

清热化湿益气活血方对小鼠幽门螺杆菌感染的清除作用及对胃黏膜炎症的影响

钱 华¹ 李春婷²

(1. 江苏大学附属医院中医内科, 江苏省镇江市解放路 438 号, 212001; 2. 南京中医药大学中医内科教研室)

[摘 要] **目的** 探讨清热化湿益气活血方对幽门螺杆菌(Hp)相关性胃病的作用机制。**方法** 70 只 C57BL/6 小鼠随机分为正常组、模型组、中药高剂量组、中药中剂量组、中药低剂量组、西药三联组、中西药联用组, 每组各 10 只, 采用氨苄青霉素联合 Hp 灌胃的方法制作 Hp 感染小鼠模型。造模后 4 周各组分别给予对应处理, 2 周后观察小鼠胃黏膜 Hp 定植情况、胃黏膜大体形态、病理改变。**结果** 中药高剂量组、中剂量组、中西药联用组对 Hp 有较好的清除作用($P < 0.05$), 与西药三联组比较疗效差异无统计学意义($P > 0.05$); 中药高剂量组、中剂量组、西药三联组、中西药联用组病理改善明显($P < 0.05$), 尤以高剂量组显著。**结论** 清热化湿益气活血方对小鼠 Hp 感染有较好的清除作用, 对胃黏膜炎症亦有明显改善作用。

[关键词] 清热化湿益气活血方; 幽门螺杆菌; 胃黏膜炎症

Clearing Effect of Qingre Huashi Yiqi Huoxue Formulae on H. pylori and Its Influence on Gastric Mucosa Inflammation

QIAN Hua¹, LI Chunting²

(1. Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001; 2. Nanjing University of Chinese Medicine)

ABSTRACT **Objective** To study the mechanism of Qingre Huashi Yiqi Huoxue Formulae (Formulae for clearing heat, dissolving damp, reinforcing qi and activating blood) for H. pylori associated gastric diseases. **Methods** The 70 C57BL/6 mice were randomly divided into 7 groups with 10 in each: normal group, model group, Chinese medicine high, medium and low dosage groups, western medicine group, and the combination of Chinese and western medicine group. Ampicillin combined with H. pylori gavage was adopted to produce H. pylori infected models. Four weeks later, all the groups were given correspondent treatment. The morphological and pathological changes of the gastric mucosa and the colonization of H. pylori in the gastric mucosa were observed after 2 weeks. **Results** The Chinese medicine high and medium dosage groups and the combination of Chinese and western medicine group had a better effect in clearing H. pylori ($P < 0.05$), compared with the western medicine group, there was no significant difference in result ($P > 0.05$). The Chinese medicine high and medium dosage groups, western medicine group, and the combination of Chinese and western medicine group had a significant morphological changes ($P < 0.05$), the improvement in the Chinese medicine high dosage group was especially obvious. **Conclusion** Qingre Huashi Yiqi Huoxue Formulae are effective in clearing H. pylori and can relieve inflammation of gastric mucosa significantly.

Key Words Qingre Huashi Yiqi Huoxue Formulae (Formulae for clearing heat, dissolving damp, reinforcing qi and activating blood); H. pylori; Inflammation of gastric mucosa

幽门螺杆菌(Hp)感染与慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤及胃癌等的发生密切相关, 是目前唯一被世界卫生组织列为致癌因子的原核生物性病原微生物。我们在临床上运用清热化湿益气活血方治疗Hp相关性胃病取得了较好的临床疗效, 为了进一步探求其作用机制, 我们建立了Hp感染的小鼠动物模型, 从清除Hp和保护胃黏膜的角度, 以进一步探讨该方的主要作用机理。

1 材料

1.1 动物与分组

健康清洁级 C57BL/6 小鼠 70 只, 雌雄各半, 6~7 周龄, 体重 30~40 g, 由扬州大学比较医学中心提供, 生

产许可证: SCXK(苏) 2007-0001。小鼠先按体重分层, 然后按随机数字分组的方法, 分为正常组、模型组、中药高剂量组、中药中剂量组、中药低剂量组、西药三联组、中西药联用组, 每组 10 只, 雌雄各半。实验场所为南京中医药大学动物实验中心。小鼠雌雄分笼饲养, 每笼 5 只, 每天自由饮水及进食颗粒饲料。

1.2 药品及试剂

清热化湿益气活血方由党参、黄芩、藿香、丹参、蒲公英、薏苡仁、仙鹤草等组成(各药物剂量按 1:1:1:1:1.5:1.5:1.5 配制), 购自南京中医药大学百草堂中医门诊部药房。按照人鼠临床用药换算的等效剂量为中剂量, 低剂量、高剂量分别为中剂量的 1/2、2 倍。中药煎剂由南京中医药大学动物实验中心制备, 水煎后浓缩配制成低剂量 0.39 g/ml、中剂量 0.78 g/ml、

高剂量 1.56g/ml 3 种浓度。奥美拉唑片(常州四药制药有限公司生产,批号:070417):20mg/片,用蒸馏水配成浓度为 0.37mg/ml 的混悬液备用。克拉霉素片(扬子江药业集团有限公司生产,批号:07032801):250mg/片,用蒸馏水配成浓度为 0.17mg/ml 的混悬液备用。甲硝唑片(湖北华中药业有限公司生产,批号:20070514):200mg/片,用蒸馏水配成浓度为 7.33mg/ml 的混悬液备用。胃幽门螺杆菌 pH 指示剂法诊断试剂盒(福建三强生物化工有限公司生产,批号:20071001)。

2 方法

2.1 Hp 菌株及培养

采用 I 型 Hp 菌株,该菌株含有空泡细胞毒素(VacA)和细胞毒素相关蛋白(CagA),由江苏省中医院检验科提供。培养基为含有马血清 60ml/L、盐酸万古霉素 10ml/L、两性霉素 B 10ml/L、多黏菌素 B 0.5ml/L、甲氧苄氨嘧啶 0.5ml/L 的固体培养基。37℃、微需氧(5%O₂, 10%CO₂, 85%N₂)条件下培养 72h,应用无菌生理盐水收集细菌,比浊法调整浓度为 1×10⁹ cuf/ml 的悬液备用。Hp 的鉴定包括菌落形态、尿素酶试验、涂片观察等。

2.2 动物造模

参考文献[1]的造模方法,小鼠适应性饲养 4 天,除正常组外,其他各组每只小鼠均按 0.73g/kg 配制氨苄青霉素 0.5ml 灌服(其目的在于破坏小鼠胃内的微生态环境,有利于 Hp 的定植),每天 1 次,连续 4 天。第 5 天起,先禁食 24h,每只小鼠再予新鲜 Hp 悬液灌胃,每次 0.5ml,隔天 1 次,连续 8 次。

2.3 给药方法

造模后 4 周开始灌胃给药。模型组给予无菌生理盐水 0.5ml。中药高、中、低剂量组每只分别给予高、中、低剂量中药煎剂 0.5ml。西药三联组给予奥美拉唑 0.25ml+克拉霉素 0.15ml+甲硝唑 0.1ml。中西药联用组,给予中药中剂量煎剂 0.15ml+奥美拉唑 0.2ml+克拉霉素 0.1ml+甲硝唑 0.05ml。以上各组均每日灌胃 1 次,连续给药 2 周。正常组:正常饲养,不灌胃。

2.4 观察指标及方法

治疗结束后,将实验小鼠用颈椎脱臼法处死,剖腹取出胃组织,沿胃大弯纵行剖开,用灭菌生理盐水洗去胃内容物,肉眼观察胃黏膜大体形态改变,取胃窦部小弯侧组织 1 块行快速尿素酶试验。然后将标本置于 10% 甲醛溶液中固定,石蜡包埋,常规 HE 染色,光镜下观察组织病理学变化,碱性复红染色后观察 Hp 定植情况。

①快速尿素酶试验按试剂盒操作说明进行。②胃黏膜组织 Hp 定植情况,根据 Hp 的多少,分为 4 级。(一):未见细菌,计 0 分;(+):细菌较少,稀疏散在,分布于组织全长 1/3 以下,计 1 分;(++):细菌较多,比较密集,分布于组织全长 1/3~2/3 范围,计 2 分;(+++):细菌很多,密集成堆,分布于组织全长 2/3 以上,计 3 分。③胃黏膜的大体形态观察方法:取材后直接用肉眼观察,观察分级标准参照全国慢性胃炎研讨会制定的慢性胃炎的内镜诊断标准^[2],分为 4 级。0 级:正常(可有组织学改变),计 0 分;Ⅰ级:分散或间断线状红斑,单发糜烂,局部黏膜内出血,计 1 分;Ⅱ级:密集斑点或连续线状,局部糜烂,多部位黏膜内出血,计 2 分;Ⅲ级:广泛融合红斑,多发广泛糜烂,弥漫黏膜内出血,计 3 分。④组织病理学变化:胃黏膜组织病理学判定标准参照新悉尼系统及 2006 年《中国慢性胃炎共识意见》^[3]制定。轻度:慢性炎症细胞较少并局限于黏膜浅层,不超过黏膜层的 1/3,偶见中性粒细胞,计 1 分;中度:慢性炎症细胞较密集,不超过黏膜层 2/3,中性粒细胞较多存在于黏膜层,可见于表面上皮细胞、小凹上皮细胞或腺管上皮内,计 2 分;重度:慢性炎症细胞密集,占据黏膜全层,中性粒细胞较密集,或除中度所见外还可见小凹脓肿,计 3 分。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 11.5 统计分析软件,均数的比较用 *F* 检验,各组间差异用两组比较 *q* 检验。*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组快速尿素酶试验阳性率比较

正常组阳性动物 0 只,模型组阳性动物 10 只,阳性率为 100%,提示造模成功。中药高剂量组阳性动物 3 只,阳性率为 30%;中药中剂量组阳性动物 4 只,阳性率为 40%;中药低剂量组阳性动物 7 只,阳性率为 70%;西药三联组阳性动物 2 只,阳性率为 20%;中西药联用组阳性动物 1 只,阳性率为 10%。中药高剂量组、中药中剂量组、西药三联组、中西药联用组与模型组比较,阳性率均有统计学意义(*P* < 0.05);而中药低剂量组与模型组差异无统计学意义(*P* > 0.05);中药高剂量组、中药中剂量组、中西药联用组与西药三联组比较无统计学差异(*P* > 0.05)。

3.2 各组小鼠胃黏膜组织 Hp 定植积分、大体形态积分和病理积分比较

附表示,中药高剂量组、中药中剂量组、西药三联组、中西药联用组与模型组比较,在 Hp 定植积分、大体形态积分和病理积分方面均有统计学差异(*P* <

0.05),而中药低剂量组只在大体形态积分与模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$);与正常组比较,在病理积分方面除中药高剂量组外,其余各组均与其有统计学差异($P<0.05$);中西药联用组在大体形态积分方面与西药三联组比较有统计学差异($P<0.05$);中药不同剂量组随剂量的增高而有改善,但差异无统计学意义($P>0.05$)。

附表 各组小鼠胃黏膜Hp 定植积分、大体形态积分和病理积分比较(分, $\bar{x} \pm s$)				
组别	鼠数	Hp 定植积分	大体形态积分	病理积分
正常组	10	0	0	0
模型组	10	2.38±0.52△	2.10±0.57△	2.63±0.52△
中药高剂量组	10	0.50±0.76*	1.20±0.63*	0.38±0.52*
中药中剂量组	10	0.88±0.64*	1.40±0.52*	1.25±0.71*
中药低剂量组	10	2.25±0.46	1.50±0.53*	2.50±0.54△
西药三联组	10	0.75±0.71*	1.60±0.70*	0.63±0.74△*
中西药联用组	10	0.63±0.74*	0.80±0.42*▲	0.63±0.74△*

注:与模型组比较,* $P<0.05$;与正常组比较,△ $P<0.05$;与西药三联组比较,▲ $P<0.05$

3.3 胃黏膜组织病理观察

镜下可见正常组小鼠胃腺体排列整齐,无炎性细胞浸润,无组织损伤;模型组胃腺体排列不整齐,见大量炎性细胞浸润,部分组织损伤;中药高剂量组胃腺体排列整齐,见极少量炎性细胞浸润;中药中剂量组胃腺体排列比较整齐,见少量炎性细胞浸润;中药低剂量组胃腺体排列不整齐,见大量炎性细胞浸润和血管充血;西药三联组胃腺体排列整齐,极少炎性细胞浸润,无组织损伤;中西药联用组胃腺体排列整齐,无炎性细胞浸润,无组织损伤。

4 讨论

我们在长期的临床实践中发现,Hp 相关性胃病的主要病机可概括为:脾胃气虚为其本,湿热内蕴为其标,瘀血为其病理产物。针对其基本病机特点,我们采用清热化湿益气活血方治疗该类疾病取得了满意的疗效。该方中党参补中益气健脾,黄芩清热泻火、燥湿解毒,二药一补一清,共为君药。薏苡仁健脾清热利湿,藿香祛湿和中辟秽,蒲公英清热解毒,三药助君药共奏健脾益胃、清热祛湿之效,为臣药。再佐以丹参、仙鹤草以活血清热。本方清、补、消三法合用,标本兼治,既能济本,又能攻邪,补泻相参,气血同调,健运相济,则生化无穷。现代药理研究显示,党参皂苷对肠道具有调节作用,主要表现为增强免疫作用^[4]。黄芩具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等,对免疫、消化等系统均有保护作用^[5]。藿香有良好的抗菌作用^[6],对胃排空及肠推进均有促进作用^[7]。薏苡仁有增加肠道有益菌数量和清除有害菌

的作用^[8]。仙鹤草具有消除黏膜水肿、促进溃疡愈合、解除平滑肌痉挛、镇痛及调节体液免疫的作用^[9]。

本研究结果表明,清热化湿益气活血方对Hp 有较好的清除作用,其作用与剂量呈正相关,与西药三联用药无明显差异($P>0.05$);对Hp 感染小鼠胃黏膜具有较好的保护作用,能够显著改善其病理变化。本实验还设立了中西药联用组,结果显示,无论在改善胃黏膜炎症、修复胃黏膜,还是在清除Hp 方面,都明显优于其他各治疗组,证明了中西医结合治疗Hp 相关性胃病的显著疗效,提示中西医结合疗法是治疗该类疾病的有效手段,对临床具有一定的指导意义。

参考文献

[1]刘翔,卢放根.SPF 级BALB/c 小鼠感染幽门螺杆菌的造模方法研究[J].临床和实验医学杂志,2007,6(7):3-5.
[2]张谢田.慢性胃炎的分类及内镜诊断标准[J].中国消化内镜,2007,1(4):15-19.
[3]中华医学会消化病学分会.中国慢性胃炎共识意见[J].中华消化杂志,2007,27(1):45-50.
[4]陈克克,王喆之.党参多糖的研究进展[J].现代生物医学进展,2007,7(4):635-637.
[5]刘雄,高建德.黄芩研究进展[J].甘肃中医学院学报,2007,24(2):46-51.
[6]张广文,蓝文键,苏镜媛,等.广藿香精油化学成分分析与其抗菌活性(Ⅱ)[J].中草药,2002,33(3):210-212.
[7]朱金照,冷恩仁,桂先勇,等.白术、藿香等中药对胃排空肠推进影响的实验研究[J].中国中医基础医学杂志,2000,6(1):21-23.
[8]Chiang W,Cheng CY,Chiang MT,et al.Effects of dehulled adlay on the culture count of some microbiota and their metabolism in the gastrointestinal tract of rats[J].J Agric Food Chem,2000,48(3):829-832.
[9]冯怀新,陆德海,段景文,等.中药气流弥散结肠给药治疗溃疡性结肠炎60 例[J].陕西中医,2000,21(1):1-2.
(收稿日期:2008-04-02;修回日期:2008-08-11)

[编辑:邓媛]

石家庄炎黄针灸推拿专修学校招生

我校师资力量雄厚,办学独具特色,招生如下。1. 中医针灸师培训班:学期4 个月,全日制,每年3 月1 日、7 月1 日、11 月1 日开学。课本用大专院校统一教材的针灸学、推拿学、中医基础、中医诊断、解剖学。针法有腹针、眼针、火针、舌三针、锋针、梅花针、头针。学会为止。2. 高级针灸师进修班:学期15 天,每月10 日开学。讲授腹针、火针、舌三针、锋针、头皮针治疗高血压、半身不遂、针灸减肥、肠炎、胃炎、结肠炎、头痛等疾病的方法。3. 按摩师资格等级培训班:学期1~2 个月,全日制。每月1 日开学,中级班学费400 元、高级班学费600 元,考试合格颁发国家等级资格证书及河北省卫生厅中医按摩师上岗证书。4. 反射疗法师培训班:讲授腹部诊断及肠炎、胃炎、更年期综合征、背部、足部反射区的诊断和治疗,考试合格颁发国家职业资格证书。全国通用。5. 手诊手疗班、小儿推拿班。
地址:河北省石家庄市桥西区广平街 号,电话:(0311)88872897,83819019,网址:www.YHzhenniu.com。