

在 ATP 参与下,使 Caspase-3 等蛋白酶家族发生酶解级联激活,最后执行凋亡过程<sup>[7-8]</sup>。我们采用逆转录 PCR 检测上述基因表达发现, Bax mRNA 有一定程度升高, Bcl-2 mRNA 有一定程度下降,但没有显著性差异,但 Bax/Bcl-2 比值明显升高,说明知母皂苷 A Ⅲ能引起部分 B16 细胞凋亡。因此,我们初步认为其抗黑色素瘤作用可能与诱导部分细胞凋亡有关。

在实验中,我们也发现知母皂苷 A Ⅲ在 24h 诱导细胞凋亡率仅为 4.83 %与 24 h 的 IC<sub>50</sub> 有较大差距,从形态学发现,知母皂苷 A Ⅲ在 16 μmol·L<sup>-1</sup> 细胞明显固缩,因此我们推测知母皂苷 A Ⅲ对 B16 细胞生长的影响在大于 10 μmol·L<sup>-1</sup> 与激活凋亡信号通路及调控细胞增殖相关信号通路有关,小剂量抑制细胞增殖与细胞凋亡信号通路关系不大。李沐涵等<sup>[9]</sup>的细胞增殖实验显示没食子酸在 6.25, 12.5 μmol·L<sup>-1</sup> (IC<sub>50</sub> 为 11.8 μmol·L<sup>-1</sup>) 时对肝癌细胞 SMMC-7721 的抑制率为 32.8 %, 51.6 %, 流式显示凋亡率为 17.2 %, 41.6 %, 实验剂量大于 IC<sub>50</sub> 时流式凋亡率与抑制率相对更接近。有可能我们的实验药物在大于 IC<sub>50</sub> 剂量及相应时间点能明显促进细胞凋亡,甚至导致细胞死亡。

最近的研究显示,知母皂苷 A Ⅲ能引起 HCC 细胞凋亡,其机制并不依赖 p53 蛋白,而是涉及自噬-溶酶体信号通路的 X 连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)降解<sup>[10]</sup>。Tan HK 等<sup>[11]</sup>回顾了肿瘤中 mTOR 信号通路并评述了一些天然化合物对该信号通路的影响,其中知母皂苷 A Ⅲ的作用靶点 Akt 和 mTOR。知母皂苷 A Ⅲ在黑色素瘤的作用靶点及相关信号通路是否与 Akt 和 mTOR 及自噬-溶酶体信号通路有关?需要进一步的深入研究。

## 参考文献:

- [1] Sy LK, Yan SC, Lok CN, et al. Timosaponin A-III induces autophagy preceding mitochondria-mediated apoptosis in HeLa cancer cells[J]. Cancer Res, 2008, 68(24): 10229-10237.
- [2] Lok CN, Sy LK, Liu F, et al. Activation of autophagy of aggregation-prone ubiquitinated proteins by timosaponin A-III [J]. J Biol Chem. 2011, 286(36): 31684-31696.
- [3] King FW, Fong S, Griffin C, et al. Timosaponin AIII is preferentially cytotoxic to tumor cells through inhibition of mTOR and induction of ER stress[J]. PLoS One, 2009, 4(9): 7283.
- [4] Kang YJ, Chung HJ, Nam JW, et al. Cytotoxic and antineoplastic activity of timosaponin A-III for human colon cancer cells[J]. J Nat Prod, 2011, 74(4): 701-706.
- [5] 潘会君, 聂绪强, 刘朵, 等. 4 种中药单体对人胰腺癌 PANC-1 细胞移植瘤生长的影响及分子机制[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 245-248.
- [6] Farrow S N, Brown R. New members of the Bcl-2 family and their protein partners[J]. Curr Opin Genet Dev, 1996, 6(1): 45-49.
- [7] Jacotot E, Deniaud A, Borgne-Sanchez A, et al. Therapeutic peptides: Targeting the mitochondrion to modulate apoptosis [J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1757(9-10): 1312-1323.
- [8] Garrido C, Galluzzi L, Brunet M, et al. Mechanisms of cytochrome c release from mitochondria[J]. Cell Death Differ, 2006, 13(9): 1423-1433.
- [9] 李沐涵, 王明艳, 陈海彬, 等. 没食子酸体外诱导人肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡的机制研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(2): 117-121.
- [10] Wang N, Feng Y, Zhu M, et al. A novel mechanism of XIAP degradation induced by timosaponin AIII in hepatocellular carcinoma [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1833(12): 2890-2899.
- [11] Tan HK, Moad AI, Tan ML. The mTOR signalling pathway in cancer and the potential mTOR inhibitory activities of natural phytochemicals [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(16): 6463-6475.

(编辑: 修春)

## 仁青常觉治疗 MNNG 致大鼠慢性萎缩性胃炎的实验研究

魏 盛<sup>1</sup>, 朱德豪<sup>1</sup>, 张克升<sup>2</sup>, 薛 玲<sup>1</sup>(1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355; 2. 山东阿如拉药物研究开发有限公司, 山东 济南 250355)

**摘要:** **目的** 研究仁青常觉对 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)致慢性萎缩性胃炎大鼠的治疗作用, 并探讨其作用机制。 **方法** 大鼠自由饮用 8 周 170 mg·L<sup>-1</sup> MNNG 水溶液制备大鼠慢性萎缩性胃炎(CAG)模型, 并随机分为: 模型组, 阳性药对照组(胃复春组), 仁青常觉高、中、低剂量组, 每组 8 只, 除模型组外分别灌胃给予相应浓度药物进行治疗, 连续给药 8 周。另取 8 只正常大鼠设为空白对照组。于末次给药后麻醉解剖处死

收稿日期: 2014-06-05

作者简介: 魏盛, 男, 讲师, 研究方向: 肝藏象病理生理与情志致病机理研究。Email: waysaint@163.com。通讯作者: 薛玲, 教授, 研究方向: 中药调肝方药药理学研究。Email: xxueling@163.com。

基金项目: 藏医药产业技术创新服务平台(2013-488)。

大鼠, 观察各组大鼠胃黏膜病理改变, 并测定胃游离黏液量、pH 值及血清中肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)水平。**结果** 与模型组比较, 仁青常觉各剂量组大鼠胃黏膜组织病理形态均有不同程度的改善, 血清中 TNF- $\alpha$ 、NO、MDA 水平及胃游离黏液 pH 值显著降低, 胃游离黏液量显著增多( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论** 仁青常觉能有效治疗 MNNG 所致 GAG, 增加胃游离黏液量, 其作用机制可能与降低 TNF- $\alpha$ 、MDA、NO 水平有关。

**关键词:** 慢性萎缩性胃炎; N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍; 仁青常觉; TNF- $\alpha$ ; MDA; NO

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2015)01-0052-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1003-9783.2015.01.013

## Experimental Research of *Renqing Changjue* for Treatment of MNNG-induced Rat Chronic Atrophic Gastritis

WEI Sheng<sup>1</sup>, ZHU Dehao<sup>1</sup>, ZHANG Kesheng<sup>2</sup>, XUE Ling<sup>1</sup> (1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355 Shandong, China; 2. Shandong ARURA Pharmaceutical R&D Co., Ltd, Jinan 250355 Shandong, China)

**Abstract: Objective** To observe the effect of *Renqing Changjue* on MNNG-induced chronic atrophic gastritis in the rats. **Methods** The rats in the model group were fed with 170 mg·L<sup>-1</sup> MNNG freely in drinking water for eight weeks. Meanwhile the rats of the control group were only fed with drinking water. After eight weeks the model rats were randomly divided into model control group, positive drug group, and high-, middle- and low- dose groups of *Renqing Changjue*. The rats were given the corresponding drugs orally for 8 weeks. At the end of the last administration, the pathological change of gastric mucosa was observed in the rats. Gastric free mucus amount, PH value and TNF- $\alpha$ , NO, MDA concentrations were detected in the rats. **Results** Compared with those of the model group, the gastric mucosa pathological changes of the rats were improved in *Renqing Changjue* groups, and their serum TNF- $\alpha$ , MDA, NO concentrations and PH value in the gastric free mucus were decreased significantly ( $P < 0.05$ ), and the gastric free mucus amount of the rats was increased. **Conclusions** *Renqing Changjue* can treat MNNG-induced chronic atrophic gastritis effectively and increase the amount of free mucus, and its the rapapeutic mechanism may be related to reducing the TNF- $\alpha$ , MDA, NO levels in the serum.

**Keywords:** Chronic atrophic gastritis; MNNG; *Renqing Changjue*; TNF- $\alpha$ ; MDA; NO

慢性萎缩性胃炎(CAG)是指胃黏膜表面反复受到损害后导致的黏膜固有腺体萎缩, 甚至消失, 黏膜肌层常见增厚的病理改变。由于腺体萎缩或消失, 胃黏膜有不同程度的变薄, 并常伴有肠上皮化生, 形成杯状细胞、潘氏细胞和小肠绒毛以及炎性反应及不典型增生<sup>[1]</sup>。由于其与胃癌的发生有密切的关系, 尤其是胃窦萎缩性胃炎与肠型胃癌的关系较为肯定<sup>[2]</sup>, WHO 将 CAG 定为胃癌前状态。由于该病的病因复杂和发病机制尚不十分清楚, 因而缺乏理想的治疗方法。故寻找一种有效阻断 CAG 的发展并能逆转萎缩的治疗药物在胃癌的一级预防中具有重要意义。仁青常觉系藏医珍宝药之极品, 由珍珠、檀香、降香、沉香、诃子、牛黄、麝香、西红花等 160 余味中药组方配伍制成的丸剂, 临床用于治疗各种胃肠炎<sup>[3]</sup>, 特别是萎缩

性胃炎<sup>[4]</sup>、胃肠病晚期等疗效显著, 为进一步明确其疗效, 本研究通过复制 CAG 模型, 观察仁青常觉疗效并初步探讨其作用机制。

## 1 材料与方法

**1.1 动物** Wistar 大鼠, 雄性, SPF 级, 70 只, 体重 140 ~ 160 g, 山东鲁抗医药股份有限公司, 许可证号: SCXK(鲁)20080002。

**1.2 药品及试剂** 仁青常觉组方为珍珠、朱砂、檀香、诃子、牛黄等 160 味药材, 由金诃藏药股份有限公司提供, 批号: 20130123; 胃复春片, 杭州胡庆余堂药业, 批号: 1306664; N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG), 萨恩化学技术(上海)有限公司, 批号: MV340-RG, 以蒸馏水配成 170 mg·L<sup>-1</sup> 的 MNNG 液供大鼠每天自由饮用; 大鼠肿瘤坏死因子- $\alpha$

(TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒, 上海西塘生物科技有限公司, 批号: 13108281; 一氧化氮(NO)试剂盒(批号: 20130912), 丙二醛(MDA)试剂盒(批号: 20131111), 均由南京建成生物工程研究所提供。

**1.3 仪器** AL204 电子天平, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; UV-3010 分光光度计, 日本日立公司; A-5082 全波长酶标仪, 深圳雷杜生命科学股份有限公司; Labofuge 400R 低温离心机, 德国 Heraeus 公司; EG1150H 包埋机、RM2235 切片机, 德国 LEICA 公司; BX51 显微镜, 日本 OLYMPUS 公司。

**1.4 模型复制及给药** 将 Wistar 大鼠适应性饲养 1 周后按体重随机分组, 室温 ( $20 \pm 2$ ) $^{\circ}\text{C}$ , 湿度 40% ~ 60%, 空白对照组 15 只, 模型组 55 只。模型组大鼠自由饮用  $170 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MNNG 水溶液<sup>[5]</sup>, 空白对照组饮用纯水, 均用普通饲料饲养, 共 8 周<sup>[6-7]</sup>。第 8 周结束时空白对照组及模型组大鼠随机各取 5 只, 麻醉、解剖, 取胃部组织进行 HE 染色。

在模型制备期间出现死亡, 将剩余模型组大鼠随机分为: 模型组, 阳性对照药组(胃复春组,  $0.36 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 仁青常觉高、中、低剂量组( $0.4, 0.2, 0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 分别是成人临床日服用量  $1 \text{ g} \cdot 60 \text{ kg}^{-1}$  的 24, 12, 6 倍), 每组 8 只, 另取 8 只正常大鼠设为空白对照组。各组大鼠每天给正常饮水、饮食, 空白对照组、模型组每天灌胃等体积纯水( $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。连续灌胃给药 8 周<sup>[3-4]</sup>, 于末次给药后麻醉、解剖处死大鼠, 取大鼠胃组织进行 HE 染色, 光镜下观察胃组织病理学改变, 并测定胃游离黏液量及 pH 值等胃分泌功能; 取血, 离心, 根据试剂盒说明书测定大鼠血清相关指标。

**1.5 统计学处理方法** 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析, 组间样本均数差异比较选用  $F$  检验, 在  $F$  检验有统计学意义时, 进一步用  $q$  检验进行组间两两比较。

## 2 结果

**2.1 大鼠胃组织 HE 染色观察** 见图 1。显微镜下观察大鼠胃部组织 HE 切片, 空白对照组可见黏膜腺体基本完整, 腺体数量正常, 厚度正常, 黏膜层可见少量炎细胞浸润; 模型组黏膜表面腺体不连续, 腺体数量有所减少, 黏膜基层增厚, 局部黏膜下层少量炎细胞浸润, 可见瘀血和水肿, 夹膜层出现瘀血, 局部可见中度萎缩, 出血, 局部可见少量肠上皮化生, 表明 MNNG 致萎缩性胃炎大鼠模型复制成功<sup>[8-9]</sup>。

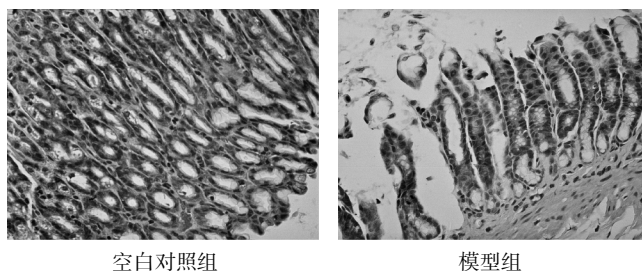


图 1 MNNG 对大鼠胃组织病理组织学的影响(HE, 400 $\times$ )

Figure 1 Effect of MNNG on the pathological change of rat gastric mucosa(by HE staining, 400 $\times$ )

## 2.2 仁青常觉对 MNNG 致 CAG 模型大鼠胃组织病理学的影响

**2.2.1 病变程度观察** 肉眼观察大鼠胃组织, 空白对照组大鼠胃黏膜为鲜亮的粉红色, 模型组颜色暗淡, 褶皱较空白对照组平坦, 模型组及各给药组大鼠中部分胃部有出血点, 或有散在白色斑块, 黏膜表面粗糙或有结节等。各给药组与模型组比较, 胃部病变例数减少, 病变程度减轻。

**2.2.2 各组大鼠胃部组织 HE 染色观察** 见图 2。空白对照组胃黏膜腺体结构清晰, 无明显变性坏死、无明显炎细胞浸润, 腺体数量基本正常, 黏膜肌层完整。模型组胃黏膜上皮细胞不连续, 黏膜层炎症反应较模型复制时减轻, 黏膜腺体中度萎缩, 黏膜下层可见水肿及淤血, 可见肌层增生。胃复春组胃黏膜上皮细胞基本完整, 黏膜层炎细胞浸润不明显, 肌层可见轻度增生及炎细胞浸润。仁青常觉高剂量组胃腺体数量基本恢复正常, 无明显肠上皮化生, 黏膜下层无明显瘀血水肿, 肌层无明显炎细胞浸润; 中剂量组胃黏膜层厚度明显增加, 腺体数量明显恢复, 无明显炎细胞浸润, 无明显肠上皮化生, 黏膜下层无明显瘀血水肿及炎细胞浸润; 低剂量组胃黏膜层厚度增加明显, 腺体数量恢复明显, 无明显炎症细胞浸润, 无明显肠上皮化生, 黏膜下层无明显瘀血水肿。实验结果显示各给药组大鼠胃组织病理形态均有不同程度的改善。

**2.2.3 仁青常觉对 GAG 大鼠胃黏膜腺体层厚度(L1)、黏膜肌层厚度(L2)及 L1/L2 的影响** 见表 1。与空白对照组比较, 模型组大鼠胃黏膜 L1 腺体层厚度减小, 而 L2 肌层厚度增加, L1/L2 也减少( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与模型组比较, 仁青常觉高剂量组 L1 腺体层厚度增加( $P < 0.05$ ), 而高、中剂量组及胃复春组 L2 肌层厚度减小( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 仁青常觉各剂量组及胃复春组 L1/L2 均显著升高( $P < 0.01$ )。

**2.2.4 仁青常觉对 GAG 大鼠胃黏膜腺体数的影响** 见表 2。与空白对照组比较, 模型组胃黏膜腺体数目显

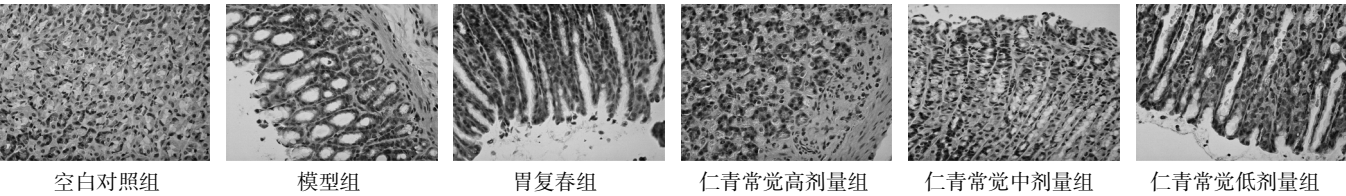


图 2 各组对 CAG 模型大鼠胃组织病理组织学的影响(HE 染色, 400 ×)

Figure 2 Effect of *Renqing Changjue* on the pathological change of rat gastric mucosa(by HE staining, 400 ×)

表 1 各组对 MNNG 致 GAG 大鼠胃黏膜腺体层 (L1) 及肌层 (L2)厚度的影响( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effect of *Renqing Changjue* on mucosal glands and muscular layer in rat gastric amtrum

| 组别       | n | L1 腺体层/ $\mu\text{m}$       | L2 肌层/ $\mu\text{m}$              | L1/L2                          |
|----------|---|-----------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| 空白对照组    | 8 | 782.45 $\pm$ 103.71         | 145.35 $\pm$ 25.63                | 5.51 $\pm$ 0.95**              |
| 模型组      | 8 | 656.37 $\pm$ 94.53 $\Delta$ | 211.37 $\pm$ 45.13 $\Delta\Delta$ | 3.21 $\pm$ 0.54 $\Delta\Delta$ |
| 胃复春组     | 8 | 757.84 $\pm$ 109.64         | 159.82 $\pm$ 32.79*               | 4.89 $\pm$ 0.78**              |
| 仁青常觉高剂量组 | 8 | 792.18 $\pm$ 106.72*        | 147.95 $\pm$ 29.59**              | 5.35 $\pm$ 0.51**              |
| 仁青常觉中剂量组 | 8 | 746.35 $\pm$ 97.69          | 162.19 $\pm$ 28.64*               | 4.71 $\pm$ 0.48**              |
| 仁青常觉低剂量组 | 8 | 723.67 $\pm$ 108.43         | 172.46 $\pm$ 35.87                | 4.26 $\pm$ 0.63**              |

注：与空白对照组比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ ；与模型组比较，\* $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$ 。

表 2 各组对 MNNG 致 GAG 大鼠胃黏膜腺体数的影响( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Effect of *Renqing Changjue* on rat gastic mucosal gland mount

| 组别       | n | 单位长度( $\mu\text{m}$ )内腺体数      |
|----------|---|--------------------------------|
| 空白对照组    | 8 | 11.68 $\pm$ 1.32**             |
| 模型组      | 8 | 8.12 $\pm$ 1.07 $\Delta\Delta$ |
| 胃复春组     | 8 | 11.05 $\pm$ 1.48**             |
| 仁青常觉高剂量组 | 8 | 10.97 $\pm$ 1.17**             |
| 仁青常觉中剂量组 | 8 | 10.59 $\pm$ 1.25**             |
| 仁青常觉低剂量组 | 8 | 10.29 $\pm$ 1.34**             |

注：与空白对照组比较， $\Delta\Delta P < 0.01$ ；与模型组比较，\*\* $P < 0.01$ 。

著减少( $P < 0.01$ )。与模型组比较，各给药组胃黏膜腺体数目明显增加( $P < 0.01$ )。

**2.3 仁青常觉对 MNNG 致 CAG 模型大鼠胃分泌功能的影响** 见表 3。与空白对照组比较，模型组大鼠胃液 pH 值显著升高、胃游离黏液量显著减少 ( $P < 0.05$ )；与模型组比较，胃复春及仁青常觉各剂量组 pH 值显著降低(低剂量组除外)，游离黏液量显著增加( $P < 0.05$ )。

**2.4 仁青常觉对 MNNG 致 CAG 模型大鼠相关血清指标的影响** 见表 4。与空白对照组比较，模型组大鼠血清中 NO、TNF- $\alpha$  水平显著升高( $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ )，MDA 水平虽有升高趋势但无统计学意义( $P > 0.05$ )。与模型组比较，除仁青常觉高剂量组外，其

表 3 各组对 MNNG 致 GAG 大鼠胃液 pH 值及胃游离黏液的影响( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Effect of *Renqing Changjue* on the pH value and gastric free mucus amount in rats

| 组别       | n | pH 值                     | 游离黏液 $\times 10^{-5}(\text{mg 阿利新兰} \cdot \text{mL 胃液}^{-1})$ |
|----------|---|--------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 空白对照组    | 8 | 2.13 $\pm$ 0.30          | 3.03 $\pm$ 0.18                                               |
| 模型组      | 8 | 4.03 $\pm$ 0.74 $\Delta$ | 1.61 $\pm$ 0.24 $\Delta$                                      |
| 胃复春组     | 8 | 2.92 $\pm$ 0.97*         | 1.82 $\pm$ 0.23                                               |
| 仁青常觉高剂量组 | 8 | 1.80 $\pm$ 0.50*         | 2.73 $\pm$ 0.36*                                              |
| 仁青常觉中剂量组 | 8 | 2.43 $\pm$ 0.89*         | 2.63 $\pm$ 0.31*                                              |
| 仁青常觉低剂量组 | 8 | 3.12 $\pm$ 1.14          | 3.00 $\pm$ 0.12*                                              |

注：与空白对照组比较， $\Delta P < 0.05$ ；与模型组比较，\* $P < 0.05$ 。

表 4 各组对 MNNG 致 GAG 模型大鼠 NO、TNF- $\alpha$  及 MDA 的影响( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Effect of *Renqing Changjue* on serum NO, TNF- $\alpha$  and MDA levels in rats

| 组别       | n | NO/ $\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ | TNF- $\alpha/\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ | MDA/nmol $\cdot \text{mL}^{-1}$ |
|----------|---|------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------|
| 空白对照组    | 8 | 5.44 $\pm$ 1.48                          | 218.4 $\pm$ 68.0                             | 18.46 $\pm$ 4.09                |
| 模型组      | 8 | 7.35 $\pm$ 1.98 $\Delta$                 | 560.4 $\pm$ 81.5 $\Delta\Delta$              | 21.62 $\pm$ 2.21                |
| 胃复春组     | 8 | 5.93 $\pm$ 1.86                          | 232.9 $\pm$ 61.7**                           | 15.89 $\pm$ 3.55                |
| 仁青常觉高剂量组 | 8 | 5.74 $\pm$ 1.82                          | 258.6 $\pm$ 62.7**                           | 9.90 $\pm$ 1.72**               |
| 仁青常觉中剂量组 | 8 | 4.52 $\pm$ 1.54*                         | 315.4 $\pm$ 99.6*                            | 13.46 $\pm$ 2.65*               |
| 仁青常觉低剂量组 | 8 | 2.35 $\pm$ 1.16*                         | 372.9 $\pm$ 97.8*                            | 16.49 $\pm$ 1.85*               |

注：与空白对照组比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ ；与模型组比较，\* $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$ 。

他各组大鼠血清中 NO、TNF- $\alpha$ 、MDA 含量显著下降( $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ )。

### 3 讨论

目前，慢性萎缩性胃炎常见的模型复制方法有：X 线照射法、口服胆酸或胆酸盐法、口服氨水法、幽门螺旋杆菌 (HP) 感染法以及化学致癌物造模法等。化学致癌物造模法具有简单可靠易于掌握，并且不会对实验动物造成物理伤害的特点，因此本研究采用此法复制模型。MNNG 作为一种常见的引起癌变的活性致癌剂，直接作用于胃肠道黏膜上皮，使 DNA 链上已有的碱基发生烷化突变，发挥其致癌作用，

其诱发大鼠实验性胃癌现已得到公认<sup>[10]</sup>。萎缩性胃炎作为胃癌前状态应该被高度重视,以防止胃癌发病。依据本法制备的模型大鼠毛发松散,较无光泽,进食、饮水量均减少,体质量减轻;固有层腺体减少,排列不规则,间隙较大,有肠上皮化生和异型增生,动物成模率高,成模时间较短,适合用于实验研究<sup>[11]</sup>。

NO 是一种神经递质和信使分子,具有多种生物学效应:在生理状态下,少量的 NO 可调节胃黏膜微循环和粘液的分泌,具有保护胃黏膜的作用;而在感染炎症等病理状态下,炎症细胞产物可激活诱导型 NO 合成酶表达增强,合成大量的 NO 或超氧离子,通过引起正常基因发生突变<sup>[12]</sup>,或生成毒性更大的羟自由基和过氧硝基阴离子介导并导致细胞膜脂质过氧化损伤和细胞毒性<sup>[13]</sup>。TNF- $\alpha$  是一种重要的炎症细胞因子,在胃黏膜组织炎症的发生发展中起着重要的作用,在 CAG 患者胃黏膜中水平明显高于正常人群,过量的 TNF- $\alpha$  则增强微血管壁通透性<sup>[14]</sup>,改变黏膜血管内皮细胞反应性,致微血管内凝血,导致细胞破坏,溶酶体漏出,炎性递质释放,使黏膜营养不良。MDA 为脂质过氧化作用的最终产物,其水平可反映氧自由基的水平,同时间接反映自由基损伤程度,是衡量胃黏膜损伤的重要因子。病理情况下,机体通过酶系统和或非酶系统产生大量氧自由基,这些自由基能攻击生物膜磷脂中的多不饱和脂肪酸,引发脂质过氧化使生物膜受损、蛋白质变性、DNA 损伤、基因表达失常及细胞坏死<sup>[15]</sup>。本研究结果表明,仁青常觉可显著下调大鼠血清 NO、TNF- $\alpha$ 、MDA 水平,提示其对 CAG 大鼠黏膜保护和修复作用与降低体内 NO、TNF- $\alpha$ 、MDA 水平密切相关。

仁青常觉具有清热解毒、调和滋补之功效,临床广泛用于治疗各种胃肠炎、胃溃疡、特别是萎缩性胃炎、胃肠病晚期、胃肠疑难杂症、肿瘤放化疗所致消化道症状等<sup>[16]</sup>。本实验结果表明,仁青常觉可以增加 CAG 模型大鼠胃黏膜层 LI/L2,减轻黏膜上皮细胞的损伤,恢复腺体数,改善黏膜下层淤血水肿,增加胃游离黏液分泌量,降低胃液 pH 值。提示仁青常觉对 MNNG 致 GAG 具有很好的治疗作用,其作用机制可能与加快胃壁黏液更新速度、增加胃酸分泌,抑

制胃液内菌繁殖、降低血清中 MDA、TNF- $\alpha$  以及 NO 水平,保护氧化应激反应及炎症反应过度发生所致胃黏膜损伤有关。

## 参考文献:

- [1] 李益农. 胃黏膜病变的胃镜诊断[J]. 中华内科杂志, 1995, 34(7): 497-499.
- [2] 邹世洁, 邹外一, 陈小野, 等. 大鼠慢性萎缩性胃炎证病结合模型的脏器组织病理观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(7): 983-986.
- [3] 桑吉措. 藏药仁青常觉对 101 例消化系统疾病的临床观察[J]. 中国民族医药杂志, 1999, 5(3): 5-6.
- [4] 斗周才让, 才让卓玛, 杨忠措, 等. 藏药仁青常觉治疗慢性萎缩性胃炎 30 例[J]. 中国民族医药杂志, 2010, 16(11): 4-5.
- [5] 徐晶莹, 李益民, 李玉兰, 等. MNNG 诱导大鼠胃癌模型的建立[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2003, 37(2): 104-106.
- [6] 韦维, 林寿宁, 朱永革. 安胃汤对慢性萎缩性胃炎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): 159-162.
- [7] 潘华峰, 赵霞, 鞠晓云, 等. 胃痞消对实验性大鼠慢性萎缩性胃炎的作用[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2005, 13(5): 287-289.
- [8] 李俊青, 李纯, 刘希, 等. 参七消痞颗粒对慢性萎缩性胃炎大鼠血清 GH, EGF, GAS 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(12): 172-174.
- [9] 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): 33-35.
- [10] 姒健敏, 吴加国, 曹倩, 等. 鼠慢性萎缩性胃炎模型的建立及致萎缩因素探讨[J]. 中华消化杂志, 2001, 21(2): 75-78.
- [11] Corfield AP, Myerscough N, Longman R, et al. Mucins and mucosal protection in the gastrointestinal tract: new prospects for mucins in the pathology of gastrointestinal disease[J]. Gut, 2000, 47(4): 589-594.
- [12] 崔忠敏, 李兆申, 许国铭. 一氧化氮对胃黏膜微循环调节作用的研究[J]. 胃肠病学, 2000, 5(3): 186-187.
- [13] 张沥, 江梅, 陶梅, 等. 热盐水致大鼠萎缩性胃炎血清和胃黏膜组织 NO 及 NOS 的动态变化[J]. 临床消化病杂志, 2006, 18(1): 42-44.
- [14] 罗兴菊, 李文胜, 陈骏, 等. 复方隔山消颗粒对慢性萎缩性胃炎模型大鼠白细胞介素-1 $\beta$  和肿瘤坏死因子- $\alpha$  的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(11): 1156-1157.
- [15] 陆为民, 单兆伟, 沈洪, 等. 胃舒胶囊对大鼠萎缩性胃炎癌前病变血液 LPO、SOD、GSH-PX 的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2000, 8(4): 480-481.
- [16] 李莉, 赵军宁, 宋军, 等. 仁青常觉抗胃溃疡作用研究[J]. 中药药理与临床, 2008, 23(6): 5-7.

(编辑: 修春)