

益胃汤对胃溃疡大鼠 EGFR 及 bFGF 的影响*

★ 谢斌^{1**} 郑林华² 楚瑞阁³ (1. 江西中医学院 南昌 330006; 2. 江西省医学考试中心 南昌 330046; 3. 江西省中医院 南昌 330006)

摘要:目的:观察疏肝健脾方益胃汤对胃溃疡大鼠表皮生长因子受体(EGFR)及碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的影响,探讨其可能的作用机制。方法:以乙酸烧灼法建立胃溃疡模型,观察用药后胃粘膜 EGFR 及 bFGF 蛋白的表达。结果:益胃汤能显著提高胃溃疡大鼠胃粘膜组织 EGFR 的表达及调节 bFGF 的表达。结论:益胃汤对胃溃疡有明显的保护作用,其机制可能通过调节生长因子 EGFR、bFGF 表达来加速溃疡粘膜再生和粘膜下组织结构重建。

关键词:益胃汤;胃溃疡愈合;EGFR;bFGF

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

The Effects of Yiwei decoction on EGFR and bFGF of gastrelcosis Rats

XIE Bin, ZHENG Lin-hua, CHU Rui-ge

1. Jiang xi University of Traditional Chinese Medicine, NanChang 330006
2. Medical science examination center of Jiang Xi province, NanChang 330046
3. traditional Chinese medical hospital of Jiang Xi province, NanChang 330006

Abstract: Objective: To research the effects of disperse the depressed liver-energy and invigorate the spleen YIWEI decoction on EGFR and bFGF of gastrelcosis Rats and approach its mechanism. Method: The method was used ethanoic acid corrode to establish the gastrelcosis model to observe the protein expression of EGFR and bFGF after medication. Result: YIWEI decoction could significantly elevate the protein expression of EGFR and bFGF on gastrelcosis mucosa of Rats. Conclusion: YIWEI decoction had evident protection on gastrelcosis. The mechanism might be concerned with regulating the protein expression of EGFR and bFGF to accelerating the reproduction of gastrelcosis mucosa and establishing the construction of submucous tissue.

Key words: YIWEI decoction; gastrelcosis henotic; EGFR; bFGF; mechanism

消化性溃疡(PU)是临床常见多发病,西药,尤其是质子泵抑制剂(PPI)广泛应用,其短期愈合已成为可能,但存在副作用较多、价格昂贵、停药后易复发等问题。江西省名中医张小萍教授重视情志致病因素,根据“诸郁气为先”,致虚、滞、瘀夹杂、生湿化热虚实错杂的病机,拟定疏肝健脾益胃汤并应用于临床并取得了较好的疗效。为探讨疏肝健脾法对消化性溃疡愈合的影响,本文采用乙酸烧灼法复制大鼠胃溃疡模型,观察益胃汤对胃溃疡大鼠表皮生

长因子(EGFR)及碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的影响,并探讨其作用机制。现报告如下:

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 清洁级 SD 大鼠 60 只,雌雄各半,体重(200±20)g,购自江西中医学院实验动物中心。许可证号:JXDW NO:2007-020。

1.1.2 药物 益胃汤(柴胡 10 g、党参 20 g、白术 15 g、砂仁 10 g、合欢皮 15 g、黄连 6 g、白及 20 g、甘

* 基金项目:江西省卫生厅中医科研计划(赣卫中字 2007A092)

** 作者简介:谢斌(1975~),男,江西上饶人,讲师,博士,主要研究方向:中西医结合基础研究。

草 6 g, 购自江西省中医院药房), 头煎加蒸馏水 400 ml, 二煎加蒸馏水 300 ml, 两煎混合, 隔水蒸至 93 ml, -20°C 保存备用。益胃汤大、中、小剂量分别是 22、11、5.5 g/kg; 雷尼替丁 0.025 g/kg。

1.1.3 主要试剂 雷尼替丁为石家庄中诺药业有限公司提供, 批号 06055003; EGFR、bFGF 免疫组化试剂盒购自福州迈新生物科技开发有限公司。

1.2 方法

1.2.1 分组及模型制备 大鼠 60 只随机分为 6 组, 每组 10 只动物, 分别为正常对照组、溃疡模型组、益胃汤高剂量组、益胃汤中剂量组、益胃汤低剂量组、雷尼替丁组。除正常组外, 各组动物均参照《中药药效质量学》中方法^[1]复制胃溃疡模型。胃溃疡模型成功后第二天, 各组动物开始灌胃, 治疗组按 22、11、5.5 g/kg 剂量^[2], 阳性药物雷尼替丁按 0.025 g/kg 灌胃^[2], 正常组、溃疡模型组以等体积生理盐水灌胃, 共 15 d。

1.2.2 标本采集及处理 末次给药 2 小时后, 3% 戊巴比妥 0.1 ml/100g 腹腔注射麻醉(术前禁食不禁水 24 小时), 剖腹, 结扎幽门、贲门, 向胃内注入 1% 甲醛溶液 8 ml, 摘出整个胃并置于 1% 甲醛溶液中固定 10 分钟。沿胃大弯剪开, 无菌生理盐水冲洗

后展平, 观察胃溃疡情况, 沿溃疡周围(无溃疡或溃疡已愈合则在相应部位)切下胃壁(留取距溃疡边缘 3 mm 的周围组织), 经溃疡中心最长轴的中点纵切将之一分为二, 投入 10% 的中性甲醛中固定 24 小时, 脱水, 常规石蜡包埋, 制备 5 μm 厚连续切片, 用于免疫组化染色。

1.2.3 免疫组化染色测定胃粘膜 EGFR 及 bFGF 蛋白表达 采用 SABC 法。

1.2.4 结果判定 阳性细胞核膜、胞浆着色均为棕黄色, 应用瑞医病理图文分析系统进行图像半定量分析, 由同一观察者每张切片随机选取 5 个高倍视野($\times 400$), 分别测定其平均分光密度值和阳性细胞所占面积百分比, 分别取其均值作为该片的代表值。(以 PBS 代替一抗作阴性对照, 已知的阳性片作阳性对照)。

1.3 统计学方法

所有资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组均数比较采用 ANOVA 检验 (SPSS 11.5 for windows 统计学软件包)。

2 结果

对胃溃疡大鼠 EGFR 及 bFGF 的影响(见表 1)。

表 1 对各组大鼠胃粘膜组织 EGFR 及 bFGF 蛋白表达影响($\bar{x} \pm s$)

组别	EGFR		bFGF	
	阳性细胞面积比(%)	平均光密度值	阳性细胞面积比(%)	平均光密度值
正常组	11.51 $\pm$ 3.71	0.71 $\pm$ 0.23	10.41 $\pm$ 2.21	0.49 $\pm$ 0.13
模型组	20.13 $\pm$ 4.37 *	1.43 $\pm$ 0.49 **	20.42 $\pm$ 2.73 *	1.17 $\pm$ 0.21 *
雷尼替丁组	22.58 $\pm$ 5.54 **	2.15 $\pm$ 0.58 **	16.38 $\pm$ 2.54 *	1.02 $\pm$ 0.17 *
低剂量组	27.33 $\pm$ 6.56 ** Δ	2.72 $\pm$ 0.75 ** Δ	15.12 $\pm$ 2.83 ** Δ	0.99 $\pm$ 0.16 ** Δ
中剂量组	28.91 $\pm$ 6.73 ** Δ	2.90 $\pm$ 0.81 ** Δ	12.34 $\pm$ 3.15 ** Δ	0.68 $\pm$ 0.19 ** Δ
高剂量组	29.56 $\pm$ 7.45 ** Δ	2.85 $\pm$ 0.65 ** Δ	11.09 $\pm$ 2.34 ** Δ	0.53 $\pm$ 0.14 ** Δ

注:与正常组比较, * $P < 0.01$;与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$;与雷尼替丁组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

结果表明:(1) 中药各组能显著增加 EGFR 阳性细胞数量, 提高胃溃疡粘膜 EGFR 阳性细胞面积所占比例, 与模型组和雷尼替丁组比较, 有显著性差异;(2) bFGF 在正常胃粘膜组织中呈极弱阳性表达, 模型组大鼠胃粘膜中 bFGF 阳性细胞的平均光密度和面积百分比均显著提高, 且于腺上皮、成纤维细胞、血管内皮细胞中均有表达。而中药各剂量组 bFGF 阳性表达在平均光密度和面积百分比上均有不同程度减少, 其中高剂量组 bFGF 表达水平接近正常。

3 讨论

消化性溃疡(PU)是一种临床常见的具有反复发作倾向的消化系统疾病, 多发生于胃、十二指肠, 属中医学“胃脘痛”等病证范畴。近年来, 随着 H_2

受体拮抗剂和质子泵抑制剂(PPI)广泛的应用, 消化性溃疡的近期愈合率得到了很大提高, 但临床应用中存在一些问题^[3], 如长期抑酸导致粘膜增殖旺盛, PPI 价格昂贵难于推广以及停药后易复发等均是目前较为棘手的问题。因此, 研制开发出能增强胃粘膜防御能力、提高溃疡愈合质量、减少复发且价格合理、副作用较低的药物, 成为现今消化性溃疡防治的新途径。

中医认为本病病因与感受外邪、饮食失常、情志不遂、素体脾胃虚弱四个方面有关, 然而气机郁滞是其共同特点, 食积、湿阻、瘀血、火郁等证都是在气机郁滞基础上进一步形成的, 故治宜开郁调达气机, 诸郁气为先, 选择柴胡开郁、升清阳之气为君; 气机郁滞耗伤正气, 脾胃生机乏源, 故以党参健运中气; 白

及,收敛止血、消肿生肌,黄连燥湿行气为佐;白及和
黄连为伍,二者都归胃经,相伍使用能很好地去除湿
热之邪,修复损伤的胃粘膜;另外再配上白术、砂仁
可燥湿健脾,合欢皮疏肝解郁;使以甘草,味甘性平,
气和性缓,可升可降,益气补中,缓急止痛,调和药
性,诸药合用共奏益脾胃和中,调畅气机,郁滞得解,
体现治“郁”先理气,气畅则诸症去的理念。上方处
处从郁着手,方简义明。

目前研究证实,消化性溃疡的愈合是一个非常
复杂的过程,包括细胞移行、分化、增殖和细胞外基
质形成及新生管生成以及疤痕组织收缩等过程^[4]。
需要多种组织、细胞的相互作用和细胞因子、生长因
子的共同参与^[5]。

EGF 是一种具有抑制胃酸分泌、促进上皮增
殖、组织修复和细胞保护作用的内源性物质,在保护
胃黏膜免受损伤因子破坏、维持胃肠粘膜完整性方
面起着非常重要的作用^[6],而其要发挥作用必须与
其受体 EGFR 结合,从而发挥其生理功能,促进组织
修复、溃疡愈合^[7]。bFGF 是一种广泛存在于人体
各种组织中的生物活性物质,能促进多种来自中胚
层和神经外胚层的细胞生长、增殖和分化^[8],对溃
疡愈合过程的影响主要是通过促进溃疡底部肉芽组
织中微血管的形成、促进感觉神经对新生血管的重
新支配及上皮再生来影响溃疡愈合质量^[9]。尤其
对醋酸诱导型胃溃疡,bFGF 虽对胃酸分泌和胃蛋白
酶的活性无明显影响,但可增加再生腺上皮宽度,提
高结缔组织毛细血管密度及胶原的含量,并可促进
溃疡边缘腺上皮的分化和成熟。

本实验正常胃粘膜中有少量 EGFR 表达,溃疡
时表达增加,而益胃汤可以增强它的上增性表达。
EGFR 是溃疡愈合质量的评价指标之一,由此,我们
认为益胃汤可能是通过增加 EGFR 的上增性表达而
促进粘膜上皮增殖,从而加速溃疡重新上皮化和增
加粘膜厚度,乃至促进溃疡愈合并提高溃疡的愈合
质量。此外,bFGF 少量存在于正常胃粘膜,胃溃疡
模型制备后,其表达明显高于正常,而由前期研究的
溃疡指数及病理形态可看出益胃汤各剂量均可促进
溃疡愈合,且随着剂量的加大,愈合速度也明显加

快,与此同时 bFGF 的蛋白表达是在逐渐减少趋势。
其中高剂量组愈合最佳,bFGF 的表达明显低于溃疡
模型组,但仍稍高于正常。这可能与溃疡愈合后期
组织结构仍需改造有关。因为高质量的溃疡愈合须
有良好的绒毛结构、完整的腺体和丰富的 Goblet 细
胞,即使溃疡面有肉眼愈合和上皮形成,但如缺乏腺
体结构和绒毛,则溃疡组织成熟度依然不佳^[10]。故
可推测,bFGF 在益胃汤促进溃疡愈合过程中起着重
要的调控作用。由此可见,益胃汤对胃溃疡有明显的
保护作用,其机制可能通过调节生长因子 EGFR、
bFGF 表达来加速溃疡粘膜再生和粘膜下组织结构
重建。

参考文献

- [1] 张秋菊,钱海波. 中药药效质量学[M]. 北京:中国中医药出版
社,2004:64.
- [2] 洪纛,张恩户. 药理实验教程[M]. 新世纪全国高等中医药院校
教材,中国中医药出版社,2005:23-34.
- [3] 万国兰. 消化性溃疡的药物治疗及进展[J]. 中国医药导报,
2007,4(27):5-6.
- [4] Tarnawski A, Szabo IL, Husain SS, et al. Regeneration of gastric mu-
cosa during ulcer healing is triggered by growth factors and signal
transduction pathways[J]. J Physiol Paris, 2001, 95(1-6):337-
344.
- [5] Kobayashi K, Kashima K, Higuchi K, et al. The mechanisms of gastro-
intestinal mucosal injury and repair[J]. Nippon Rinsho, 1998, 56
(9):215-222.
- [6] Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowski T, et al. Epidermal growth and
transforming growth factor - alpha: role in prottbn and healing of gas-
tric mucosal lesions[J]. Eur j Gastroenterol Hepatol, 1995, 7(10):
933-937.
- [7] 贺建华, 罗和生. 生长因子在消化性溃疡愈合中的作用[J]. 国外
医学·消化系疾病分册, 2003, 23(1):12-15.
- [8] McIntosh I, Bellus GA, Jab EW, et al. The pleiotropic effects of fibro-
blast growth factor receptor recetors in mammalian development[J].
Cell Struct Funct, 2000, 25(25):85-96.
- [9] Ernst H, Konturek PC, Hahn EG, et al. Effect of local injection with
basic fibroblast growth factor(bFGF) and neutralizing antibody to bF-
GF on gastric ulcer healing, gastric secretion, angiogenesis and gas-
tric bloOd now[J]. Physiol Pharmacol, 2001, 52(3):377-390.
- [10] 余善强, 周福生, 崔琦珍, 等. 溃疡愈合质量研究进展[J]. 华人
消化杂志, 1998, 6:1010-1011.

(收稿日期:2008-06-20)

专题征稿

《江西中医药》为中医药核心期刊,新设重点栏目《明医心鉴》,以介绍名老中医经验和中医临证心得为主,重点刊载中医关于疑难病的诊疗经验,要求观点、方法新,经验独到。涉及的病种主要有:小儿麻痹后遗症、红斑狼疮、类风湿性关节炎、慢性肾炎、哮喘、糖尿病、老年痴呆、高血压、中风、盆腔炎、萎缩性胃炎、癌症疼痛。欢迎广大中西医临床工作者不吝赐稿。