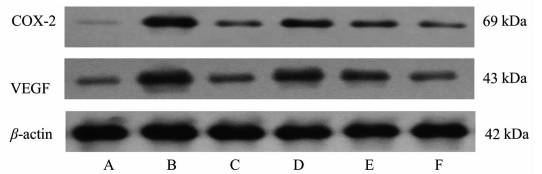
**3.3 枳术颗粒对胃组织 COX-2 及 VEGF 蛋白表达的影响** 与正常组比较, 模型组大鼠胃组织中 COX-2 及 VEGF 蛋白表达水平显著增加 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 枳术颗粒各组及胃复春组胃组织 COX-2 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ ), 枳术颗粒中、高剂量组及胃复春组胃组织 VEGF 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ ); 与胃复春组比较, 枳术颗粒低、中剂量组胃组织中 COX-2 及 VEGF 蛋白表达水平显著增加 ( $P < 0.01$ ), 高剂量组 COX-2 蛋白表达无显著性差异。见表 2, 图 2。

表 2 枳术颗粒对 CAG 大鼠胃组织中 COX-2 及 VEGF 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 2 Effect of Zhizhu granules in COX-2 and VEGF protein expression in CAG rat stomach tissues ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	COX-2	VEGF
		/ $\beta$ -actin	/ $\beta$ -actin
正常	-	0.033 7 $\pm$ 0.001 4	0.053 1 $\pm$ 0.013 2
模型	-	0.584 9 $\pm$ 0.025 1 <sup>1)</sup>	0.439 6 $\pm$ 0.028 2 <sup>1)</sup>
胃复春	-	0.171 9 $\pm$ 0.004 8 <sup>2)</sup>	0.153 5 $\pm$ 0.003 2 <sup>2)</sup>
枳术颗粒	0.86	0.349 6 $\pm$ 0.025 0 <sup>2,3)</sup>	0.425 9 $\pm$ 0.014 7 <sup>3)</sup>
	5	0.265 0 $\pm$ 0.021 0 <sup>2,3)</sup>	0.358 3 $\pm$ 0.018 2 <sup>2,3)</sup>
	10	0.199 2 $\pm$ 0.002 6 <sup>2)</sup>	0.179 3 $\pm$ 0.052 8 <sup>2,3)</sup>

**3.4 枳术颗粒对胃组织 COX-2 及 VEGF 蛋白表达的影响** 与正常组比较, 模型组大鼠胃组织中 COX-2 及 VEGF 蛋白表达水平显著增加 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 枳术颗粒各组及胃复春组胃组织 COX-2 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ ), 枳术颗粒中、高剂量组及胃复春组胃组织 VEGF 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ ); 与胃复春组比较, 枳术颗粒高、中、低剂量组胃组织中



A. 正常组; B. 模型组; C. 胃复春 ( $0.86 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 组; D ~ F. 枳术颗粒 ( $5, 10, 20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 组 (图 3, 4 同)

图 2 枳术颗粒对 CAG 大鼠胃组织中 COX-2 及 VEGF 蛋白表达的影响

Fig. 2 Effect of Zhizhu granules in COX-2 and VEGF protein expression in CAG rat stomach tissues

COX-2 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ ), 枳术颗粒高、低剂量组胃组织中 VEGF 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ )。见表 3 和图 3, 4。

表 3 枳术颗粒对 CAG 大鼠胃组织中 COX-2 及 VEGF 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 3 Effect of Zhizhu granules in COX-2 and VEGF protein expression in CAG rat stomach tissues ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ ) IA

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	COX-2	VEGF
正常	-	1.000 0 $\pm$ 0.123 6	1.000 0 $\pm$ 0.251 1
模型	-	1.930 4 $\pm$ 1.241 9 <sup>1)</sup>	1.578 5 $\pm$ 0.102 6 <sup>1)</sup>
胃复春	-	0.915 2 $\pm$ 0.123 3 <sup>2)</sup>	1.169 1 $\pm$ 0.037 2 <sup>2)</sup>
枳术颗粒	0.86	1.513 7 $\pm$ 0.352 8 <sup>2,3)</sup>	1.378 2 $\pm$ 0.028 6 <sup>3)</sup>
	5	0.895 0 $\pm$ 0.652 1 <sup>2,3)</sup>	1.146 0 $\pm$ 0.045 5 <sup>2)</sup>
	10	0.808 2 $\pm$ 0.100 4 <sup>2,3)</sup>	1.007 7 $\pm$ 0.022 1 <sup>2,3)</sup>

**3.5 枳术颗粒对胃组织 COX-2 及 VEGF mRNA 表达的影响** 与正常组比较, 模型组大鼠胃组织中 COX-2 及 VEGF mRNA 表达水平显著增加 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 枳术颗粒高、中剂量组及胃复春组胃组织 COX-2 mRNA 表达水平显著降低

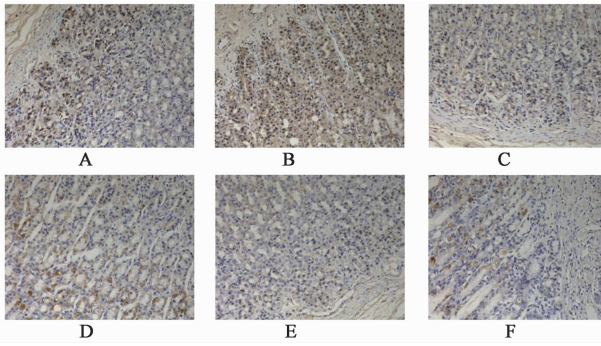


图 3 枳术颗粒对 CAG 大鼠胃组织中 COX-2 蛋白表达的影响 (IHC, ×400)

Fig. 3 Effect of Zhizhu granules in COX-2 protein expression in CAG rat stomach tissues (IHC, ×400)

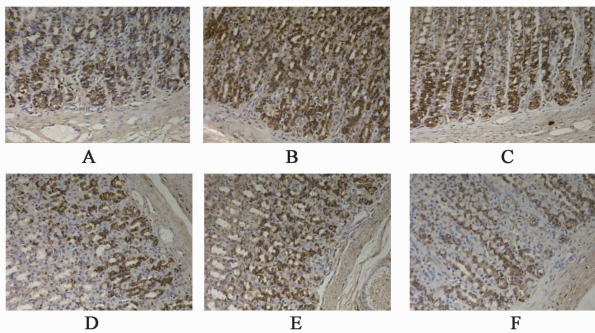


图 4 枳术颗粒对 CAG 大鼠胃组织中 VEGF 蛋白表达的影响 (IHC, ×400)

Fig. 4 Effect of Zhizhu granules in VEGF protein expression in CAG rat stomach tissues (IHC, ×400)

( $P < 0.01$ ), 枳术颗粒各组及胃复春组胃组织 VEGF mRNA 表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ ); 与胃复春组比较, 枳术颗粒高剂量组 COX-2 mRNA 表达显著降低 ( $P < 0.01$ ), VEGF mRNA 表达降低, 但无显著性差异。见表 4。

表 4 枳术颗粒对 CAG 大鼠胃组织中 COX-2 及 VEGF mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 4 Effect of Zhizhu granules in COX-2 and VEGF mRNA expression in CAG rat stomach tissues ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	COX-2	VEGF
正常		1.026 4 ± 0.296 5	1.009 6 ± 0.170 5
模型	-	10.865 7 ± 1.922 7 <sup>1)</sup>	9.614 8 ± 0.853 5 <sup>1)</sup>
胃复春	-	1.955 0 ± 0.617 8 <sup>2)</sup>	1.955 3 ± 0.410 0 <sup>2)</sup>
枳术颗粒	0.86	9.519 3 ± 0.276 5 <sup>3)</sup>	6.269 3 ± 0.158 3 <sup>2,3)</sup>
	5	4.266 4 ± 1.025 6 <sup>2,3)</sup>	4.055 0 ± 0.541 5 <sup>2,3)</sup>
	10	1.924 3 ± 0.403 8 <sup>2)</sup>	1.853 1 ± 0.294 4 <sup>2)</sup>

#### 4 讨论

慢性萎缩性胃炎临床以“痞、胀、痛”为主, 将

其划分于中医学“痞满”、“胃脘痛”、“嘈杂”等类别。中医对本病病因认识较一致, 主要有外邪侵袭犯胃, 饮食不节, 情志失调不畅, 脾胃功能虚弱等。导师唐德才教授根据多年临床经验, 提出慢性萎缩性胃炎病因病机主要为“虚、滞、湿、瘀”。枳术颗粒以健脾理气、化痰燥湿为治疗原则, 对 CAG 病机有针对性治疗作用。白术、枳实相配一补一泻, 一守一走, 一缓一急, 消补兼施, 补而不滞, 攻不伤正, 急不破削, 缓不留邪, 相辅相成, 共奏健脾散结, 开痞除满之功, 《金匮要略》谓: “大气一转, 其气乃散。” 莪术破血行气, 消积止痛, 蒲公英清热解毒, 消痈散结。

WHO 将 CAG 列为胃癌的癌前疾病 (状态) 之一。目前认为, 正常胃黏膜细胞经过了慢性浅表性胃炎—慢性萎缩性胃炎—肠上皮化生—异型增生—胃癌的渐变过程, CAG 向胃癌转变的发病机制目前还不甚清楚, 但有研究显示众多基因及分子改变的积累与这一演变过程密切相关<sup>[8]</sup>。COX-2 在消化道肿瘤早期发生过程中的有重要意义, 可作为早期诊断标志<sup>[9]</sup>。研究表明, COX-2 在不同组织类型中递增的表达趋势符合慢性胃炎到癌变的演变顺序<sup>[10]</sup>。COX-2 表达后可产生前列腺素 E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) 等产物, 可诱导 VEGF 等的表达<sup>[11]</sup>。有研究显示, COX-2 主要在新生的血管内皮细胞中表达较多, 且 COX-2 与 VEGF 表达水平基本一致, 导致血管新生增加, 促使肿瘤不断生长<sup>[12]</sup>。VEGF 可调节肿瘤血管形成, 和微血管的形成密切相关, 被认为是此过程中最关键的因素<sup>[13]</sup>。VEGF 广泛分布于许多正常组织中, 在肿瘤组织中过度表达, 在 CAG 中表达显著增加<sup>[14]</sup>。Su 等<sup>[15]</sup>研究表明, COX-2 可通过 HER-2/Neu 通路增加血管内皮生长因子-C (VEGF-C) 表达, 同时 PGE<sub>2</sub> 与前列腺素 E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>) 结合并激活, 激活后促进了 HER-2/Neu 受体的磷酸化, 该信号通过 38 kDa 促分裂素原活化蛋白激酶 (MAPK/p38) 介导并刺激核转录因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), 最终增强 VEGF-C 基因的转录并使其蛋白表达增加。

本实验结果显示, CAG 模型大鼠胃黏膜腔结构不完整, 炎细胞浸润黏膜全层, 体重增长率降低, COX-2, VEGF 蛋白及 mRNA 表达明显增加, 说明在 CAG 的疾病状态下, COX-2, VEGF 刺激表达增加, 通过增加炎症反应及新生血管, 导致胃黏膜萎缩癌变。而枳术颗粒组 COX-2, VEGF 蛋白及 mRNA 表达下调, 说明枳术颗粒可以抑制 COX-2,

VEGF 过度表达,减轻炎症反应,抑制血管新生,从而阻断 CAG 向癌症发展。其中枳术颗粒高剂量组各指标与胃复春组比较无统计学差异,可在一定程度反应枳术颗粒疗效与胃复春的相似性。另外,枳术颗粒各组在不同检测方法中蛋白表达量有差异,与实验误差有一定关系;而蛋白与 mRNA 表达的差异可能与转录翻译过程有关,其过程复杂,多因素相互作用可在一定程度上导致表达的

不一致。  
综上所述,枳术颗粒的作用机制可能为下调胃黏膜破坏因子 COX-2, VEGF 的表达,起到预防及治疗 CAG 的作用。

#### [参考文献]

[1] 胡艳艳. 王灿晖教授辨治慢性萎缩性胃炎经验总结 [D]. 南京:南京中医药大学,2011.

[2] 王健. 白兆芝教授学术思想和临床经验总结及中医小肠病治法的临床研究 [D]. 北京:北京中医药大学,2012.

[3] 李晓玲,张声生,杨成,等. 枳术丸对功能性消化不良大鼠胃排空功能及 Ghrelin、5-HT、CGRP 的影响 [J]. 北京中医药,2014,33(11):856-860.

[4] 鲁向辉. 枳术丸合越鞠丸作汤剂加减治疗消化性溃疡的临床体会 [J]. 中国医药指南,2012,10(4):243-244.

[5] 李潇,贾玫,陈信义. 加味枳术丸加减治疗癌性厌食 39 例 [J]. 中国临床保健杂志,2011,14(2):198-199.

[6] 赵博辉,唐德才. 枳术颗粒治疗慢性萎缩性胃炎的实验研究 [J]. 吉林中医药,2009,29(6):538-539.

[7] 房静远,刘文忠,李兆申,等. 中国慢性胃炎共识意见(2012年,上海) [J]. 中华消化杂志,2007,18(2):58-63.

[8] Macfarlane A J, Stover P J. Convergence of genetic,

nutritional and inflammatory factors in gastrointestinal cancers [J]. *Nutr Rev*, 2007, 65(2):157-166.

[9] Cheng J, Fan X M. Role of cyclooxygenase-2 in gastric cancer development and progression [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(42):7361-7368.

[10] 石海,许建明,胡乃中,等. 环氧合酶-2 在胃癌中的表达及预后意义 [J]. 临床消化病杂志,2003,15(1):3-6.

[11] Buccoliero A M, Caldarella A, Gheri C F, et al. Inducible cyclooxygenase (COX-2) in glioblastoma--clinical and immunohistochemical (COX-2-VEGF) correlations [J]. *Clin Neuropathol*, 2006, 25(2):59-66.

[12] Liu X H, Kirschenbaum A, Yao S, et al. Upregulation of vascular endothelial growth factor by cobalt chloride-simulated hypoxia is mediated by persistent induction of cyclooxygenase-2 in a metastatic human prostate cancer cell line [J]. *Clin Exp Metastasis*, 1999, 17(8):687-694.

[13] Kalitin N N, Kostyukova M N, Kakpakova E S, et al. Expression of vascular endothelial growth factor receptors VEGFR1 in cultured multiple myeloma cells: correlation with immunophenotype and drug resistance [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2012, 153(6):882-885.

[14] Tonino P, Abreu C. Microvessel density is associated with VEGF and  $\alpha$ -SMA expression in different regions of human gastrointestinal carcinomas [J]. *Cancers*, 2011, 3(3):3405-3418.

[15] Su J L, Shih J Y, Jenq Y M, et al. Cyclooxygenase-2 induces EPL-and HER-2/Neu-dependent vascular endothelial growth factor-C up-regulation: a novel mechanism of lymphangiogenesis in lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(2):554-564.

[责任编辑 张丰丰]