

益气清热方对Ⅰ型幽门螺杆菌感染裸鼠胃黏膜组织病理学的影响

陆为民 沈洪 吴静 杨学文 朱莹莹 李克涓 朱长乐 单兆伟

(江苏省中医院消化科、检验科、药理研究室、病理科, 江苏省南京市汉中路 155 号, 210029)

[摘要] **目的** 观察益气清热方对Ⅰ型幽门螺杆菌(Hp)感染裸鼠胃黏膜组织病理学的影响。**方法** 将80只雄性裸鼠随机分为模型组、黄芩组、黄芪组、益气清热方组各20只,每日按分组要求以0.2ml/10g给生理盐水及药物灌胃,第14天各组予浓度 10^8 cfu/ml的Hp菌液灌胃,每鼠1.3ml,两周后处死,观察裸鼠体重、胃系数、Hp感染及胃黏膜组织病变情况。**结果** 与模型组比较,黄芪组和益气清热方组裸鼠体重下降减少($P<0.05$),黄芪组的胃系数降低($P<0.01$)。黄芩组、黄芪组及益气清热方组Hp感染率分别为45.00%、47.06%和35.29%,胃黏膜浅表性胃炎发生率分别为70.00%、58.82%和64.70%,均低于模型组($P<0.05$)。**结论** 益气清热方在裸鼠体内对Ⅰ型Hp有一定的抑杀作用,并可减轻其感染后胃黏膜组织病变的程度。

[关键词] 益气清热方;Ⅰ型幽门螺杆菌;裸鼠;胃黏膜;组织病理学

Effect of Yiqi Qingre Formula on Histopathological Changes of Gastric Mucosa in Nude Mice Infected with Helicobacter Pylori Type I

LU Weimin, SHEN Hong, WU Jing, et al.

(Jiangsu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of Yiqi Qingre Formula (Formula for Reinforcing Qi and Clearing Heat) on histopathological changes of gastric mucosa in nude mice infected with helicobacter pylori (Hp) type I. **Methods** Totally 80 male nude mice were randomly divided into 4 groups: model group, Huangqin (*Scutellaria*) group, Huangqi (*Astragalus*) group and Yiqi Qingre Formula group, with 20 nude mice in each group. Each nude mouse was treated accordingly with gastric feeding with 0.2ml/10g Chinese medicine or normal saline everyday. On the fourteenth day, all mice were given 10^8 cfu/ml Hp liquid through gastric feeding, 1.3ml for each mouse. At the end of the second week, The rats were killed for observing the body weight, stomach coefficient, Hp infection and pathological condition of gastric mucosa. **Results** Comparing with the model group, Huangqi group and Yiqi Qingre Formula group were less reduction of body weight ($P<0.05$), gastric coefficient in Huangqi group diminished ($P<0.01$). Hp infection rates of Huangqin group, Huangqi group and Yiqi Qingre Formula group was 45.00%, 47.06% and 35.29% respectively, incidence rates of superficial gastritis being 70.00%, 58.82% and 64.7% respectively, lower than that of the model group ($P<0.05$). **Conclusion** Yiqi Qingre Formula has the function of killing Hp type I and can improve the pathological changes of gastritis in gastric mucosa.

Key Words Yiqi Qingre Formula (Formula for Reinforcing Qi and Clearing Heat); Helicobacter pylori (Hp) type I; Nude mice; Gastric mucosa; Histopathology

幽门螺杆菌(Hp)相关性胃炎的大量出现,无疑会增加慢性萎缩性胃炎(CAG)肠上皮化生及异型增生的发生率^[1],但不同菌株的Hp感染可导致不同的结局。目前,根据是否具有cagA基因,将Hp分为高毒力株(Ⅰ型)和低毒力株(Ⅱ型)两型。研究表明,Ⅰ型Hp感染导致的炎症更为明显,与CAG、胃癌等的关系更为密切^[2-4]。本研究观察了益气清热方对Ⅰ型Hp感染裸鼠胃黏膜组织病理学的影响,以探讨中医扶正祛邪法治疗Hp感染的机理。

1 材料

1.1 实验动物

SPF级裸鼠80只,雄性,体重(20 ± 2)g,购自中国

科学院上海实验动物中心,合格证号:中科(沪)动管第99004号。实验鼠饲料与垫料均为SPF级,购自江苏省协同医药生物工程责任有限公司,许可证号:苏A饲生字2002(009)。

1.2 实验药物

黄芪、黄芩、益气清热方(组成:黄芪15g,炒白术10g,黄芩10g,仙鹤草30g,丹参10g,降香3g,神曲12g)颗粒均购自江阴天江药业有限公司(批号:040125)。成人用量按生药量算为120g/kg,小鼠用量按10倍计算,则为20g/kg,配制成含生药1g/ml的浓度。

1.3 Hp菌株

标准的Ⅰ型Hp菌株ATCC49503,为本院检验科杨学文主任保存的国际标准株。

表1 各组Hp感染裸鼠不同时间体重变化比较(g, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	给药前	第1周	第2周	第3周	第4周
模型组	20	19.34 $\pm$ 0.95	21.42 $\pm$ 1.71	23.22 $\pm$ 1.43	23.66 $\pm$ 1.14	21.55 $\pm$ 2.26
黄芪组	20	18.00 $\pm$ 4.56	21.61 $\pm$ 1.17	23.21 $\pm$ 1.16	24.01 $\pm$ 0.86	23.53 $\pm$ 0.61*
黄芩组	17	19.23 $\pm$ 1.12	21.89 $\pm$ 1.71	23.29 $\pm$ 1.93	23.65 $\pm$ 1.44	22.17 $\pm$ 2.30
益气清热方组	17	19.20 $\pm$ 1.38	21.09 $\pm$ 1.44	23.14 $\pm$ 1.82	23.84 $\pm$ 1.77	23.45 $\pm$ 1.57*

注:与模型组同时间比较, * $P<0.05$

2 方法

2.1 Hp培养

将Hp菌株接种于含7%马血清的琼脂培养板上,置于37℃微需氧环境中(5%O₂、10%CO₂、85%N₂)培养,48h收集细菌,最后用生理盐水制成10⁸cfu/ml的细菌悬液,备用。

2.2 动物分组与造模

参考郭刚等的方法^[5],采用随机数字表法将80只裸鼠分为模型组、黄芩组、黄芪组、益气清热方组,每组20只,模型组每日给生理盐水灌胃,其余各组灌胃给药,灌胃容量均为0.2ml/10g。实验第14天,各组裸鼠给予浓度为10⁸cfu/ml的Hp菌液灌胃,每鼠1.3ml,灌胃前禁食禁水24h。两周后禁食,次日处死。无菌取出胃,立即称重,根据体重计算胃系数^[6](胃重/体重×100%)。

2.3 病理检查

将胃置于10%中性甲醛液中,固定24h后,常规取材,脱水,石蜡包埋,4μm切两片,分别行0.25%碱性品红染色和HE染色,观察胃黏膜组织Hp感染情况及病理学改变,分级标准参照2000年全国慢性胃炎研讨会共识意见^[7]。

2.4 统计学方法

采用SPSS13.0统计软件,计量资料的组间比较用单因素方差分析,计数资料的组间比较用 χ^2 检验。

3 结果

3.1 黄芪、黄芩、益气清热方对Hp感染裸鼠体重的影响

实验过程中,黄芩组和益气清热方组裸鼠各死亡3只。表1示,黄芪组和益气清热方组在第4周时可明显控制I型Hp感染后裸鼠体重的下降,与模型组比较具有统计学意义($P<0.05$)。

3.2 黄芪、黄芩、益气清热方对Hp感染裸鼠胃系数的影响

表2示,黄芪组可使Hp感染裸鼠的胃系数明显降低,与模型组比较有统计学意义($P<0.01$)。

3.3 黄芪、黄芩、益气清热方对裸鼠胃黏膜Hp感染率的影响

表3示,模型组Hp阳性率为70%,黄芩组、黄芪组

及益气清热方组Hp阳性率分别为45.00%、47.06%和35.29%,均低于模型组($P<0.05$)。

表2 第4周时各组Hp感染裸鼠胃系数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	胃系数
模型组	20	0.0952 $\pm$ 0.0133
黄芩组	20	0.0990 $\pm$ 0.0093
黄芪组	17	0.0788 $\pm$ 0.0068*
益气清热方组	17	0.0913 $\pm$ 0.0095

注:与模型组比较, * $P<0.01$

表3 各组裸鼠胃黏膜Hp感染率比较

组别	标本数	Hp(只)			Hp阳性率(%)
		-	+	++	
模型组	20	6	13	1	70.00
黄芩组	20	11	9	0	45.00
黄芪组	17	9	8	0	47.06
益气清热方组	17	11	6	0	35.29

3.4 黄芪、黄芩、益气清热方对Hp感染裸鼠胃黏膜组织病理学改变的影响

表4示,各组裸鼠胃组织以浅表性炎为主,其中模型组浅表性炎19只占95%,黄芩组、黄芪组和益气清热方组浅表性炎分别为14只占70%、10只占58.82%和12只占64.7%,明显低于模型组($P<0.05$)。本研究未见萎缩性胃炎,可能与感染的时间较短有关。

表4 各组裸鼠胃黏膜组织浅表性炎发生率比较[只(%)]

组别	标本数	浅表性炎		
		-	+	++
模型组	20	1(5.00)	9(45.00)	10(50.00)
黄芩组	20	6(30.00)	13(65.00)	1(5.00)
黄芪组	17	7(41.18)	10(58.82)	0
益气清热方组	17	5(35.29)	10(58.82)	2(5.88)

4 讨论

我国属Hp高感染国家,Hp菌株间毒力的不同及胃黏膜防御功能的强弱可能是Hp感染者是否发病或发生何种疾病的重要原因。Hp属中医“邪气”范畴,且多具“毒”的性质。我们多年的研究认为脾胃气虚、胃中热郁是Hp感染的病理基础,益气清热是Hp感染的治疗大法,通过扶正祛邪可达到治疗Hp感染的目的^[8,9]。

10余年来,诸多学者采用单味中药或复方进行了

体外抗Hp的试验,结果显示对Hp均有较好的抑杀作用^[10-12],但其局限性是明显的。首先,体外的抑菌试验和胃内的环境有着很大的区别,其体外作用的有效成分要在体内发挥作用,必须在胃的酸性环境下稳定不被破坏或很少被破坏,且能透过胃黏液屏障在胃黏液下和胃黏膜上皮表面达到有效的抑杀浓度;其次,体外抑菌试验忽视了中药经肠胃吸收后对机体的整体调节功能,从而间接达到的抗Hp作用。而临床单纯应用抗Hp作用强的清热解毒中药,并无很好的疗效,反有苦寒败胃之弊。因此,体外抑菌试验无法从本质上解释中药抗Hp真正的机制,借助动物模型进行体内抗Hp的研究是今后发展的方向^[13]。

研究表明,益气清热方和黄芪可预防Ⅰ型Hp感染后裸鼠的体重下降,黄芪可明显使Ⅰ型Hp感染裸鼠的胃系数降低,益气清热方、黄芪及黄芩均能降低Hp感染的阳性率及浅表性胃炎的患病率,提示益气清热方和黄芪有明显的扶正作用,益气清热方在裸鼠体内对Ⅰ型Hp有一定的抑杀作用,并可削弱Ⅰ型Hp感染后的致病性,减轻胃黏膜的炎性渗出,降低其对胃黏膜上皮细胞的损伤作用。诚然,Hp的致病性毋庸置疑,WHO将其列为一类致癌因素,但仍未解决Hp反复感染及耐药问题,我们拟从细胞、分子水平深入开展中医药干预Hp毒力对胃黏膜上皮细胞转变的研究,这有助于进一步阐明中医药治疗Hp感染的机制。

参考文献

[1]Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process — First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention

[J]. Cancer Res, 1992, 52(24): 6735—6740.
[2]Han FC, Yan XJ, Su CZ. Expression of the CagA gene of H. pylori and application of its product [J]. World J Gastroenterol, 2000, 6(1): 122—124.
[3]Lupetti P, Heuser JE, Manetti R, et al. Oligomeric and subunit structure of the Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin [J]. J Cell Biol, 1996, 133(4): 801—807.
[4]Peek RM Jr, Moss SF, Tham KT, et al. Helicobacter pylori cagA⁺ strains and dissociation of gastric epithelial cell proliferation from apoptosis [J]. J Natl Cancer Inst, 1997, 89(12): 863—868.
[5]郭刚, 邹全明, 鲁东水, 等. CagA⁺幽门螺杆菌裸鼠感染模型的建立 [J]. 中国人兽共患病杂志, 1999, 15(4): 6—8.
[6]王北婴, 李仪奎. 中药新药研制开发技术与方法 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 799.
[7]中华医学会消化病学分会. 全国慢性胃炎研讨会共识意见 [J]. 中华消化杂志, 2000, 20(3): 199—201.
[8]沈洪, 单兆伟. 幽门螺杆菌感染相关胃病证治规律的探讨 [J]. 中国中西医结合脾胃杂志, 1994, 2(4): 6—8.
[9]汪悦, 单兆伟. 益气清热活血法治疗幽门螺杆菌相关性胃炎 53 例临床观察 [J]. 中医杂志, 2002, 43(2): 114—116.
[10]王礼文, 李克涓, 王小明, 等. 132 味中药和 10 种复方对幽门螺杆菌抑菌效果观察 [J]. 中华实用中西医杂志, 2000, 13(5): 788—789.
[11]陈芝芸, 项柏康, 朱林喜, 等. 100 味中药对幽门螺杆菌抑菌作用的实验研究 [J]. 时珍国药研究, 1996, 7(1): 25—26.
[12]徐艺, 叶柏, 单兆伟, 等. 中草药单味与复方对幽门螺杆菌抑菌作用研究 [J]. 中国中西医结合脾胃杂志, 2000, 8(5): 292—293.
[13]戴高中. 对中医药治疗幽门螺杆菌感染相关性胃肠病的思考 [J]. 中医杂志, 2005, 46(5): 323—325.

(收稿日期: 2008—05—27; 修回日期: 2008—08—11)
[编辑: 邓 媛]

· 图书征订 ·

●《中医内科常见病诊疗指南》由中华中医药学会组织编写完成。王永炎院士率 200 余位中医专家学者历经 3 年付出了不懈努力, 标志着中医标准化建设工作又迈出了坚实的一步。该书是一部指导中医内科各级医师诊断治疗行为的医疗文件。《中医内科常见病诊疗指南》“中医病证部分”, 采用中医病名, 保持中医特色, 选择相对优势病证, 共 46 种, 其中包括呼吸病 7 种、外感热病 6 种、心病病 6 种、脾胃病 8 种、肝胆病 4 种、肾与膀胱病 4 种、气血津液病 5 种、肢体经络病 6 种。全书注重突出中医内科的学科优势, 注重坚持中医辨证论治的特色, 病证结合, 方证相应; 注重吸收新的学术成果, 具有较强的时代特征, 是一部简明实用, 操作性强, 具有较强的科学性、实用性和先进性的行业标准。每册: 37.00 元。

●《国家职业保健技能社区实用全书》是介绍按摩疗法、足部按摩疗法、保健刮痧疗法、营养与饮食疗法、心理咨询疗法、养老护理方法以及康复理疗和体育锻炼运动等方法的概念范畴、作用原理、基本手法、操作程序、适应范围和禁忌症, 使这些与中医疗法相关的劳动技能, 更加标准化和规范化。书中还针对常见的动脉硬化、高血压病、糖尿病、中风后遗症、慢性支气管炎、肿瘤恢复期等 10 种病症以及头痛、颈痛、腰腿痛、失眠、痛经等 15 种亚健康人群证候, 从病因病机、临床表现以及综合的保健康复方法等方面, 进行了详细的论述和说明, 对每一种病症提供了多种治疗方案, 容易操作和掌握。本书内容丰富, 图文并茂, 通俗易懂, 体现了简单方便, 价廉效验, 操作性强的优点, 为基层医务人员必备医书。邮购价: 67 元。

●《冠心病中西医诊疗学》系统地论述了冠心病的中西医基础理论, 重点阐述了冠心病心绞痛、心肌梗塞、心律失常、心力衰竭及猝死的中西医结合治疗与进展; 对目前临床能够开展的各种检查及对冠心病的现代治疗手段与进展、冠心病临床用

药等作了详细的论述。每册 66.00 元。

●《医学纲目》包括阴阳脏腑、运气占候、各科病证诊治、针灸及调摄等。其特点是每论一证, 先引历代有关论述, 治法区分为正门与支门, 取各家之长, 体现同病异治的原则。每册 98.50 元。

●《中医临床外科学》为国内第一部独具特色的外科诊疗专著。荟萃了不同学术体系名老外科专家的临床经验。全书 100 余万字, 详述了 254 个外科疾病的诊治, 西医、中医、中西医结合内容依次分述, 三方通融, 相互结合, 重在临床、突出实用。每册 85.00 元。

●《千金方衍义》《千金要方》是唐代名医孙思邈的一部医学巨著, 由于其博大精深, 绵历 1300 余年, 对其注释阐发无一人敢于问津。清代名医张璐凭借 60 多年的临床体会, 探源索研数十年, 撰成《千金方衍义》一书, 为历史上唯一的一部《千金要方》注释之书。每册 70.00 元。

●《中医痛证诊疗大全》内容丰富系统, 重在实用, 突出新意和特色, 阐述以疼痛为主的 128 种疾病的中医、针灸、外治等疗法, 书中不少病证不仅系首次从中医角度系统整理, 而且着重反映新成果、新疗法、新动向。每册 86.25 元。

●《白话本草纲目拾遗》为《本草纲目拾遗》的白话本, 语言简炼, 通俗实用。《本草纲目拾遗》为清代赵学敏撰, 刊行于 1765 年, 收录《本草纲目》中未载或已载而需补充的药物, 共 18 类 900 多种。其中新增 700 多种, 100 多种为《本草纲目》已收药物的补订内容。赵学敏广泛参考了多种文献资料, 结合个人采集、种植、见闻和临床经验分别予以介绍。并对《本草纲目》中的一些错误作了订正。还收集较多的民间验方、治法和当时传入的西药药资料。每册 9.00 元。

以上书价均含邮资, 汇款地址: 北京东直门内南小街 16 号 中医杂志医海林书店收, 邮编: 100700, 电话: 010—64035632。