

# 胃炎 I 号对慢性萎缩性胃炎的疗效及其分子机制

韦玉娜<sup>1,3</sup>, 覃潇<sup>2</sup>, 郭亚蕾<sup>3</sup>, 刘友章<sup>3\*</sup>

(1. 广西中医药大学, 南宁 530001; 2. 广西中医药研究院, 南宁 530023;  
3. 广州中医药大学, 广州 510405)

[摘要] **目的:**探讨胃炎 I 号方对慢性萎缩性胃炎(CAG)的疗效及其分子机制。**方法:**90 只 SD 大鼠随机分为正常对照组、模型组、胃炎 I 号(1.08, 0.54 g·kg<sup>-1</sup>)治疗组;除正常对照组外,所有大鼠进行 CAG 造模,20 周后开始 ig 给药,1 次/d,连续 12 周后处死大鼠,胃黏膜组织切片观察病变程度,采用 RT-PCR 测定  $\beta$ -链蛋白( $\beta$ -catenin)和周期素 D1(cyclin D1)表达水平。**结果:**模型组大鼠胃黏膜出现 CAG 病变,治疗组大鼠 CAG 病变减轻;CAG 大鼠模型组  $\beta$ -catenin 和 cyclin D1 表达较正常对照组升高( $P < 0.01$ ),治疗组  $\beta$ -catenin 和 cyclin D1 表达明显低于模型组( $P < 0.01$ )。**结论:**胃炎 I 号对 CAG 有治疗作用, $\beta$ -catenin 和 cyclin D1 在 CAG 模型中表达升高,胃炎 I 号方可能通过抑制  $\beta$ -catenin 和 cyclin D1 治疗 CAG。

[关键词] 胃炎 I 号;慢性萎缩性胃炎; $\beta$ -链蛋白;周期素 D1

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)11-0276-04

[doi] 10.11653/syfy2013110276

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130329.1348.003.html>

[网络出版时间] 2013-03-29 13:48

## Effects of Weiyao I Decoction on Chronic Atrophy Gastritis and the Related Molecular Mechanism

WEI Yu-na<sup>1,3</sup>, TAN Xiao<sup>2</sup>, GUO Ya-lei<sup>3</sup>, LIU You-zhang<sup>3\*</sup>

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;  
2. Guangxi Institute of Chinese Medicine and Pharmaceutical Science, Nanning 530023, China;  
3. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of Weiyao I decoction (WID) on chronic atrophy gastritis (CAG) and the related molecular mechanism. **Method:** Ninety SD rats were divided into 4 groups: control group, model group and two treatment groups (1.08, 0.54 g·kg<sup>-1</sup>). The CAG model was established in model group and treatment group, and the treatment of WID was continued for 12 weeks started from 20 weeks after model establishment. Afterwards, the pathological specimens of gastric mucosa were collected and investigated. The expression level of  $\beta$ -catenin and cyclin D1 mRNA were examined by RT-PCR. **Result:** Compared with the control group, the expression of  $\beta$ -catenin and cyclin D1 were increased in the model group, while treatment with WID could reduce the induction. The difference were significant ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** WID has good therapeutic effect on CAG. The mechanism of WID in treating CAG may be related with inhibition of the expression of  $\beta$ -catenin and cyclin D1.

[Key words] Weiyao I decoction; chronic atrophy gastritis;  $\beta$ -catenin; cyclin D1

[收稿日期] 20121231(688)

[第一作者] 韦玉娜,讲师,在读博士,从事中西医结合治疗脾胃病的临床研究与中医临床基础教学工作,Tel:18677069683,E-mail:redrain825@163.com

[通讯作者] \*刘友章,教授,从事中西医结合治疗脾胃病的临床研究与教学工作,Tel:13826286633,E-mail:liu408@126.com

慢性萎缩性胃炎 (chronic atrophy gastritis, CAG) 是消化系统的常见病、难治病。其病理特点为胃黏膜萎缩,固有腺体减少或消失,伴有肠上皮化生、不典型增生等。目前西医学对 CAG 的治疗仅为对症支持治疗,无明显有效的手段。而中医通过辨证论治,在治疗 CAG 上有独特的优势<sup>[1]</sup>。广州中医药大学刘友章教授根据 30 多年经验,以健脾益气、养血和胃及生肌为法,拟出了胃炎 I 号方。本研究通过对照研究观察胃炎 I 号方对大鼠 CAG 模型的疗效。并以细胞周期调控蛋白为切入点,探讨胃炎 I 号方治疗 CAG 的分子机制。

## 1 材料

**1.1 药物与试剂** 胃炎 I 号方药物组成:党参 30 g,白芍 15 g,当归 10 g,蒲公英 15 g,白花蛇舌草 30 g,七叶一枝花 15 g,莪术 15 g,鸡骨香 15 g,砂仁 10 g<sup>(后下)</sup>,甘草 6 g,珍珠层粉 3 g<sup>(冲)</sup>;盐酸雷尼替丁胶囊(购自郑州康立制药有限公司);*N*-甲基-*N'*硝基-亚硝基胍 (MNNG) 购自 Tokyo Chemical Industry CO. LTD,生产批号 ZG4T1-FP);Trizol 等 RNA 提取试剂购自上海生工生物工程有限公司。

**1.2 仪器** c1000 型梯度 PCR 仪 (Bio-Rad 公司), GelDoc XR 型凝胶成像系统 (Bio-Rad 公司), RM2235 型组织切片机 (Leica 公司)。

**1.3 动物** 90 只清洁级 SD 大鼠由中山大学实验动物中心提供,动物生产许可证号 SCXK(粤)2011-0029,动物质量合格证号 0094983,雌雄各半,体重 120 ~ 130 g。

## 2 方法

**2.1 分组、造模及给药** 大鼠随机分为 3 组:正常对照组、模型组、治疗组,每组 30 只,模型组及治疗组大鼠进行 CAG 造模,方法参照文献[2]。大鼠每天饮用水中加入 MNNG 50 mg·L<sup>-1</sup>,自由饮用,用盐酸雷尼替丁胶囊(0.03 g·kg<sup>-1</sup>) ig,1 次/d;同时采用 2 日足量喂食,1 日停食的饥饱失常喂食法。连续 20 周进行造模。对照组大鼠正常饮食,用 20 mL·kg<sup>-1</sup>生理盐水替代盐酸雷尼替丁胶囊,ig。

造模结束后开始按组给药:胃炎 I 号方(水煎剂)、高、低剂量组剂量分别为含生药 1.08, 0.54 g·kg<sup>-1</sup>,1 次/d,ig,连续 12 周。对照组及模型组大鼠 ig 等体积 0.9% 生理盐水。

**2.2 组织切片制备** 各组大鼠给药结束后颈椎脱臼处死,取全胃,沿胃大弯剪开,在胃窦部取材,10% 甲醛固定后,常规制片,片厚 6 μm。

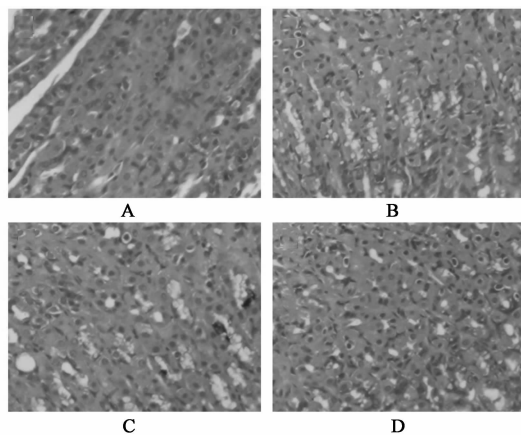
**2.3 标本采集及 RT-PCR 测定** 在大鼠胃窦部取

材。胃黏膜组织按照说明书用 Trizol 一步法提取总 RNA。各组 RNA 定量后用逆转录试剂盒 (Invitrogene) 逆转录成 cDNA,而后通过 PCR 扩增  $\beta$ -catenin, cyclin D1,  $\beta$ -actin。 $\beta$ -catenin 上游引物 5'-GCTGACCTGACGGAGTTGGA-3',下游引物为 5'-GC-TACTTGCTCTTGCGTGAA-3',扩增为 227 bp; cyclin D1 上游引物 5'-ATGGAACACCAGCTCCTGTG-3',下游引物 5'-TGGTGTTCCATGTTCGGTGG-3',扩增长度为 888 bp; $\beta$ -actin 上游引物 5'-CCAGCCATGTACGT-TGCTATCCAG-3',下游引物 5'-GGAACCGCTCATT-GCCAATGGTGA-3',扩增长度为 378 bp。扩增产物经琼脂糖电泳分离后摄片,使用 Image J 软件分析条带吸光度(A)。以目的基因条带与  $\beta$ -actin 条带 A 的比值作为各目的基因相对表达量。

**2.4 统计学处理** 使用 SPSS 13.0 软件,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组组间比较采用 *q* 检验,计数资料采用  $\chi^2$  检验。*P* < 0.05 为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 胃黏膜组织切片观察** 正常对照组胃黏膜上皮完整,腺体排列规则,无肠上皮化生;模型组多数胃黏膜上皮浅表糜烂,固有腺体显著减少,可见肠上皮化生;胃炎 I 号低剂量组黏膜上皮基本完整,固有腺体轻度减少,少见肠上皮化生,高剂量组黏膜上皮完整,固有腺体结构排列基本规则,偶见肠上皮化生(图 1)。



A. 正常对照组;B. 模型组;C. 胃炎 I 号 0.54 g·kg<sup>-1</sup> 组; D. 胃炎 I 号 1.08 g·kg<sup>-1</sup> 组(图 2,3 同)

图 1 胃炎 I 号对 CAG 大鼠胃黏膜形态学变化的影响(HE, ×100)

**3.2  $\beta$ -catenin mRNA 表达** CAG 模型组大鼠胃黏膜组织  $\beta$ -catenin mRNA 表达高于对照组,胃炎 I 号治疗后, $\beta$ -catenin mRNA 表达降低,高剂量比低剂量作用更强(图 2,表 1)。

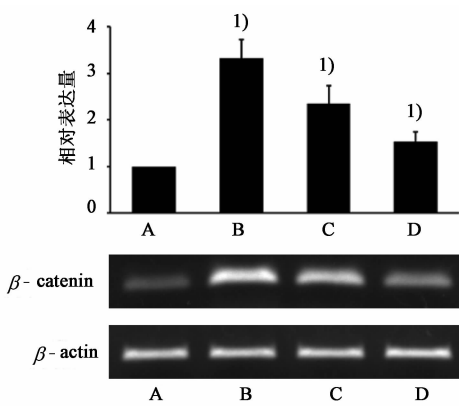


图 2 胃炎 1 号对 CAG 大鼠胃黏膜  $\beta$ -catenin mRNA 表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

表 1 胃炎 1 号对 CAG 大鼠胃黏膜  $\beta$ -catenin 和 cyclin D1 mRNA 水平表达(相对)的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	n	$\beta$ -catenin	cyclin D1
正常对照	-	30	1.00 <sup>2)</sup>	1.00 <sup>2)</sup>
模型	-	30	3.33 ± 0.40	3.43 ± 0.43
胃炎 I 号	0.54	15	2.35 ± 0.39 <sup>1)</sup>	2.08 ± 0.31 <sup>1)</sup>
	1.08	15	1.53 ± 0.22 <sup>2)</sup>	1.60 ± 0.21 <sup>2)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

**3.3 cyclin D1 mRNA 水平表达** CAG 模型组大鼠胃黏膜组织 cyclin D1 mRNA 表达高于对照组,胃炎 I 号治疗后, cyclin D1 mRNA 表达降低,高剂量比低剂量作用更强(图 3,表 1)。

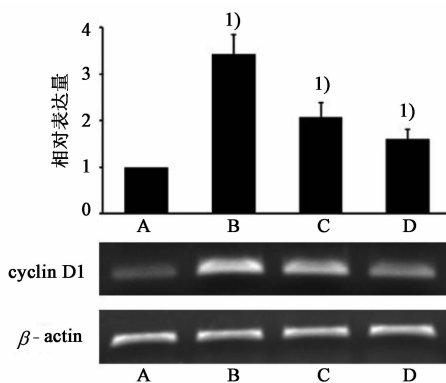


图 3 胃炎 1 号对 cyclin D1 mRNA 表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

#### 4 讨论

多项研究表明 CAG 检出率与胃癌病死率正相关,肠化生与胃癌的发病亦正相关,严重危害了人们的健康<sup>[3]</sup>。目前西医学治疗以抗幽门螺旋菌、抑制胆汁反流、改善胃动力及营养支持等对症治疗为主,能改善一些症状,但对 CAG 的病理改变效果甚微。中医认为本病属于“痞满”、“胃脘痛”等病症范

畴,属本虚标实,本虚以脾胃气阴两虚为主,标实有血瘀、热毒等<sup>[1,4]</sup>。胃炎 1 号方中党参、白芍健脾养胃、柔肝生肌为君;珍珠层粉、蒲公英、白花蛇舌草、七叶一枝花、莪术、当归清热化癖、行气活血为臣;鸡骨草、砂仁理气和胃止痛为佐;甘草调和诸药为使,共奏健脾益气、和胃生肌之功效。前期研究已表明,胃炎 I 号对 CAG 病人胃黏膜有修复作用<sup>[5]</sup>。

细胞周期调控蛋白在肿瘤的发生发展中起关键作用<sup>[6]</sup>。cyclin D1 是调控细胞周期的关键蛋白,其激活后促使细胞从 G<sub>1</sub> 期进入 S 期而不断增殖。cyclin D1 在胃癌、肝癌、肺癌等多种肿瘤中表达升高。cyclin D1 表达升高可引起胃黏膜上皮细胞异常增殖,从而导致胃癌的发生<sup>[7]</sup>。CAG 属于癌前状态,可伴有肠上皮化生和异常增生,因此细胞周期调控蛋白也可能在 CAG 的发生发展中起重要作用。作者观察到,与正常大鼠相比,CAG 模型组大鼠 cyclin D1 表达升高。研究表明,胃癌组织中 cyclin D1 表达高于 CAG 组织,这提示 cyclin D1 表达逐渐增高与从正常组织-萎缩性胃炎-胃癌的发展过程呈正相关。cyclin D1 的表达受  $\beta$ -catenin 的调控, $\beta$ -catenin 可结合 cyclin D1 的启动子从而促发 cyclin D1 表达<sup>[8]</sup>。 $\beta$ -catenin 的高表达也被认为可促进胃癌的发生。本研究结果显示胃炎 I 号可使 CAG 大鼠 cyclin D1 的表达降低,可有效抑制  $\beta$ -catenin 的表达,说明胃炎 I 号可能通过抑制 cyclin D1, $\beta$ -catenin 表达从而治疗、逆转 CAG。

综上,本研究证实胃炎 I 号对慢性萎缩性胃炎有治疗作用,其机制可能是抑制  $\beta$ -catenin/cyclin D1 通路的激活从而抑制细胞异常增殖。

#### [参考文献]

- [1] 黄宣,吕宾.中医药治疗慢性萎缩性胃炎的系统评价[J].世界华人消化杂志,2010,18(10):1056.
- [2] 陆为民,单兆伟,吴静,等.大鼠慢性萎缩性胃炎癌前病变气虚血瘀证动物模型的研制[J].南京中医药大学学报:自然科学版,2000,16(3):156.
- [3] Hoshi T, Sasano H, Kato K, et al. Cell damage and proliferation in human gastric mucosa infected by Helicobacter pylori--a comparison before and after H pylori eradication in non-atrophic gastritis [J]. Hum Pathol,1999,30(12):1412.
- [4] 朱慧渊.中医辨证论治慢性萎缩性胃炎心得体会[J].辽宁中医药大学学报,2011,13(1):128.
- [5] 刘友章,姬爱冬.胃炎 I 号对萎缩性胃炎患者胃黏膜影响的电镜观察[J].广州中医药大学学报,2006,23(6):461.

## 杨桃叶总黄酮的降血糖作用

刘方洲<sup>1\*</sup>, 宋献美<sup>2</sup>, 王晓丽<sup>1</sup>, 刘婷<sup>3</sup>, 梁瑞峰<sup>1</sup>

(1. 河南省中医药研究院, 郑州 450004; 2. 河南职工医学院, 郑州 451191;  
3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的: 探讨杨桃叶总黄酮对糖尿病大鼠模型的血糖影响。方法: 小鼠腹腔注射四氧嘧啶  $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 大鼠腹腔注射链脲佐菌素  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  复制高血糖模型, 随机分为模型对照(蒸馏水)组、格列本脲对照( $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组、杨桃叶总黄酮高、中、低剂量( $0.8, 0.4, 0.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组, 另设空白组(蒸馏水)每组 10 只。连续灌胃 7 d, 末次药后 1.5 h 采血, 测定动物的空腹血糖和葡萄糖耐量。结果: 杨桃叶总黄酮高、中剂量显著降低高血糖模型大鼠和小鼠的空腹血糖, 提高模型大鼠和小鼠的葡萄糖耐量。结论: 杨桃叶总黄酮具有改善链脲佐菌素或四氧嘧啶诱发的高血糖和糖耐量作用。

**[关键词]** 杨桃叶总黄酮; 糖尿病; 血糖

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0279-03

**[doi]** 10.11653/syjf2013110279

## Hypoglycemic Effect of Total Flavones from *Carambola* Leaf

LIU Fang-zhou<sup>1\*</sup>, SONG Xian-mei<sup>2</sup>, WANG Xiao-li<sup>1</sup>, LIU Ting<sup>3</sup>, LIANG Rui-feng<sup>1</sup>

(1. Henan Province Institute of Chinese Medicine Research, Zhengzhou 450004, China;

2. Henan Medical College for Staff and Workers, Zhengzhou 451191, China;

3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the influence of the total flavones from *Carambola* leaf (TFCL) in decreasing blood sugar level in animals with diabetes mellitus (DM). **Method:** DM mouse model was induced by abdominal injection of alloxan  $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  and DM rat model was induced by abdominal injection of streptozocin  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  respectively. Successful model animals confirmed by detecting fasting blood-glucose were randomly divided into 5 groups: normal control group (distilled water), model group (distilled water), glibenclamide group ( $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), high, medium and low dosage groups of TFCL ( $0.8, 0.4, 0.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). The drugs were given daily for 7 consecutive days. After 1.5 h of last administration of drugs, the influence of TFCL on blood sugar level in DM mice and rats was observed. **Result:** TFCL (high and medium dosages) could decrease the blood sugar level and enhance glucose tolerance significantly in DM mice and rats. **Conclusion:** TFCL has hypoglycemic and enhancing glucose tolerance effects in DM mice and rats.

**[Key words]** flavones from *Carambola* leaf; diabetes mellitus; blood glucose

**[收稿日期]** 20121217(649)

**[通讯作者]** \* 刘方洲, 副研究员, 从事中药心血管药理研究, Tel: 0371-66361118, E-mail: hnliu569@163.com

[6] Vermeulen K, Van Bockstaele D R, Berneman Z N. The cell cycle: are view of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer[J]. Cell Prolif, 2003, 36 (3):131.

[7] Arber N, Marilie, Cammon, et al. Overexpression of cyclin D1 occurs in both squamous carcinomas and adeno careiomas of the esophagus and in adenoearlnomas

of the stomach [J]. Human Pathology, 1999, 60 (9):1087.

[8] Shtutman M, Zhurinsky J, Simcha I, et al. The cyclin D1 geneisa target of the  $\beta$ -catenin/LEF-1 pathway[J]. PNAS, 1999, 96(10):5522.

[责任编辑 何伟]