

- 442.
- [3] 刘双利, 姜程曦, 赵岩, 等. 防风化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中草药, 2017, 48(10): 2146-2152.
- [4] 徐艳阳, 蔡森森, 于静. 桑白皮甾醇对亚硝酸盐的清除效果及抑菌活性研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(2): 53-57.
- [5] 莫峥嵘, 邢福佳, 杨平, 等. 海南温莪术挥发油的抑菌活性及提取工艺研究[J]. 海南师范大学学报, 2016, 29(3): 274-276.
- [6] 刘雪梅, 杨岚. 聚合酶链式反应方法筛查慢性阻塞性肺疾病常见致病菌[J]. 西安交通大学学报, 2013, 34(1): 68-72.
- [7] 裴琦, 刘霄, 刘敬禹, 等. 重度慢性阻塞性肺疾病患者下呼吸道多药耐药菌感染的临床特点及病原学分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(5): 1152-1154.
- [8] 徐雪梅, 吴思颖, 谢轶, 等. 慢性阻塞性肺疾病合并下呼吸道感染患者病原菌分布与耐药性分析[J]. 成都医学院学报, 2017, 12(2): 175-181.
- [9] 汪洋. 慢性阻塞性肺疾病缓解期患者联合吸入沙美特罗/氟替卡松后口咽部微生物群和唾液 SIgA 及溶菌酶水平变化的研究[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2015.
- [10] 孙健龙, 张素梅, 管晓芸, 等. 机械通气致下呼吸道黄杆菌属感染的临床研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(11): 2420-2422.
- (责任编辑: 冯天保, 郑锋玲)

胃萎清对慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜超微结构的影响

庄昆海¹, 李海文², 刘凤斌¹

1. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 2. 深圳市中医院, 广东 深圳 518000

[摘要] 目的: 通过观察慢性萎缩性胃炎 (CAG) 大鼠胃黏膜腺上皮主细胞、壁细胞超微结构的变化, 探讨健脾清热活血中药胃萎清对 CAG 大鼠胃黏膜超微结构的影响, 初步揭示胃萎清对 CAG 的作用机制。方法: 将 CAG 大鼠随机分为 6 组: 对照组、模型组、胃萎清高、中、低剂量组及叶酸组。以 N-甲基-N'-硝基-N'-亚硝基胍 (MNNG) 合饥饱失常法建立 CAG 大鼠模型, 观察各组大鼠胃黏膜超微结构的变化。结果: 与对照组比较, 模型组大鼠胃黏膜主细胞核固缩, 胞浆中出现大量空泡样变; 壁细胞染色质浓缩, 线粒体嵴数量减少。与模型组比较, 胃萎清高、中剂量组大鼠胃黏膜主细胞核仁结构尚均一, 粗面内质网基本整齐; 壁细胞核质比较规则, 线粒体嵴增多。胃萎清低剂量组大鼠胃黏膜主细胞细胞核核仁形态较模型组规则; 壁细胞细胞核形态改变, 线粒体数量减少。叶酸组大鼠胃黏膜主细胞细胞核染色质较正常, 胞浆出现空泡样变; 壁细胞染色质固缩, 线粒体嵴数量较模型组多。结论: 胃萎清能在一定程度上改善胃黏膜腺上皮主细胞、壁细胞的超微结构, 推测胃萎清能改善 CAG 患者不适症状的机制之一可能是改善胃黏膜超微结构。

[关键词] 慢性萎缩性胃炎 (CAG); 胃萎清; 超微结构; 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 (2018) 07-0004-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2018.07.002

Weiweiqing Has Effect on Ultrastructure of Gastric Mucosa in Rats with Chronic Atrophic Gastritis

ZHUANG Kunhai, LI Haiwen, LIU Fengbin

Abstract: Objective: To investigate the effect of Weiweiqing in Chinese medicine for strengthening spleen, clearing heat and activating blood on ultrastructure of gastric mucosa in chronic atrophic gastritis(CAG) rats by observing the ultrastructural

[收稿日期] 2018-03-11

[基金项目] 广东省中医药局建设中医药强省专项资金项目 (粤中医函 [2015] 19 号); 广东省中医药强省建设专项资金项目 (粤中医办函 [2015] 93 号); 广东省中医药局科研项目 (20161132)

[作者简介] 庄昆海 (1984-), 男, 主治医师, 研究方向: 脾胃系疾病的中医临床疗效研究。

[通信作者] 刘凤斌, E-mail: liufb163@163.com。

changes of gastric mucosal glandular epithelial cells and parietal cells in rats with CAG thus to preliminarily reveal the mechanism of Weiweiqing on CAG. **Methods:** Divided CAG rats into 6 groups randomly: the control group, the model group, the high-dose Weiweiqing group, the medium-dose Weiweiqing group, the low-dose Weiweiqing group and the folic acid group. Established a CAG rat model by applying N-methyl-N'-nitro-N'-nitrosoguanidine(MNNG) and method of irregular diet. And observe the changes of ultrastructure of gastric mucosa in rats. **Results:** Compared with the control group, the main cells of the gastric mucosa of rats in the model group showed nuclear pyknosis, a large number of vacuolar degeneration in the cytoplasm, chromatin condensation in parietal cells and a reduced number of mitochondrial cristae. Compared with the model group, the nucleolus structure of gastric mucosal main cells in the high-dose Weiweiqing group and the medium-dose Weiweiqing group were still the same, and the rough endoplasmic reticulum were basically neat, and the number of mitochondrial cristae in the parietal cells was increased. Compared with the model group, the pattern of nuclear nucleus of gastric mucosal main cells in rats in the low-dose Weiweiqing group was more regular. The nucleus morphology of parietal cells changed and the number of mitochondria decreased. The nuclear chromatin of the gastric mucosal main cells in the folic acid group was more normal, and there was vacuolar degeneration in the cytoplasm and chromatin condensation in the parietal cells. The number of mitochondrial cristae was larger than that in the model group. **Conclusion:** Weiweiqing can improve the ultrastructures of gastric mucosal glandular epithelial main cells and parietal cells to a certain extent. It is speculated that one of the mechanisms to improve the ultrastructure of gastric mucosa is that Weiweiqing can improve the discomfort of patients with CAG may be.

Keywords: Chronic atrophic gastritis(CAG); Weiweiqing; Ultrastructure; Animal experiment; Rats

慢性萎缩性胃炎(Chronic atrophic gastritis, CAG)是一种以胃黏膜固有腺体数量减少或消失为主要病理特点的消化系统疾病^[1]。CAG 伴有中、重度肠上皮化生和(或)异型增生是胃癌前状态,在胃黏膜癌前疾病中占较大比例^[2]。

CAG 的病理组织学表现是黏膜固有腺体萎缩和常伴有肠上皮化生,其超微结构具体表现在主细胞、壁细胞、其内的一些细胞器损伤、上皮细胞间隙增宽和胞质内活动性炎细胞浸润,且以主细胞和壁细胞的超微结构损伤最具特征性。壁细胞及主细胞是胃黏膜的主要分泌细胞,壁细胞分泌胃酸,细胞浆中分布有大量线粒体结构;主细胞分泌胃蛋白酶,细胞浆中排列有大量的内质网,其内含分泌小泡。临床上,患者出现上腹胀感、胃纳差等消化功能不佳的情况,可能与胃酸及胃蛋白酶的分泌减少有关。经过前期临床试验发现,以健脾清热活血法为治法的代表方胃萎清在一定程度上可以改善患者的胃萎缩、慢性炎症等症状,且能改善患者的精神状态以及上腹部不适、消化不良,其机制有待进一步深入研究。本研究以 N-甲基-N'-硝基-N'-亚硝基胍(MNNG)合饥饱失常法建立脾胃虚弱、热毒血瘀的 CAG 大鼠模型,并通过电镜观察以探讨胃萎清在超微结构方面对 CAG 大鼠的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物 选用 70~80 天龄 SPF 级 SD 雄性大鼠 94 只,体质量 170~200 g,由广东省动物实验中心提供,动物许可证号:SCXK(粤)2013-0002。动物饲养于广州中医药大学实验动物中心,室温保持在(22±2)℃,湿度(55±5)%,保持昼夜节律

各 12 h,自由饮食。

1.2 实验药物 胃萎清颗粒剂(由黄芪、白术、半枝莲、莪术、五指毛桃、枳壳等组成),由广东省一方制药有限公司提供,并进行质量控制(批号:J1603001),提供质量合格证明。叶酸片由江苏亚邦爱普森药业有限公司提供(批准文号:国药准字 H32023288,产品批号:1507026),规格为 5 mg×100 片/瓶。

1.3 实验试剂 MNNG 由日本东京株氏会社提供,使用时稀释为 180 μg/mL 的 MNNG 饮用液,装入 500 mL 的避光饮水瓶中自由饮用,每 2 天更换 1 次。

1.4 实验仪器 JEM1230 型透射电镜(日本 JEOL 公司)。切片机 Leica UC 7(德国莱卡公司),厚度 60 nm。

1.5 动物分组及造模 大鼠适应性喂养 1 周后,随机分为对照组和造模组。其中对照组 14 只,造模组 80 只。该实验对照组一直给予正常饮食、自由饮水,直至整个实验结束。造模组则予浓度为 180 μg/mL 的 MNNG 饮用液自由饮用,并在此基础上采用经典的饥饱失常法复制脾虚证(即喂食 1 天,而后禁食 1 天,如此循环),连续造模直至第 14 周,随机抽取造模组中的两只 CAG 大鼠,进行胃黏膜病理形态组织学检查。

确定造模成功后开始给药,将造模组随机分为模型组,胃萎清高剂量组,胃萎清中剂量组,胃萎清低剂量组及叶酸组。其中模型组 14 只,胃萎清高、中、低剂量组及叶酸组均为 16 只。对照组和模型组给予等量生理盐水,胃萎清高、中、低剂量组:所使用的实验药物为胃萎清颗粒,第 15 周开始灌胃,

按照大鼠与人体表面积等效换算,大鼠给药量为 7 776 mg/kg,此为 1 倍剂量。因此,测算后胃萎清高、中、低剂量组给药浓度(生药量)分别为 15.6 g/kg、7.8 g/kg、3.9 g/kg。叶酸组第 15 周开始按 1.46 mg/(kg·d)予叶酸灌胃。灌胃容积为 10 mL/(kg·d),连续灌胃 10 周。实验过程中,每 2 周给各组大鼠测量 1 次体质量,以观察体质量变化情况。

1.6 标本的采集及制备 实验结束后所有大鼠禁食不禁水 24 h,用 10%的水合氯醛按 3 mL/kg 的剂量腹腔注射麻醉。取全胃,沿大弯剪开胃壁,4℃生理盐水清洗后,取胃窦部组织,10%中性福尔马林固定,常规石蜡切片,用于相关指标的检测,其余部分胃黏膜层(剔除肌肉层)组织立即置于 -80℃低温冰箱中保存。

2 结果

2.1 各组大鼠的一般情况 见图 1。与对照组比较,模型组大鼠胃黏膜出现萎缩,且腺体排列紊乱,腺体减少。胃黏膜固有腺体萎缩伴肠上皮化生,提示造模成功。

2.2 各组大鼠电镜观察结果 见图 2。对照组大鼠胃黏膜壁细胞核仁规则,染色质正常,胞浆可见大量的管泡结构,散布于细胞质中,线粒体呈典型的短棒状,主细胞形态规则,粗面内质网发达,排列整齐,细胞核核仁结构均一,核内染色质正常。与对照组比较,模型组大鼠胃黏膜主细胞出现核固缩,染色质浓缩,粗面内质网仅有少量残存,胞浆中出现大量空泡样

变,壁细胞出现核固缩,染色质浓缩,线粒体嵴数量减少,部分可见空泡化。与模型组比较,胃萎清高剂量组大鼠胃黏膜主细胞核仁结构尚均一,粗面内质网基本整齐,壁细胞核质比正常,胞浆见大量管泡结构,线粒体形态尚规则,线粒体嵴较模型组增多。胃萎清中剂量组大鼠胃黏膜主细胞细胞核间隙正常,核型不规则,粗面内质网扩张,胞浆见空泡样变,壁细胞细胞核基本规则,部分线粒体及胞浆呈现空泡样变。胃萎清低剂量组大鼠胃黏膜主细胞细胞核核仁形态不规则,胞浆中出现大量空泡样变,仅残存少量粗面内质网,壁细胞细胞核呈异型改变,线粒体数量减少,胞浆出现空泡样变。叶酸组大鼠胃黏膜主细胞细胞核染色质较正常,胞浆出现大量空泡样变,壁细胞染色质固缩,线粒体嵴数量较模型组多,胞浆出现空泡样变。

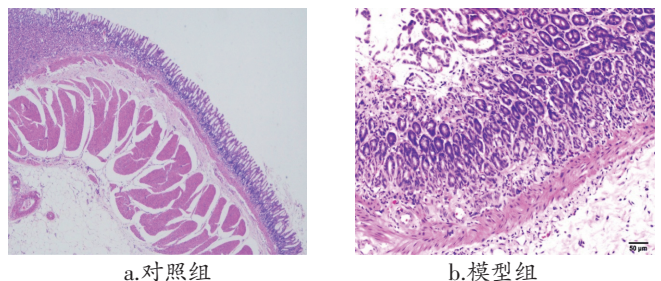


图 1 对照组与模型组大鼠胃黏膜病理对照图(×200)

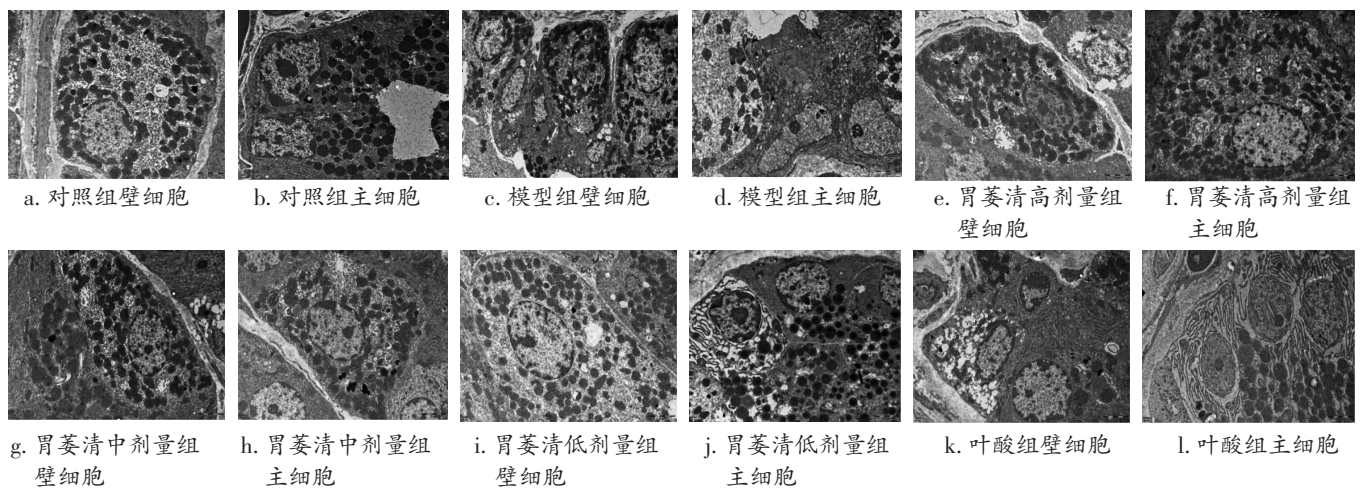


图 2 各组大鼠胃黏膜壁细胞及主细胞电镜观察(×10 000)

3 讨论

目前 CAG 被认为是一种癌前疾病及难治性消化系统疾病,受到消化学界的重视,也是研究热点之一。在古代文献中并无直接与 CAG 相对应的中医病名。中医学认为,萎缩性胃炎属中医胃痛、痞满、胃痞、虚痞等病的范畴^[3],临床研究表明,本病是以脾胃虚弱为本,肝胃不和、湿热郁结及气滞血瘀等为标的疾病^[4-6]。由于长期炎症刺激而致胃黏膜萎缩、肠上皮化

生和不典型增生等改变,与中医理论中“湿热蕴结”、“气滞血瘀”病理表现相一致。临床研究显示,治疗本病多以健脾益气治其本,清热解郁,活血化瘀治其标,健脾清热活血法贯穿疾病始终^[7-9]。

本研究所使用的治疗药物为健脾清热活血法代表方药胃萎清,它是由我院的院内制剂胃炎消发展而来,有一定的研究基础。胃炎消是广州中医药大学的国家“八五”攻关课题“中医

药治疗胃癌癌前病变的临床与实验研究”科研用药,通过数十年的临床与实验研究,表明胃炎消具有较好预防和治疗胃癌癌前病变的作用,临床治疗 CAG 效果较好^[9]。本课题组在刘凤斌教授的领导下,在胃炎消的研究基础上,继承历代医家学术经验,经长期临床实践,并结合 CAG 临床特点,从整体出发,不仅重视 CAG 病理改善,亦强调患者临床症状的改善,组成有“健脾化痰解毒”功效的方剂胃萎清。经过长期的临床观察,其临床疗效显著。该方由黄芪、白术、半枝莲、莪术、五指毛桃、枳壳组成,通中有补,补而不滞。全方诸药合用,共奏健脾清热活血之效,也契合 CAG “脾虚热毒血瘀”的病机。

本实验运用 MNNG 溶液自由饮用合饥饱失常法制造大鼠 CAG 模型,属双因素造模,其一是饥饱失常法,即喂食 1 天,而后禁食 1 天,如此循环,可造成脾虚证,符合 CAG 的脾胃虚弱本质;其二是适当浓度的 MNNG 饮用法,MNNG 属于“毒物”范畴,中医属性可归属于热毒之邪,热毒之邪流连,久而形成热毒血瘀之象,炎症刺激而致胃黏膜萎缩、肠上皮化生和不典型增生等改变,与中医理论中“湿热蕴结”、“气滞血瘀”病理表现相一致。因而,本造模方法符合中医理论,属“脾胃虚弱、热毒血瘀”的病证结合模型,与本研究设想的健脾清热活血治法相一致,与实验用药胃萎清所针对的病因病机一致。

本实验旨在通过观察 CAG 大鼠胃黏膜病理组织学改变以及超微结构的变化,初步探讨健脾清热活血中药对 CAG 的作用机制。本研究对壁细胞和主细胞的超微结构进行观察。结果提示胃萎清能改善 CAG 大鼠胃黏膜腺上皮主细胞和壁细胞超微结构,其中胃萎清高剂量组效果最明显。基于主细胞和壁细胞的主要功能,我们认为胃萎清改善 CAG 患者临床症状的机制之一是通过改善主细胞和壁细胞超微结构进而改善其分泌功能。

综上所述,胃萎清能改善胃黏膜腺上皮主细胞、壁细胞的超微结构及大鼠胃黏膜病理组织,从而影响胃酸及胃蛋白酶的分泌,起到一定的治疗作用,这为进一步系统研究胃萎

清奠定基础。

[参考文献]

- [1] 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, 2017, 22(11): 670-687.
- [2] Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, et al. WHO classification of tumours of the digestive system[M]. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2010(3): 1089.
- [3] 张声生, 李乾构, 唐旭东, 等. 慢性萎缩性胃炎中医诊疗共识意见[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2010, 18(5): 345-349.
- [4] 杜群, 王汝俊, 徐勤, 等. 活血化痰中药对慢性萎缩性胃炎大鼠细胞增殖及凋亡的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2003, 20(2): 136-139.
- [5] 劳绍贤, 许鑫梅, 周福生, 等. 胃炎消治疗胃癌癌前期病变疗效分析[J]. 中药新药与临床药理, 1997, 8(2): 72-75.
- [6] 葛文松, 刘杰民, 安祯祥, 等. 中医药对逆转慢性萎缩性胃炎病理变化的探讨[J]. 四川中医, 2004, 22(1): 19-20.
- [7] 孟华, 刘丽娜, 吕申. 胃癌及癌前病变中胃黏膜上皮细胞增生及凋亡相关基因蛋白表达[J]. 世界华人消化杂志, 2004, 12(2): 494-496.
- [8] 胡玲, 劳绍贤, 王建华. 胃炎消对胃癌癌前病变 bcl-2 癌基因 mRNA 表达的影响[J]. 上海中医药杂志, 2006, 40(1): 27-28.
- [9] 唐纯志, 劳绍贤, 胡玲, 等. 胃炎消治疗胃癌前病变对细胞凋亡及相关基因表达的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2000, 8(5): 263-264.

(责任编辑:冯天保,郑锋玲)