

西洋参醇提物对慢性萎缩性胃炎大鼠的逆转效应研究

龙华晴^{1,2}, 赵文慧^{1,2}, 聂晓静^{1,2}, 马津真^{1,2}, 吴悦^{1,2}, 陈璇¹, 陈宇¹, 吴人照^{1*} (1.浙江省中医药研究院, 杭州 310007; 2.浙江中医药大学, 杭州 310053)

摘要: 目的 探讨西洋参醇提物对亚硝基胍(*N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine, MNNG)诱发慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)模型大鼠的萎缩逆转作用及对 PCNA 蛋白、Bcl-2 蛋白、PCNA mRNA、Bcl-2 mRNA、TFF3 mRNA、TNF- α mRNA 的影响。方法 Wistar 大鼠自由饮用浓度为 167 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 MNNG 饮用液, 实验造模 12 周。确定成模后, 将大鼠分为模型组、正常组、西洋参醇提物组。并分别给予药物干预后, 观察大鼠体重, 胃组织病理组织学, 血清胃泌素(gastrin, GAS), 胃组织 PCNA 蛋白、Bcl-2 蛋白、PCNA mRNA、Bcl-2 mRNA、TFF3 mRNA、TNF- α mRNA 表达情况。结果 治疗第 8 周西洋参醇提物组体重恢复显著高于模型组($P<0.05$)。西洋参醇提物组腺体萎缩、不典型增生、肠化显著减轻($P<0.01$)。西洋参醇提物组炎症等级、GAS 较模型组无显著性差异。西洋参醇提物组 PCNA 蛋白、Bcl-2 蛋白较模型组显著降低($P<0.01$)。西洋参醇提物组 PCNA mRNA、TFF3 mRNA、TNF- α mRNA 较模型组均有下降, 但差异无统计学意义; Bcl-2 mRNA 较模型组有显著升高($P<0.01$)。结论 西洋参醇提物对 CAG 模型大鼠具有良好的治疗作用, 减轻体重丢失, 减轻胃黏膜萎缩和肠化生, 其作用机制之一可能是通过下调胃黏膜 PCNA 蛋白、Bcl-2 蛋白的高表达, 起到改善乃至逆转 CAG 病理状态的作用。

关键词: 西洋参; 醇提物; 慢性萎缩性胃炎; 增殖细胞核抗原; Bcl-2; 三叶因子; 肿瘤坏死因子- α ; 蛋白; mRNA

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1007-7693(2019)17-2131-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.17.004

引用本文: 龙华晴, 赵文慧, 聂晓静, 等. 西洋参醇提物对慢性萎缩性胃炎大鼠的逆转效应研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(17): 2131-2135.

Reversal Effect of American Ginseng Alcohol Extracts on Rats with Chronic Atrophic Gastritis

LONG Huaqing^{1,2}, ZHAO Wenhui^{1,2}, NIE Xiaojing^{1,2}, MA Jinzhen^{1,2}, WU Yue^{1,2}, CHEN Xuan¹, CHEN Yu¹, WU Renzhao^{1*} (1. Research Institute of Chinese Medicine in Zhejiang Province, Hangzhou 310007, China; 2. Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To discuss the reverse effect of gastric atrophy and the influences to PCNA and Bcl-2 protein, PCNA mRNA, Bcl-2 mRNA, TFF3 mRNA, TNF- α mRNA of American Ginseng alcohol extracts for the treatment of the model rats with chronic atrophic gastritis(CAG) induced by *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine(MNNG). **METHODS** Wistar rats were free to drink MNNG solution with a concentration of 167 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, and they were made models for 12 weeks. After making the model successfully, divided the rats into model group, normal group and American Ginseng alcohol extracts group. After giving drugs intervention separately, observed the weight of rats, gastric tissue histopathology, gastrin(GAS), the expression of PCNA and Bcl-2 protein and mRNA, TFF3, TNF- α mRNA in gastric tissue. **RESULTS** In the eighth therapeutic week, the weight of rats in the American Ginseng alcohol extracts group were significantly higher than the model group($P<0.05$). The glandular atrophy, atypical hyperplasia and intestinal metaplasia were significantly relieved in the American Ginseng alcohol extracts group($P<0.01$). There was no significant difference of gastric mucosa inflammation level GAS between the American Ginseng alcohol extracts group and the model group. There were significant reduce of content of the PCNA protein and Bcl-2 protein in the American Ginseng alcohol extracts group($P<0.01$). In the American Ginseng alcohol extracts group, there was a decline of PCNA mRNA, TFF3 mRNA and TNF- α mRNA but had not significant, Bcl-2 mRNA was significantly increased compared with model group($P<0.01$). **CONCLUSION** American Ginseng alcohol extracts have a good therapeutic effect on the CAG model rats in reducing weight loss and reducing gastric atrophy and intestinal metaplasia, one of the mechanism may be down regulating the high expression of PCNA and Bcl-2 in gastric mucosa, and to improve and even reverse the pathological state of CAG.

KEYWORDS: American Ginseng; alcohol extracts; chronic atrophic gastritis; proliferating cell nuclear antigen; Bcl-2; trefoil factor 3; tumor necrosis factor- α (TNF- α); protein, mRNA

基金项目: “重大新药创制”国家科技重大专项(2016ZX09101069); 国家自然科学基金项目(81703789); 浙江省自然科学基金(LY15H280011); 浙江省重大科技专项(2009C13032)

作者简介: 龙华晴, 女, 硕士, 住院医师 Tel: 13117298313 E-mail: 971147603@qq.com *通信作者: 吴人照, 男, 硕士, 主任中医师 Tel: 13325819096 E-mail: wufeng03@126.com

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是常见消化系统疾病,世界卫生组织将其列为胃癌前状态,其主要的病理改变表现为胃黏膜腺体萎缩、变薄,炎症,可伴肠腺上皮化生及不典型增生,阻断乃至逆转胃黏膜萎缩和肠化生的发展进程,对 CAG 的治疗至关重要。西医治疗 CAG 多采用对症治疗,缓解 CAG 的症状。中药治疗有独特优势。关于西洋参醇提物对亚硝基胍(*N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine, MNNG)诱发 CAG 模型大鼠的萎缩逆转疗效和蛋白分子机制,未见报道。本研究探讨西洋参醇提物对 MNNG 诱发 CAG 模型大鼠的萎缩逆转、不典型增生、肠化的药效及对血清胃泌素(gastrin, GAS)、胃组织增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)蛋白、Bcl-2 蛋白、PCNA mRNA、Bcl-2 mRNA、三叶因子(trefoil factor 3, TFF3)mRNA、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) mRNA 表达的影响。

1 材料与方法

1.1 动物

正常 Wistar 大鼠 60 只,♀♂各半,体质量 160~190 g,购自上海斯莱克实验动物有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2013-0016;动物合格证编号:008001656119。实验动物均饲养于浙江省中医药研究院(25±2)℃的屏障实验室内,每 12 h 光照明暗交替,实验动物使用许可证号:SYXK(浙)20090122。

1.2 药物

西洋参醇提物组(生药含量为 1.25 g·mL⁻¹,浙江天皇药业有限公司,批号:X01-150909)。

1.3 仪器

RM2235 LEICA 病理切片机、EG1150C LEICA 生物组织冷冻切片机、EG1150H LEICA 生物组织包埋机、ASP200 LEICA 生物组织自动脱水机(德国莱卡公司);BX41OLYMPUS 显微镜(日本 OLYMPUS 奥林巴斯株式会社);Nikon ECLIPSE Ti 显微摄像系统(日本 Nikon 株式会社);Veriti96 PCR 仪(美国 ABI);StepOnePlus 荧光定量 PCR 仪(美国 ABI);Microfuge 20R 低温高速离心机(美国 Beckman);NanoDrop 2000 核算蛋白质定量仪(美国 Thermo Scientific)。

1.4 试剂

MNNG(日本东京化成工业株式会社,批号:

75F71-TF;规格:每瓶 5 g);甲醛溶液(上海凌峰化学试剂有限公司,批号:20130610;规格:每瓶 500 mL);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号:0226160511);ELISA 试剂盒(上海美旋生物技术公司,批号:201605);Trizol(批号:AK3301)、反转录试剂盒(批号:AK4202)、qPCR 试剂盒 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II (Tli RNaseH Plus)(批号:AK8108)均由宝生物工程(大连)有限公司提供。

1.5 造模方法

6 周龄的 Wistar 大鼠 60 只,♀♂各半,其中 40 只开始造模:在饮水中加入 MNNG。每周 1 次用蒸馏水配成 1 g·L⁻¹的储存液,避光冷藏保存。使用时配成 167 μg·mL⁻¹的饮用液,将其装入外用黑色塑料袋包裹着的水瓶,让大鼠自由饮用。本实验造模 12 周。

1.6 分组治疗

造模完成时,随机选取 4 只模型动物与 4 只正常动物的胃组织做病理组织学检查,确定成模后,按照实验的分组要求分为模型组与西洋参醇提物组(每组 12 只,♀♂各半)并开始给药。模型组给生理盐水,西洋参醇提物组给西洋参醇提取物(生药含量为 1.25 g·mL⁻¹) 2 mL·(100 g)⁻¹灌胃,此外,取 12 只未造模的相同条件的大鼠作为空白对照组。在给药第 8 周完成时,3 组大鼠均麻醉,迅速将胃摘出,剪取一部分留做蛋白、mRNA 表达量检测,余下部分用 4%甲醛溶液固定,石蜡包埋,做 4 μm 切片,用 HE、AB 染色,进行组织学检查。

1.7 病理组织学检查方法

标本:大鼠均麻醉,迅速将胃摘出,标本为全胃,上段留 0.5 cm 食管,下段留 1.5 cm 十二指肠;沿胃大弯剪开,生理盐水冲洗,浸于 4%甲醛溶液中。

取材范围:从前胃一直到十二指肠纵向全长、全层。包埋切片:石蜡包埋,作 4 μm 切片。染色:HE 染色、AB 染色。光镜观察:①胃黏膜炎症情况:采用半定量法。在胃组织的胃窦部取 10 个视野,具体参照在 1994 年美国休斯顿所提出的诊断标准^[1]。②胃黏膜腺体厚度:每张胃组织切片中,选取胃窦部黏膜 5 个视野,测出在每个视野下胃窦黏膜腺体厚度,得出每张切片 5 个视野平均值(μm)。③胃腺体数目:在 100 倍镜下,找到每只大鼠胃组织的幽门环以上 0.2~1.2 mm(即 1 mm 范

围内)胃窦固有的腺体总个数。④不典型增生:在每张切片中,取5个高倍镜视野,观察胃黏膜上皮细胞,明确有无细胞核多形性和腺体不典型增生的变化(采用轻、重级别报告)。⑤主细胞、壁细胞数目:在400倍镜下,取5个视野平均值。(6)肠上皮化生表现:参照《中药新药治疗慢性萎缩性胃炎的临床研究指导原则》及2006中国上海慢性胃炎共识意见^[2]。

1.8 血清 GAS 检测方法

采用含有分离胶的血样采集促凝管,离心取血清,按照 GAS ELISA 试剂盒说明书要求操作。

1.9 胃组织 PCNA、Bcl-2 蛋白检测方法

将大鼠胃组织蛋白样品,按照 PCNA、Bcl-2 ELISA 检测试剂盒说明书要求操作。

1.10 胃组织 PCNA、Bcl-2、TFF3、TNF- α mRNA 检测方法

治疗第8周,麻醉处死后取各组大鼠胃组织,将取出的胃组织放入液氮速冻后放-80℃保存。RT-qPCR 检测胃组织中 PCNA、Bcl-2、TFF3、TNF- α mRNA 的表达。

RNA 提取:使用总 RNA 提取试剂提取总 RNA。步骤如下:①取 80 mg 胃组织用液氮研磨成粉末后加 1 mL Trizol 继续研磨至透明状,然后转移至经 DEPC 水处理过的 1.5 mL 离心管中,室温静置 5 min。②加入 0.2 mL 的氯仿,剧烈混匀呈乳浊液,室温静置 5 min; 12 000×g 4℃离心 15 min。③吸取 400 μ L 的上清,加入 400 μ L 的异丙醇,上下来回颠倒,充分混匀溶液,室温静置 10 min; 12 000×g 4℃离心 10 min。此时可见白色沉淀。④弃上清,加入 1 mL 用 DEPC 水配制的 75% 乙醇,让沉淀悬浮起来,充分洗涤后室温静置 3 min; 12 000×g 4℃离心 5 min。⑤尽量弃干净上清,室温干燥 5~10 min。用 50 μ L DEPC 水溶解 RNA 样品,测量浓度和 OD_{260}/OD_{280} 。逆转录:①在 RNase free 的离心管内配制混合液:模板 RNA 500 ng; 5×PrimeScript RT Master Mix 2 μ L; ddH₂O 定容至 10 μ L; ②将混合液吹打混匀,反应条件:37℃, 15 min(反转录反应)85℃, 5 s, 4℃, ∞ 。cDNA 产物稀释 10 倍后用试剂盒 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II (Tli RNaseH Plus) RR820A 做 qPCR。qPCR 反应体系: SYBR Premix Ex Taq II 10 μ L; Primer R (10 μ mol·L⁻¹) 0.8 μ L; Primer F(10 μ mol·L⁻¹)

0.8 μ L; ROX Reference Dye 1 0.4 μ L; 模板 DNA 2 μ L; 灭菌蒸馏水 6 μ L, qPCR 反应条件为: 95℃, 30 s; 95℃, 5 s, 60℃, 30 s, 重复 40 个循环; 95℃, 15 s, 60℃, 1 min, 95℃, 15 s 熔解曲线。各个基因的引物序列见表 1。

表 1 PCNA、Bcl-2、TFF3、TNF- α 基因的引物序列

Tab. 1 Primer sequence of PCNA, Bcl-2, TFF3 and TNF- α gene

基因	上游引物	下游引物	产物大小/bp
PCNA	5'-GCATGGATTCTGCTCACGTC-3'	5'-TTGGACATGCTGGTGGAGTT-3'	115
Bcl-2	5'-TGGCCTTCTTTGAGTTCGGT-3'	5'-GATGCCGGTTCAGGTA-3'	111
TFF3	5'-GCCTTCTGGATAACCTGCT-3'	5'-CCACAGTCCACCCTGACATT-3'	126
TNF- α	5'-GTCGTAGCAAACCAAGC-3'	5'-GAAGAGAACCTGGGAGTAGATAAGG-3'	135

1.11 统计方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 来进行表示,多组均数比较采用 F 检验,其中 2 组比较计量资料采用 LSD-t 和 Dunnett T3 检验方法检验,计数资料采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果

2.1 体质量

治疗 8 周大鼠体质量观察结果说明,西洋参醇提物对 MNNG 诱发的 CAG 模型大鼠具有显著逆转体质量减轻的疗效。结果见表 2。

表 2 西洋参醇提物对 MNNG 诱发的 CAG 模型大鼠治疗 8 周大鼠体质量($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab. 2 Weight of CAG model rats induced by MNNG that treated by American Ginseng alcohol extracts for eight weeks($\bar{x} \pm s, n=12$) g

分组	治疗前	治疗第 8 周
正常组	259.42±51.93 ²⁾	292.83±61.88 ²⁾
模型组	167.77±38.23	171.08±32.23
西洋参醇提物组	173.58±32.96	207.00±23.5 ¹⁾

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

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$.

2.2 病理结果

西洋参醇提物组胃组织腺体萎缩(腺体数量、腺体厚度)、不典型增生、肠化显著减轻($P < 0.01$)。模型组 1 只有重度不典型增生的大鼠确定为胃腺癌。结果见表 3~4。

表3 西洋参醇提取物对MNNG诱发的CAG模型大鼠治疗8周胃组织萎缩病理观察($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab. 3 Pathological observation of gastric tissue atrophy of CAG model rats induced by MNNG that treated by American Ginseng alcohol extracts for eight weeks($\bar{x} \pm s, n=12$)

分组	炎症(等级评分)	每毫米腺体数量/个	腺体厚度/ μm	每个视野主细胞数量/个	每个视野壁细胞数量/个
正常组	0.23 \pm 0.20 ²⁾	45.83 \pm 7.16 ²⁾	254.91 \pm 38.97 ¹⁾	319.42 \pm 121.35 ¹⁾	285.00 \pm 113.21
模型组	0.88 \pm 0.38	33.67 \pm 4.58	212.02 \pm 41.83	205.75 \pm 118.12	184.42 \pm 102.81
西洋参醇提取物组	0.60 \pm 0.25	42.00 \pm 7.29 ²⁾	267.57 \pm 38.45 ²⁾	222.74 \pm 113.00	180.23 \pm 24.51

注:与模型组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

表4 西洋参醇提取物对MNNG诱发的CAG模型大鼠治疗8周胃组织不典型增生、肠化观察

Tab. 4 Observation of atypical hyperplasia and intestinal metaplasia of gastric tissue of CAG model rats induced by MNNG that treated by American Ginseng alcohol extracts for eight weeks

分组	不典型增生/只				肠化/只			
	无	轻度	重度	P值	“0-+”	“++”	“+++”	P值
正常组	12	0	0	<0.01	12	0	0	<0.01
模型组	4	7	1	-	2	2	8	-
西洋参醇提取物组	10	2	0	<0.05	8	4	0	<0.01
χ^2 值	16.92				31.14			
P值	P<0.01				P<0.01			

注:表内 χ^2 值为3组的多组行列表 χ^2 检验。各组行后P值为各组与模型组四格表比较的2组 χ^2 检验。

Note: The chi-square value in the table is the chi-square test of the multi-group column table of the 3 groups. The P-values followed each group are the two-group chi-square test of fourfold table compared with each group and the model group.

2.3 血清GAS含量检测

西洋参醇提取物组GAS含量为(28.18 \pm 5.77)ng·L⁻¹,模型组为(28.85 \pm 5.72)ng·L⁻¹,2组间GAS含量无显著性差异。

2.4 胃组织PCNA蛋白、Bcl-2蛋白表达检测

西洋参醇提取物组的PCNA蛋白、Bcl-2蛋白较模型组显著降低($P<0.01$)。结果见表5。

2.5 胃组织PCNA、Bcl-2、TFF、TNF- α mRNA表达量检测

西洋参醇提取物组PCNA的mRNA表达低于模型组,但差异无统计学意义;西洋参醇提取物组Bcl-2

的mRNA表达显著高于模型组($P<0.01$),这与以往研究认为Bcl-2的表达随着胃黏膜病变加重而增加和治疗改善而降低不一致,有待进一步研究^[3-4];TFF3、西洋参醇提取物组TNF- α mRNA表达均低于模型组,但差异无统计学意义。结果见表6。

表5 西洋参醇提取物对MNNG诱发的CAG模型大鼠治疗8周胃组织PCNA、Bcl-2蛋白分析($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab. 5 Analysis of PCNA, Bcl-2 protein in gastric tissue of CAG model rats induced by MNNG that treated by American Ginseng alcohol extracts for eight weeks($\bar{x} \pm s, n=12$)

分组	PCNA/ $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$	Bcl-2/ $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$
正常组	6.82 \pm 3.53	4.22 \pm 2.28
模型组	8.22 \pm 3.43	5.04 \pm 2.14
西洋参醇提取物组	4.37 \pm 1.35 ¹⁾	2.65 \pm 0.70 ¹⁾

注:与模型组比较, ¹⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P<0.01$ 。

3 讨论

现代医学对CAG的病因认识尚不十分明确,多认为其发病是多个病因、多种阶段、多种基因逐渐变异共同积累的过程。CAG的中医药治疗,以补益脾胃为主,疗效好、安全性高。我国中药资源丰富,研究逆转CAG胃黏膜萎缩和肠上皮化生药物,筛选治疗CAG更加有效的中药是可行的。西洋参为味苦、性凉,有补气养阴、清热生津之功效。现代研究发现西洋参中含有多种有效成分,具有抗肿瘤、降血压、降血脂、抗疲劳等多方面的药理活性^[5]。西洋参茎叶总皂苷具有通过产生生物活性物质增强机体免疫的功能,还能活化巨噬细胞,加强细胞吞噬能力^[6]。

表6 西洋参醇提取物对MNNG诱发的CAG模型大鼠治疗8周胃组织PCNA、Bcl-2、TFF3、TNF- α mRNA表达影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

Tab. 6 Expression results of PCNA, Bcl-2, TFF3 and TNF- α in gastric of CAG model rats induced by MNNG that treated by American Ginseng alcohol extracts for eight weeks($\bar{x} \pm s, n=12$)

分组	PCNA	Bcl-2	TFF3	TNF- α
正常组	0.0604 \pm 0.0228	0.0043 \pm 0.0021	0.0139 \pm 0.0117	0.0014 \pm 0.0010
模型组	0.0724 \pm 0.0318	0.0041 \pm 0.0025	0.0135 \pm 0.0225	0.0104 \pm 0.0320
西洋参醇提取物组	0.0697 \pm 0.0648	0.0255 \pm 0.0148 ¹⁾	0.0021 \pm 0.0018	0.0055 \pm 0.0037

注:与模型组比较, ¹⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P<0.01$ 。

PCNA 是一种仅在增殖细胞中合成或表达的核内多肽, 密切反映细胞的增殖动力变化, 而阳性表达更表明细胞是处于活跃的增殖状态。Bcl-2 是一种原癌基因, 通过抑制物理、化学、生物等因素诱导的细胞凋亡, 延长细胞存活期, 表现出明显的生长优势。本研究结果显示, 西洋参醇提取物治疗组较模型组胃组织 PCNA 蛋白和 Bcl-2 蛋白显著降低, 可能与随着治疗后胃组织萎缩恢复而细胞处于活跃的增殖状态得到下调和回落有关。初步说明经过西洋参醇提取物治疗后, 胃组织细胞增殖状态和细胞凋亡趋向正常。

TFF3 是三叶肽家族成员之一, 是胃肠道黏液分泌上皮合成和分泌的一组具有特定三叶结构域的小分子多肽, 有很强的促进细胞增殖与移行能力, 且有抗蛋白酶水解、酸消化及耐热特性, 能在消化系复杂的环境中保持生物活性。TFF3 在正常胃黏膜组织不表达或少量表达, 但在发生胃癌时, 其表达明显增加, 提示 TFF3 与胃病的发生、发展有可能关系密切^[7]。韦维等^[8]的研究认为安胃汤通过下调 TFF3 表达, 使损伤的黏膜得以再生和修复, 这与本实验研究结果相一致。TNF- α 是一种极为重要的炎症细胞因子, 参与了众多疾病的发生、发展。主要是由活化的巨噬细胞产生, 在多种细胞因子免疫网络中, 占据重要地位, 是一种重要的调节机体免疫功能、代谢过程的多功能性细胞因子。TNF- α 可以促进炎症区的白细胞积聚以及激活, 在 TNF- α 作用下, 激活的白细胞可以释放几种增强毛细血管通透性的细胞介质。TNF- α 对血管内皮黏附分子有上调作用, 黏附分子的上调能够造成白细胞的黏附和收缩, 从而引起毛细血管的渗漏和组织的损害。在炎症模型中, 持续高浓度的 TNF- α 可能是导致组织损伤的原因之一。血清 TNF- α 可以作为 CAG 病情判断和治疗疗效的观察指标之一^[9]。本实验中, 西洋参醇提取物可能是通过下调 TFF3、TNF- α 的表达来修复 CAG 胃黏膜。

GAS 是胃 G 细胞分泌的一种胃肠激素, 可刺激胃壁分泌胃酸, 近代研究认为 GAS 可以直接反映胃黏膜萎缩的变化情况, 可作为胃窦萎缩的血清学标志物^[10]。本研究未得到阳性结果。CAG 模型大鼠胃泌素水平与正常组大鼠无差异, 治疗后胃泌素的影响变化不明显, 可能与模型组大鼠病程较短有关, 与部分报道相近^[11]。

本实验结果显示, 西洋参醇提取物对 MNNG 诱发的 CAG 模型大鼠治疗 8 周具有显著减轻体质量丢失, 改善胃黏膜炎症等级、腺体萎缩、不典型增生、肠化, 显著下调 PCNA、Bcl-2 蛋白表达, 治疗后 PCNA mRNA 表达有下调趋势, 控制 CAG 引起的反射性细胞高增殖程度, 可能有利于防止胃癌前病变的进展。治疗后 TFF3、TNF- α mRNA 表达有降低趋势, 有利于防止病情向胃癌前病变发展。其中 Bcl-2 蛋白治疗后显著降低, 但 Bcl-2 mRNA 治疗后显著升高, 与以往报道不一致^[3-4], 是否存在其他调节机制, 值得进一步研究。中医药治疗 CAG 安全性较好, 有巩固疗效、防止复发、提高免疫力等综合作用^[12], 展现了中医药在 CAG 研究领域的广阔前景。

REFERENCES

- [1] DIXON M F. Prospects for intervention in gastric carcinogenesis reversibility of gastric atrophy and intestinal metaplasia [J]. Gut, 2001, 49(1): 2-4.
- [2] 中华医学会消化病分会. 中国慢性胃炎共识意见[J]. 胃肠病学, 2006(1): 674-684.
- [3] 刘爱群. 凋亡调控相关基因 FAF1、Bcl-2 和 Survivin 在 Hpylori 感染胃癌变过程中的表达机制初探及临床意义[D]. 南宁: 广西医科大学, 2011.
- [4] ZHU Y L, PENG Y, BAI Y N, et al. Effect of Jianpi Tongluo Jiedu Formula on precancerous lesions of gastric cancer based on NF- κ B/Bcl-2 cell apoptosis pathway [J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2014, 29(4): 1208-1211.
- [5] SHANG J Y, LI G R, SHAO M H, et al. Research progress on pharmacological action of *Panax quinquefolium* L. [J]. J Ginseng Res(人参研究), 2016, 28(6): 49-51.
- [6] 丁涛, 尚智, 温富春, 等. 西洋参茎叶总皂甙对小鼠腹腔巨噬细胞免疫功能作用的研究[J]. 长春中医药大学学报, 2007, 23(6): 14-15.
- [7] MADSEN J, NIELSEN O, TORNØE I, et al. Tissue localization of human trefoil factors 1, 2, and 3 [J]. J Histochem Cytochem, 2007, 55(5): 505-513.
- [8] WEI W, LIN S N, ZHU Y P. Effect of anwei decoction on intestinal trefoil factor mRNA in chronic atrophic gastritis rats [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2011, 17(3): 159-162.
- [9] 张高峰. 针刺对慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜 TNF- α 和 IL-8 水平的影响[D]. 咸阳: 陕西中医药大学, 2009.
- [10] 崔晓宇. 萎缩性胃炎患者血清胃蛋白酶原和胃泌素水平变化及意义[J]. 山东医药, 2009, 49(38): 91-92.
- [11] 吴人照, 陈立钻, 杨兵勋, 等. 铁皮枫斗颗粒治疗自身免疫法慢性胃炎模型大鼠的实验研究[J]. 浙江中医杂志, 2015, 50(12): 881-883.
- [12] 吴人照, 陈立钻, 杨兵勋, 等. 铁皮枫斗颗粒治疗综合法慢性萎缩性胃炎及对免疫组化影响的实验研究[J]. 浙江中医药杂志, 2015, 50(9): 694-696.

收稿日期: 2018-10-19

(本文责编: 李艳芳)