

- Comparative studies using the Morris water maze to assess spatial memory deficits in two transgenic mouse models of Alzheimer's disease [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2014, 41(10): 798–806.
- [5] 张兆一, 任美玲, 杨朋, 等. 慢性应激大鼠海马 DG 区牛磺酸在空间学习记忆过程中的变化[J]. *中国实验诊断学*, 2016, 20(6): 871–874.
- [6] Dorey R, Pierard C, Chauveau F, et al. Stress induces memory retrieval impairments: different time-course involvement of corticosterone and glucocorticoid receptors in dorsal and ventral hippocampus[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2012, 37(13): 2870–2880.
- [7] Sekine Y, Zyryanova A, Crespillo-Casado A, et al. Stress responses. Mutations in a translation initiation factor identify the target of a memory-enhancing compound[J]. *Science*, 2015, 348(6238): 1027–1030.
- [8] 郭俊, 陈云波, 魏刚, 等. 石菖蒲活性成分及其不同比例配伍对痴呆小鼠学习记忆功能的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2012, 23(2): 144–147.
- [9] Mao J, Huang S, Liu S, et al. A herbal medicine for Alzheimer's disease and its active constituents promote neural progenitor proliferation[J]. *Aging Cell*, 2015, 14(5): 784–796.

(责任编辑: 冯天保, 郑锋玲)

## 铁皮枫斗颗粒治疗亚硝基胍诱发慢性萎缩性胃炎大鼠作用观察

聂晓静<sup>1</sup>, 吴人照<sup>2</sup>, 龙华晴<sup>1,2</sup>, 马津真<sup>1,2</sup>, 陈宇<sup>2</sup>,  
戴关海<sup>2</sup>, 陈璇<sup>2</sup>, 童晔玲<sup>2</sup>, 任泽明<sup>2</sup>, 杨芳亮<sup>3</sup>

1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053
2. 浙江省中医药研究院, 浙江 杭州 310007
3. 浙江天皇药业有限公司, 浙江 杭州 310012

**[摘要]** 目的: 探讨铁皮枫斗颗粒治疗亚硝基胍 (MNNG) 诱发慢性萎缩性胃炎 (CAG) 模型大鼠的萎缩逆转作用。方法: Wistar 大鼠自由饮用浓度为 167  $\mu\text{g/mL}$  的 MNNG 水溶液, 建立慢性萎缩性胃炎大鼠模型。确定成模后, 将造模成功的大鼠分为模型组、铁皮枫斗颗粒组、叶酸片组, 另设没有经过处理的大鼠为正常组。模型组灌胃生理盐水, 铁皮枫斗颗粒组灌胃铁皮枫斗颗粒为 1.2 g/(kg·d), 叶酸片组灌胃叶酸片为 5.0 mg/(kg·d)。观察大鼠体质量、胃组织病理组织学情况。结果: 与正常组比较, 模型组大鼠在治疗前和治疗第 8 周时体质量显著降低, 炎症等级较高, 腺体数量明显减少, 腺体厚度明显降低, 主细胞明显减少, 胃组织出现不典型增生和肠化生的数量较多, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与模型组比较, 治疗第 8 周时, 铁皮枫斗颗粒组和叶酸片组大鼠的体质量显著升高, 炎症等级降低, 腺体数量明显增多, 腺体厚度明显升高, 胃组织不典型增生和肠化生现象明显好转, 不典型增生和肠化生的数量明显减少, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。与叶酸片组比较, 铁皮枫斗颗粒组大鼠的体质量较高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论: 铁皮枫斗颗粒与叶酸片均对 CAG 模型大鼠具有良好的治疗作用, 可以减轻大鼠体质量丢失, 减轻胃黏膜炎症等级、腺体萎缩、不典型增生。

**[关键词]** 慢性萎缩性胃炎; 铁皮枫斗颗粒; 叶酸片; 胃组织不典型增生; 肠化生; 动物实验; 大鼠

**[中图分类号]** R573.3+2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2017) 12-0007-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2017.12.003

## Tiepi Fengdou Granules Have Greatly Curative effect in Treating Rats with Chronic Atrophic Gastritis Induced by MNNG

NIE Xiaojing, WU Renzhao, LONG Huaqing, MA Jinzhen, CHEN Yu, DAI Guanhai,  
CHEN Xuan, TONG Yeling, REN Zeming, YANG Fangliang

**Abstract:** Objective: To study the atrophy reversal effect of Tiepi Fengdou granules in treating model rats with chronic

**[收稿日期]** 2017-05-15

**[基金项目]** 浙江省重大科技专项资助项目 (2009C13032); 浙江省自然科学基金项目 (LY15H280011); 国家科技重大专项重大新药创制课题资助项目 (2016ZX09101069)

**[作者简介]** 聂晓静 (1990-), 女, 学士学位, 研究方向: 中医临床基础。

**[通信作者]** 吴人照, E-mail: wufeng03@126.com。

atrophic gastritis(CAG) induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG). **Methods:** Wistar rats were fed with 167  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of MNNG water solution to establish model rats of CAG. After modeling, divided the model rats into the model group, Tiepi Fengdou granule group and folic acid tablets group, while untreated rats were in normal group. By gavage, the model group was given saline solution, Tiepi Fengdou granule group was given 1.2  $\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$  of Tiepi Fengdou granules and folic acid tablets group was given 5.0  $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$  of folic acid tablets. Observed body mass and situation of gastric tissue histopathology of the rats. **Results:** Compared with those in the normal group, in the model group, weight of rats was decreased remarkably, inflammation grade was higher, the number of inherent glands and gland thickness were remarkably reduced, the chief cells were remarkably decreased, and the number of atypical hyperplasia and intestinal metaplasia in gastric tissue was increased before treatment and after 8-week-medication, differences being significant( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Compared with the model group, in Tiepi Fengdou granule group and folic acid tablets group, the levels of body mass were significantly increased, levels of inflammation were decreased, the number of inherent glands and gland thickness evidently was increased, the situation of atypical hyperplasia and intestinal metaplasia in gastric tissue was better and their number was evidently decreased after 8-week-medication, differences being significant( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Compared with that in folic acid tablets group, body mass in Tiepi Fengdou granule group was higher, the difference being significant( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Tiepi Fengdou granules and folic acid tablets have a greatly curative effect on CAG rats models, which can reduce the loss of body mass and the level of gastric mucosa inflammation, gland atrophy as well as atypical hyperplasia.

**Keywords:** Chronic atrophic gastritis; Tiepi Fengdou granules; Folic acid tablets; Gastric metaplasia in gastric tissue; Intestinal metaplasia; Animal experiment; Rats

慢性萎缩性胃炎(CAG)是一种常见的消化系统疾病,世界卫生组织将其列为胃癌前病变。西医治疗 CAG 尚无特效疗法,多采用对症治疗,缓解 CAG 的症状。中医药治疗有着独特优势。众多的临床及病理研究报道证实,中医药可使部分肠上皮化生减轻或消失,从而逆转胃癌癌前病变,使胃癌的药物预防成为可能<sup>[1-3]</sup>。本研究采用大鼠 CAG 模型,以铁皮枫斗颗粒组为实验组,叶酸片组为对照,重点观察各组大鼠体质量恢复情况和病理改变情况。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验动物** 6 周龄的 Wistar 大鼠 66 只,雌雄各半,体质量(160~190) g,动物合格证编号:0228546。均购买于上海斯莱克实验动物有限公司,实验动物生产许可证号为:SCXK(沪)2013-0016。实验动物均饲养于浙江省中医药研究院实验动物中心(25±2)℃的屏障实验室内,每 12 h 光照明暗交替,实验动物使用许可证号:SYXK(浙)20090122。

**1.2 药物和试剂** “立钻”牌铁皮枫斗颗粒:每袋 3 g,批号:160211,由浙江天皇药业有限公司生产,为已经上市药品,批准文号为:国药准字 B20020441。叶酸片:每片 5 mg,批号:1603007,常州制药厂有限公司。亚硝基胍(N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍, MNNG):5 g/瓶,上海蓝季生物公司购买,由日本东京化成工业株式会社生产,批号:75F71-TF。甲醛溶液:500 mL/瓶,上海凌峰化学试剂有限公司,批号:20130610。

**1.3 实验仪器** RM2235 LEICA 病理切片机、EG1150C LEICA 生物组织冷冻机、EG1150H LEICA 生物组织包埋机、

ASP200 LEICA 生物组织自动脱水机均为德国莱卡公司。BX41OLYMPUS 显微镜(日本 OLYMPUS 株式会社)。Nikon ECLIPSE Ti 显微摄像系统(日本 Nikon 株式会社)。

**1.4 模型的制备** 选用 50 只 Wistar 大鼠开始造模:在饮水中加入 MNNG 配成 167  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度的饮用液,让大鼠自由饮用,本次实验造模 12 周。其余大鼠给予正常饮食。

**1.5 给药方法** 造模完成时,随机选取 4 只模型动物与 4 只正常动物胃组织做病理组织学检查,确定造模成功后,选择造模成功的大鼠随机分为铁皮枫斗颗粒组、叶酸片组和模型组(铁皮枫斗颗粒组 14 只,其余每组 12 只,雌雄各半)。另取没有经过处理的大鼠 12 只为正常组。模型组灌胃生理盐水,铁皮枫斗颗粒组灌胃铁皮枫斗颗粒生药量为 1.2  $\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ ,叶酸片组灌胃叶酸片为 5.0  $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 。在给药第 8 周时,4 组大鼠均麻醉,迅速将胃摘出,福尔马林固定,石蜡包埋,做 4  $\mu\text{m}$  切片,用 HE、AB 染色,进行组织学检查。

**1.6 病理组织学检查** 标本:大鼠均麻醉,迅速将胃摘出,上段留 0.5 cm 食管,下段留 1.5 cm 十二指肠;沿胃大弯剪开,生理盐水冲洗,浸于 10% 中性福尔马林中。取材范围:从前胃一直到十二指肠纵向全长、全层。包埋切片:石蜡包埋,作 4  $\mu\text{m}$  切片。染色:HE 染色、AB 染色。光镜观察:(1)胃黏膜炎症分级:采用半定量法。在胃组织的胃窦部取 10 个视野,具体参照在 1994 年美国休斯顿所提出的胃炎诊断标准<sup>[4]</sup>:按照炎症细胞浸润的程度,将其分为 0~3 级 7 个级别。0 级:无炎症;0.5 级:镜下观察炎症介于 0 与 1 之间;1 级:在胃小凹区、固有腺底部可出现多个炎性细胞浸润;1.5 级:

镜下观察炎症介于1与2之间;2级:在胃黏膜小凹到黏膜肌层都会出现较多炎细胞浸润;2.5级:镜下观察炎症介于2与3之间;3级:在胃黏膜内,可出现成堆的炎细胞聚集灶。(2)胃黏膜腺体厚度:每张胃组织切片中,选取胃窦部黏膜5个视野,测出在每个视野下胃窦黏膜腺体厚度,得出每张切片5个视野平均值( $\mu\text{m}$ )。(3)胃腺体数目:选取100倍镜下,找到每只大鼠胃组织的幽门环0.2~1.2mm(200~1200 $\mu\text{m}$ )之间(即1mm范围)胃窦固有的腺体总个数。(4)不典型增生:在每张切片中,取5个高倍镜视野,观察胃黏膜上皮细胞,明确有无细胞核多形性和腺体不典型增生的变化。(5)主细胞、壁细胞数目:选取400倍镜下,取5个视野平均值。(6)肠上皮化生表现:参照《中药新药临床研究指导原则(试行)》及2012中国上海慢性胃炎共识意见<sup>[5-6]</sup>。轻度:肠化区占腺体和表面上皮总面积1/3以下;中度:肠化区占腺体和表面上皮总面积的1/3~2/3;重度:肠化区占腺体和表面上皮总面积的2/3以上。

1.7 统计学方法 采用SPSS17.0统计软件进行统计分析,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组均数比较采用F检验,其中计量资料两组比较采用LSD-t检验方法,计数资料采用 $\chi^2$ 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠体质量结果比较 见表1。与正常组比较,模

型组大鼠在治疗前和治疗第8周时体质量显著降低,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。与模型组比较,治疗第8周时,铁皮枫斗颗粒组和叶酸片组大鼠的体质量显著升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ )。与叶酸片组比较,铁皮枫斗颗粒组大鼠的体质量较高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表1 各组大鼠体质量结果比较( $\bar{x} \pm s$ )<sup>g</sup>

| 组别      | n  | 治疗前                         | 治疗第8周                        |
|---------|----|-----------------------------|------------------------------|
| 正常组     | 12 | 259.42 ± 51.93              | 292.83 ± 61.88               |
| 模型组     | 12 | 167.77 ± 38.23 <sup>①</sup> | 171.08 ± 32.23 <sup>①</sup>  |
| 铁皮枫斗颗粒组 | 14 | 172.64 ± 34.02              | 249.50 ± 40.52 <sup>③④</sup> |
| 叶酸片组    | 12 | 168.75 ± 29.74              | 206.17 ± 28.46 <sup>②</sup>  |

与正常组比较,① $P < 0.01$ ;与模型组比较,② $P < 0.05$ ,③ $P < 0.01$ ;与叶酸片组比较,④ $P < 0.05$

2.2 各组大鼠病理组织结果比较 见表2。与正常组比较,模型组大鼠的炎症等级较高,腺体数量明显减少,腺体厚度明显降低,主细胞个数明显减少,差异均有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ )。与模型组比较,铁皮枫斗颗粒组和叶酸片组大鼠的炎症等级降低,腺体数量明显增多,腺体厚度明显升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ )。

表2 各组大鼠病理组织结果比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | n  | 炎症(等级)                   | 腺体数量(个/mm)                | 腺体厚度( $\mu\text{m}$ )       | 主细胞(个/视野)                    | 壁细胞(个/视野)       |
|---------|----|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------|
| 正常组     | 12 | 0.23 ± 0.20              | 45.83 ± 7.16              | 254.91 ± 38.97              | 319.42 ± 121.35              | 285.00 ± 113.21 |
| 模型组     | 12 | 0.88 ± 0.38 <sup>②</sup> | 33.67 ± 4.58 <sup>②</sup> | 212.02 ± 41.83 <sup>②</sup> | 205.75 ± 118.12 <sup>①</sup> | 184.42 ± 102.81 |
| 铁皮枫斗颗粒组 | 14 | 0.50 ± 0.35 <sup>④</sup> | 43.21 ± 4.58 <sup>④</sup> | 299.04 ± 43.99 <sup>④</sup> | 273.71 ± 188.80              | 169.43 ± 43.54  |
| 叶酸片组    | 12 | 0.50 ± 0.28 <sup>④</sup> | 39.83 ± 6.95 <sup>③</sup> | 262.53 ± 64.42 <sup>③</sup> | 185.23 ± 117.76              | 156.07 ± 52.27  |

与正常组比较,① $P < 0.05$ ,② $P < 0.01$ ;与模型组比较,③ $P < 0.05$ ,④ $P < 0.01$

2.3 各组大鼠治疗后胃组织不典型增生、肠化生结果比较 见表3。与正常组比较,模型组大鼠胃组织出现不典型增生和肠化生的数量较多,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。与模型组比较,铁皮枫斗颗粒组和叶酸片组大鼠胃组织不典型增生和肠化生的数量明显减少,差异均有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ )。

表3 各组大鼠治疗后胃组织不典型增生、肠化生结果比较 例

| 组别      | n  | 不典型增生 |    |    | 肠化生 |    |     |
|---------|----|-------|----|----|-----|----|-----|
|         |    | 无     | 轻度 | 重度 | 0~+ | ++ | +++ |
| 正常组     | 12 | 12    | 0  | 0  | 12  | 0  | 0   |
| 模型组     | 12 | 4     | 7  | 1  | 2   | 2  | 8   |
| 铁皮枫斗颗粒组 | 14 | 11    | 3  | 0  | 8   | 6  | 0   |
| 叶酸片组    | 12 | 10    | 2  | 0  | 6   | 3  | 3   |

3 讨论

本实验采用MNNG建立大鼠慢性萎缩性胃炎模型,此方法制备的模型大鼠进食、饮水量均减少,体质量减轻,有肠上

皮化生和不典型增生,动物成模率高,成模时间较短,适合于实验研究<sup>[7]</sup>。MNNG可直接损伤胃黏膜,给予大鼠167 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的MNNG溶液自由饮用,既能保证MNNG用药量的稳定,同时也不会对大鼠胃黏膜造成过大的刺激,提高造模成功率。

CAG在中医学属于胃痞、胃脘痛、嘈杂、嗳气等范畴,中医学认为,该病病机多为本虚标实,本虚以脾气虚和胃阴虚为主。《神农本草经》指出石斛为“上品”“上药……无毒,多服久服不伤人,欲轻身益气不老延年者,本上经”“补五脏虚劳羸弱”<sup>[8]</sup>。西洋参补气养阴,具有抗肿瘤、降血压、降血脂、抗疲劳等多方面的药理活性<sup>[9]</sup>。本实验所用铁皮枫斗颗粒,主要由上等名贵中药材铁皮石斛和西洋参组成,原适应症为气阴两虚证所致的一系列症状,具有益气养阴、养胃生津之功效,且补而不膩,清而不伤胃。铁皮枫斗颗粒配方药性平和,适合于脾胃病变治疗与调理康复。

在以往的研究中发现,铁皮枫斗颗粒对CAG有明显疗

效<sup>[10]</sup>。本研究结果也证实铁皮枫斗颗粒对 CAG 有显著减轻体质量丢失,改善胃黏膜炎症等级、腺体萎缩、不典型增生、肠化生的作用。肠化生指胃黏膜上皮细胞被肠型上皮细胞所代替。对比实验结果,模型组与正常组有明显的差异,模型组表现出明显的胃黏膜炎症、腺体萎缩及肠上皮化生,且有主细胞明显减少;而铁皮枫斗颗粒组较模型组炎症等级、肠化生现象减轻,腺体数量、腺体厚度增加,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),主细胞个数较模型组虽有增加趋势,但没有统计学意义。依据《中国慢性胃炎共识意见》,叶酸可以改善 CAG,预防胃癌<sup>[11]</sup>,本实验中叶酸片作为对照药物,在治疗 CAG 大鼠中,有一定疗效,但没有铁皮枫斗颗粒对 CAG 疗效全面,对体质量丢失的恢复以及腺体萎缩恢复,铁皮枫斗颗粒疗效高于叶酸片。Tang XD 等<sup>[12]</sup>的多中心试验也表明叶酸可以改善慢性萎缩性胃炎的不典型增生、萎缩和肠化生的恢复率。还有研究者发现叶酸片可以在一定程度上减轻胃黏膜组织学改变,但未达到完全逆转,叶酸片能否彻底治疗 CAG,需要进一步的深入研究<sup>[13]</sup>。

综上所述显示:铁皮枫斗颗粒对 MNNG 诱发的 CAG 模型大鼠治疗 8 周疗效显著,叶酸片也有一定疗效,但铁皮枫斗颗粒疗效更显著,对体质量丢失的恢复以及腺体萎缩恢复铁皮枫斗颗粒疗效高于叶酸片。中医药治疗 CAG 安全性较好,可能还具有巩固疗效、提高免疫力等综合作用<sup>[14]</sup>,展现了中医药在 CAG 研究领域的广阔前景。

### [参考文献]

- [1] 李亚博. 理气活血解毒法对慢性萎缩性胃炎伴肠上皮化生的临床研究及机制探讨[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [2] 张露. 芪竹参草汤治疗慢性萎缩性胃炎癌前病变的临床研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2016.
- [3] 陈璐. 健脾通络汤治疗 60 例慢性萎缩性胃炎脾胃虚弱(虚寒)证临床疗效观察[D]. 北京: 中国中医科学院, 2013.
- [4] Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, et al. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994 [J]. *Am J Surg Pathol*, 1996, 20(10): 1161-1181.
- [5] 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 124.
- [6] 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见[J]. *胃肠病学*, 2006, 11(11): 674-684.
- [7] Corfield AP, Myerscough N, Longman R, et al. Mucins and mucosal protection in the gastrointestinal tract: new prospects for mucins in the pathology of gastrointestinal disease [J]. *Gut*, 2000, 47(4): 589-594.
- [8] 蔡光先, 李娟, 李顺祥, 等. 铁皮石斛古代与现代的应用概况[J]. *湖南中医药大学学报*, 2011, 31(5): 77-81.
- [9] 尚金燕, 李桂荣, 邵明辉, 等. 西洋参的药理作用研究进展[J]. *人参研究*, 2016(6): 49-51.
- [10] 吴人照, 陈立钻, 杨兵勋, 等. 铁皮枫斗颗粒治疗自身免疫法慢性胃炎模型大鼠的实验研究[J]. *浙江中医杂志*, 2015, 50(12): 881-883.
- [11] 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见[J]. *现代消化及介入诊疗*, 2013, 18(2): 119-128.
- [12] Tang XD, Zhou LY, Zhang ST, et al. Randomized double-blind clinical trial of Moluodan for the treatment of chronic atrophic gastritis with Dysplasia [J]. *Chin J Integr Med*, 2016, 22(1): 9-18.
- [13] 陈海金, 王惠吉. 萎缩性胃炎大鼠 P16, Bcl-2, PCNA 的表达及叶酸的预防作用[J]. *中国老年学杂志*, 2011, 31(17): 3324-3327.
- [14] 吴人照, 陈立钻, 杨兵勋, 等. 铁皮枫斗颗粒治疗综合法慢性萎缩性胃炎及对免疫组化影响的实验研究[J]. *浙江中医杂志*, 2015, 50(9): 694-696.

(责任编辑: 冯天保, 郑锋玲)