

基于气机升降理论观察旋复代赭汤及其拆方对 RE 模型大鼠 AMPK 的影响

田晶晶¹, 杨幼新², 袁红霞², 马艳², 许云姣²

1. 天津市南开医院消化内科, 天津 300100; 2. 天津中医药大学, 天津 300193

[摘要] 目的: 观察旋复代赭汤及其拆方对反流性食管炎(RE)模型大鼠腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)含量的影响。方法: 将84只雄性Wistar大鼠, 随机分成7组, 即正常对照组、模型对照组、旋复代赭汤全方组及拆方各组(包括苦降组、甘升组、升降相因组)、西药组(兰索拉唑+莫沙必利), 每组12只大鼠。对造模大鼠采用“4.2 mm 幽门夹+胃底2/3结扎术”制备反流性食管炎动物模型。从造模术后7天开始, 正常对照组、模型对照组给予生理盐水灌胃, 旋复代赭汤全方组及拆方各组分别给予相应药液, 西药组给予(兰索拉唑+莫沙必利)灌胃, 干预14天后, 处死全部大鼠后, 其中每组分别送2份大鼠食管组织制作线粒体超微结构切片, 应用电镜观察食管下段黏膜组织线粒体超微结构变化, 其余食管组织匀浆后应用ELISA测定AMPK含量的表达情况。结果: 食管组织线粒体超微结构: 模型对照组大鼠电镜下食管黏膜线粒体稀少, 形态、大小不一, 内膜、外膜及嵴断续模糊, 部分线粒体呈肿胀、空泡化, 偶见巨线粒体; 旋复代赭汤全方组、西药组较模型对照组改善($P < 0.05$), 甘升组、升降相因组较模型对照组也明显改善($P < 0.05$); 各组AMPK含量: 旋复代赭汤全方组、西药组较模型对照组降低($P < 0.05$); 甘升组、升降相因组较模型组也降低($P < 0.05$)。结论: 旋复代赭汤及其药物通过调节脾胃气机, 降低食管组织AMPK含量, 促进线粒体能量三磷酸腺苷(ATP)的生成代谢, 增加线粒体数量, 减少线粒体结构及食管黏膜损伤, 调节线粒体能量代谢, 治疗RE。

[关键词] 反流性食管炎(RE); 旋复代赭汤; 拆方; 气机升降; 能量代谢; 腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)

[中图分类号] R574.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415(2016)03-0230-05

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.03.090

Observation of Xuanfu Daizhe Tang and Its Separated Prescription on AMPK of RE Model Rat on the Basis of Qi Ascending and Descending Movement Theory

TIAN Jingjing, YANG Youxin, YUAN Hongxia, MA Yan, XU Yunjiao

Abstract: Objective: To observe the effect of Xuanfu Daizhe tang and its separated prescription on amount of adenosine monophosphate activated protein kinase(AMPK) of reflux esophagitis(RE) model rat. Method: Eighty-four male Wistar rat were divided into 7 groups randomly, that were normal control group, model control group, Xuanfu Daizhe tang group and its separated prescription groups (including bitter descending group, sweet ascending group, interdependence group between ascending and descending), western medicine group (lansoprazole+mosapride), 12 rats in each group. Prepared RE animal model by 4.2mm pylorus clamp+ 2/3 of fundus ligation for model group rats. Seven days after model building, the rats in the normal control group and the model control group were gavaged with normal saline, the rats in Xuanfu Daizhe tang group and its separated prescription groups were respectively given corresponding drug, the rats in western medicine group were gavaged with lansoprazole+mosapride. All rats were killed after 14 days of intervention, extracted 2 pieces of rats' esophageal tissue for making mitochondria ultrastructure sections from every group, and observed mitochondria ultrastructure changes of mucous tissue on lower esophagus by electron microscope, tested AMPK amount expression by ELISA after esophageal tissue homogenate. Result: The esophageal tissue mitochondria ultrastructure: the esophageal mucosa mitochondria of rats in model control group was rare and different in form and size, intima, adventitia and ridge were intermittent and vague, part of mitochondria swelled and vacuolation, giant mitochondria were observed occasionally. Compared with the model group, Xuanfu Daizhe tang group and western medicine group were improved($P < 0.05$), sweet ascending group and interdependence

[收稿日期] 2015-12-25

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173243)

[作者简介] 田晶晶(1981-), 女, 医学硕士, 主治医师, 研究方向: 中西医结合治疗消化疾病。

[通讯作者] 杨幼新, E-mail: youxin_yang@hotmail.com。

group between ascending and descending were also improved obviously($P<0.05$). The amount of AMPK in Xuanfu Daizhe tang group, western medicine group were decreased obviously($P<0.05$ compared with the model group), sweet ascending group, interdependence group between ascending and descending were also decreased ($P<0.05$). Conclusion: By adjusting Qi movement of spleen and stomach, Xuanfu Daizhe tang and its drugs can reduce the AMPK amount of esophageal tissue, promote metabolism of ATP of mitochondria energy, reduce damages of mitochondria structure and esophageal mucosa, adjust energy metabolism of mitochondria, and treat RE.

Keywords: Reflux esophagitis; Xuanfu Daizhe tang; Qi ascending and descending movement; Energy metabolism; Adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK)

反流性食管炎(RE)是消化系统常见病、多发病,症状复杂,病程较长,具有反复发作、迁延不愈的特点,有向 Barrett 食管及食管腺癌发展的趋势,成为目前亟待解决的消化系统慢性疾病之一。RE的发病机制目前尚不完全清楚,现代医学仍以对症治疗为主^[1],主要药物包括质子泵抑制剂(PPI)、胃黏膜保护剂等,可以暂时改善反流症状,但症状容易复发,且具有一定的副作用,不能从根本上改善患者的生活质量。笔者以中医气机升降理论为基础,探讨旋复代赭汤对 RE 大鼠线粒体能量代谢的影响。并根据中药“升降浮沉”理论结合药物功效,将旋复代赭汤进行拆方分组,通过将旋复代赭汤全方及各拆方组分别作用于 RE 模型大鼠,从线粒体能量代谢角度研究该方治疗 RE 的作用机制,阐释脾胃气机升降与线粒体能量代谢之间的关系,从线粒体能量代谢角度揭示了旋复代赭汤治疗 RE 的作用机制及途径,结果报道如下。

1 材料

1.1 实验动物 健康清洁级 12 周龄雄性 Wistar 大鼠 84 只,体重(200 ± 20)g,由军事医学科学院放射医学研究所提供,动物合格证号:MA-2014-111。饲养于天津市中西医结合南开医院急腹症研究所动物实验室,本实验室已获得天津市实验动物管理委员会颁发的资格认证,具有 级动物饲养条件的合格证。购入大鼠后,分笼架式饲养于钢丝网盖塑料笼内,每笼 5 只,饲养室给予紫外线照射消毒,饲养笼予过氧乙酸消毒,室内保持恒温(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度为 50%~60%,每天自由饮水及进食标准颗粒食物,黑暗光照交替 12 h,环境控制在规定范围内。

1.2 实验药物及其制备 实验所需中药使用天津红日康仁堂药品销售有限公司提供的中药颗粒剂,中药颗粒剂在中药材的选取、颗粒剂的生产 and 检验中均根据《中国药典》的相关要求采取了相关的质控措施,以保证药物的质量稳定性。①旋复代赭汤全方:根据旋复代赭汤原方在《伤寒论》中的剂量换算,全方药物组成和剂量为旋复花、炙甘草、大枣各 15 g,代赭石 5 g,人参、清半夏各 10 g,生姜 25 g。药物选用中药颗粒剂,将按照规定剂量的中药颗粒剂倒入容器内,加热水(水温为 $80\sim 100^{\circ}\text{C}$)约 300 mL,充分搅拌。根据人与动物体表面积换算浓缩为 1 mL 药液/100 g 体重的浓缩液后给予全方组动物

灌胃。②拆方各组:苦降组由旋复花 15 g,代赭石 5 g 组成;甘升组由人参 10 g,炙甘草、大枣各 15 g 组成;升降相因组由清半夏 10 g,生姜 25 g 组成。制备及换算方法同上。③西药组(兰索拉唑+莫沙必利混悬液)制备。快力——枸橼酸莫沙必利片(购自鲁南贝特制药有限公司),兰悉多——兰索拉唑肠溶片(汕头市经济特区鮑滨制药厂),用研钵捣碎,后研为极细粉末后,配制成浓度为 0.15 mg/mL 的兰索拉唑+莫沙必利混悬液后装瓶,按照药品说明书用量,根据人与大鼠体表面积换算配成 1 mL 药液/100 g 体重的浓缩混悬液,置 4°C 冰箱备用。

1.3 主要实验试剂 500 mL 注射用生理盐水(扬子江药业集团有限公司),95%酒精(北京化工厂),0.5%碘伏(扬子江药业集团有限公司),10%水合氯醛(天津市化工二厂),注射用左氧氟沙星(扬子江药业集团有限公司),10%甲醛溶液(天津市化工二厂),苏木精、伊红染色液(天津市化工二厂);考马斯亮兰蛋白测定试剂盒(南京建成生物工程研究所);腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)测定试剂盒(上海酶联生物研究所)。

1.4 主要实验仪器 常规手术器械(大鼠手术板、刮毛刀片、剪皮手术剪、小号手术剪、中号牙镊、平镊、大鼠腹部特制手术巾、动脉夹、6/0 带针缝合线、眼科持针器、3/0 缝线、1 mL 及 5 mL 注射器等)(以上所用手术医疗器械为上海医疗器械厂产品)、宽度为 3.0 mm 的双扁铁心包扎线(夹心金属直径 0.3 mm)、直径为 4.2 mm 圆柱形钢条(上海利康高科技消毒有限公司)。NOVEL 光学显微镜,型号:XS2-106B(N)。莱卡(LEICA)超薄切片机,型号:EMUC6。日立透射电子显微镜,型号:H7650,由中国科学院天津工业生物技术研究所提供。

2 方法

2.1 动物分组 将 84 只健康雄性 Wistar 大鼠,在同样环境下给予基础饲料常规适应性喂养 7 天后随机分为 7 组,即正常对照组、模型对照组、旋复代赭汤全方组及拆方各组(包括苦降组、甘升组、升降相因组)、西药组(兰索拉唑+莫沙必利),每组 12 只大鼠。除正常对照组外,其余各组(统称造模组)大鼠造模应用邹方明^[2]“4.2 cm 幽门夹+胃底 2/3 结扎术”的方法进行造模。

2.2 药物干预 ①正常对照组:12 只大鼠与造模组同时开始

用生理盐水按照 100 g 体重 1 mL 的比例灌胃, 每天 2 次, 与治疗组(旋复代赭汤全方组、苦降组、甘升组、升降相因组、西药组)同日处死。②模型对照组: 12 只大鼠按上述造模方法造模, 于造模术后 7 天开始用生理盐水按照 100 g 体重 1 mL 的比例灌胃, 每天 2 次, 与治疗组同日处死。③治疗组: 每组 12 只大鼠。于造模术后 7 天开始, 用相应药液按照 100 g 体重 1 mL 的比例灌胃, 每天 2 次, 经治 14 天后, 造模后第 22 天处死各组动物进行指标检测。

2.3 处死及取材 以上各组动物处死前, 均禁食 24 h, 不禁水, 之后用 10% 水合氯醛(0.3 mL/100 g)腹腔注射麻醉, 常规开腹后迅速取出食管组织, 每组取 2 份食管组织放于 3% 的戊二醛固定液, 存于 4℃ 的冰箱中备用以制备线粒体超微结构切片, 其余食管组织称重后用生理盐水制备 10% 食管匀浆, 4℃, 3500r/min, 离心 15 min, 取上清待测。

2.4 检测方法 ①食管黏膜超微结构的观察: 取食管下端约 0.5 cm×2 cm 组织, 迅速放入 3% 的戊二醛固定液中, 防止组织自溶; 梯度酒精逐级脱水 12 h, 石蜡包埋, 运用莱卡(LEICA)超薄切片超薄片, 切片厚度约为 50~60 nm, 日立(H-7650)透射电子显微镜下进行观察食管黏膜细胞间隙和细胞间桥粒、半桥粒等紧密连接及细胞内部结构改变。②食管组织 AMPK 含量的检测: 应用 ELISA 双抗体夹心法测定标本中大鼠腺苷活化蛋白激酶(AMPK)水平, 测定过程均严格要求按照提供试剂盒说明书进行操作。

3 统计学方法

使用 SPSS for Windows 13.0 统计软件对数据进行统计学分析, 实验数据为计量资料者, 以($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析(One-way anova), 实验数据为计数资料, 采用行×列 χ^2 检验。

4 结果

4.1 各组大鼠死亡原因分析 见表 1。正常对照组大鼠在实验过程中无死亡, 造模组 72 只大鼠共死亡 12 只, 死亡率约为 16.67%。其中 5 只死于幽门梗阻, 1 只死于肠梗阻, 4 只死于腹腔感染, 2 只死于肺部感染。剩余大鼠各组为模型对照组 9 只、旋复代赭汤全方组 11 只, 拆方各组(包括苦降组 9 只、甘升组 10 只、升降相因组 10 只)、西药组 11 只。各组大鼠具体死亡情况, 统计学结果显示: 模型对照组、苦降组大鼠死亡率最高, 甘升组、升降相因组次之, 西药组、旋复代赭汤全方组最低; 其中旋复代赭汤全方组、西药组与模型对照组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 甘升组、升降相因组大鼠死亡率相同, 与其他各组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 苦降组大鼠死亡率与模型对照组相同, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

4.2 旋复代赭汤及其拆方对 RE 模型大鼠食管黏膜线粒体超微结构的影响 透射电子显微镜下观察发现, 食管黏膜线粒体超微结构病变最常见的是线粒体数量和结构的改变。线粒体数

量的改变包括线粒体的增多和减少; 线粒体结构的变化包括线粒体的外形和内部结构的改变, 外形的改变有线粒体的肿胀变性、浓缩变性和巨线粒体形成, 内部结构的变化包括嵴被破坏、线粒体崩解时产生的无定形电子致密物等等。①正常对照组在透射电子显微镜下显示食管黏膜线粒体呈椭圆形或杆状, 结构清晰, 细胞线粒体丰富, 形态大小正常, 线粒体内膜向内折叠而成嵴, 内膜及外膜清晰、结构良好, 嵴排列整齐, 线粒体基质致密, 未见肿胀、空泡、浓缩和巨线粒体。②模型对照组线粒体稀少, 形态异常, 大小不均匀, 内膜及外膜断续模糊、增厚, 嵴不规则, 多数线粒体嵴排列紊乱, 甚至部分线粒体膜和嵴完全崩解、断裂、溶解, 大部分线粒体基质浅淡, 多数线粒体肿胀、呈空泡化, 偶尔可见巨线粒体。③旋复代赭汤全方组线粒体丰富, 形态正常, 大小均匀, 膜和嵴比较清晰, 嵴排列整齐, 线粒体基质致密, 未见线粒体空泡、浓缩等明显损伤。④西药组线粒体较丰富, 形态大小尚均匀, 包膜和嵴仍清晰可见, 线粒体基质致密, 未见肿胀、空泡化和巨线粒体。⑤甘升组线粒体数量相对较少, 形态大小不太均匀, 线粒体包膜尚清晰, 部分嵴断续模糊, 线粒体基质尚致密, 未见肿胀、空泡化和巨线粒体。⑥升降相因组线粒体数量中等, 形态大小尚均, 部分线粒体包膜和嵴显示不清晰, 可见少许包膜和嵴断裂, 局部线粒体基质密度降低, 未见肿胀、空泡化和巨线粒体。⑦苦降组线粒体数量稀少, 线粒体形状、大小不一, 大部分线粒体呈现不同程度的肿胀, 大部分线粒体嵴断裂、变短、稀疏甚至消失, 大部分基质密度降低, 呈肿胀、空泡状, 未见巨线粒体。

表 1 各组大鼠死亡原因分析

组别	n	死亡数(%)	幽门梗阻	肠梗阻	腹腔感染	吸入性肺炎
正常对照组	12	0	0	0	0	0
模型对照组	12	3(25.00)	1	1	1	0
西药组	12	1(8.33)	1	0	0	0
旋复代赭汤全方组	12	1(8.33)	0	0	1	0
甘升组	12	2(16.67)	1	0	0	1
苦降组	12	3(25.00)	1	0	1	1
升降相因组	12	2(16.67)	1	0	1	0

4.3 各组大鼠 RE 电镜 (×10 万倍视野) 下线粒体超微结构受损情况 见表 2。与正常对照组比较, 模型对照组大鼠食管黏膜线粒体超微结构受损明显, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 旋复代赭汤全方组、西药组食管黏膜线粒体超微结构受损较模型对照组降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 旋复代赭汤全方组较西药组稍有降低, 但差异无统计学意义($P > 0.05$); 甘升组、升降相因组之间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 苦降组食管黏膜线粒体超微结构受损较模型对照组稍有降低, 但差异无统计学意义($P > 0.05$), 与旋复代赭汤全方组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表2 各组大鼠线粒体数目($\bar{x} \pm s$)

实验分组	视野数(n)	线粒体数目(个/高倍视野)
正常对照组	8	15.00± 1.15
模型对照组	8	2.00± 0.58 ^①
西药组	8	10.56± 1.01 ^②
旋复代赭汤全方组	8	10.56± 1.13 ^②
甘升组	8	6.00± 0.76 ^②
苦降组	8	2.43± 0.79 ^③
升降相因组	8	5.50± 0.92 ^②

与正常对照组比较, ① $P < 0.01$; 与模型对照组比较, ② $P < 0.05$; 与旋复代赭汤全方组比较, ③ $P < 0.05$

4.4 旋复代赭汤及其拆方对 RE 模型大鼠食管黏膜组织 AMPK 含量的影响 见表 3, 图 1。与正常对照组比较, 模型对照组大鼠食管组织 AMPK 的含量提高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 旋复代赭汤全方组、西药组大鼠食管组织 AMPK 的含量较模型对照组降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 旋复代赭汤全方组较西药组稍有降低, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 甘升组、升降相因组之间比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 苦降组大鼠食管组织 AMPK 的含量较模型对照组稍有降低, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 与旋复代赭汤全方组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表3 各治疗组对RE大鼠食管组织AMPK含量影响($\bar{x} \pm s$) nmol/mg prot

实验分组	n	AMPK
正常组	10	6.25± 3.42
模型组	7	41.82± 9.46 ^①
西药组	9	13.92± 3.67 ^②
旋复代赭汤全方组	9	13.42± 3.37 ^②
甘升组	8	25.64± 6.84 ^②
苦降组	7	41.36± 10.60 ^③
升降相因组	8	26.78± 4.54 ^②

与正常对照组比较, ① $P < 0.01$; 与模型对照组比较, ② $P < 0.05$; 与旋复代赭汤全方组比较, ③ $P < 0.05$

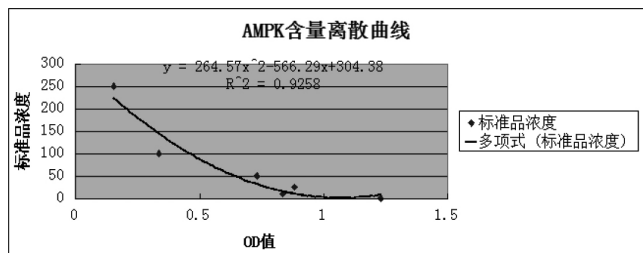


图1 AMPK含量离散曲线

5 讨论

RE 可中医学属吐酸、吞酸、嘈杂、胃痛等范畴。脾胃是气机升降的枢纽, “气血生化之源”。线粒体是细胞的“动力工厂”, 是细胞的“气血生化之源”, 有研究^[4]证明, 脾虚证大

鼠模型, 细胞线粒体超微结构受损。益气健脾中药能修复线粒体损伤。

旋复代赭汤顺应了脾升胃降的生理特点, 方中旋复花能下气消痰、降逆除噫, 代赭石善降逆, 二者皆味苦性降, 同俱降逆除噫之功, 故将其分为苦降组; 半夏、生姜配伍, 为仲景之常用组合——小半夏汤, 二者性味辛温, 皆俱升、降之性, 可谓升降相因, 故将其分为升降相因组; 人参、炙甘草、大枣味甘补益脾气, 三者皆俱健脾益气之功, 故将其分为甘升组。三组相合使脾虚得补, 脾气健运, 从而使脾气得升, 脾之清气得升则胃之痰浊得降, 清升浊降则病除, 可谓仲景运用“脾胃气机升降”理论组方配伍的典型代表。

能量代谢是指生物体内物质代谢过程中伴随的能量变化规律, 是机体一切生命活动的基础。三磷酸腺苷(ATP)是体内最主要的高能磷酸化合物, 组织细胞所需要的能量由 ATP 直接提供的, 例如肌肉的收缩和舒张、细胞的主动转运, 都需要 ATP 提供的自由能。腺苷酸活化蛋白激酶(AMP- activated protein kinase, AMPK)被称为“细胞能量调节器”它能感知细胞能量代谢的改变, 参与调节机体整体的能量消耗和摄入, 维持细胞能量供求平衡, 当细胞内能量缺失时, AMPK 被磷酸化激活, 抑制消耗 ATP 的合成代谢过程, 启动生成 ATP 的分解代谢过程^[4]。肌肉的收缩主要是由 ATP 的水解直接供给能量, 线粒体为肌肉的收缩提供了可靠的能量保证。如果肌肉组织中线粒体数目过少或形态功能异常, 则无法产生足够的 ATP 以维持肌肉收缩所需, 从而导致肌肉收缩功能不能正常发挥。

实验证明 RE 模型大鼠食管黏膜组织中 AMPK 含量升高, 使食管组织中线粒体数目减少及形态功能异常, 线粒体的氧化磷酸化受阻, 使 ATP 的生成代谢减少, 以致生成的 ATP 不足以维持食管肌肉收缩所需, 从而导致食管下括约肌的舒缩功能不能正常发挥, 食管下括约肌压力降低, 食管下括约肌(LES)的抗反流的屏障作用减弱, 从而导致 RE。

本实验结果表明, 旋复代赭汤治疗反流性食管炎的疗效是确切的, 并且各拆方组都有一定程度的治疗作用, 其作用机理可能为旋复代赭汤各组分通过不同的作用途径, 作用靶点调节食管组织线粒体能量代谢, 甘升组补气健脾, 使清气上升, 以促进线粒体能量代谢 ATP 的生成, 凡是含有甘升组皆起正性作用; 苦降组降气止逆, 暂时可抑制反流, 但不能保护食管黏膜免受伤害; 而升降相因组辛开降逆, 升降协调, 使清者自升, 浊者自降, 辛温之性可促进胃肠蠕动, 即可抑制反流, 也可逆转黏膜线粒体超微结构的破坏; 而全方组辛开、降逆、甘补并用, 标本兼顾, 升降兼施, 使脾气升, 胃气降, 顺应了脾胃气机升降的生理特点, 共奏“益气健脾, 降逆化痰”之功, 且祛邪而不伤正, 扶正不致壅滞, 故对各指标的正性影响均优于其他组, 提示各药物组合用, 各司其职, 各尽其能, 扶正祛邪, 调节气机, 为相互加成效应, 且可彼此抑制不良反应。

综上所述, 旋复代赭汤通过益气健脾, 调理脾胃气机升降, 降低食管组织 AMPK 含量, 起到调节线粒体能量代谢的作用, 从而改善食管下括约肌的舒缩功能, 减少胃和十二指肠内容物反流的发生, 从而减少炎症因子刺激, 促进食管黏膜损伤的恢复。从线粒体能量代谢的科学角度揭示了旋复代赭汤对 RE 的作用机制之一, 为 RE 新的治疗策略提供理论指导。

[参考文献]

[1] 中华医学会消化内镜学分会. RE 诊断及治疗指南(2003 年)[J]. 中华消内镜杂志, 2004, 21(4): 221- 222.

[2] 邹方明. 慢性反流性食管炎大鼠模型的建立及 5- 羟色胺 4 受体激动剂的抗食管黏膜炎症作用[D]. 福建: 福建医科大学, 2012.
[3] 刘友章, 王昌俊, 周俊亮, 等. 长期脾虚模型大鼠细胞线粒体的研究[J]. 中医药学刊, 2006, 24(3): 391.
[4] Viollet B, Andreelli F, Jorgensen SB, et al. The AMP- activated protein kinase α 2 catalytic subunit controls whole- body insulin sensitivity[J]. J ClinInvest, 2003, 111: 91- 98.

(责任编辑: 刘淑婷)

莪芪抗瘤方对二乙基亚硝胺(DEN)诱导肝癌模型鼠肿瘤微环境调控机制的研究

申秀云¹, 陈曦¹, 赵雁力²

1. 福建中医药大学中医学院, 福建 福州 350122; 2. 福建中医药大学附属第三人民医院, 福建 福州 350122

[摘要] 目的: 研究莪芪抗瘤方对二乙基亚硝胺 (DEN) 诱导肝癌模型鼠肿瘤微环境的调控机制。方法: 建立 DEN 诱导大鼠肝癌模型, 造模 4 周后, 70 只大鼠随机分成 7 组, 空白组, 模型组, 顺铂治疗组, 单纯祛邪中药组, 莪芪抗瘤方组随机分为高、中、低剂量组。每组 10 只。空白组正常喂养, 模型组每日 12.5 mg/kg 体重维持 DEN 摄入量喂养, 莪芪抗瘤方中剂量组、单纯祛邪中药组、顺铂治疗组, 分别以 8 mL/kg 体重剂量灌药; 莪芪抗瘤方高、低剂量组分别以 12 mL/kg 体重、4 mL/kg 体重剂量灌药。16 周实验结束, 测定大鼠血清白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-2 (IL-2)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的表达。结果: 莪芪抗瘤方组 IL-1 β 与单纯祛邪中药组、空白组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 与顺铂治疗组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 莪芪抗瘤方组 IL-2 与单纯祛邪中药组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 莪芪抗瘤方组 IL-2、TNF- α 与空白组、顺铂治疗组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论: 莪芪抗瘤方能抑制肝癌大鼠模型血清中 IL-1 β 表达, 抑制肿瘤组织血管的形成和浸润, 促进 IL-2 的分泌, 增强免疫力, 抑制肿瘤的形成, 在肝癌形成过程中具有一定的延缓和保护作用

[关键词] 莪芪抗瘤方; 肝癌; 白细胞介素-1 β (IL-1 β); 白细胞介素-2 (IL-2); 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)

[中图分类号] R285.5 [文献标志码] A [文章编号] 0256- 7415 (2016) 03- 0234- 03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.03.091

原发性肝癌是危害人类健康的重要恶性肿瘤之一, 全球每年肝癌新发病例数约为 78.25 万人, 居所有恶性肿瘤发病率的第 6 位^[1]。全世界每年新发肝癌约 42% 出现在我国, 肝癌在我国每年发病和死亡人数分别约在 36 万和 35 万, 其发病率是仅次于肺癌排第 2 位的恶性肿瘤。由于肝癌发病率高, 治疗难度大, 死亡率高, 预后差, 故对其防治工作尤为重要。然而针对肝癌的治疗, 至今仍缺少确切有效的药物, 首选仍为手术治疗, 或局部消融治疗、经肝动脉介入治疗、分子靶向药物治

疗、系统化疗、生物治疗等^[2]。由于大部分病人确诊时已为晚期, 病人肝功能和体质较差, 上述方法毒副反应大, 患者很难耐受上述治疗, 故限制了其应用。

中医药在肝癌的药物防治中越来越受到重视。莪芪抗瘤方是临床效验方, 经多年临床实践验证疗效确切。综合前期的研究成果, 通过检测增殖细胞核抗原(PCNA)、抑癌基因(P53)等相关基因蛋白的阳性细胞数, 已揭示莪芪抗瘤方在大鼠诱癌过程中, 具有抑制或延缓肝癌形成的作用^[3]。为进一步探讨该方

[收稿日期] 2015-10-25

[基金项目] 福建省自然科学基金项目 (2012J01395)

[作者简介] 申秀云 (1960-), 女, 教授, 主要从事《内经》病证理论及临床应用研究工作。