

- [5] 刘逸飞, 胡玲娜, 吴兴新, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯对肝星状细胞 LX-2 中 STAT1 信号的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(4): 355-359
- [6] Kuai, R. Targeted Delivery of Cargoes into a Murine Solid Tumor by a Cell-Penetrating Peptide and Cleavable Poly (ethylene glycol) Comodified Liposomal Delivery System via Systemic Administration[J]. Mol. Pharmaceutics, 2011, 8(6): 2151-2161.
- [7] 卢坤. 人骨肉瘤细胞特异性结合肽的筛选及验证[J]. 南方医科大学学报, 2012, 32(5): 647-650.
- [8] Jiang XY. Solid tumor penetration by integrin-mediated pegylatedpoly (trimethylene-carbonate) nanoparticles loaded with paclitaxel [J]. Biomaterials, 2013, 34(6): 1739-1746.
- [9] 张寒, 梁晓莉, 贾敏, 等. 白藜甲醇提取物对骨髓瘤细胞 SP20 增殖及凋亡的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(3): 239-241.
- [10] 赵欣. 载 microRNA-34a 脂质体靶向治疗肺癌干细胞的研究[J]. 中国生化药物杂志, 2014, 34(1): 68-71.
- [11] Liu C. The microRNA miR-34a Inhibits Prostate Cancer Stem Cells and Metastasis by Directly Repressing CD44[J]. Nat. Med, 2011, 17: 211-215.
- [12] Gao HL, Shuai Q, Zhi Y, et al. A cascade targeting strategy for brain neuroglial cells employing nanoparticles modified with angiopep-2 peptide and EGFP-EGF1 protein [J]. Biomaterials, 2011, 32(33): 8669-8675.
- [13] Guo J, Gao X, Su L, et al. Aptamer-functionalized PEGPLGA nanoparticles for enhanced anti-glioma drug delivery[J]. Biomaterials, 2011, 32(31): 8010-8120.
- [14] Yun J, Song Y, Zhu X, et al. Goblet cell-targeting nanoparticles for oral insulin delivery and the influence of mucus on insulin transport [J]. Biomaterials, 2011, 33(5): 1-10.
- [15] Chen Y, Zhu X, Zhang X, et al. Nanoparticles Modified with Tumor-Targeting scFv Deliver siRNA and miRNA for Cancer Therapy [J]. Mol. Ther, 2010, 18(9): 1650-1656.
- [16] Gao JQ, Lv Q, Li LM, et al. Glioma targeting and blood-brain barrier penetration by dual-targeting doxorubicin liposomes [J]. Biomaterials, 2013, 34(22): 5628-5639.

(编辑: 修春)

奥瑞凝胶抗炎作用及对反流性食管炎模型大鼠食管组织 IL-8 的影响

段飞^{1,2}, 魏明², 邵明义², 王小晓² (1. 湖北中医药大学基础医学院, 湖北 武汉 430065; 2. 河南中医学院第一附属医院, 河南 郑州 450008)

摘要: **目的** 观察奥瑞凝胶的抗炎作用及其对反流性食管炎(RE)模型大鼠白细胞介素-8(IL-8)的影响。**方法** 以二甲苯所致小鼠耳肿胀、白细胞游走抑制及棉球肉芽肿为炎症指标, 观察奥瑞凝胶的抗炎作用; 用半幽门结扎加贲门肌切开术复制 RE 大鼠模型, 观察奥瑞凝胶对 RE 食管黏膜组织中 IL-8 的影响。**结果** 与模型组比较, 奥瑞凝胶高、中、低剂量组能明显抑制耳肿胀($P < 0.05$)和白细胞游走($P < 0.05$), 肉芽组织含量显著降低($P < 0.05$); 奥瑞凝胶各组组织中 IL-8 含量明显下降($P < 0.05$)。**结论** 奥瑞凝胶具有明显的抗炎作用, 其作用机制可能与降低食管组织中 IL-8 的含量有关。

关键词: 奥瑞凝胶; 反流性食管炎; 抗炎; 白细胞介素-8

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2015)01-0064-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2015.01.016

Effect of Ori Gel on Anti-inflammatory and IL-8 in Esophagus of Reflux Esophagitis Model Rats

DUAN Fei^{1,2}, WEI Ming², SHAO Mingyi², WANG Xiaoxiao² (1. Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065 Hubei, China; 2. The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008 Henan, China)

Abstract: **Objective** To observe the anti-inflammatory effect of Ori gel and its effect on interleukin 8 (IL-8) of reflux esophagitis (RE) rats. **Methods** The anti-inflammatory effect of Ori gel was evaluated by observing xylene-induced mouse ear swelling, rat white blood cell migration inhibition, and cotton-ball induced rat granuloma.

收稿日期: 2014-09-12

作者简介: 段飞, 男, 博士研究生, 主治医师, 研究方向: 中医药防治消化系统疾病, 中医证候规范化及其方法学研究。Email: kybduanfei@126.com。通讯作者: 魏明, 主任医师, 研究方向: 中医药防治消化系统疾病及其疗效评价。Email: wmm1383718@126.com。

基金项目: 河南省科技厅重点科技攻关项目(082102330025); 河南中医学院科技创新人才基金(2013XCXRC05); 河南中医学院科技创新团队基金(2011XCXTD04)。

Half-pylorus ligation plus cardiomyotomy was used to establish RE rat model, and then the effect of Ori gel on the IL-8 content in esophageal mucosa tissue homogenate of RE rat model was observed. **Results** Compared with the model group, high-, medium- and low-dose Ori gel could relieve the ear swelling ($P < 0.05$), inhibit white blood cell migration ($P < 0.05$), reduce granulation tissue ($P < 0.05$), and decrease the content of IL-8 obviously ($P < 0.05$). **Conclusion** Ori gel has significant anti-inflammatory effect, and its mechanism may be related to lowering the content of IL-8 in the esophageal tissue.

Keywords: Ori gel; Reflux esophagitis; Anti-inflammation; Interleukin-8

奥瑞凝胶是魏明教授根据多年临床经验并结合现代制药工艺制备而成的中药制剂,用于治疗反流性食管炎(RE)。前期研究^[1-3]表明奥瑞凝胶能够修复黏膜损伤,调节胃肠激素(胃动素、胃泌素)的水平及影响一氧化氮合酶(NOS)和血管活性肠肽(VIP)在食管下括约肌的表达水平,从而具有保护食管黏膜作用。临床观察^[4]亦显示其治疗 RE 有良好的疗效。本研究观察奥瑞凝胶的抗炎作用及其对 RE 大鼠食管组织中白细胞介素-8(IL-8)的影响,从抗炎角度进一步阐述其治疗 RE 的机制。

1 材料与方法

1.1 药物及试剂 奥瑞凝胶,河南中医学院第一附属医院中药制剂室,批号:20130326。阿司匹林肠溶缓释片,神威药业有限公司,批号:H13023716;青霉素粉针,河北华日药业有限公司,批号:H20044205;IL-8 酶联免疫分析试剂盒,厦门慧嘉生物科技有限公司,批号:KA1021C。

1.2 动物 昆明种小鼠,雌雄各半,体质量(20 ± 2)g;SD 大鼠,雌雄各半,体质量(220 ± 20)g,均由河南省实验动物中心提供,许可证号:SCXK(豫)2005-0001。

1.3 仪器 L-200 精密天平(日本 Shimadzu 公司);S84734 打孔器(香港喜尔公司);高速台式冷冻离心机(德国 Stratos 公司);LDZ5-2 型低速自动平衡离心机(北京京立离心机有限公司);Animal-6000 血液分析仪(济南格利特公司);Tissuelyser-192 多样品组织匀浆机(上海豫明仪器公司);Bio-Elx-800 型酶标仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.4 二甲苯致小鼠耳肿胀实验^[5] 50 只小鼠,随机分为模型组,阿司匹林组($0.27 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),奥瑞凝胶高、中、低剂量组($26.8, 13.4, 6.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,为生药量)。灌胃给药,每天 1 次,连续 3 d,给药容积 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,模型组灌胃等容积凝胶赋形剂。末次给药 1 h 后,于小

鼠右耳两面涂二甲苯 0.02 mL ,左耳作为对照,用 6 mm 打孔器同一部位打下一圆耳片,称质量,以左右耳片质量差值表示肿胀程度。

1.5 白细胞游走抑制实验^[5] 50 只 SD 大鼠,随机分为模型组,阿司匹林组($0.21 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),奥瑞凝胶高、中、低剂量组($21.0, 10.5, 5.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,为生药量)。灌胃给药,每天 1 次,连续 3 d,给药容积 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,模型组灌胃等容积凝胶赋形剂。末次给药前 1 d,将各组大鼠背部脱毛,无菌操作下向各组大鼠颈背部皮下注入空气 5 mL ,形成圆形气囊,末次给药 1 h 后用消毒针头向气囊内注入羧甲基纤维素溶液 5 mL ,3 h 后吸取囊内羧甲基纤维素溶液 0.2 mL ,用血液分析仪计数囊内白细胞数。

1.6 大鼠棉球肉芽肿实验^[5] 大鼠腹股沟两侧剪毛、消毒,用 0.3% 戊巴比妥钠溶液麻醉($20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),无菌操作下埋入已经称质量、含有青霉素的脱脂消毒棉球 1 个,随即缝合皮肤,碘液消毒,常规饲养。实验分组和给药方法同 1.5 项下,给药连续 7 d。末次给药后颈椎脱臼处死大鼠,取出埋入的棉球,在 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 烤箱内放置 12 h 后称质量,计算各组棉球肉芽抑制率。

1.7 RE 模型大鼠食管组织 IL-8 的含量测定 SD 大鼠 72 只,随机分为假手术组,模型组,雷尼替丁组,奥瑞凝胶高、中、低剂量组。采用半幽门结扎加贲门肌切开术复制 RE 动物模型^[6]。术后 12 h 禁食不禁水,术后 2 d 少量进食,术后 3 d 恢复正常饮食。模型复制 7 d 后开始给药,按 $5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 在食管上段灌服,每天 1 次,共 14 d。奥瑞凝胶高、中、低剂量分别为 $21.0, 10.5, 5.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,为生药量;模型组给予等量的空白凝胶;雷尼替丁组给予雷尼替丁混悬液 $0.035 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,假手术组给予双蒸水。末次给药后禁食不禁水 12 h,用 10% 水合氯醛($3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉,将麻醉后的大鼠固定于鼠板上,沿腹正中线

开腹，切口长 5~7 cm，迅速取食管下段及胃体组织置组织匀浆器中匀浆，采用 ELISA 法检测食管组织匀浆中 IL-8 的含量，检测步骤严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.8 统计学处理方法 所有数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，运用 SPSS19.0 统计软件，采用单因素方差分析(one-way ANOVA)方法进行多组间比较，两两比较用 SNK 检验。

2 结果

2.1 奥瑞凝胶对小鼠耳肿胀的影响 与模型组比较，奥瑞凝胶高、中、低剂量组和阿司匹林组能明显抑制小鼠耳肿胀，差异有统计学意义($P < 0.05$)，见表 1。

表 1 各组对小鼠耳肿胀程度的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 / g·kg ⁻¹	肿胀度 /mg
模型组		3.24 ± 0.34
阿司匹林组	0.27	1.86 ± 0.84*
奥瑞凝胶高剂量组	26.8	1.81 ± 0.42*
奥瑞凝胶中剂量组	13.4	1.98 ± 0.85*
奥瑞凝胶低剂量组	6.7	2.34 ± 0.82*

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ 。

2.2 各组对大鼠白细胞游走的抑制作用 与模型组比较，奥瑞凝胶高、中、低剂量组和阿司匹林组均能抑制白细胞游走，差异有统计学意义($P < 0.05$)，见表 2。

表 2 各组对大鼠白细胞游走的抑制作用($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 / g·kg ⁻¹	白细胞数量($\times 10^6$)/mL ⁻¹
模型组		26.58 ± 1.87
阿司匹林组	0.21	16.97 ± 4.24*
奥瑞凝胶高剂量组	21.0	18.20 ± 3.43*
奥瑞凝胶中剂量组	10.5	19.35 ± 3.37*
奥瑞凝胶低剂量组	5.25	22.91 ± 3.05*

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ 。

2.3 奥瑞凝胶对大鼠肉芽组织质量的影响 与模型组比较，奥瑞凝胶高、中、低剂量组和阿司匹林组对大鼠肉芽组织形成均有一定的抑制作用，差异有统计学意义($P < 0.05$)，见表 3。

2.4 奥瑞凝胶对 RE 模型食管组织 IL-8 的影响 与假手术组比较，模型组食管组织中 IL-8 的含量明显上升，差异有统计学意义($P < 0.05$)；与模型组比较，奥瑞凝胶高、中、低剂量组和雷尼替丁组均能降低食管组织中 IL-8 的含量，差异有统计学意义($P < 0.05$)，

见表 4。

表 3 各组对大鼠肉芽组织质量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of Ori Gel on mass of granulation tissue of rats

组别	药物剂量 / g·kg ⁻¹	肉芽组织质量 /mg
模型组	-	0.512 8 ± 0.083 1
阿司匹林组	0.21	0.279 1 ± 0.072 9*
奥瑞凝胶高剂量组	21.0	0.313 8 ± 0.083 3*
奥瑞凝胶中剂量组	10.5	0.348 9 ± 0.077 8*
奥瑞凝胶低剂量组	5.25	0.383 4 ± 0.129 6*

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ 。

表 4 各组对食管组织匀浆中 IL-8 的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of Ori Gel on IL-8 in the esophageal tissue homogenate

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	IL-8/pg·mL ⁻¹
假手术组	-	11	36.43 ± 4.55*
模型组	-	9	47.61 ± 5.36
雷尼替丁组	0.035	11	35.51 ± 5.25*
奥瑞凝胶高剂量组	21.0	10	35.46 ± 6.69*
奥瑞凝胶中剂量组	10.5	10	36.82 ± 4.75*
奥瑞凝胶低剂量组	5.25	10	39.52 ± 3.66*

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ 。

3 讨论

反流性食管炎是一种胃食管反流病，由胃和十二指肠内容物反流至食管所引起的食管黏膜的炎症等病理变化，亦是一种炎症反应。炎症反应包括致炎因子引起的损伤、机体防御性反应和组织损伤恢复 3 个阶段^[7]。IL-8 是趋化因子(CXC)亚族成员，它能在炎症反应中趋化中性粒细胞、T 淋巴细胞、嗜碱性粒细胞至病灶部位，与多形核白细胞(PMN)表面特异性受体的结合可导致细胞外形改变，促进 PMN 脱颗粒，激活 PMN，并使其产生呼吸爆发、释放超氧化物和溶酶体酶，启动和促进炎症反应^[8]。Fitzgerald RC 等^[9]研究证实食管上皮细胞株能产生 IL-8，认为反流导致食管的酸环境时间延长，食管上皮细胞在酸反流环境的刺激下产生较多的 IL-8，通过和 IL-8 受体结合，趋化和激活中性粒细胞，促成局部的炎性反应。在 RE 患者食管黏膜中，炎症细胞因子(IL-8)mRNA 的表达明显升高。因此，降低食管组织中 IL-8 的含量是抑制食管组织炎症反应的重要机制。Isomoto H^[10]研究 RE 患者食管黏膜上 IL-8 蛋白的表达，结果提示 IL-8 连同其他细胞因子、生长因子共同参与 RE 患者食管黏膜的炎症，RE 患者食管黏膜中 IL-8 高表达，因此，IL-8 是 RE 一个敏感的炎症参数。Kandulski A 等^[11]证实 IL-8 与蛋白酶激活受体 2(PAR2)参与的

细胞内信号传导途径有关,参与免疫、炎症、应激反应等生理病理过程。RE 炎症介导发病机制的提出,为 RE 的黏膜愈合及症状消除带来了新的视角。从 IL-8 等炎症趋化因子及其调控机制入手,关注其与 PAR2 等受体的相互作用,可能是治疗 RE 的新方向。

奥瑞凝胶是由枳实、冬凌草、甘草等提取物组成的具有生物黏附作用的凝胶剂,其中冬凌草^[2]具有广谱性杀菌作用,对金黄色葡萄球菌、肺炎双球菌、乙型链球菌均有抑菌或杀菌作用;冬凌草甲素对大鼠棉球肉芽肿有抑制作用,对食管上皮增生有抑制作用,且对乙酰胆碱所引起的食管痉挛有解痉作用。甘草能提高吞噬细胞的吞噬功能,调节淋巴细胞数量和功能,抑制 IgE 抗体形成,具有抗炎、抗变态反应的作用^[3]。

本研究以小鼠耳肿胀和大鼠白细胞游走抑制实验为急性炎症指标,棉球肉芽组织形成为慢性炎症指标,观察奥瑞凝胶的抗炎作用,并观察其对 RE 模型大鼠食管组织中 IL-8 的影响。结果显示,奥瑞凝胶可明显抑制二甲苯所致的小鼠耳廓炎性肿胀程度及炎性灶内白细胞的聚集,对肉芽组织形成也有明显的抑制作用,同时,可明显降低食管黏膜组织中 IL-8 的含量,说明奥瑞凝胶具有明显的抗炎作用,其作用机制可能与降低食管组织中 IL-8 的含量有关。本实验结果为奥瑞凝胶临床用于防治 RE 提供了理论依据和治疗方向。

参考文献:

[1] 王小晓,魏明,段飞,等. 奥瑞凝胶抗反流性食管炎模型大鼠食管

黏膜损伤的实验研究[J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(1): 1-3.

[2] 王小晓,段飞,魏明. 奥瑞凝胶对反流性食管炎模型大鼠血清胃泌素及血浆胃动素分泌的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12): 142-143.

[3] 段飞,魏明,王小晓,等. 奥瑞凝胶对反流性食管炎模型大鼠 NOS 及 VIP 表达的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2013, 24(6): 544-547.

[4] 赵文,魏明. 奥瑞凝胶治疗反流性食管炎肝胃郁热证临床研究[J]. 新中医, 2012, 44(3): 25-27.

[5] 徐淑云. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 905-937.

[6] 于强,袁红霞,崔乃强. 酸性反流性食管炎大鼠模型的改良制备[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2002, 10(2): 74.

[7] 步宏. 病理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 53-62.

[8] 韩勇,赵振元,王云杰,等. 兔实验性食管炎模型的建立及评价[J]. 第四军医大学学报, 1999: 20(2): 152-154.

[9] Fitzgerald RC, Onwuegbusi BA, Bajaj-Elliott M. Diversity in the oesophageal phenotypic response to gastro-oesophageal reflux: immunological determinants[J]. Gut, 2002, 50: 451-459.

[10] Isomoto H. Enhanced expression of interleukin-8 and activation of nuclear factor kappa-B in endoscopy negative gastroesophageal reflux disease[J]. Am J Gastroenterol, 2004, 99(4): 589-597.

[11] Kandulski A, Wex T, Monkemuller K, et al. Proteinase-activated receptor-2 in the pathogenesis of gastroesophageal reflux disease[J]. Am J Gastroenterol, 2010, 105: 1934-1943.

[12] 李高申,张伟,彭涛,等. 冬凌草抗菌活性成分研究[J]. 世界科学技术中医药现代化, 2014, 3(16): 610-613.

[13] 张明发,沈雅琴. 甘草及其活性成分抗炎与抗炎机制的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2014, 4(26): 261-268.

(编辑: 梁进权)

编辑部迁址及更改联系方式的公告

尊敬的读者、作者及专家朋友们:

新年好!

自 2015 年 1 月 1 日起,《中药新药与临床药理》编辑部搬迁至广州大学城办公了。现已启用新的办公地址、电话、网址、微信平台、投稿及办公邮箱 (Email), 望新老朋友们广而告之, 欢迎赐稿, 并莅临我们的新址指导工作。

通讯地址: 广州市番禺区大学城外环东路 232 号广州中医药大学办公楼中药新药与临床药理编辑部。

邮政编码: 510006

电话: 020-39354992, 39354832, 39354232, 39354762 (传真)。

网址: <http://www.zyxy.com.cn>

Email: bjb@zyxy.com.cn 【办公】

tg@zyxy.com.cn 【投稿】

微信 (公众平台订阅号): 中药新药与临床药理

《中药新药与临床药理》编辑部

2015.元旦