

消痈溃得康对乙酸致胃溃疡模型大鼠 血清 GAS 及 MTL 含量的影响

白析玮, 曲怡, 蒋宁, 孙云峰, 林庶茹, 才丽平*, 郑洪新, 周学文
(辽宁中医药大学, 沈阳 110847)

[摘要] 目的: 研究中药消痈溃得康对乙酸致胃溃疡模型大鼠血清胃泌素 (gastrin, GAS) 和胃动素 (motilin, MTL) 含量的影响, 探讨中药消痈溃得康抗胃溃疡的机制。方法: 将大鼠随机分为正常组、假手术组、胃溃疡模型组、消痈溃得康治疗组及奥美拉唑治疗组。大鼠胃黏膜局部投与乙酸制备胃溃疡模型, 消痈溃得康治疗组和奥美拉唑治疗组于术后第 2 天开始分别灌胃给药消痈溃得康 ($4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和奥美拉唑 ($1.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 假手术组和胃溃疡模型组给予纯水, 给药 11 d 后, 取各组大鼠的血清, 酶联免疫法 (ELISA) 检测血清 GAS, MTL 的含量。结果: 胃溃疡模型组大鼠血清 GAS (7.39 ± 0.61) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, MTL (514.41 ± 94.25) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 含量明显高于正常组和假手术组 ($P < 0.01$); 消痈溃得康治疗组大鼠血清 GAS (5.35 ± 0.52) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, MTL (311.92 ± 79.75) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 含量较胃溃疡模型组显著降低 ($P < 0.01$)。结论: 中药消痈溃得康可能是通过降低胃溃疡大鼠血清 GAS、MTL 含量, 从而达到抑制胃酸、保护胃黏膜、促进溃疡愈合的作用。

[关键词] 胃溃疡; 消痈溃得康; 胃泌素; 胃动素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0188-03

[doi] 10.11653/syfy2013080188

Effect of Xiaoyong Kuidekang on Expressions of GAS and MTL in Rat Ulcer Model

BAI Xi-wei, QU Yi, JIANG Ning, SUN Yun-feng, LIN Shu-ru,
CAI Li-ping*, ZHENG Hong-xin, ZHOU Xue-wen

(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Xiaoyong Kuidekang on expressions of gastrin (GAS) and motilin (MTL) in rat ulcer model and to explore the mechanism of gastric ulcer treated by Xiaoyong Kuidekang. **Method:** The rats were randomly divided into 5 groups randomly: normal group, sham group, ulcer model group, Xiaoyong Kuidekang group and Omeprazole group. Acetic acid was applied to a certain part of the gastric mucosa to establish the ulcer model. The Xiaoyong Kuidekang and Omeprazole treatment group had been implemented with drugs since the 2 nd day after the operation, the serum was collected on the 11 th day and the content of GAS and MTL were measured by ELISA method. **Result:** The GAS and MTL content of serum in ulcer model group was higher than that in the control group and the sham group ($P < 0.01$), the GAS and MTL content of serum was lower in the Xiaoyong Kuidekang group and Omeprazole group than those in the ulcer model group ($P < 0.01$). **Conclusion:** The Xiaoyong Kuidekang may be mediated by decreased the GAS and MTL content of serum, so as to achieve the protection of gastric mucosa and promote ulcer healing effect.

[Key words] gastric ulcer; Xiaoyong Kuidekang; gastrin; motilin

[收稿日期] 20121019(002)

[基金项目] 国家科技部 973 计划项目(2006CB504809); 国家自然科学基金项目(81173380)

[第一作者] 白析玮, 在读研究生, Tel: 13591635899, E-mail: baiyu7775@163.com

[通讯作者] *才丽平, 医学博士, 教授, 博士研究生导师, 从事中药抗胃溃疡分子机制的研究, Tel: 13840503335, E-mail: cai-liping@163.com

胃溃疡(gastric ulcer, GU)是消化性溃疡中最常见的一种,主要是指胃黏膜被胃消化液自身消化而造成的超过黏膜肌层的组织损伤。其发生主要与胃黏膜的损害因素与黏膜自身防御修复因素之间失去平衡有关,其中胃酸分泌异常是引起溃疡的常见病因之一。胃酸由壁细胞分泌,壁细胞表面存在胃泌素受体。胃泌素(gastrin, GAS)主要由散在于胃窦黏膜的 G 细胞合成并贮藏于胞浆内的颗粒中,在受刺激后释入血流,然后刺激壁细胞分泌胃酸^[1],研究表明,胃泌素基因敲除小鼠其基础胃酸分泌减少^[2]。流行病学调查表明:胃溃疡患者血清 GAS 明显高于健康对照者^[3],伴有幽门螺杆菌感染的胃溃疡病人血清 GAS 明显高于正常者,杀灭幽门螺杆菌治疗后血清 GAS 水平明显降低^[4-5]。胃动素(motilin, MTL)是由 22 个氨基酸组成的多肽,是由分布于十二指肠和近端空肠黏膜隐窝、绒毛中及胃窦中的 Mo 细胞分泌的一种胃肠激素,呈周期性释放,参与消化间期胃肠活动,引起胃强烈收缩和小肠明显的分节运动,促进胃排空^[6-7]。GAS 和 MTL 对胃溃疡的发生发展起着非常重要的作用,研究表明,某些中药组分如安胃汤^[8]、半夏泻心汤^[9]、促愈颗粒^[10]等能引起上述 2 个含量的改变,从而起到抗胃溃疡的作用。

中药消痈溃得康是由周学文教授根据其创立的胃溃疡“毒热”病因学说而研制成功的中药新药,具有“清热解毒,消痈生肌”之功效,经几十年临床验证效果显著。本实验旨在观察中药“消痈溃得康”对胃溃疡模型大鼠血清 GAS, MTL 表达的影响,探讨其促进胃溃疡愈合的分子机制。

1 材料

1.1 药品及试剂 消痈溃得康颗粒剂(黄芪 15 g, 黄连 6 g, 苦参 10 g, 白及 10 g, 浙贝母 10 g, 蒲公英 15 g, 乌贼骨 15 g, 柴胡 10 g, 人参 10 g, 甘草 10 g), 10 g/袋,由辽宁中医药大学附属医院制剂室提供(批准文号辽药字 Z05010277),奥美拉唑肠溶片(阿斯利康制药有限公司生产),乙酸、水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司),矿物油(美国 Sigma 公司),大鼠血清 GAS, MTL 酶联免疫试剂盒(美国 R&D 公司)。

1.2 动物 雄性 SPF 级 SD 大鼠 50 只,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,体重(210 ± 10) g,生产许可证号 SCXK(京)2007-0001,质量合格证号(0113308)。

1.3 仪器 Infinite M200 型多功能酶标仪

(Tecan)。

2 方法

2.1 分组与造模 大鼠随机平均分为 5 组:正常组、假手术组、胃溃疡模型组、消痈溃得康治疗组、奥美拉唑治疗组,每组 10 只。采用本课题组建立的方法制备大鼠胃溃疡模型^[11]。10% 水合氯醛(3.5 mL·kg⁻¹)肌肉注射麻醉,用 0.5% 碘伏消毒大鼠腹部皮肤,沿左肋下缘开腹,将胃轻轻拉出,用本课题组自行设计的胃溃疡制备镊子夹住距幽门部 3 mm 胃体部区域,将事先吸好 0.18 mL 矿物油和 0.02 mL 60% 乙酸的注射器插入挟闭区的胃腔内,45 s 后从胃部吸出乙酸,再向胃腔内注入 2 mL 生理盐水,1 min 后吸出,以终止反应。将胃复位,向切口内滴入青霉素钠注射液 0.1 mL(以 4 mL 生理盐水加入 80 万单位青霉素钠,混匀),逐层关腹。假手术组以灭菌纯水代替乙酸。术后大鼠自由饮水和进食。

2.2 给药 术后第 2 天 ig 给药,假手术组和胃溃疡模型组 ig 纯水;消痈溃得康治疗组 ig 消痈溃得康 4 g·kg⁻¹(即人用量的 6.25 倍)给药,每日早、晚各 1 次;奥美拉唑治疗组,按 1.25 mg·kg⁻¹ 给予奥美拉唑肠溶片水溶液,每日 1 次,用药时间为 10 d。

2.3 标本采集和处理 大鼠禁食、自由饮水 24 h 后,按 4 mL·kg⁻¹ 体重 10% 水合氯醛腹腔麻醉。开腹,腹主动脉采血,不抗凝,低温静置 2 h 后 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,收集血清以备 ELISA 法检测。

2.4 GAS, MTL 含量检测 加样品稀释液作为空白对照,将对照品各 50 μL 依次加入孔中,其余各孔加样品血清 50 μL。样品孔中加入 10 μL 生物素标记液,在对照品孔和样品孔中加入 100 μL 的酶标记液,36 °C 温育反应 60 min。洗液清洗 5 次后每孔加入底物 A, B 液各 50 μL,36 °C 避光温育反应 15 min。每孔加入 50 μL 终止液,终止反应。TECAN 多功能酶标仪测定 450 nm 吸光度(A)。根据标准曲线回归方程计算样品的浓度。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 13.0 软件,组间比较用单因素方差分析,结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

对大鼠血清 GAS, MTL 含量的影响 乙酸致胃溃疡模型大鼠给药 11 d 后,胃溃疡模型组大鼠血清 GAS, MTL 含量高于正常组和假手术组($P < 0.01$);消痈溃得康治疗组、奥美拉唑治疗组大鼠血清 GAS, MTL 含量低于模型组($P < 0.01$),见表 1。

表 1 消痈溃得康对大鼠血清 GAS 和 MTL 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	GAS/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	MTL/ $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$
正常	-	4.74 ± 0.38	190.07 ± 52.32
假手术	-	3.98 ± 0.56	256.12 ± 113.54
胃溃疡模型	-	7.39 ± 0.61 ¹⁾	514.41 ± 94.25 ¹⁾
消痈溃得康	4	5.35 ± 0.52 ²⁾	311.92 ± 79.75 ²⁾
奥美拉唑	1.25 × 10 ⁻³	5.09 ± 0.93 ²⁾	400.62 ± 59.84 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾P < 0.01;与胃溃疡模型组比较²⁾P < 0.01。

4 讨论

中药消痈溃得康是周学文教授以清热解毒、消痈生肌、护脾和胃、托毒生肌为治疗治则拟定的“以痈论治”的胃溃疡活动期的中药组方^[12],方中清热解毒首选黄连,护脾和胃健运中州首选黄芪,黄芪正佐而托腐生肌,反佐防黄连苦寒再伤脾胃,因此方中黄连、黄芪为君药,共奏清热燥湿,泻火解毒,补益脾胃,敛疮生肌之功效。蒲公英、苦参为臣药,清热解毒,散结消肿;佐以白及、党参,消肿生肌,补益中气;使以甘草,缓急止痛,调和诸药。

GAS 由胃窦黏膜的 G 细胞合成分泌,参与胃溃疡的发生与愈合。胃溃疡患者血清 GAS 明显高于健康对照者^[3-5]。MTL 是由十二指肠和近端空肠黏膜隐窝、绒毛中及胃窦中的 Mo 细胞分泌的一种胃肠激素,参与消化间期胃肠活动,引起胃强烈收缩和小肠明显的分节运动,促进胃排空^[6-7]。某些中药组方如安胃汤^[8]、半夏泻心汤^[9]、促愈颗粒^[10]等能引起上述两个含量的改变,从而起到抗胃溃疡的作用。GAS 在受到某些物质刺激后,释放入血,刺激壁细胞分泌胃酸,使胃酸分泌异常,从而导致胃溃疡的发生。MTL 的升高可能是由于胃黏膜在溃疡炎症促使 MTL 分泌和释放增加^[13]。从实验结果可以看出,在溃疡形成过程中,胃肠激素 GAS, MTL 增多,而经消痈溃得康治疗后,大鼠血清 GAS, MTL 水平下降,表明消痈溃得康可降低 GAS, MTL 的含量,提示其可能通过抑制胃窦 G 细胞分泌 GAS,进而减少胃酸和胃蛋白酶分泌而起到抗溃疡的作用。此外,消痈溃得康也可能是通过减少 MTL 的分泌,减轻胃黏膜炎症,减缓胃肠道运动,进而减少对胃黏膜的刺激,从而达到抗胃溃疡的目的。

[参考文献]

[1] Stoicov C, Cai X, Li H, et al. Major histocompatibility complex class II inhibits Fas antigen-mediated gastric mucosal cell apoptosis through actin-dependent inhibition of receptor aggregation [J]. Infect Immun, 2005, 73(10): 6311.

[2] Friis Hansen L. Gastric functions in gastrin gene knock-out mice [J]. Pharmacol Toxicol, 2002, 91(6): 363.

[3] Zhang Z, Sun L, Gong Y H, et al. Factors affecting the serum gastrin 17 level: an evidence-based analysis of 3906 serum samples among Chinese [J]. J Dig Dis, 2007, 8(2): 72.

[4] Furuta T, Baba S, Takashima M, et al. Effect of Helicobacter pylori infection on gastric juice pH [J]. Scand J Gastroenterol, 1998, 33(4): 357.

[5] Laszewicz W, Zaremba-Woroniecka A, Gabryelewicz A Helicobacter pylori infection and gastric secretion in duodenal and gastric ulcer patients--the effect of eradication after one year [J]. J Physiol Pharmacol, 1997, 48(3): 353.

[6] Konturek J W, Thor P, Maczka M, et al. Role of cholecystokinin in the control of gastric emptying and secretory response to a fatty meal in normal subjects and duodenal ulcer patients [J]. Scand J Gastroenterol, 1994, 29: 583.

[7] Williams R L. Textbook of endocrinology [M]. 6th ed. Philadelphia: Saunders, 1981: 704.

[8] 林寿宁, 黄贵华, 韦唯. 安胃汤免煎剂对实验性胃溃疡大鼠血清胃泌素、表皮生长因子的影响 [J]. 广西中医药, 2005, 28(5): 46.

[9] 张燕梅. 半夏泻心汤拆方对醋酸性胃溃疡大鼠血浆胃动素水平的影响 [J]. 内蒙古医学院学报, 2011, 33(6): 589.

[10] 冯云霞, 时昭红, 张介眉, 等. 促愈颗粒对乙酸胃溃疡大鼠血清一氧化氮、胃泌素和血浆神经降压素的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17): 181.

[11] 才丽平, 蒋宁, 曲怡, 等. “毒热证”胃溃疡大鼠模型的制备与评价 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(3): 501.

[12] 汤立东, 王垂杰. 以痈论治肝源性溃疡疗效观察 [J]. 中华中医药学刊, 2010, 26(3): 501.

[13] Sakai T, Satoh M, Hayashi H, et al. Biotinyl C-terminal extended motilin as a biologically active receptor probe [J]. Peptides, 1994, 15(2): 257.

[责任编辑 聂淑琴]