

# 萎胃康及其拆方对慢性萎缩性胃炎 大鼠胃黏膜G, D细胞的影响

林海燕<sup>1</sup>, 赵岩<sup>1\*</sup>, 于佳宁<sup>2</sup>

(1. 滨州医学院, 山东烟台 264003; 2. 滨州医学院烟台附属医院, 山东烟台 264100)

**【摘要】** 目的:探讨萎胃康及其拆方治疗慢性萎缩性胃炎(CAG)的可能机制。方法:70只Wistar大鼠随机抽取12只为正常对照组(正常组),其余58只采用多重刺激6周复制大鼠CAG模型。确定造模成功的50只随机分为5组,即模型组、萎胃康全方组(全方组)、拆方I号组(补益组)、拆方II号组(祛邪组)、西药维霉素对照组(西药组),分别ig 0.9%生理盐水(10 mL·kg<sup>-1</sup>)、萎胃康水煎液(8 g·kg<sup>-1</sup>)、拆方I号水煎液(5.5 g·kg<sup>-1</sup>)、拆方II号水煎液(2.5 g·kg<sup>-1</sup>)和维霉素混悬液(0.3 g·kg<sup>-1</sup>),1次/d。给药30 d后,观察对大鼠胃黏膜组织形态及胃黏膜促胃液素细胞(G细胞)、人生长抑素细胞(D细胞)的影响。结果:全方组大鼠胃黏膜组织学接近正常组。模型组G, D细胞数分别为(24.46 ± 3.39), (14.66 ± 1.57)个/mm<sup>2</sup>,较正常组G, D细胞数(63.54 ± 6.73), (38.32 ± 3.87)个/mm<sup>2</sup>明显降低(P < 0.01)。与模型组比较,各用药组大鼠胃黏膜G, D细胞数显著升高(P < 0.01);与全方组G细胞数(56.66 ± 5.70)个/mm<sup>2</sup>, D细胞数(34.72 ± 4.01)个/mm<sup>2</sup>比较,补益组、祛邪组、西药组大鼠胃黏膜G, D细胞数显著降低(P < 0.01或P < 0.05)。结论:萎胃康能改善和逆转实验性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜萎缩,其机制可能与改善胃肠激素对胃功能的调节作用有关。

**【关键词】** 萎胃康; 拆方; 萎缩性胃炎; G细胞; D细胞

**【中图分类号】** R285.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2013)06-0199-04

**【网络出版地址】** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130124.0929.006.html>

**【网络出版时间】** 2013-01-24 9:29

**【收稿日期】** 20120727(007)

**【基金项目】** 国家自然科学基金项目(81072782);山东省科技发展计划项目(2011YD19012);滨州市科技发展计划项目(2011ZC0911)

**【通讯作者】** \* 赵岩,教授, E-mail: lanzhouzy@163.com

- [2] 李玉洁, 杨庆, 翁小刚, 等. 参莲提取物对脐静脉内皮细胞功能的影响[J]. 中华中医药杂志, 2010(12): 2202.
- [3] 李玉洁, 朱晓新, 杨庆, 等. 参莲提取物对动脉粥样硬化家兔血管病理形态和脂质代谢的影响[J]. 中草药, 2011(4): 760.
- [4] 李丹, 李玉洁, 杨庆, 等. 血管内皮功能障碍与动脉粥样硬化研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8): 272.
- [5] 游云, 龚曼, 李玉洁, 等. 剪应力联合参莲提取物对血管内皮细胞炎症蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(23): 261.
- [6] Wang K Y, Tanimoto A, Guo X, et al. Histamine deficiency decreases atherosclerosis and inflammatory response in apolipoprotein E knockout mice independently of serum cholesterol level[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(4): 800.
- [7] Czyzewska-Buczyńska A, Witkiewicz W. Role of mast cells in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. Przegl Lek, 2011, 68(3): 171.
- [8] Kovanen P T. Mast cells: multipotent local effector cells in atherothrombosis[J]. Immunol Rev, 2007, 217: 105.
- [9] Yeong P, Ning Y, Xu Y, et al. Tryptase promotes human monocyte-derived macrophage foam cell formation by suppressing LXRA $\alpha$  activation[J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1801(5): 567.
- [10] Iwabayashi M, Taniyama Y, Sanada F, et al. Role of serotonin in angiogenesis: induction of angiogenesis by sarpogrelate via endothelial 5-HT1B/Akt/eNOS pathway in diabetic mice [J]. Atherosclerosis, 2012, 220(2): 337.
- [11] Nishihira K, Yamashita A, Tanaka N, et al. Serotonin induces vasoconstriction of smooth muscle cell-rich neointima through 5-hydroxytryptamine<sub>2A</sub> receptor in rabbit femoral arteries[J]. J Thromb Haemost, 2008, 6(7): 1207.
- [13] Kovanen P T. Mast cells in atherogenesis: actions and reactions [J]. Curr Atheroscler Rep, 2009, 11(3): 214.

[责任编辑 聂淑琴]

## Influences of Weiweikang and its Components on the G Cell and D Cell in Chronic Atrophic Gastritis Rats

LIN Hai-yan<sup>1</sup>, ZHAO Yan<sup>1\*</sup>, YU Jia-ning<sup>2</sup>

(1. Binzhou Medical University, Yantai 264003, China;

2. Yantai Hospital Affiliated to Binzhou Medical University, Yantai 264100, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the possible mechanism of Weiweikang (WWK) on treating chronic atrophic gastritis (CAG). **Method:** Randomly selected 12 rats from 70 wistar rats were as normal control group (normal group). The remaining 58 rats were made CAG model with the multiple stimulations for 6 weeks. The remaining 50 rats which were modeled successfully were randomly divided into five groups such as model group, WWK whole formula group (the whole formula group), its component group (Buyi group), component II group (Quxie group) and western medicine control group (western medicine group). The groups were ig 0.9% saline ( $0.09 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), WWK decoction ( $8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), component I ( $5.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), components II ( $2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) and the neomycin-dimensional suspension ( $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), once a day. After 90 days, the gastric mucosa pathological changes were observed, the change of G and D cell in gastric mucosa was detected. **Result:** There was no marked difference in gastric mucosa pathematology between the whole formula group and the normal group. Compared with normal control group whose G cell was ( $63.54 \pm 6.73$ ) cell/ $\text{mm}^2$  and D cell was ( $38.32 \pm 3.87$ ) cell/ $\text{mm}^2$ , G cell of model group with ( $24.46 \pm 3.39$ ) cell/ $\text{mm}^2$  and D cell of model group with ( $14.66 \pm 1.57$ ) cell/ $\text{mm}^2$  decreased significantly ( $P < 0.01$ ). Compared with model group, the other medication groups had a significant increase of G and D cell ( $P < 0.01$ ); Compared with the whole formula group with G cell: ( $56.66 \pm 5.70$ ) cell/ $\text{mm}^2$ , D cell: ( $34.72 \pm 4.01$ ) cell/ $\text{mm}^2$ , the Buyi group, Quxie group and neomycin-dimensional suspension group decreased significantly ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** WWK can significantly repair gastric mucosa in rats with CAG and its mechanism may be actualized by improving the gastrointestinal hormone's regulating effects on stomach.

**[Key words]** Weiweikang; analysis of the prescription; chronic atrophic gastritis; G cell; D cell

慢性萎缩性胃炎(CAG)是慢性胃炎的一种,具有发病率高,治疗困难的特点。在我国50~60岁的成年人中发病率高达50%以上,居胃病之首。因此,探明CAG的确切发病机制,对寻找逆转慢性萎缩性胃炎的有效靶点,研发有效的药物具有深远的影响。本项目拟应用免疫组织化学技术,观察萎胃康及其拆方对CAG大鼠胃窦黏膜中促胃液素细胞(G细胞)、生长抑素细胞(D细胞)数量的影响,来探讨益气养阴活血法治疗CAG的可能机制。

### 1 材料

**1.1 动物** Wistar大鼠70只,雄性,SPF级,体重180~200g,由山东大学实验动物中心提供,合格证号SCXK(鲁)20090001。

**1.2 药物、试剂** 萎胃康全方组由西洋参20g,白术15g,白芍15g,三七10g,延胡索10g,熊胆5g,甘草5g组成,拆方I号由西洋参20g,白术15g,白芍15g,甘草5g组成,拆方II号由三七10g,延胡

索10g,熊胆5g组成,全部药材均经鉴定符合《中国药典》(2010年版)要求。分别取上药量1剂,先用自来水浸泡30min,再武火煮至药沸后,改用文火煎2次,每次30min,合并2次水煎液,6层纱布过滤,在80℃恒温水中分别浓缩为萎胃康水煎液(按生药量计为) $0.8 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,拆方I号水煎液 $0.55 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,拆方II号水煎液 $0.25 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,制备后冰箱贮存,使用时,水浴加热。维霉素糖衣片(湖北绿金子药业有限责任公司产品,批号100903),取15片,去糖衣,用研钵研细末用蒸馏水制成含生药 $0.03 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混悬液,制备后冰箱贮存。水杨酸钠(国药集团化学试剂有限公司生产,批号T20100125),兔抗鼠GAS一抗(批号bs-1189R),兔抗鼠SS一抗(批号bs-1132R),均由北京博奥森生物技术有限公司提供。SP试剂盒购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

**1.3 仪器** CH30光学显微镜(Olympus,日本),

CM1900 全自动石蜡组织切片机(德国),4000ZOOM 数码相机(Olympus,日本)。

## 2 方法

**2.1 动物分组与模型建立** 大鼠 70 只,适应性饲养 7 d 后,随机抽取 12 只作为正常对照组,其余大鼠进行造模。正常组正常饲养,造模组大鼠均结合文献<sup>[1]</sup>采用综合法造模。即 2% 水杨酸钠溶液 2 mL/次,ig,连灌 6 周;ig 前、后 1 h 禁食、禁水。前 3 周自由进食标准鼠饲料,进水;后 3 周单日禁食,自由饮水,双日足量喂食,自由饮水,进食后于 25 ℃ 的温水中进行游泳,每次 10 min。造模过程中死亡 4 只,造模结束后正常组随机抽取 2 只,造模组随机抽取 4 只处死,经病理检查确认模型制作成功,将造模组剩余的 50 只 CAG 大鼠随机分为 5 组:即模型组、姜胃康全方组(全方组)、拆方 I 号组(补益组)、拆方 II 号组(祛邪组)和西药维霉素糖衣片对照组(西药组),每组 10 只。

**2.2 给药方法** 正常组和模型组均 ig 0.9% 生理盐水(10 mL·kg<sup>-1</sup>),全方组、补益组、祛邪组和西药组分别 ig 姜胃康水煎液(8 g·kg<sup>-1</sup>)、拆方 I 号水煎液(5.5 g·kg<sup>-1</sup>)、拆方 II 号水煎液(2.5 g·kg<sup>-1</sup>)和维霉素混悬液(0.3 g·kg<sup>-1</sup>),给药容积均为 10 mL·kg<sup>-1</sup>,1 次/d,连续用药 30 d,每周称体重 1 次,根据体重调整用药量。

**2.3 标本采集与指标检测** 试验结束各组动物禁食不禁水 24 h 后,5% 戊巴比妥钠按 50 mg·kg<sup>-1</sup> ip 麻醉后,快速剖取全胃标本,沿胃大弯剪开胃体,用生理盐水洗去胃内容物后,取胃小弯侧胃窦部 0.5 cm×2 cm 大小胃组织置于 10% 的甲醛中固定,石蜡包埋,连续切片 3 张,切片厚 5 μm,分别做 HE 染色,G 细胞、D 细胞免疫组化染色。免疫组化 SP 法严格按试剂盒方法操作。

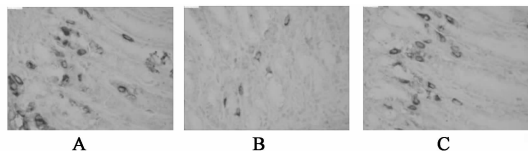
兔抗鼠 GAS 和 SS 一抗效价均为 1:150。计数方法:光镜高倍视野(×400 倍)对每张切片沿胃腺区随机选用 5 个视野,对 G, D 阳性细胞进行计数,以 5 个视野的均数作为每张切片 G, D 细胞的阳性细胞数,并换算出每 1 mm<sup>2</sup> 内的 G, D 细胞数。

**2.4 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 统计分析软件进行处理。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,进行方差齐性检验,方差齐者用 LSD 法进行多重比较,方差不齐则用秩和检验。 $P < 0.05$  为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对 CAG 大鼠胃黏膜 G 细胞的影响** G 细胞胞质呈褐色或棕色阳性反应,其他上皮细胞的胞质无

色,细胞的形态多样,有的细胞有突起,伸入到其他腺细胞之间或基膜之间,当炎症和腺体萎缩或肠上皮化生显著时,G 细胞分布变得不均匀或呈散在分布,主要分布在胃窦黏膜腺体的中下 1/3,呈圆形、椭圆形、梭形或不规则(图 1)。



A. 正常组;B. 模型组;C. 姜胃康 8.0 g·kg<sup>-1</sup> 组(图 2 同)

图 1 姜胃康对 CAG 大鼠胃黏膜 G 细胞的影响  
(免疫组化染色,×400 倍)

**3.2 对 CAG 大鼠胃黏膜 D 细胞的影响** D 细胞胞质阳性颗粒呈黑褐色,细胞多呈圆形、锥形或不规则形,有的 D 细胞发出细长突起,伸向邻近细胞,主要分布在胃窦黏膜的下 1/3,较集中(图 2)。

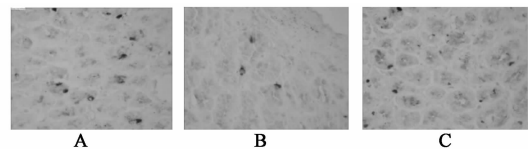


图 2 姜胃康对 CAG 大鼠胃黏膜 D 细胞的影响  
(免疫组化染色,×400)

**3.3 各组胃窦黏膜 G, D 细胞数量比较** 经过 30 d 的灌胃治疗后中药姜胃康全方组、补益组、祛邪组以及西药组的大鼠胃黏膜 G, D 细胞的数量均显著提高,较模型组具有显著性差异( $P < 0.01$ )。其中以全方组大鼠胃黏膜 G, D 细胞的数量增加最多,较祛邪组和西药组具有显著性差异( $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 姜胃康及其拆方对 CAG 大鼠胃黏膜 G, D 细胞数的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	细胞数/mm <sup>2</sup>	
		G 细胞	D 细胞
正常	-	63.54 ± 6.73	38.32 ± 3.87
模型	-	24.46 ± 3.39 <sup>1)</sup>	14.66 ± 1.57 <sup>1)</sup>
姜胃康全方	8.0	56.66 ± 5.70 <sup>2)</sup>	34.72 ± 4.01 <sup>2)</sup>
补益	5.5	50.86 ± 5.80 <sup>2,4)</sup>	31.68 ± 3.27 <sup>2,4)</sup>
祛邪	2.5	36.56 ± 4.38 <sup>2,3)</sup>	21.70 ± 4.13 <sup>2,3)</sup>
维霉素	0.3	38.44 ± 2.36 <sup>2,3)</sup>	22.98 ± 2.38 <sup>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> $P < 0.01$ ;与全方组比较<sup>3)</sup> $P < 0.01$ ,<sup>4)</sup> $P < 0.05$ 。

## 4 讨论

目前,CAG 的确切病因和发病机制尚未完全明了,其共同的病理改变为胃黏膜腺体萎缩、变薄,腺细胞和内分泌细胞的数量和功能下降。在胃窦部的黏膜和腺体中散在分布着大量的神经内分泌细胞,它们对胃肠起着重要的调节作用。G, D 细胞就是

其中不可忽视的神经内分泌细胞。

G 细胞分泌的胃泌素(GAS)是研究最早、最广泛的一种胃肠激素,于 1905 年由 Edkins 首先发现并命名<sup>[3]</sup>。GAS 具有多种生理功能,可刺激胃酸、胃蛋白酶、胃内因子、胆汁、胰酶及碳酸氢盐的分泌,营养胃及十二指肠黏膜和壁细胞群,并对消化道分泌、吸收、运动以及代谢活动有调节作用。GAS 还可刺激胃底腺体分泌,增加胃泌酸区黏膜的血流量<sup>[4]</sup>,有促进胃肠道黏膜细胞分裂增殖,增加 DNA、RNA 合成的作用<sup>[5]</sup>。当胃黏膜发生萎缩时,腺体的数量减少,相应的 G 细胞数量也随之减少,其结果是引起 GAS 分泌也减少。由于失去了胃泌素的营养作用,胃黏膜进一步萎缩,肠化加剧,形成恶性循环。

蛋白饮食、其他物理学刺激、胃酸缺乏或者胃酸分泌过多等刺激都不能引起胃泌素分泌的增加。因此,检测血清胃泌素含量对于 CAG 的诊断及药物疗效的判定,具有非常重要的意义。

D 细胞合成和分泌的生长抑素(SS)最初是从下丘脑提取液中分离和鉴定的,已于 1973 年人工合成。近年来,研究发现 SS 对胃肠黏膜有保护作用,可能通过保护谷胱甘肽还原酶活性来维持胃黏膜内非蛋白结合巯基的水平,起到防止细胞膜脂质过氧化,进而减轻胃黏膜炎症的作用。即一方面通过抑制胃酸、胃蛋白酶、GAS 的释放而起减弱攻击因子的作用,另一方面通过促使胃粘液的生成,起到保护胃黏膜细胞,增强防御因子的作用<sup>[6]</sup>。当胃黏膜 D 细胞减少或功能减弱时,SS 分泌也减少,抑制黏膜攻击因子的作用减弱而导致 CAG 的形成、发展。

因此,G、D 细胞在功能上相互协调,共同维持胃肠的正常生理功能,其平衡状态的破坏将导致或加重 CAG 的发生、发展。将 G、D 细胞的检测和病理检查相结合可判断 CAG 患者胃窦黏膜萎缩的程度,同时也可作为评价临床疗效的客观指标。

本研究结果显示,模型组大鼠胃黏膜 G、D 细胞数较正常组明显下降,说明 G 和 D 细胞在慢性萎缩性胃炎的形成过程中起着至关重要的作用。且 D 细胞数较 G 细胞数减少更为明显。推测在 CAG 发生早期,D 细胞受到严重地破坏,数量下降,导致生

长抑素分泌减少,对促胃液素的抑制作用减弱,使促胃液素水平升高,高促胃液素血症会刺激壁细胞分泌大量的胃酸,导致 G 细胞及泌酸细胞对生长抑素敏感性异常,失去负性调节作用,进一步加重胃黏膜损伤。有研究者对 D 细胞超微结构进行观察,发现随着萎缩及肠化的加重,胞质内的分泌颗粒呈减少趋势,说明 G 细胞脱颗粒增加的同时可促进 D 细胞反应性增高,以增加其对 GAS 的抑制作用。

经药物治疗 30 天后,全方组、补益组、祛邪组和西药组大鼠胃黏膜 G、D 细胞数明显升高,较模型组有显著性升高,其中以萎胃康全方组最好,说明以益气养阴活血法立方的萎胃康能有效增加胃黏膜 G、D 细胞数,使其各自分泌的胃泌素和生长抑素得以恢复,G、D 细胞的分泌调节功能达到新的平衡。以调节胃肠激素,增加细胞内 cAMP 含量,减少线粒体损伤,稳定浆细胞,改善粗面内质网损伤,促进胃黏膜血流,发挥保护胃黏膜、促进腺体再生,使萎缩病变逆转的作用。其机制可能是,一方面萎胃康通过补气养阴的药物来扶助机体的正气,促进胃黏膜的修复,胃黏膜 G、D 细胞数的恢复;另一方面萎胃康中活血化瘀的药物,可改善胃黏膜的微循环,增加胃黏膜的血流量,减少对 G、D 细胞的损伤。

#### [参考文献]

- [1] 张淑芹,赵林山,郑继奎.慢性萎缩性胃炎动物模型的复制[J].哈尔滨师范大学自然科学学报,2001,17(6):81.
- [2] 林海燕,赵岩,于佳宁,等.萎胃康治疗慢性萎缩性胃炎的拆方研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(3):139.
- [3] Edkins J S. The chemical mechanism of gastric secretion [J]. J Physiol,1906, 34(1/2):133.
- [4] 刘芳,任平,李月彩,等.脾虚证与 MOT 的关系研究[J].中医药学刊,2004,22(11):2028.
- [5] 郑世华,林寿宁,罗和生,等.安胃汤对大鼠慢性萎缩性胃炎胃肠激素的影响[J].中国中西医结合消化杂志,2005,13(1):33.
- [6] 周丽雅,闫秀娥.胃黏膜防御机制的新认识[J].临床内科杂志,2006,23(2):86.

[责任编辑 聂淑琴]