

基于和法探讨黄连汤治疗慢性非萎缩性胃炎的机制

罗光芝^{1,2}, 韩成恩³, 韩晓春^{1,2}, 王媛^{1,2}, 马婷^{1,2}, 王世军^{1,2}, 张成博^{2,4*}

(1. 山东中医药大学, 济南 250355;

2. 山东省中医经典名方协同创新中心, 济南 250355;

3. 山东中医药大学附属医院, 济南 250011; 4. 济宁医学院, 山东 济宁 272067)

[摘要] **目的:** 基于和法调节寒热,以慢性非萎缩性胃炎(CNAG)模型大鼠为研究对象,探讨黄连汤治疗 CNAG 的作用机制。**方法:** 将 60 只健康 SD 大鼠随机分成 2 组,正常组 10 只和 CNAG 造模组 50 只。造模组采用化学刺激结合饥饿失常诱导 CNAG 大鼠模型,造模成功后将其随机分为 5 个组,分别为模型组、荆花胃康丸治疗组、黄连汤高、中、低剂量组,每组 8 只。荆花胃康丸治疗组($0.04 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),黄连汤高、中、低剂量组($11.00, 5.48, 2.74 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),空白组及模型组给予同剂量生理盐水连续灌胃 4 周后收集样本。苏木素-伊红(HE)染色观察胃黏膜组织形态改变,酶联免疫吸附测定(ELISA)检测大鼠血清白细胞介素-6(IL-6),白细胞介素- 1β (IL- 1β),白细胞介素-8(IL-8)含量,免疫组化(IHC)检测核转录因子- κ B(NF- κ B)及其抑制蛋白受体(I κ B α)蛋白表达,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测 I κ B α ,NF- κ B mRNA 表达。**结果:** 与正常组比较,模型组大鼠胃组织黏膜受损,可见大量炎细胞浸润,血清炎性因子显著升高,胃组织 I κ B α mRNA 及蛋白表达降低,NF- κ B mRNA,蛋白表达升高($P < 0.01$);与模型组比较,各治疗组大鼠胃黏膜组织炎症均有不同程度的改善,血清炎性因子下降,胃组织 I κ B α mRNA 表达上调,I κ B α 蛋白增高,NF- κ B mRNA 表达下调,NF- κ B 蛋白降低,其中以荆花胃康丸治疗组及黄连汤高剂量组改善最明显($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:** 基于和法调节寒热黄连汤能够有效改善 CNAG 大鼠胃黏膜损伤程度,降低血清炎性因子,其作用机制与上调 I κ B α mRNA,增加胃黏膜 I κ B α 蛋白表达,下调 NF- κ B mRNA,降低 NF- κ B 蛋白表达有关。

[关键词] 和法; 黄连汤; 慢性非萎缩性胃炎; 核转录因子- κ B (NF- κ B)

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)18-0036-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.20191702

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190515.1644.002.html>

[网络出版时间] 2019-05-16 16:01

Mechanism of Huangliantang in Treatment of Chronic Non-atrophic Gastritis Based on Harmonization Method

LUO Guang-zhi^{1,2}, HAN Cheng-en³, HAN Xiao-chun^{1,2}, WANG Yuan^{1,2},

MA Ting^{1,2}, WANG Shi-jun^{1,2}, ZHANG Cheng-bo^{2,4*}

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Ji'nan 250355, China;

2. Shandong Co-innovation Center of Classic TCM formula, Ji'nan 250355, China;

3. Affiliated Hospital of Shandong University of TCM, Ji'nan 250011, China;

4. Jining Medical College, Ji'ning 272067, China)

[Abstract] **Objective:** Harmonization method is one of the eight unique methods of traditional Chinese medicine with important application value in clinic. Based on the effect of harmonization method in regulating cold and heat, the mechanism of Huangliantang in treating chronic non-atrophic gastritis (CNAG) on rats were studied. **Method:** Rats were divided into normal group ($n = 10$) and CNAG model group ($n = 50$). The model of CNAG

[收稿日期] 20190116(011)

[基金项目] 山东省重点研发计划项目(2016ZDJS07A12);山东省重点产业关键技术项目(2016CYJS08A01-3,2016CYJS08A01-4);山东省中医药科技发展计划项目(2017-027)

[第一作者] 罗光芝,在读博士,从事中医医史文献及临床文献研究,E-mail:13606414698@163.com

[通信作者] *张成博,博士,教授,从事中医医史文献及临床文献研究,Tel:0537-3616779,E-mail:doctozcb@sina.com

rats was induced by chemical stimulation combined with hunger and satiety. The model group was randomly divided into 5 groups, namely the model group, the Jinghua Weikang pill treatment group, and the high, middle and low-dose Huangliantang groups, with 8 rats in each group. After the model was successfully established, the Jinghua Weikang pill treatment group ($0.04 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), the high, middle, low dose Huangliantang group (11.00, 5.48, $2.74 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), the blank group and the model group were given the same dose of saline for 4 weeks, and then the samples were collected. The histological changes of gastric mucosa were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. The serum levels of interleukin-6 (IL-6), interleukin- 1β (IL- 1β) and interleukin-8 (IL-8) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). immunohistochemistry (IHC) was used to detect nuclear factor- κB (NF- κB) and its inhibitory protein receptor (I $\kappa\text{B}\alpha$), protein expression. Real-time quantitative fluorescence polymerase chain reaction (Real-time PCR) was used to detect I $\kappa\text{B}\alpha$, NF- κB mRNA expressions.

Result: In the model group, the gastric mucosa was damaged, a large number of inflammatory cells were infiltrated, the serum inflammatory factors increased significantly, mRNA and protein expressions of I $\kappa\text{B}\alpha$ decreased, and mRNA and protein expressions of NF- κB increased in the gastric tissue ($P < 0.01$). In each treatment group, the inflammation of gastric mucosa was improved to some extent, the serum inflammatory factor was decreased, the mRNA expression of I $\kappa\text{B}\alpha$ was up-regulated, I $\kappa\text{B}\alpha$ protein was increased, while the expression of NF- κB mRNA was down-regulated, and NF- κB protein was decreased. The Jinghua Weikang pill treatment group and the high-dose Huangliantang group had the most obvious improvement ($P < 0.05$, $P < 0.01$).

Conclusion: Huangliantang for regulating cold and heat based on the harmonization method can effectively alleviate the degree of gastric mucosal injury, and reduce serum inflammatory factors in CNAG rats. The mechanism is related to the up-regulation of I $\kappa\text{B}\alpha$ mRNA expression, and the down-regulation of NF- κB mRNA expression and NF- κB protein expression in gastric mucosa.

[**Key words**] harmonizing method; Huangliantang; chronic non-atrophic gastritis; nuclear factor- κB (NF- κB)

慢性非萎缩性胃炎 (CNAG), 既往称慢性浅表性胃炎, 是由多种原因引起的胃黏膜弥漫性或局限性的慢性炎症, 表现为胃黏膜以淋巴细胞和浆细胞浸润为主并可能伴有糜烂、胆汁反流的慢性炎症^[1]。其临床表现复杂, 部分患者无明显自觉症状, 部分有症状者亦无典型临床表现, 常以进食后上腹胃部饱胀或疼痛、嘈杂反酸、嗝气等为主要症状^[2]; 是我国上消化道症状中最常见的疾病^[3]。

和法, 即“和之不和”, 是指通过和解与调和的作用, 使半表半里之邪, 或脏腑、表里、寒热等失调之证得以解除的一种治法。黄连汤出自《伤寒论》第 173 条, “伤寒胸中有热, 胃中有邪气, 腹中痛, 欲呕吐者, 黄连汤主之”。由黄连片、干姜、桂枝、法半夏、人参片、甘草片、大枣 7 味药物组成, 具有清上温下、和胃降逆之功, 是和法的代表方之一, 临床广泛应用于 CNAG 的治疗, 且疗效显著^[4]。

本文基于和法研究黄连汤治疗化学刺激结合饥饿失常诱导的 CNAG 大鼠的药效学评价及对核转录因子 (NF)- κB 信号转导通路的影响, 探讨黄连汤对 CNAG 的疗效及其可能的作用机制, 为深入研究

开发黄连汤提供依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 SD 雌性大鼠 80 只, 体质量 (200 ± 20) g, 由北京华阜康生物科技股份有限公司提供, 合格证号 SCXK(京)2014-0004。本动物实验经山东中医药大学医学伦理委员会批准 (批准号 SDUTCM201805311223)。

1.2 药物与试剂 黄连汤由黄连片、桂枝、干姜、甘草片、人参片、法半夏、大枣组成, 购自济南市中鲁医院, 经山东中医药大学李峰教授鉴定为正品, 黄连汤混合液由本课题组自行制备; 荆花胃康胶丸 (天力士医药集团股份有限公司, 批号国药准字 Z10970067); 水杨酸钠 (天津市科密欧化学试剂有限公司, 批号 Q/12HB 3962-2009); 脱氧胆酸钠 (北京索莱宝科技有限公司, 批号 331B026); 氨水 (国药集团化学试剂有限公司, 批号 20170220); 白细胞介素 (IL)-6, IL- 1β 大鼠酶联免疫吸附测定 (ELISA) 检测试剂盒 (联科生物技术有限公司, 批号分别为 30680231, 301B80151); IL-8 ELISA 检测试剂盒 (欣博盛生物技术有限公司, 批号 R180525-008a); 兔抗

NF- κ B 抑制蛋白(I κ B α)(英国 Abcam 公司,批号 ab32518);兔抗 NF- κ B,苏木素-伊红(HE)染色液, RNA 提取液(武汉 Servicebio 公司,批号分别为 GB11142,G1005,G3013);第一链 cDNA 合成试剂盒(美国 Thermo 公司,批号 K1622)。

1.3 仪器 PL-203 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];Epoch 型酶标检测仪(美国 Bio-Tek 公司);RM2016 型病理切片机(上海徠卡仪器有限公司);Nikon Eclipse E100 型正置荧光显微镜, Nikon DS-U3 型成像系统(日本尼康公司);Pannoramic MIDI 型组织切片扫描仪型号(匈牙利 3D HISTECH 公司);Stepone plus 型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(美国 ABI 公司);NanoDrop2000 型超微量分光光度计(美国 Thermo 公司)。

2 方法

2.1 黄连汤制备 黄连汤组成中药黄连片、干姜、桂枝、法半夏、人参片、甘草片、大枣参照《伤寒论》原方配比以 3:3:3:4:2:3:2 比例,根据《中药药剂学》,称取所需药物(中药饮片),按照总质量和体积加水煎煮 2 次,合并 2 次药液,分别浓缩为黄连汤高、中、低质量浓度水煎液(1.10, 0.548, 0.274 g·mL⁻¹)。

2.2 模型建立 采用综合化学刺激法结合饥饱失常建立 CNAG 大鼠模型^[5],大鼠每日自由饮用 0.02% 氨水溶液,同时配合饥饱失常(1 d 禁食,2 d 饱食);20 mmol·L⁻¹ 的脱氧胆酸钠溶液灌胃,2 次/周,每次 10 mmol·kg⁻¹;2% 水杨酸钠溶液灌胃,3 次/周,每次 10 mL·kg⁻¹。分别于造模后 28, 35, 42 d 随机抽取 2 只大鼠进行胃组织病理学检测,以出现胃组织的病理改变判定模型复制成功与否^[6]。

2.3 分组处理 随机抽取 8 只正常大鼠为正常组,40 只造模成功大鼠随机分为模型组、荆花胃康丸治疗组、黄连汤高、中、低剂量组,每组各 8 只。给药剂量按人和动物体表面积折算系数换算,荆花胃康丸治疗组按 0.04 g·kg⁻¹ 剂量灌胃,黄连汤高、中、低剂量组分别按 11.00, 5.48, 2.74 g·kg⁻¹ (以生药量计算)剂量灌胃,正常组与模型组均灌胃等量生理盐水,每日 1 次,连续给药 4 周。给药结束后麻醉大鼠,腹主动脉取血离心 -80 °C 备用;取胃组织每个 2 份,一份用 4% 多聚甲醛固定,另一份放于 -80 °C 保存。

2.4 组织病理学检测 胃组织用 4% 多聚甲醛溶液固定后,进行常规石蜡包埋、切片及 HE 染色,

显微镜下观察病理变化。

2.5 ELISA 检测大鼠血清 IL-6, IL-1 β , IL-8 含量 取保存血清,严格按照各试剂盒说明进行操作。在酶标包被板反应孔中添加待测样品 100 μ L(同时做空白孔、标准品孔),封板后 37 °C 孵育 1~2 h,洗涤后加检测抗体 100 μ L,封板 37 °C 孵育 1~2 h,洗涤加酶结合物工作液 100 μ L,封板 37 °C 孵育 30 min,洗涤加 TMB 显色液 100 μ L,37 °C 避光反应 10~30 min,加入终止液 100 μ L,在酶标仪 450 nm 处,以空白孔调零后测各孔吸光度 A。

2.6 免疫组化检测 I κ B α 及 NF- κ B 蛋白表达 取各组大鼠胃组织常规石蜡切片脱蜡至水。放于柠檬酸抗原修复缓冲液中进行抗原修复,中火加热 8 min 至沸,停火 8 min 保温再转中低火 7 min。自然冷却至室温后,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 3 次,每次 5 min。放入 3% 过氧化氢溶液,室温避光孵育 25 min, PBS 冲洗 3 次,每次 5 min。3% BSA 室温封闭 30 min。滴加兔抗 I κ B α (1:200),兔抗 NF- κ B (1:500)一抗,于湿盒内 4 °C 孵育过夜。PBS 冲洗 3 次,每次 5 min,滴加与一抗相应种属的二抗(1:200),室温孵育 50 min。PBS 冲洗 3 次,每次 5 min,滴加新鲜配制的 DAB 显色液,显微镜下控制显色时间,阳性为棕黄色,自来水冲洗切片终止显色。苏木素核复染 3 min 左右,自来水洗,1% 盐酸-乙醇分化数秒,自来水冲洗,氨水返蓝,流水冲洗。梯度乙醇脱水干燥,二甲苯透明,中性树胶封片。显微镜镜检,图像采集分析。苏木素染细胞核为蓝色, DAB 显出的阳性表达为棕黄色。应用 Quant center 分析软件,识别并设置组织切片上所有的深棕色为强阳性,棕黄色为中度阳性,浅黄色为弱阳性,蓝色细胞核为阴性。进而对每个组织进行识别分析出强阳性,中度阳性,弱阳性及阴性的面积(单位为像素),阳性的百分比,最后进行 H-score 的评分。

2.7 Real-time PCR 检测 I κ B α , NF- κ B mRNA 的表达水平 目的基因 I κ B α , NF- κ B 及内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)引物由武汉 Servicebio 公司合成,引物序列和产物长度见表 1。trizol 法提取各组大鼠胃组织中总 RNA,使用 Nanodrop 2000 检测 RNA 浓度及纯度,将浓度过高的 RNA 进行适当比例的稀释,使其终质量浓度为 200 μ g·L⁻¹。严格遵照试剂盒说明书进行逆转录和 PCR 扩增。PCR 扩增条件为 95 °C 10 min;(95 °C 15 s, 60 °C 60 s)循环 40 次;60~95 °C,每 15 s 升温 0.3 °C 分析熔解曲线。以 GAPDH 作为内参,采用 2^{- $\Delta\Delta$ C_t} 分析 mRNA 的相对表达量。

表 1 PCR 引物序列

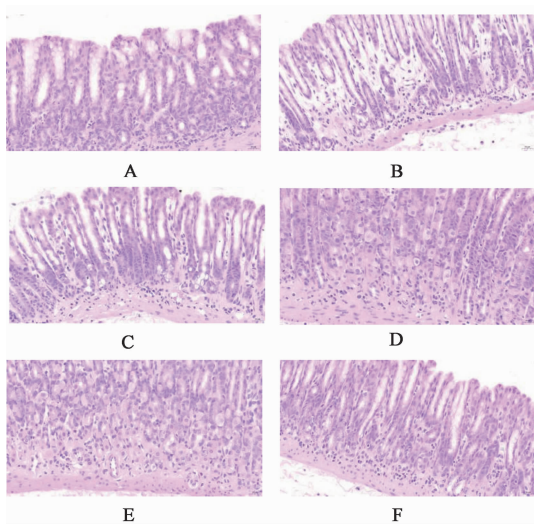
Table 1 Primer sequence of PCR

引物	序列(5'-3')	长度/bp
GAPDH	上游 CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG	138
	下游 GGTGGAAGAATGGGAGTTGCT	
I κ B α	上游 CACCAACTACAACGGCCACAC	182
	下游 ACTTCAACAGGAGCGAGACCAG	
NF- κ B	上游 CGAAACACTGGAAGCACGGAT	186
	下游 ACCACACTCAGGTCCATCTCC	

2.8 统计学分析 采用 SPSS 22.0 统计软件进行实验数据分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示数据,组间比较采用单因素方差分析,两组间及组内比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 CNAG 大鼠胃组织病理学的影响 正常组大鼠胃组织黏膜结构正常,未见或偶见少量炎性细胞;模型组大鼠胃组织黏膜受损,固有层结缔组织疏松,并伴有较多炎性细胞浸润,黏膜下层亦可见水肿,结缔组织疏松,并可见较多中性粒细胞渗出;荆花胃康胶丸组及黄连汤高剂量组大鼠胃组织黏膜大致正常,有少量炎细胞浸润;黄连汤低剂量组大鼠胃组织黏膜较完整,黏膜层底部可见较多炎性细胞浸润,少量胃腺上皮细胞轻度水肿,细胞肿胀,胞质疏松淡染;黄连汤中剂量组大鼠胃组织黏膜较完整,黏膜层底部偶见少量炎性细胞浸润。见图 1。



A. 正常组;B. 模型组;C. 荆花胃康丸组;D. 黄连汤低剂量组;E. 黄连汤中剂量组;F. 黄连汤高剂量组(图 2,3 同)

图 1 黄连汤对 CNAG 大鼠胃组织病理学的影响(HE, $\times 400$)

Fig.1 Effect of Huangliantang on gastric histopathology in CNAG rats(HE, $\times 400$)

3.2 对 CNAG 大鼠血清 IL-6, IL-1 β , IL-8 含量的影响 与正常组比较,模型组血清 IL-6, IL-1 β , IL-8 含量均显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,各治疗组血清 IL-6 含量显著降低($P < 0.01$),荆花胃康丸治疗组及黄连汤中、高剂量组血清 IL-1 β , IL-8 含量显著降低($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 黄连汤对 CNAG 大鼠血清 IL-6, IL-1 β , IL-8 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of Huangliantang on serum IL-6, IL-1 β and IL-8 levels in CNAG rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	IL-6	IL-1 β	IL-8
正常	-	190.22 \pm 28.17	257.54 \pm 49.83	0.60 \pm 0.27
模型	-	662.35 \pm 80.47 ¹⁾	495.19 \pm 75.51 ¹⁾	3.25 \pm 1.01 ¹⁾
荆花胃康丸	0.04	188.98 \pm 65.08 ³⁾	243.98 \pm 50.50 ³⁾	1.33 \pm 0.51 ³⁾
黄连汤	2.74	496.60 \pm 59.50 ³⁾	491.45 \pm 58.87	2.54 \pm 0.69
	5.48	333.43 \pm 68.19 ³⁾	306.88 \pm 38.74 ³⁾	2.12 \pm 0.98 ³⁾
	11.0	190.22 \pm 45.80 ³⁾	273.27 \pm 53.23 ³⁾	0.90 \pm 0.67 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 3,4 同)。

3.3 对 CNAG 大鼠胃组织 I κ B α , NF- κ B 蛋白表达的影响 免疫组化结果显示,与正常组比较,模型组大鼠胃组织 I κ B α 蛋白表达显著降低, NF- κ B 蛋白表达显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,荆花胃康丸治疗组及黄连汤中、高剂量组 I κ B α 蛋白表达明显升高($P < 0.05, P < 0.01$);荆花胃康丸治疗组及黄连汤高剂量组大鼠胃组织 NF- κ B 蛋白表达明显降低($P < 0.05$)。见表 3,图 2,3。

表 3 黄连汤对 CNAG 大鼠胃组织 I κ B α , NF- κ B 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effect of Huangliantang on expression of I κ B α and NF- κ B protein in gastric tissue of CNAG rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	I κ B α	NF- κ B
正常	-	121.25 \pm 17.62	86.06 \pm 8.09
模型	-	72.27 \pm 10.01 ¹⁾	113.79 \pm 7.48 ¹⁾
荆花胃康丸	0.04	104.45 \pm 9.65 ³⁾	90.61 \pm 12.51 ²⁾
黄连汤	2.74	90.75 \pm 11.46	100.99 \pm 7.41
	5.48	90.34 \pm 8.29	95.21 \pm 8.07
	11.0	104.10 \pm 7.61 ³⁾	93.94 \pm 8.17 ²⁾

3.4 对 CNAG 大鼠胃组织 I κ B α , NF- κ B mRNA 表达水平的影响 与正常组比较,模型组大鼠胃组织 I κ B α mRNA 表达显著下调, NF- κ B mRNA 表达显著

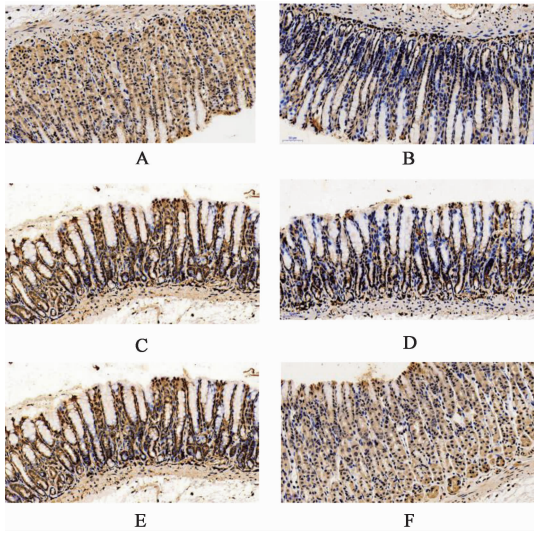


图 2 黄连汤对 CNAG 大鼠胃组织 IκBα 蛋白表达的影响(免疫组化, ×200)

Fig. 2 Effect of Huangliantang on expression of IκBα protein in gastric tissue of CNAG rats(IHC, ×200)

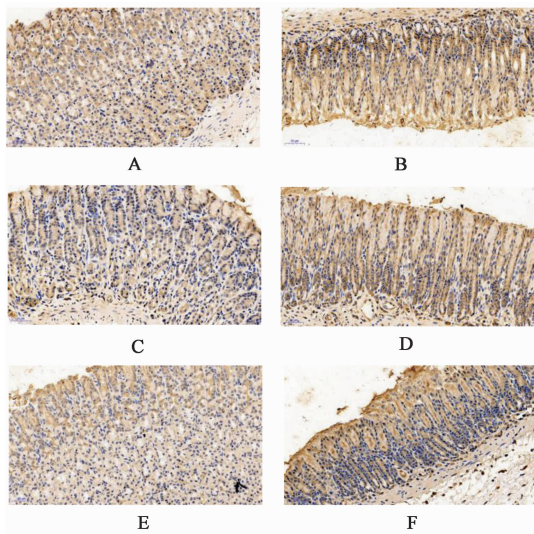


图 3 黄连汤对 CNAG 大鼠胃组织 NF-κB 蛋白表达的影响(免疫组化, ×200)

Fig. 3 Effect of Huangliantang on expression of NF-κB protein in gastric tissue of CNAG rats(IHC, ×200)

上调($P < 0.01$);与模型组比较,荆花胃康丸治疗组及黄连汤中、高剂量组大鼠胃组织 IκBα mRNA 表达明显上调,各治疗组 NF-κB mRNA 表达明显下调($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 4。

4 讨论

黄连汤主治“伤寒胸中有热,胃中有邪气,腹中痛,欲呕吐者”,其胃中有邪气,阻遏阴阳升降之机,阴不得升,而独治于下,为下寒,故腹中痛;阳不得降,而独治于上,故胸中热、欲呕吐。方中黄连苦寒,

表 4 黄连汤对 CNAG 大鼠胃组织 IκBα 及 NF-κB mRNA 表达水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effect of Huangliantang on expression of IκBα and NF-κB mRNA in gastric tissue of CNAG rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	IκBα	NF-κB
正常	-	5.28 ± 0.68	1.15 ± 0.35
模型	-	1.28 ± 0.60 ¹⁾	2.96 ± 0.19 ¹⁾
荆花胃康丸	0.04	4.99 ± 0.29 ³⁾	1.62 ± 0.21 ³⁾
黄连汤	2.74	1.33 ± 0.53	2.33 ± 0.29 ³⁾
	5.48	2.40 ± 0.65 ²⁾	1.85 ± 0.27 ³⁾
	11.0	4.01 ± 0.61 ³⁾	1.31 ± 0.19 ³⁾

清在上之热,贵为君药;干姜辛热,温在下之寒,桂枝辛温,通阳散寒,两者共为臣药;佐以法半夏降逆止呕,人参片、大枣益气和中,甘草片调和诸药。综合全方,寒热并用,攻补兼施,清上温下,交通阴阳,调畅中焦脾胃升降,体现了和之大法。

CNAG 据其症状归属于中医“胃脘痛”“痞满”“嘈杂”等范畴,病位在胃,与脾脏关系密切。脾胃互为表里,同居中焦,脾主升清,胃主降浊,清浊升降有序气机才能调畅。然脾为阴脏,喜燥恶润,其病多为寒证;胃为阳脏,喜湿恶燥,其病多为热证。故该病多为脾胃气机升降失调,寒热互结、虚实错杂之证。病因病机以中焦寒热错杂,气机升降失常为主^[7]。治疗以调和寒热法最佳^[8]。因此本研究选用清上温下之方黄连汤治疗该病。且现代药理研究表明,黄连及其提取物有抗炎、抗幽门螺旋杆菌、保护胃黏膜的作用^[9-12],干姜具有止吐、抗氧化、减轻胃黏膜损伤的功效^[13-14],桂枝主要药效成分挥发油类及有机酸可缓和胃肠刺激、诱导胃腺癌细胞分化^[15-16],法半夏所含总生物碱具有抗炎、止吐等药理作用^[17],人参片水提物在调节胃肠激素、辅助免疫、抗肿瘤等方面起着重要作用^[18-19]。

中医证型客观化研究是近几年的研究热点,临床炎症多数热证,炎症因子可能是疾病寒热证形成的机制之一^[20]。但炎症性疾病不可与中医热证划等号,CNAG 属炎症性疾病,但很多患者症见平素手足冷,畏寒,喜热饮,进食生冷食物出现腹痛等寒证。本研究应用的化学刺激法结合饥饱失常诱导的 CNAG 大鼠模型中 NF-κB 炎症通路因子升高属热证,大鼠出现饮食减少,体质量增加减缓,喜扎堆,活动减少而迟钝属寒象,此为寒热错杂。NF-κB 是一个被广泛研究的重要的转录因子,可以介导多种炎症反应,并且被认为是治疗多种炎症性疾病的一个

重要的靶标^[21-22]。据报道,NF- κ B 在慢性胃炎中扮演着重要的角色,抑制其信号通路可显著抑制慢性胃炎^[23-24]。正常情况下,NF- κ B 和其抑制蛋白 I κ B 以复合物的形式存在于细胞质中,在刺激因素下,I κ B 发生磷酸化从 NF- κ B 上脱落,从而激活 NF- κ B 进入细胞核启动炎症和免疫相关的基因转录^[25],使炎症因子的表达,而炎症因子又能促使 NF- κ B 发生活化,如此形成“正反馈”,NF- κ B 持续激活,炎症不断放大^[26]。本研究 CNAG 大鼠模型中,促炎因子 IL-1 β ,IL-8,IL-6 的含量显著增高,抑制这些炎症因子的表达可以显著改善 CNAG 症状^[27-28]。IL-1 β ,IL-8 的水平与机体的炎症程度呈正相关,其中,IL-1 β 为前细胞因子,能诱导 IL-6 的产生并有强大抑酸作用,是继发 CNAG 的重要因素^[29-30]。IL-8 是一种强而有力的中性粒细胞趋化和活化因子,IL-1 β 诱发的炎症反应在很大程度上是通过诱导产生以 IL-8 为代表的趋化因子介导而产生的^[31]。IL-8 可趋化和激活中性粒细胞而导致机体发生非特异性炎症反应,造成胃黏膜损伤^[32]。IL-1 β 是 NF- κ B 的上游因子^[33],而 NF- κ B 又可调控炎症性细胞因子 IL-1 β ,IL-6,IL-8 的表达^[34-35],造成胃黏膜损伤。本研究结果与上述过程相符,模型组大鼠血清 IL-6,IL-1 β ,IL-8 显著升高,胃组织 I κ B α mRNA 表达下调,I κ B α 蛋白表达降低,NF- κ B mRNA 表达上调,NF- κ B 蛋白表达升高。

本研究证明,基于和法调节寒热的黄连汤能够有效改善化学刺激法结合饥饱失常诱导的 CNAG 大鼠胃黏膜损伤程度,降低血清 IL-6,IL-1 β ,IL-8,增加胃黏膜 I κ B α 的表达,调和促使 I κ B α 与 NF- κ B 结合,从而抑制 NF- κ B 通路活化,降低胃黏膜炎症程度。这可能是黄连汤治疗 CNAG 的机制之一。

[参考文献]

- [1] ZHANG X X, CHEN W W, SHE B, et al. The efficacy and safety of Jian-Wei-Qu-Tong pills for the treatment of chronic non-atrophic gastritis (spleen and stomach qi deficiency with damp-heat stasis syndrome): study protocol for a phase II, randomized controlled trial[J]. *Trials*, 2014, 15(1): 1-11.
- [2] 李军祥, 陈諳, 胡玲, 等. 慢性非萎缩性胃炎中西医结合诊疗共识意见(2017年)[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2018, 26(1): 1-8.
- [3] DU Y Q, BAI Y, XIE P, et al. Chronic gastritis in China: a national multi-center survey [J]. *BMC Gastroenterol*, 2014, 14(21): 2-9.
- [4] 吴智春, 于华芸, 张成博, 等. 基于中药整合药理学平台分析黄连汤治疗胃炎的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(4): 57-62.
- [5] 谢建先. 枳术连夏汤对慢性胃炎模型大鼠的药效学及抗炎机制的研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2017.
- [6] 房静远, 杜奕奇, 刘文忠, 等. 中国慢性胃炎共识意见(2017年, 上海)[J]. *胃肠病学*, 2017, 22(11): 670-687.
- [7] 杨舒淳, 吴芳, 李龔, 等. 李玉贤主任医师应用辛开苦降法治疗慢性萎缩性胃炎经验[J]. *西部中医药*, 2016, 29(7): 45-48.
- [8] 笪如桥, 袁红霞. 袁红霞调和寒热法论治脾胃病临证举隅[J]. *山东中医杂志*, 2017, 36(2): 158-159.
- [9] 田华, 闫平慧, 张锋利. 黄连素通过 ROS/ERK1/2 通路抗幽门螺旋杆菌相关性胃炎的实验研究[J]. *中医药通报*, 2017, 16(6): 66-69, 60.
- [10] 王婷婷, 钟凌云. 不同姜汁制黄连抑制胃黏膜损伤方面的机制分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(12): 18-22.
- [11] 邹忠杰, 龚梦卿, 谢媛媛, 等. 黄连总生物碱对乙醇致大鼠胃黏膜损伤保护作用的代谢组学研究[J]. *中华中医药杂志*, 2013, 28(3): 807-810.
- [12] 邱艳萍. 黄连化学成分与药理作用研究进展[J]. *中医临床研究*, 2018, 10(22): 141-143.
- [13] 黄燕琼, 刘颖, 秦华珍, 等. 10 味温中散寒药对胃实寒证大鼠胃黏膜组织病理学的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(2): 105-108.
- [14] 亓雪, 张颖颖. 干姜的化学、药理研究进展[J]. *山东化工*, 2018, 47(14): 41-42.
- [15] 许源, 宿树兰, 王团结, 等. 桂枝的化学成分与药理活性研究进展[J]. *中药材*, 2013, 36(4): 674-678.
- [16] 卢娟, 汪晖, 卢方安. 肉桂酸对胃腺癌细胞诱导分化的实验研究[J]. *中国药理学通报*, 2007, 22(2): 237-240.
- [17] 肖琦, 阳文武, 张德伟, 等. 半夏总生物碱含量影响因素及药理作用研究进展[J]. *中国药业*, 2016, 25(3): 123-126.
- [18] 郭军鹏, 李子焯, 张兆鹏, 等. 人参水提物对脾虚小鼠胃肠动力和血清 Ghrelin 的影响[J]. *长春中医药大学学报*, 2018, 34(5): 845-847.
- [19] 宋齐. 人参化学成分和药理作用研究进展[J]. *人参研究*, 2017, 29(2): 47-54.
- [20] 孙运中, 钟琴, 姚血明, 等. 类风湿关节炎中医寒证和热证与炎症指标相关性的 Meta 分析[J]. *风湿病与关节炎*, 2016, 5(5): 27-31.
- [21] Medicherla K, Sahu B D, Kuncha M, et al. Oral administration of geraniol Ameliorates acute experimental

- murine colitis by inhibiting pro-inflammatory cytokines and NF- κ B signaling [J]. *Food Funct*, 2015, 6 (9): 2984-2995.
- [22] SUN Y, ZHAO Y, YAO J, et al. Wogonoside protects against dextran sulfate sodium-include experimental colitis in mice by inhibiting NF- κ B and NLRP3 inflammasome activation [J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, 94(2): 142-154.
- [23] 何芸. 头花蓼对幽门螺杆菌胃炎 NF- κ B 信号通路调控作用及机制研究[D]. 贵州: 贵州医科大学, 2017.
- [24] 杨汉彬. 胃炎 I 号对萎缩性胃炎大鼠胃黏膜 NF- κ B/HIF-1 α 通路的调控研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2015.
- [25] Hayden M, Ghosh S, Hoffmann A. Signaling via the NF- κ B system[J]. *Genes Dev*, 2016, 8(3): 227-241.
- [26] Kido M, Tanaka J, Aoki N, et al. Helicobacter pylori promotes the production of thymic stromal lymphopietin by gastric epithelial cells and induces dendritic cell-mediated inflammatory Th2 responses [J]. *Infect Immun*, 2010, 78(1): 108-114.
- [27] 彭金香. 金芪胶囊治疗慢性浅表性胃炎的证治探讨与主要药效研究[D]. 恩施: 湖北民族学院, 2016.
- [28] 林晓春. 安胃疡胶囊治疗慢性浅表性胃炎药效学试验及机制研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2013.
- [29] 姚明, 危艳顺, 安娜, 等. 细胞因子在幽门螺杆菌相关胃炎中的分泌及临床意义[J]. *临床和实验医学杂志*, 2012, 11(10): 740-741.
- [30] 马健, 刘月艳, 蔡鹤, 等. 白细胞介素-1 与幽门螺杆菌相关性胃病[J]. *实用中医内科杂志*, 2009, 23(8): 3-4.
- [31] 潘灵辉. 细胞因子平衡在炎症反应中作用的研究进展[J]. *医学综述*, 2005, 11(9): 775-777.
- [32] Bartchewsky W J, Martini M R, Masiero M, et al. Effect of Helicobacter pylori infection on IL-8, IL-1 β and COX-2 expression in patients with chronic gastritis and gastric cancer[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2009, 44(2): 153-161.
- [33] 刘红, 孙伟, 万毅刚, 等. 慢性肾脏病肾组织炎症信号通路 NF- κ B 的调节机制及中药的干预作用[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(24): 4246-4251.
- [34] 郝健, 许丽萍, 吕铁钢. 制大黄-川芎药对通过 TLR4/Myd88/NF- κ B 信号对造影剂诱导大鼠肾小管上皮细胞凋亡及肾组织炎症因子 IL-6、IL-1 β 的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(23): 5772-5775.
- [35] 徐成飞, 韦立群, 李通, 等. 染料木素对 HT29 细胞 IL-8 分泌及 Akt/NF- κ B 活化的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(30): 11-15.

[责任编辑 周冰冰]