

证的研究

清热化湿方对脾胃湿热证患者胃黏膜
AQP3、AQP4 蛋白表达的影响陈更新¹ 劳绍贤² 胡 玲² 黄志新² 匡中生³刘泳冬⁴ 周 正² 黄列平² 罗 琦²

摘要 目的:探讨脾胃湿热证与胃黏膜水通道蛋白(AQP3)、AQP4 表达的关系及中药清热化湿方的作用机制。方法:选择慢性浅表性胃炎患者 68 例,其中脾胃湿热证 53 例(湿重于热 19 例,热重于湿 14 例,湿热并重 20 例),脾虚证 15 例;另选正常健康体检者 10 例为正常对照组。脾胃湿热证患者予中药清热化湿方,并采用免疫组化方法检测入选者胃黏膜 AQP3、AQP4 表达情况。结果:AQP3、AQP4 在脾胃湿热证组的表达明显强于正常对照组($P < 0.05$);脾虚证组与正常组比较差异无显著性($P > 0.05$);各亚型之间呈湿重于热 > 湿热并重 > 热重于湿的趋势,但差异无显著性($P > 0.05$)。治疗后,脾胃湿热证组 AQP3、AQP4 表达水平显著下降($P < 0.01$),与正常对照组及脾虚证组比较差异无显著性($P > 0.05$)。结论:AQP3、AQP4 的异常表达可能是脾胃湿热证的发生机制之一,中药清热化湿方可能通过影响 AQP3、AQP4 的表达而发挥治疗作用。

主题词 脾胃湿热/免疫学 胃黏膜/免疫学

Effects of Qingre Huashi Prescription on AQP3 and AQP4 Expressions in Gastric Mucosa of the Patient with Damp-heat in the Spleen and the Stomach

Chen Gengxin¹, Lao Shaoxian², Hu Ling², et al.

(1. Guangdong Provincial Hospital of TCM, Guangzhou 510120; 2. Institute of the Spleen and Stomach, Guangzhou University of TCM)

Objective: To explore the relation of the spleen and stomach damp-heat syndrome with AQP(aquaporin)3 and AQP4 expressions, and the mechanism of the action of Qingre Huashi Prescription. **Methods:** 68 cases of chronic superficial gastritis, including 53 cases of spleen and stomach damp-heat syndrome (19 cases with more heavy dampness, 14 cases with more heavy heat, 20 cases with equal dampness and heat), 15 cases with spleen deficiency syndrome, 10 cases with normal findings by gastroscopy used as normal group. The patients with spleen and stomach damp-heat syndrome were treated with Qingre Huashi Prescription, and AQP3 and AQP4 expressions were detected with immunohistochemical method. **Results:** AQP3 and AQP4 expressions in the spleen and stomach damp-heat group were significantly stronger than those in the normal group ($P < 0.05$). There was no significant difference between the spleen deficiency group and the normal group ($P > 0.05$); and there was no significant difference among the subgroups ($P > 0.05$). After treatment, the expressions of AQP3 and AQP4 in the spleen and stomach damp-heat syndrome group decreased significantly ($P < 0.01$), with no significant difference as compared with the normal group and the spleen deficiency group. **Conclusion:** Abnormal expression of AQP3 and AQP4 is possibly one of the mechanisms of spleen and stomach damp-heat syndrome generation, and Qingre Huashi Prescription exerts therapeutic effect possibly through influencing expression of AQP3 and AQP4.

Key Words Spleen and stomach damp-heat/immunology; Gastric mucosa/immunology

本研究以“脾失健运,水湿内停,湿聚化热,湿热内生”为理论切入点,从水通道蛋白(AQPs)途径探讨脾胃湿热证的生物学基础及发生机理,同时对清热化湿方的作用机制进行探讨。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30271572)

1 广东省中医院新药办,广州市大德路 111 号(510120)

2 广州中医药大学脾胃研究所

3 广州中医药大学第一附属医院病理科

4 中山大学第一附属医院病理实验中心

收稿日期:2004-09-13;修回日期:2004-12-27

1 临床资料

1.1 一般资料:选择 2003 年 3~12 月就诊于广州中医药大学第一附属医院消化内科门诊的慢性浅表性胃炎患者 68 例,中医辨证属于脾胃湿热证者 53 例(湿重于热 19 例,热重于湿 14 例,湿热并重 20 例),其中男 29 例,女 24 例,平均年龄(32.25 ± 10.12)岁,平均病程(2.62 ± 2.73)年;脾虚证 15 例,其中男 7 例,女 8 例,平均年龄(35.47 ± 12.93)岁,平均病程(2.39 ± 2.60)年;并选择健康体检者 10 例作为正常对照组,其中男 6 例,女 4 例,平均年龄(34.70 ± 10.90)岁。各组

一般情况经统计学检验差异无显著性($P>0.05$),具有可比性。

1.2 诊断标准:慢性浅表性胃炎诊断采用中华医学会消化病学分会 2000 年 5 月井冈山会议的标准^[1];脾胃湿热证和脾虚证诊断标准参照国家药品监督管理局制定的《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[2]。健康受试者的选择标准:(1)胃镜及病理检查胃黏膜基本正常;(2)中医四诊无异常;(3)无呼吸、消化、循环、泌尿、内分泌等疾病;(4)心、肝、肾、肺功能正常。

2 治疗及检测方法

2.1 治疗方法:53 例脾胃湿热证患者均采用清热化湿方(由白蔻仁、黄芩、滑石、厚朴、半夏、郁金等组成)治疗。每剂中药用冷水 300ml 浸泡 30 分钟,煎 25 分钟,取汁 100ml;再加水 200ml,煎 20 分钟,取汁 100ml,混合后口服,每次 100ml,每日 2 次,于两餐之间温服,每日 1 剂,连续治疗 4 周。治疗期间停用其他任何药物。脾虚证患者采用四君子汤辨证加减治疗,疗程 4 周。

2.2 取材及检测方法:各组受试对象均行 GIF-240XQ 电子胃镜检查(部分患者治疗后行胃镜复查)。以病理活检钳在距胃底与胃体分界线约 2cm 处的胃体上部大弯侧钳取胃黏膜组织 2 块,每块约 0.4cm×0.4cm 大小,放入 4%多聚甲醛中固定待测。采用 SABC 免疫组化方法检测 AQP3、AQP4 表达。

2.3 统计学方法:采用 SPSS 11.0 统计软件包进行分析。

3 结果

3.1 疗效判定标准:参照 2002 年国家药品监督管理局《中药新药治疗湿热蕴脾证的临床研究指导原则(试行)》^[2]制定。

3.2 脾胃湿热证各亚型疗效比较:表 1 示,对 53 例脾胃湿热证患者给予中药清热化湿方治疗后,取得较好的临床疗效,总有效率达 90.57%。经 *Ridit* 检验,清热化湿方对 3 种亚型的疗效差异无显著性($P>0.05$)。全部病例在治疗过程中均未见不良反应。

表 1 脾胃湿热证各亚型疗效比较[例(%)]

分型	例数	临床痊愈	显效	有效	无效	总有效
湿重于热	19	2(10.53)	8(42.11)	8(42.11)	1(5.26)	18(94.71)
热重于湿	14	2(14.29)	6(42.86)	4(28.57)	2(14.29)	12(85.71)
湿热并重	20	3(15)	9(45)	6(30)	2(10)	18(90)

3.3 治疗前后各组 AQP3、AQP4 表达情况比较:表 2 示,显微镜下观察,阳性染色呈棕黄色,AQP3、AQP4 均表达在黏膜固有层胃底腺的壁细胞和主细胞膜上,

尤以壁细胞为主,而颈黏液细胞均未见表达。其中,AQP3 主要分布在细胞膜的顶部,基侧面仅见少许阳性染色;AQP4 主要分布在细胞膜的基底部及侧面,细胞的顶部未见阳性表达。以阳染面积×阳染强度作为观察指标,比较不同组间 AQP3、AQP4 表达情况,可见治疗前 AQP3 在脾胃湿热证组的表达明显强于正常对照组和脾虚证组,且与正常组比较差异有显著性($P<0.05$);脾虚证组 AQP3 蛋白的表达也强于正常组,但差异无显著性($P>0.05$);AQP4 在脾胃湿热证组的表达也明显强于正常对照组和脾虚证组,且差异均有显著性($P<0.05$);脾虚证组 AQP4 的表达低于正常组,但差异无显著性($P>0.05$);AQP3、AQP4 的表达在脾胃湿热证组各亚型之间均呈湿重于热>湿重于热重于湿的趋势,但差异无显著性($P>0.05$)。对 53 例脾胃湿热证患者采用清热化湿方治疗后,其中 17 例(湿重于热 6 例,热重于湿 4 例,湿热并重 7 例)进行了胃镜复查,可见脾胃湿热证组治疗后 AQP3 的表达水平较治疗前下降,差异有显著性($P<0.05$),其中湿重于热、热重于湿和湿热并重 3 种亚型均较治疗前降低,但差异无显著性($P>0.05$)。脾胃湿热证组及其各亚型 AQP3 表达水平与正常对照组及脾虚证组之间差异均无显著性($P>0.05$)。AQP4 的表达水平也较治疗前降低,差异有显著性($P<0.01$),湿重于热、热重于湿和湿热并重 3 种亚型均较治疗前降低,其中湿重于热和湿热并重 2 种亚型与治疗前相比差异有显著性($P<0.05$),脾胃湿热证组及其各亚型 AQP4 的表达水平与正常对照组及脾虚证组之间差异均无显著性($P>0.05$)。

表 2 治疗前后各组 AQP3、AQP4 蛋白表达情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	例数	蛋白表达(阳染面积×阳染强度)(%)	
			AQP3	AQP4
脾胃湿热证组	治疗前	53	79.58±62.26▲	198.03±66.85-▲
	治疗后	17	53.97±33.37*	151.96±50.73**
	湿重于热	19	80.97±58.22	204.39±69.00△
	治疗后	6	53.52±28.29	147.40±55.35*
	热重于湿	14	78.23±72.73	187.70±76.55
	治疗后	4	52.70±29.33	151.40±56.49
湿热并重	治疗前	20	79.21±61.43	199.22±59.92
	治疗后	7	55.09±43.21	156.20±51.71*
脾虚证组		15	56.26±44.28	113.79±73.94
正常对照组		10	38.45±37.89	149.31±81.44

与本组治疗前比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与脾虚证组比较,△ $P<0.05$;与正常对照组比较,▲ $P<0.05$

4 讨论

AQP3 与 AQP 家族的其它成员不同,它不仅具有优越的转运水的能力,也能转运非离子的小分子物质,

如尿素和甘油等。AQP3 转运水的能力可被汞制剂抑制,被汞还原剂逆转。在动物实验中,Koyama 等^[3]研究发现,大鼠从食管到结肠均有 AQP3 表达,推测 AQP3 在胃肠道内水的摄取和排泄中起重要作用。在人体研究中,Silberstein 等^[4]发现在人的胃、空肠、回肠、结肠上均有 AQP3 的表达,其中在结肠的表达局限在绒毛上皮细胞,其染色更集中在细胞的顶质膜上,而不是基侧膜,这提示 AQP3 参与了人结肠表面上皮细胞水的吸收。AQP4 在已知 AQP 家族的汞敏感部位缺乏半胱氨酸,对水的通透性不能被汞抑制,故已称为汞不敏感水通道蛋白(MIWC)。Misaka 等^[5]首先在人体胃黏膜上发现有 AQP4 的表达,主要在黏膜层的胃底腺细胞中,包括分泌胃酸的壁细胞和分泌胃蛋白酶原的主细胞,其蛋白质主要表达在腺体的基膜上。提示 AQP4 可能是维持胃内分泌胃蛋白酶原和盐酸的渗透压调节的主要因素。通过免疫组化检测,我们发现 AQP3 表达在黏膜固有层胃底腺的壁细胞和主细胞膜上,尤以壁细胞为主,在颈黏液细胞未见表达;它主要分布在细胞膜的顶部,细胞的基侧面仅见少许阳性染色。目前,国内外关于 AQP3 在人体胃底腺细胞分布的报道尚少见,但已有关于结肠 AQP3 分布的报道^[4]表明,其表达局限在绒毛上皮细胞,染色更集中在细胞的顶质膜上。我们还发现 AQP4 表达在黏膜固有层胃底腺壁细胞和主细胞基侧膜上(以壁细胞为主),细胞的顶部未见阳性表达,颈黏液细胞也未见表达。这与 Misaka 等^[5]的研究结果一致。由此我们推测,由于 AQP3 位于膜的顶部,因此它可能参与了细胞的分泌过程,将水伴随着盐酸一起转运至细胞外;同时,由于细胞的分泌,导致细胞失水,体积变小,容积渗透压增加,AQP4 位于细胞膜的基侧面,介导水从组织间隙渗透到细胞内,以维持细胞的容积渗透压。AQP3 和

AQP4 相互协同,共同完成细胞的分泌过程。

慢性浅表性胃炎多属中医学“胃病”之证。脾胃湿热证是其常见证型。中药清热化湿方以气味芳香之白蔻仁芳化湿浊、行气消痞,黄芩苦寒清热燥湿、泻火解毒共为方中君药。滑石甘淡寒,既助蔻仁利水渗湿,又助黄芩清热泻火;厚朴燥湿行气、消积除痞;半夏燥湿消痞、降逆止呕共为方中臣药。因湿性黏滞,湿阻而气滞,治湿而不行气则湿不易化,故方中加用郁金行气解郁,以使气行则湿化而为方中佐药。诸药相合,升降有制,寒温并调,共收清热化湿、行气消痞之功。慢性浅表性胃炎脾胃湿热证患者采用清热化湿方治疗后,AQP3、AQP4 的表达水平均较治疗前显著下降,湿重于热、热重于湿和湿热并重 3 种亚型也较治疗前降低,与正常对照组及脾虚证组水平相当。同时,脾胃湿热证患者治疗后,胃黏膜充血水肿等炎症反应明显减轻,临床症状显著改善。因此,我们推测,中药清热化湿方可能通过影响 AQP3、AQP4 表达,导致细胞分泌和水的跨膜转运趋于正常,抑制了脾胃湿热证患者亢进的细胞能量代谢,减轻了胃黏膜的充血水肿等炎症反应,从而明显改善脾胃湿热证患者的临床症状。

参考文献

- 1 中华医学会消化病学分会.全国慢性胃炎研究讨论会共识意见.中华消化杂志,2000,20(3):199~201.
- 2 郑筱萸.中药新药临床研究指导原则(试行).北京:中国医药科技出版社,2002;361~364,371~373.
- 3 Koyama Y, Yamamoto T, Tan T, et al. Expression and localization of aquaporins in rat gastrointestinal tract. Am J Physiol, 1999, 276(3 Pt 1):C621~627.
- 4 Silberstein C, Kierbel A, Amodeo G, et al. Functional characterization and localization of AQP3 in the human colon. Braz J Med Biol Res, 1999, 32(10):1303~1313.
- 5 Misaka T, Abe K, Iwabuchi K, et al. A water channel closely related to rat brain aquaporin 1 is expressed in acid and pepsinogen-secreting cells of human stomach. FEBS Lett, 1996, 381(3):208~212.

北京现代医苑医学书店特惠邮购书目

以下图书五折优惠,汇款时请注明标记 J12

《续名医类案》收集《续名医类案》成书之后至建国初期已故的名医医案,并收录了部分《续名医类案》成书之前未收之医案。共收集医家专著 200 余部,选录医案约 15000 则。定价:580.00 元,优惠价:290.00 元

《中国医学名著珍品全书》(上中下),该书收集《素问》、《灵枢》、《难经》、金元四大家及明代医家的著作 11 种,制成医部。如明代还有胡正心编辑的《上竹斋回春珍本医书十三种》。清代王琦编辑的《医林指月》,收集明清医著 12 种;华岫云的《古今医学会通》,编集医著 10 种;程永培的《六经类医书十种》……。全书包含中医理论、中药、方剂、针灸及临床各个方面的代表著作。定价:750.00 元,优惠价:375.00 元

《中药新药临床研究指导原则》主编郑筱萸,本书依据国家药品监督管理局发布的有关药品注册规章及 GCP 等要求编纂而成,系统介绍了中药新药临床试验设计应遵循的科学原则及方法,并推荐某些当前使用的标准化规定的技术性参考用书。总论阐述了新药临

床试验设计方法的共性问题,各论共分 18 个系统 79 种病症介绍其临床研究的相关问题。本书具有权威性,是从中药新药研究开发的科研院所、医药企业及临床药理基地研究人员必备参考书。定价:150.00 元,优惠价:120.00 元

《疼痛性疾病中医现代治疗学》主编王永炎,本书总论简要介绍了痛证中医学学术发展史、痛证中医病机、辨证方法、治则治法、多种治疗手段、止痛方剂、止痛中药及国内外中医痛证研究状况,全面而系统;各论则详细介绍临床各科、人体各系统与疼痛相关疾病的中医和中西医结合治疗的新成果,内容包括病因病机、诊断要点、中医辨证论治研究、中西医结合治疗研究、方药剂型研究、中成药研究、名医特色研究、针灸、按摩及外治法研究、预防与调护研究等,对临床诊治各种痛证均有重要的参考价值。定价:200.00 元,优惠价:100.00 元

《STEDMAN 实用医学词典》第 3 版既保留了前者的权威性,又具有学科齐全、资料新颖、易于检索、图文并茂等特点。共收集 15 个学科、55 个专业领域的 4

万多个词条,补充了近年来涌现出的 1600 多个新名词,并附有 350 余幅插图,在美国和其他英语国家都成为畅销多时的医学工具书。定价:220.00 元,优惠价:154.00 元

《中国风湿病学》(上中下)主编姜玉铃,本书共 10 卷,历时数载,三易其稿,600 余万字。第 1 卷风湿病基础,第 2 卷风湿病药物,第 3 卷风湿病处方,第 4 卷风湿病治疗方法,第 5 卷中医风湿病诊疗学,第 6 卷中西医结合诊疗学,第 7 卷风湿病护理,第 8 卷风湿病康复医学,第 9 卷风湿病及其残疾预防,第 10 卷风湿病历代医家医案医论,试图进一步丰富具有中国特色的风湿病学学科体系框架。定价:346.00 元,优惠价:242.20 元

汇款地址:北京和平街北口北京中医药大学 37 信箱,邮编:100029,收款人:李明江,电话:010-83136318,831362486,6517368 邮购 50 元以下加收 5 元邮挂费。欢迎光临中国医学图书网: <http://www.chinamedbook.com>