

健胃愈疡颗粒保护消化性溃疡胃黏膜的机制探讨

黄国栋¹ 黄媛华² 黄道富² 李家邦¹ 肖美珍² 唐丽君³

(1. 中南大学湘雅医院中西医结合研究所, 湖南省长沙市湘雅路 87 号, 410008;

2. 湖南中医药大学附属衡阳医院; 3. 湖南省人民医院)

[摘要] **目的** 观察健胃愈疡颗粒对溃疡黏膜乳癌相关肽(PS₂)和解痉多肽(SP)表达的变化,并分析其可能的作用机制。**方法** 选取消化性溃疡(PU)患者 72 例,随机分为两组,其中健胃愈疡颗粒组(治疗组)和雷尼替丁组(对照组)各 36 例,另设正常组 12 例。胃黏膜组织用免疫组化检测 SP 的表达,Western 印迹检测 PS₂ 表达的变化,并同时检测氨基己糖及磷脂含量。**结果** 治疗组氨基己糖、磷脂含量和 PS₂、SP 的表达有直线相关关系($P < 0.01$)。**结论** 健胃愈疡颗粒通过提高 PS₂ 和 SP 的表达,通过影响胃黏膜疏水性,最终防止溃疡的产生和复发。

[关键词] 健胃愈疡颗粒;消化性溃疡;复发;胃黏膜疏水性

Study on the Mechanism of Jianwei Yuyang Granule in Protection of Gastric Mucosa against Peptic Ulcer

HUANG Guo-Dong¹, HUANG Yuan-Hua², HUANG Dao-Fu², et al.

(1. Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008; 2. Affiliated Hengyang Hospital of Hunan University of Chinese Medicine)

ABSTRACT **Objective** To observe the influence of Jianwei Yuyang Granule (Granule for strengthening the stomach to treat ulcer) on the expressions of the breast cancer-associated peptide (PS₂) and spasmolytic polypeptide (SP) of ulcerated gastric mucosa in order to analyze its potential mechanism. **Methods** The 72 patients of gastric ulcer (PU) were randomized into Jianwei Yuyang Granule group (treatment group) and Ranitidine group (control group) with 36 in each. The normal group was established with 12 people in it. The immunohistochemical determination of SP expression, the determination of PS₂ expression by Western blotting, and the determination of contents of aminohexose and phosphatide were carried out. **Results** In the treatment group, a linear correlation was existing between the contents of aminohexose and phosphatide and the expression of SP and PS₂ ($P < 0.01$).

Conclusion Jianwei Yuyang Granule prevents the occurrence and relapse of ulceration by increasing the expression of PS₂ and SP and by its influence on hydrophobicity of gastric mucosa.

Key Words Jianwei Yuyang Granule (Granule for strengthening the stomach to treat ulcer); Peptic ulcer (PU); Relapse; Hydrophobicity of gastric mucosa

消化性溃疡(PU)是消化系统常见病、多发病。随着溃疡病治疗药物的进展,PU 的近期愈合效果满意,但停药后 1 年复发率约 30%~50%。因此,抗复发仍是当今溃疡病研究的热点。有必要在进一步阐明 PU 复发机制的基础上,寻找更安全可靠抗 PU 复发的措施。本临床研究通过在健胃愈疡颗粒的干预下观察解痉多肽(SP)、乳癌相关肽(PS₂)的表达,以及其对 PU 胃黏膜氨基己糖及磷脂含量的表达的影响,进一步探讨健胃愈疡颗粒对消化性溃疡胃黏膜的保护及抗溃疡复发机制,为中医药治疗 PU 及抗复发提供依据。

1 临床资料

1.1 一般资料

将入选患者 72 例按其就诊的先后顺序和分配卡上的随机数,随机分为健胃愈疡组(治疗组)和雷尼替丁组(对照组)各 36 例。治疗组 36 例,其中男 20 例,女 16 例;年龄 18~65 岁,平均(45.83±16.72)岁; A₁ 期 21 例, A₂ 期 15 例;胃窦部溃疡 12 例,胃角部溃疡 9 例,

窦体交界溃疡 2 例,胃体部溃疡 4 例,胃底部溃疡 3 例;十二指肠溃疡 6 例;幽门螺杆菌(Hp)阳性者 25 例。对照组 36 例,其中男 21 例,女 15 例;年龄 18~64 岁,平均(44.75±14.62)岁; A₁ 期 20 例, A₂ 期 16 例;胃窦部溃疡 13 例,胃角部溃疡 8 例,窦体交界溃疡 3 例,胃体部溃疡 3 例,胃底部溃疡 4 例;十二指肠溃疡 5 例; Hp 阳性者 25 例。中医辨证为肝郁脾虚证。以上病例均来源于 2005 年 5 月~2006 年 2 月湖南中医药大学附属衡阳医院(38 例)和湖南省人民医院(34 例)门诊及住院患者,两组间年龄、性别、Hp 阳性差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

将因上腹不适到湖南中医药大学附属衡阳医院和湖南省人民医院门诊就诊,而胃镜及组织学检查正常,自愿参与研究的患者 12 例设为正常组。其中男 7 例,女 5 例;年龄 19~63 岁,平均(46.12±15.83)岁。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 (1) PU 诊断标准:参照《内科学》^[1]拟定。①长期反复发生的周期性、节律性的慢性上腹部疼痛,应用碱性药物可缓解;②上腹部有局限性

深在压痛;③X 线钡餐造影见溃疡龛影;④内窥镜检查可见到活动期溃疡。(2) PU 胃镜下表现分期:参照日本崎田隆夫的分期法^[1]。活动期(A 期):A₁ 期:溃疡的底部覆盖厚白苔,可污秽,苔在某些部位可以超出溃疡周边,苔上可有出血点或凝血块附着,周边黏膜隆起成堤状,充血、水肿、糜烂,呈明显炎症表现。A₂ 期:溃疡周边的炎症水肿明显减轻,白苔清洁,边界鲜明,边缘部分开始出现成红色的再生上皮,开始出现皱襞集中的表现。(3) Hp 诊断标准^[3]:Hp 阳性诊断标准为Hp 尿素酶试验和 Warthin-Starry 银染色均阳性。

1.2.2 中医肝郁脾虚证辨证标准 参照《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[2]拟定。主症:胃脘或胁肋胀痛,腹胀,食少纳呆,便溏不爽。次症:情绪抑郁或急躁易怒,暖气或泛酸,腹痛欲泻或泻后痛减,喜太息,肠鸣矢气,舌苔白或腻,脉弦或细。以上主症 3 项(胃脘或胁肋胀痛必备),或主症 2 项(胃脘或胁肋胀痛必备),次症 2 次,即可诊断。

1.3 纳入标准

凡符合西医 PU 疾病诊断标准及中医肝郁脾虚型诊断标准者;1 周内纤维内窥镜证实为溃疡活动期,溃疡直径 3~20mm 者;年龄 18~65 岁;受试者知情同意,自愿进行临床试验,并能坚持完成疗程者。

1.4 排除标准

内窥镜证实合并幽门梗阻、严重出血等并发症者;近 1 周内服用一切抗溃疡药(为缓解疼痛,临时服用者除外);在试验前 30 天内发生并发症而进行手术者;特殊原因的 GU 或十二指肠溃疡(DU),如胃泌素瘤、肝硬化等;过敏体质或对多种药物过敏者;孕妇、哺乳期妇女或在服药期中可能怀孕者;有其他并发症可影响疗效观察或对试验药物有禁忌的疾病;酗酒或有其他不宜作试验观察者;有心血管、肝、肾和造血系统等严重原发性疾病,精神病患者;未按规定用药,无法判断疗效或资料不全等影响疗效或安全性判断者。

2 方法

2.1 药品及试剂

健胃愈疡颗粒由湖南湘雅制药有限公司生产,组成:柴胡 10g,白芍 10g,延胡索 10g,青黛 6g,白及 10g,党参 12g,珍珠粉 10g。批号:20030405,规格:每袋 3g;雷尼替丁胶囊由杭州赛诺菲圣德拉堡民生制药有限公司生产,批号:20030759,规格:每粒 150mg。阿莫西林由山西三晋药业有限公司生产,批号:051101;甲硝唑由河南信心药业集团有限公司生产,批号:0402003。PS₂、SP 抗体购自美国 Santa Cruz 公司,Western blotting 及其相关试剂由晶美有限公司提供。

2.2 治疗方法

治疗组给予健胃愈疡颗粒,每次 9g 口服,每天 3 次,对照组给予雷尼替丁胶囊,每次 0.15g 口服,每天 2 次,两组均以 4 周为 1 个疗程。对照组中 Hp 阳性者加用阿莫西林胶囊,每次 0.5g,每天 4 次,甲硝唑片,每次 0.2g,每天 4 次,用药 7 天。维持治疗时对照组用雷尼替丁,治疗组用健胃愈疡颗粒,共维持治疗 8 周。

2.3 观察指标及方法

两组 PU 患者均胃镜下取溃疡边缘活检标本 1 块,采用 Neuhaus 法^[3]测定氨基己糖及磷脂含量。然后将标本剪为两部分,一部分做 Hp 试验;另一部分置液氮罐中,而后 -70℃ 保存以备做免疫组化检测 SP 的表达,Western blotting 检测 PS₂ 表达的变化。SP 及 PS₂ 检测方法见文献^[4]。另在取得患者知情同意后,胃镜下取 12 个无黏膜病变患者的胃黏膜标本 1~2 块作为空白对照组,即正常组。正常组不作治疗和复查,只取 1 次标本行上述检查。

PU 患者在 4 周后立即行胃镜检查,胃镜下观察溃疡及其愈合情况,统计溃疡近期愈合率(痊愈和显效者视为愈合,计为愈合率)、临床有效率、证候疗效分析、Hp 清除率。镜下取以上患者治疗前和治疗 4 周后的胃黏膜检测 SP 及 PS₂ 表达的变化。

2.4 疗效判定标准

胃镜疗效判定标准及肝郁脾虚证 PU 主症评级计分表:参照《中药新药临床研究指导原则》^[2]来评估^[4]。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 10.0 软件包对数据进行统计分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,治疗前后比较采用配对 *t* 检验,组间比较经方差齐性分析后采用成组设计的 *t* 检验,治愈率比较采用 χ^2 检验。相关分析采用 Bivariate Two-tailed 检验,求 Pearson 系数。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 两组 PU 患者胃镜疗效、中医证候疗效比较

胃镜疗效比较:治疗组 36 例,临床痊愈 15 例,显效 10 例,有效 10 例,无效 1 例;对照组 36 例,临床痊愈 17 例,显效 9 例,有效 9 例,无效 1 例,两组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。提示,治疗组和对照组治疗 PU 的临床有效率和胃镜下愈合率相当。

中医证候疗效比较:治疗组 36 例,临床痊愈 13 例,显效 11 例,有效 10 例,无效 2 例;对照组 36 例,临床痊愈 6 例,显效 8 例,有效 14 例,无效 8 例。两组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$)提示,治疗组优于对照组。

3.2 两组PU 患者氨基己糖及磷脂含量变化比较

附表表示,与正常组比较,治疗前对照组和治疗组氨基己糖、磷脂含量明显减少($P < 0.01$)。与治疗前比较,治疗组治疗后氨基己糖、磷脂含量比治疗前明显增加,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与治疗前比较,对照组治疗后氨基己糖、磷脂含量与治疗前比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后治疗组与对照组比较,氨基己糖、磷脂含量差异有统计学意义($P < 0.01$)。提示雷尼替丁对氨基己糖、磷脂含量影响不大,而健胃愈疡颗粒可以显著提高氨基己糖、磷脂含量,增强胃黏膜的疏水性,提示这可能是健胃愈疡颗粒抗胃溃疡及其复发的机理之一。

附表 3 组患者治疗前后胃黏膜氨基己糖、磷脂及PS₂ 光密度值检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	氨基己糖	磷脂	PS ₂ 光密度值
正常组	治疗前	12	12.3±1.6	6.7±0.6	37.5±2.4
	治疗后	12	—	—	—
对照组	治疗前	36	6.6±1.1	4.5±0.4	83.6±3.4
	治疗后	36	7.8±1.1	5.2±0.4	91.8±3.2
治疗组	治疗前	36	6.8±1.7	4.6±0.3	82.7±3.4
	治疗后	36	10.9±1.4*	6.5±0.6*△	145.6±4.2*△

与本组治疗前比较, * $P < 0.01$; 与对照组比较, △ $P < 0.01$

3.4 两组治疗前后Hp 清除率比较

共有 50 例Hp 阳性患者参与研究,其中治疗组 27 例,对照组 23 例。治疗组只给予健胃愈疡颗粒,对照组给予雷尼替丁的同时,加用阿莫西林和甲硝唑。4 周后,胃镜下取活检胃黏膜标本做Hp 尿素酶试验,治疗组Hp 清除率为88.9%,对照组Hp 清除率为91.3%,统计学分析发现,两组Hp 清除率相当,两者比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3.5 患者1 年复发率比较

治疗组 24 例,对照组 20 例共追踪观察1 年,3 个月时两组均无复发,6 个月时治疗组无一例复发,对照组 2 例复发,9 个月时,治疗组仍无一例复发,对照组 3 例复发,1 年时,治疗组有 1 例复发,对照组共有 6 例复发,治疗组复发率为4.1%,对照组为30.0%,治疗组复发率明显低于对照组($P < 0.01$),说明健胃愈疡颗粒有抗复发的作用。

3.6 PU 患者溃疡周边组织SP 表达的比较

治疗后,治疗组SP 因子表达进一步增强($P < 0.01$),SP 光密度值阳性率为80.6%,对照组治疗后SP 光密度值阳性率为36.1%,两组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。

3.7 检测各组PS₂ 表达的比较

运用Western 印迹方法检测PS₂ 的表达。转膜后,

用丽春红染色,没有目标蛋白质残留,其余蛋白质条带清晰,说明转膜成功。Western 印迹方法检测结果表明,健胃愈疡颗粒可提高PS₂ 表达水平,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),与治疗前比较差异也有统计学意义($P < 0.01$),结果见附表。

3.8 PS₂、SP 与胃黏膜疏水性相关性分析

经相关分析,PU 患者氨基己糖及磷脂含量与SP 和PS₂ 的Pearson 相关系数(分别 $\gamma = 0.903$, $\gamma = 0.838$, $\gamma = 0.834$, $\gamma = 0.914$, $P < 0.01$) 呈正相关关系,即可以认为PU 患者氨基己糖和磷脂含量与SP、PS₂ 之间均有直线相关关系。

4 讨论

关于溃疡病发病机理,目前被广泛接受的是攻击因子和防御机制平衡学说。疏水性具有重要的胃黏膜保护意义,正因为胃黏膜疏水性具有重要的胃黏膜保护意义,所以其与溃疡的产生和复发也有着十分重要的关系。胃黏膜的疏水性在溃疡的发生、发展和复发过程中都起着十分重要的作用。胃黏膜疏水性的物质基础是由黏液凝胶内脂类物质(主要为磷脂)和糖蛋白(主要为氨基己糖)组成^[5~8]。胃黏膜的疏水性强,则胃黏膜的防御能力较强,则溃疡容易愈合,不易复发,胃黏膜的疏水性差,则溃疡容易产生,难以治愈,即使短期治愈,也容易复发。

PU 属于中医“胃脘痛”、“胃痛”、“心痛”、“吞酸”、“嘈杂”范畴,其病在胃,与肝脾密切相关,饮食不节、劳倦、七情内伤、寒热不调等皆可致本病。脾胃虚弱是PU 发生与复发的病理基础,气滞、瘀血、郁热是溃疡发病与复发的重要因素。因此,疏肝健脾、理气活血、佐以清热当为本病治疗和预防复发的主导思想。健胃愈疡颗粒中柴胡疏肝理气,党参健脾益气,共为君药;延胡索行气活血止痛,白芍柔肝缓急止痛,共助君药疏肝理气为臣;青黛咸寒,长于清热解毒凉血,专清肠胃之邪热;珍珠“收内溃破烂”(《本草汇方》)而生肌;白及收敛生肌止血;甘草调和诸药,四味共为佐使药治疗兼症。诸药合用,共奏疏肝健脾、理气活血、清热生肌之功,能够改善溃疡愈合质量、提高胃黏膜防御功能以“扶正”;消除紧张情绪、抑制胃酸和蛋白酶的活性以“祛邪”,多靶点地有效发挥抗溃疡及其复发作用。

在该临床研究中,我们观察到治疗组治疗后SP、PS₂ 蛋白的表达较治疗前明显增强,其治疗后氨基己糖和磷脂含量也均高于治疗前,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。经相关分析,PU 患者胃黏膜氨基己糖、磷脂含量与SP、PS₂ 之间均有直线相关关系,说明健胃愈疡颗粒可通过提高SP、PS₂ 的表达,影响胃黏膜氨基己糖及磷脂含量,通过影响胃黏膜疏水

