

# 胃舒灵对慢性胃炎模型大鼠胃黏膜 EGF 和 EGFR 表达的影响

陈铖, 龙子江\*, 蔡曼曼, 丁伯春  
(安徽中医学院药理教研室, 合肥 230031)

**[摘要]** **目的:**观察胃舒灵(WSL)对慢性胃炎模型大鼠表皮生长因子(EGF)和表皮生长因子受体(EGFR)的影响,探讨其治疗慢性胃炎的作用机制。**方法:**将大鼠随机分成正常组(等容量蒸馏水)、模型组(等容量蒸馏水)、温胃舒颗粒组(3.60 g·kg<sup>-1</sup>)、胃舒灵低剂量组(0.56 g·kg<sup>-1</sup>)、胃舒灵高剂量组(2.22 g·kg<sup>-1</sup>),后4组采用水杨酸钠复合法复制慢性胃炎模型。模型成功后用胃舒灵对实验性大鼠慢性胃炎进行治疗6周后,采用免疫组化法测定大鼠胃黏膜组织 EGF 和 EGFR 的变化。**结果:**胃舒灵(0.56, 2.22 g·kg<sup>-1</sup>)能显著改善模型大鼠的症状,胃黏膜的病理及评分( $P < 0.01$ ),胃舒灵(0.56, 2.22 g·kg<sup>-1</sup>)明显降低 EGFR 含量表达( $P < 0.01$ ),胃舒灵(0.56 g·kg<sup>-1</sup>)能降低 EGF 含量表达( $P < 0.05$ )。**结论:**胃舒灵具有良好的治疗慢性胃炎的作用,其机制与下调慢性胃炎大鼠胃黏膜表皮生长因子含量及表皮生长因子受体有关。

**[关键词]** 胃舒灵; 慢性胃炎; 表皮生长因子; 表皮生长因子受体; 电镜

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0283-03

## Effects of Weishuling on the Expression of Epidermal Growth Factor and Epidermal Growth Factor Receptor in Stomach Mucosa of Chronic Gastritis Rats

CHEN Cheng, LONG Zi-jiang\*, CAI Man-man, DING Bo-chun

(Department of Pharmacology, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe effects of Weishuling (WSL) on the expression of epidermal growth factor (EGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in the established rats model of chronic gastritis, so as to explore the therapeutic mechanism of WSL. **Method:** Mice were randomly divided into normal control group, model control group, Wenweishu granules group, high and low doses groups with WSL. Experimental gastritis were prepared in the later four groups by oral intake of sodium salicylate, drugs was administrated in the model control group, Wenweishu granules group, high and low doses groups with WSL for six weeks, EGF and EGFR from stomach mucosal organization of chronic gastritis model rats were measured by immunohistochemistry. **Result:** WSL (0.56, 2.22 g·kg<sup>-1</sup>) could significantly reduce reperfusion arrhythmias ratings rate ( $P < 0.01$ ) and the expression of EGFR ( $P < 0.01$ ). WSL (0.56 g·kg<sup>-1</sup>) could reduce the expression of EGF ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** WSL decoction has protective effect on chronic gastritis. Its mechanism might be related to down-regulating the expressions of EGF and EGFR.

**[Key words]** Weishuling; chronic gastritis; EGF; EGFR; electron microscopy

慢性胃炎是多种因素引起的胃黏膜慢性炎性疾病<sup>[1]</sup>,属于消化系统的常见病、多发病<sup>[2]</sup>。胃舒灵

为临床应用经验方,具有散寒止痛、活血化瘀等功效。临床效果显示,对慢性胃炎有良好的治疗效果。为考察该方的作用效果并探讨其作用机制,本实验通过对脱氧胆酸钠加水杨酸钠灌服诱发的慢性胃炎大鼠模型,观察胃舒灵对慢性胃炎大鼠表皮生长因子(EGF)和表皮生长因子受体(EGFR)含量变化的影响,为临床应用提供实验依据。

### 1 材料

**1.1 动物** Wister 大鼠 120 只,体重(200 ± 20)g,

**[收稿日期]** 20120904(012)

**[第一作者]** 陈铖,在读研究生,从事中药新药研究与开发, Tel:15005606691, E-mail:290081650@qq.com

**[通讯作者]** \* 龙子江,教授,硕士生导师,从事中药复方对心血管病的治疗作用研究, Tel: 0551-5169216, E-mail: lzjyls@163.com

雌雄各半,由河南省实验动物中心提供,许可证号 SCXK(豫)2005-0001。

**1.2 药品和试剂** 胃舒灵由艾叶、乌贼、元胡组成(由安徽中医学院药理学室提供),温胃舒颗粒<sup>[3]</sup>(由合肥神鹿双鹤药业有限公司生产,批号 1104021),水杨酸钠(由天津市光复精细化工研究所生产,批号 100205),脱氧胆酸钠(由北京奥博星生物技术有限公司分装,批号 20080813),EGF 试剂盒(批号 325006K),EGFR 试剂盒,批号 985210T(均由上海源叶生物有限公司提供);通用型 SP 检测试剂盒(北京中山金桥生物技术有限公司提供,批号 11171A08)。

**1.3 仪器** 754 紫外-可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司生产),RM2245 型病理切片机,(德国 Lexica 公司),BX51 系统显微镜(日本 Olympus 光学有限公司),JEM-1230 型透射电子显微镜(日本电子)。

## 2 方法

**2.1 造模方法** 大鼠按参考文献[4]方法制备慢性胃炎(CG)模型。前 3 周大鼠每天每只灌服 2% 水杨酸钠 2 mL/次,每次给药后 1 h 禁食、禁水;后 3 周单日禁食不禁水,双日自由进食、进水。继续用 2% 水杨酸钠 2 mL/次,并自由饮用 10 mmol·L<sup>-1</sup> 脱氧胆酸钠。6 周末随机抽取 2 只大鼠做胃黏膜病理组织学检查,判断模型成功与否。

**2.2 分组及给药** 模型成功后随机均分为模型组、温胃舒颗粒组及胃舒灵低、高剂量 4 组,另设正常组,每组 24 只。灌胃给药,连续给药 6 周。剂量及所给药物如下:正常组、模型组(均给等容量蒸馏水)、温胃舒颗粒组(3.60 g·kg<sup>-1</sup>)、胃舒灵低、高剂量组(0.556 2,2.224 8 g·kg<sup>-1</sup>)。

## 2.3 指标检测

**2.3.1 胃病理组织学检查** 末次给药后大鼠禁食不禁水 24 h,乙醚浅麻醉下开腹,将幽门结扎后复位,缝合腹壁。1 h 后脱颈处死,取胃,沿小弯侧切

开,用蒸馏水冲洗胃内容物,每只动物在胃窦、胃体各取组织 2 块,每块分成 2 份,一份用 10% 中性甲醛溶液固定,观察胃黏膜的病理变化情况。大鼠胃组织经 10% 甲醛溶液固定后,常规取材,脱水,石蜡包埋,制片(4 μm 厚),HE 染色,根据病理轻重程度不同,依次标记为“-”、“+”、“++”表示,其中“-”为无明显改变记 0 分,“+”为轻度病理改变记 1 分,“++”为明显病理改变记 3 分<sup>[5]</sup>。另 1 份置 4% 戊二醛 4 ℃ 冰箱中固定 3 h,0.1 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸盐缓冲液充分漂洗,再以 1% 锇酸后固定 1.5 h,0.1 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸盐缓冲液充分漂洗,丙酮梯度脱水,TB-718 包埋,标本经半薄切片,光镜定位后再做超薄切片,厚度 70 nm,经醋酸铀和柠檬酸铅双重染色。透射电镜下观察<sup>[6]</sup>。

**2.3.2 EGF 和 EGFR 的表达** 取胃黏膜组织,采用 SP 两步法免疫组织化学染色方法<sup>[7]</sup>,按说明书进行,阳性对照组用 PBS 代替一抗,EGF 和 EGFR 的工作浓度均为 1:100,以浆细胞出现棕黄色颗粒为表达阳性。每张切片在 200 倍光镜下拍 10 个视野,采用 Motif image advanced 6.0 软件对图像进行分析,以灰度值表示阳性细胞着色强度。

**2.4 数据统计方法** 数据采用 SPSS 10.0 单因素方差分析进行统计处理,结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间进行 *t* 检验。*P* < 0.05 为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 胃组织病理组织学检查** 光镜下观察:正常组大鼠胃黏膜上皮完整,前胃与腺胃交界处以及部分胃窦部、胃体交界部可见散在的少量淋巴细胞。模型组大鼠胃部炎症程度均较明显,尤其以胃窦部炎症程度较重,胃体部以及胃窦部固有膜内淋巴细胞及中性白细胞浸润。WSL 治疗组大鼠的胃窦部、胃体部炎症均比模型组减轻,可显著改善模型大鼠胃体及胃窦部的炎细胞浸润及黏膜肌层的增厚显现,与模型组比较有显著性差异(*P* < 0.01)。见表 1。

**3.2 电镜检查** 正常组:黏膜上皮细胞排列较规则

表 1 胃舒灵对慢性胃炎模型大鼠胃体、胃窦病理组织学积分影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

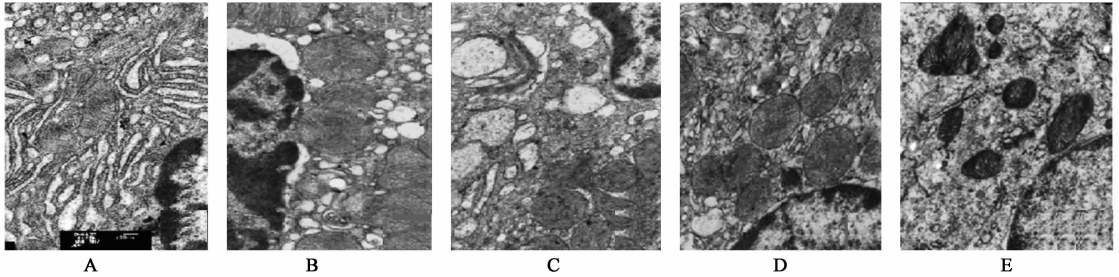
组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	胃体部病理变化积分				胃窦部病理变化积分			
		炎细胞浸润	血管扩张充血	间质水肿	黏膜肌层增厚	炎细胞浸润	血管扩张充血	间质水肿	黏膜肌层增厚
正常	-	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
模型	-	1.50 ± 0.55 <sup>2)</sup>	0.50 ± 0.55 <sup>1)</sup>	0.67 ± 0.52 <sup>1)</sup>	0.67 ± 0.41 <sup>2)</sup>	1.17 ± 0.75 <sup>2)</sup>	0.50 ± 0.55 <sup>1)</sup>	0.67 ± 0.52 <sup>1)</sup>	0.42 ± 0.49
温胃舒	3.60	0.50 ± 0.55 <sup>3)</sup>	0.17 ± 0.41	0.17 ± 0.41	0.17 ± 0.41	0.17 ± 0.41 <sup>3)</sup>	0.33 ± 0.52	0.17 ± 0.41	0.08 ± 0.20
胃舒灵	0.56	0.25 ± 0.42 <sup>4)</sup>	0.33 ± 0.52	0.33 ± 0.52 <sup>3)</sup>	0.17 ± 0.26 <sup>3)</sup>	0.33 ± 0.52 <sup>3)</sup>	0.33 ± 0.52	0.17 ± 0.41	0.08 ± 0.20
	2.22	0.33 ± 0.52 <sup>4)</sup>	0.17 ± 0.41	0.33 ± 0.52	0.08 ± 0.20 <sup>3)</sup>	0.42 ± 0.66	0.33 ± 0.52	0.17 ± 0.41	0.08 ± 0.20

注:与正常组相比<sup>1)</sup>*P* < 0.05,<sup>2)</sup>*P* < 0.01;与模型组相比<sup>3)</sup>*P* < 0.05,<sup>4)</sup>*P* < 0.01(表 2 同)。

紧密连;腺腔规则,各类细胞器均较丰富;表面黏液细胞顶端可见大量电子密度高的黏原颗粒,相邻细胞间缝隙较小;有短而稀的微绒毛。模型组:腺体萎缩、减少,腺腔不规则;细胞间隙变大,线粒体出现空泡化。温胃舒组腺体减少,腺腔有变形,细胞间隙较大,表面黏液细胞与正常组相似,细胞内黏原颗粒减

少;粗面内质网轻度扩张,少量线粒体出现空泡化。胃舒灵高、低剂量组腺细胞形态较正常,胞质内粗面内质网轻度扩张,高尔基体丰富,线粒体数量有所减少并且出现脊增宽,相邻细胞间缝隙轻度增宽。高、低剂量组间无明显差别。见图 1。

### 3.3 对慢性胃炎模型大鼠胃黏膜 EGF 及 EGFR 含



A. 正常组; B. 模型组; C. 温胃舒颗粒组(3.60 g·kg<sup>-1</sup>); D. WSL 高剂量组(2.22 g·kg<sup>-1</sup>); E. WSL 低剂量组(0.56 g·kg<sup>-1</sup>)

图 1 各组大鼠胃黏膜超微结构(透射电镜, ×20k)

量的影响 WSL 高、低剂量组及温胃舒颗粒组能够降低胃黏膜组织中 EGFR 含量(与模型组相比,  $P < 0.01$ )。WSL 低剂量组能够降低胃黏膜组织中 EGF 含量(与模型组相比,  $P < 0.05$ ), 详见表 2。

表 2 各组大鼠胃黏膜 EGF 和 EGFR 含量比较( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	平均灰度值	
		EGF	EGFR
正常	-	209.61 ± 27.91	188.44 ± 28.77
模型	-	270.67 ± 33.12 <sup>2)</sup>	260.40 ± 40.82 <sup>2)</sup>
温胃舒	3.60	317.51 ± 68.60	209.27 ± 26.40 <sup>4)</sup>
胃舒灵	0.56	241.72 ± 29.78 <sup>3)</sup>	215.00 ± 23.11 <sup>4)</sup>
	2.22	254.48 ± 43.20	212.06 ± 25.43 <sup>4)</sup>

## 4 讨论

本实验所采用灌胃 10 mmol·L<sup>-1</sup>脱氧胆酸钠和 2% 水杨酸钠制备慢性胃炎大鼠模型,造模 6 周后胃黏膜出现明显的炎症反应,黏膜上皮结构紊乱,表现为慢性胃炎的特点。并从电镜观察结果得到进一步证实,说明模型制作成功。

研究表明<sup>[8]</sup> EGF 的升高可能由慢性炎症刺激、肿瘤组织及药物所致。其中主要的原因是慢性炎症刺激破坏胃黏膜后,出现反应性 EGF 的升高进而促进黏膜细胞增殖与修复。EGFR 具有酪氨酸激酶活性<sup>[9]</sup>,对 EGF 具有高亲和力,并有特异性。而受体酪氨酸激酶的活性大小主要受 EGF 浓度的影响<sup>[10]</sup>。胃黏膜受到水杨酸钠的损伤后分泌大量 EGF 来修复胃黏膜。

从实验结果可知,胃舒灵可显著降低 EGF 和 EGFR 的含量表达,其机制可能是随着胃黏膜损伤的减少,保护因子 EGF 减少,EGF 与 EGFR 结合也相应的减少,导致了 EGFR 表达的减少。从而起到

了保护胃黏膜,治疗慢性胃炎的作用。

### [参考文献]

- [1] 任守忠,郭建生,李鑫,等. 安胃丸对慢性胃炎大鼠血清炎症因子及胃黏膜核因子- $\kappa$ B 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(4):198.
- [2] 高碧珍,黄爱民,林晴,等. 不同症候胃黏膜病理与细胞增殖的实验研究[J]. 福建中医学院学报,2008,18(6):34.
- [3] 张良,袁冬平,方泰惠,等. 温胃舒胶囊对大鼠实验性慢性胃炎模型治疗作用机制研究[J]. 现代中药研究与实践,2008,22(5):29.
- [4] 林海燕,赵岩,于佳宁,等. 姜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):140.
- [5] 相宏杰,赵红,曹志群. 运脾益肾、化痰解毒法逆转 CAG 癌前病变的临床研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(8):239.
- [6] 韦维,林寿宁,朱永苹. 安胃汤对慢性萎缩性胃炎模型大鼠肠三叶因子基因表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(3):160.
- [7] 赵岩,刘同慎. 姜胃康颗粒剂对大鼠萎缩性胃炎胃黏膜的作用研究[J]. 中国中医基础医学杂志,2010,16(10):892.
- [8] 吴施国,蒋通荣. 左金丸对幽门螺杆菌所致胃炎模型大鼠作用机制的实验研究[J]. 山东中医药大学学报,2010,34(3):275.
- [9] 唐友明,朱永苹,林寿宁,等. 安胃汤对 CAG 大鼠胃黏膜 EGF 及 EGFR 表达的影响[J]. 陕西中医,2010,31(12):1678.
- [10] 汪斌,束庆文. 表皮生长因子和胃泌素在胃癌组织中的表达及意义[J]. 临床消化病杂志,2011,23(3):163.

[责任编辑 聂淑琴]