

猴头菌提取物颗粒对大鼠慢性萎缩性胃炎的预防作用

田汉文¹, 刘小康¹, 肖逸¹, 李佳励²

(¹四川大学, 华西医学中心基础与法医学院药理教研室, 四川 成都 610041)

(²四川大学, 华西临床医院急诊科)

慢性萎缩性胃炎 (chronic atrophic gastritis, CAG) 是胃部常见疾病, 癌变率较高。烈酒、阿司匹林等损害胃黏膜的多种因素均可导致慢性萎缩性胃炎的发生。猴头菌提取物颗粒 (*Hericium Erinaceus*, HE) 含有猴头多糖、多肽等, 对胃黏膜有保护作用, 临床已有猴头菌提取物颗粒治疗慢性萎缩性胃炎的研究报道^[1]。本实验研究猴头菌提取物颗粒 HE 对综合因素诱发的大鼠慢性萎缩性胃炎的干预作用, 并探讨其相关的预防机制。

1 材料

1.1 仪器与试剂

UV-9100 紫外分光光度计 (北京瑞利分析仪器公司); 猴头菌提取物颗粒 (山西康欣药业有限公司, 批号 070805031), 用前以纯化水稀释成相应浓度; 维酶素 Weimeisu (河北环海药业有限公司, 批号 20070505); MDA 测定试剂盒 (批号 20071031), SOD 测试盒 (批号 20070914), 以上试剂盒均由南京建成生物医学工程研究所提供; 去氧胆酸钠 (香港 SERVA 公司分装)。

1.2 实验动物

Wistar 大鼠 60 只, 体质量 (200±20) g, ♂, 标准饲料喂养 (动物及饲料均由四川大学华西医学中心实验动物中心提供, 医动字第 10 号)。

2 方法

2.1 动物分组、造模与处理

将 60 只♂Wistar 大鼠按体质量编号, 用随机数字表法设正常对照组 (10 只, 正常饲养,

不予造模), 其余 50 只大鼠, 采用综合因素诱发大鼠建立实验性慢性萎缩性胃炎 CAG 模型^[2,3]; 30%乙醇与 2%水杨酸混合液, 每周 3 次, 每次 10 ml/kg 灌胃; 10 mmol/L 去氧胆酸钠灌胃, 每周 2 次, 每次 10ml/kg, 灌胃; 0.05%氨水作为大鼠日常饮用水自由饮用; 结合主动免疫法每只大鼠足底注射同种大鼠胃黏膜与 Freund 佐剂以 1:1 配成乳剂抗原, 每次 0.3 ml, 3 周 1 次, 共 2 次, 并令其饥饿失常。连续造模 4 周后, 将 50 只动物, 随机分为模型对照组、猴头菌提取物颗粒 HE 高剂量组 (12g/kg)、HE 中剂量组 (6.0g/kg)、HE 低剂量组 (3.0g/kg)、维酶素对照组, 每组 10 只, 再继续造模 6 周, 每组在造模同时每天分别给予 0.85%氯化钠、猴头菌提取物颗粒 HE 12.6, 0, 3.0g/kg、维酶素 0.2 g/kg, 灌胃量 1ml/100g 体质量, 预防性给药观察 HE 对大鼠慢性萎缩性胃炎形成的影响。

2.2 标本制备与检测

各组动物于末次灌胃给药后, 禁食不禁水 24h, 1.5%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉, 腹主动脉抽血处死动物, 血液离心后取血清。同时在低温条件下快速取出胃, 沿胃大弯剪开, 剪取部分胃组织, 以冰冷的 0.85%氯化钠冲洗, 滤纸吸干, 称量, 用眼科剪尽快剪碎, 置于匀浆器中, 用胃组织重 9 倍的 0.85%氯化钠匀浆 (匀浆器的末端置于放冰块的冷水中), 3500 r/min 离心 10min。取上清液, 由专职人员严格按试剂盒说明书操作检测胃组织及血清 SOD 活性和 MDA 水平。

2.3 肉眼观察与光镜检查

每只动物剖开胃后,肉眼观察胃黏膜表面情况,然后在胃窦与胃体交界处各取组织2块,每块用10%甲醛溶液固定,常规脱水,石蜡包埋,连续切片,进行苏木精-伊红染色,显微镜下观察胃窦、胃体黏膜炎症情况。

2.4 统计学处理方法

所有数据均输入计算机,采用SPSS14.0统计软件处理,组间样本均数差异的比较选用F检验,在F检验有统计学意义时,进一步用q检验进行两两比较。

3 结果

3.1 肉眼观察

正常对照组胃黏膜呈粉红色,表面光滑,柔软,有光泽,黏膜皱襞清晰;模型对照组黏膜明显变薄,表面粗糙,无光泽,黏膜皱襞扁平有苍白色苔状物,皱襞有血丝,个别的有针尖样大小的糜烂灶,有的黏膜下发现树枝状血管纹。猴头菌提取物颗粒高剂量组:胃黏膜浅红色,有轻度水肿,黏膜皱襞较清晰,未见苔状物,未见出血点。猴头菌提取物颗粒中剂量组:胃黏膜暗红,有一定程度充血、水肿,黏膜皱襞见少量颗粒状物,无糜烂出血点。猴头菌提取物颗粒低剂量组:胃黏膜色泽发暗,黏膜皱襞见少量苍白色苔状物。维酶素组:黏膜色泽发暗略带灰白色,黏膜较薄。

3.2 各组光学显微镜观察

正常对照组:大鼠胃黏膜表面上皮细胞和胃小凹钻液细胞结构完整,腺体排列紧密规则,细胞成单层柱状,胞质透明或呈空泡状,

腺上皮与腺管分界清楚,腺胃部未见炎性细胞,黏膜小血管无损伤,上皮无充血、水肿(图1A)。

模型对照组:大鼠胃黏膜萎缩变薄,腺体数量减少,排列凌乱,间质内见多种炎性细胞,主要为淋巴细胞和浆细胞,上皮变性、坏死、脱落(图1B)。

猴头菌提取物颗粒高剂量组:大鼠胃黏膜上皮细胞及固有腺体排列较规则,少见黏膜上皮细胞脱落,腺体结构较完整,偶尔见炎性细胞。

猴头菌提取物颗粒中剂量组:大鼠胃黏膜上皮细胞及固有腺体排列较规则,见少许黏膜上皮细胞脱落,腺体结构基本完整,有一定炎性细胞浸润(图1C)。

猴头菌提取物颗粒低剂量组:大鼠胃黏膜固有腺体有断层,排列不太规则,部分黏膜上皮细胞脱落,炎性细胞浸润。

维酶素组:胃黏膜上皮细胞排列不规则,部分腺体有断层,有炎性细胞浸润,部分黏膜上皮细胞脱落等病理改变。

采用苏木精-伊红染色观察胃窦、胃体黏膜炎症程度并进行评分,在低倍镜下观察炎性细胞,轻度:炎性细胞浸润仅局限在胃黏膜上1/3;中度:炎性细胞浸润胃黏膜上2/3;重度:炎性细胞浸润胃黏膜全层、成堆聚集或形成淋巴滤泡。轻、中、重3度相应评为1~3分,每份标本按5个视野计算平均分作为炎症指数^[4]。见表1。



图1 光镜图($\times 100$)

A. 正常对照组;B. 模型对照组;C. 猴头菌提取物颗粒中剂量组

表1 各组大鼠胃窦、胃体黏膜炎症指数比较

($\bar{\chi} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量 g / kg	胃窦	胃体
模型组	0.85%NaCl	2.6 ± 0.8 ①	2.2 ± 0.8 ①
对照组	0.0	0.5 ± 0.3 ②	0.4 ± 0.2 ②
维酶素组	0.2	2.0 ± 0.8 ① ②	1.7 ± 0.7 ①
HE(高)	12.0	1.0 ± 0.4 ① ②	0.8 ± 0.5 ① ②
HE(中)	6.0	1.3 ± 0.5 ① ②	1.1 ± 0.6 ① ②
HE(低)	3.0	1.7 ± 0.6 ① ②	1.4 ± 0.6 ① ②

注：与正常对照组比较，^①P < 0.05；与模型对照组比较，^②P < 0.05

3.3 各组大鼠胃组织 SOD 活性、MDA 水平的比较 (表 2)

表 2 各组大鼠胃组织中 SOD 活性及 MDA 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量 g / kg	SOD U / mg	MDA mmol / mg
模型组	0.85%NaCl	128.1 ± 16.9 ①	10.8 ± 1.4 ①
对照组	0.0	196.4 ± 12.1 ②	5.8 ± 1.6 ②
维酶素组	0.2	155.5 ± 12.6 ②	8.2 ± 1.6
HE(高)	12.0	177.2 ± 8.8 ②	0.8 ± 0.5 ① ②
HE(中)	6.0	1.3 ± 0.5 ②	6.2 ± 1.3 ②
HE(低)	3.0	159.1 ± 11.0 ②	7.9 ± 1.6 ②

注：与正常对照组比较，^①P < 0.05；与模型对照组比较，^②P < 0.05

3.4 各组大鼠血清 SOD 活性、MDA 水平的比较 (表 3)

表 3 各组大鼠血清 SOD 活性及 MDA 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量 g / kg	SOD U / mg	MDA mmol / mg
模型组	0.85%NaCl	8.11 ± 0.7 ①	6.2 ± 0.6 ①
对照组	0.0	12.6 ± 0.7 ②	3.5 ± 0.5 ②
维酶素组	0.2	8.7 ± 1.3	5.2 ± 0.9
HE(高)	12.0	10.7 ± 0.6 ②	3.9 ± 0.5 ②
HE(中)	6.0	10.0 ± 0.8 ②	4.3 ± 0.8 ②
HE(低)	3.0	9.5 ± 0.9 ②	4.2 ± 0.8 ②

注：与正常对照组比较，^①P < 0.05；与模型对照组比较，^②P < 0.05

4 讨论

慢性萎缩性胃炎是一种胃黏膜慢性炎症，以黏膜腺体萎缩为特征。2006 年上海中国慢性胃炎共识关于胃黏膜萎缩的定义为“胃固有腺体减少，组织学上有 2 种类型：(1) 化生性萎缩即胃固有腺体被肠化或假幽门化生腺体替代；(2) 非化生性萎缩即胃黏膜层固有腺体被纤维组织或纤维肌性组织替代或炎性细胞浸润引起固有腺体数量减少”^[4]。多种因素如幽门螺旋杆菌 (HP) 感染，胆汁反流，长期服用阿司匹林、泼尼松、消炎镇痛药物等，以及相关疾病因素如糖尿病、恶性贫血，长期饮烈性酒等均可导致慢性萎缩性胃炎的发生。

本研究对大鼠采用水杨酸、乙醇、去氧胆酸钠灌胃、自由饮用氨水、免疫等综合因素建立大鼠慢性萎缩性胃炎模型，实验预防组在造模中用不同剂量的 HE 干预 CAG 的形成，以观察 HE 的预防作用。结果发现模型组大鼠病理学上表现为胃窦、胃体部黏膜组织出现大量炎性细胞浸润，以淋巴细胞和浆细胞为主；腺体减少、变薄、排列紊乱，有不同程度的萎缩，模型建立成功。而 HE 组各剂量 (12.0, 6.0, 3.0g/kg) 明显减轻了大鼠胃黏膜的炎症和腺体损伤，显著性地抑制了大鼠慢性萎缩性胃炎的发生 (P < 0.05)。

猴头菌提取物颗粒 (HE) 是山西康欣药业有限公司生产的猴头菌颗粒，本品经深层发酵提取，精炼而成。有效成分为猴头多糖、多肽含量高，临床治疗慢性萎缩性胃炎有效^[2]。本研究通过综合因素建立大鼠 CAG 模型，观察到高、中、低剂量猴头菌提取物颗粒能有效抑制大鼠慢性萎缩性胃炎发生。

氧自由基是一类具有高度化学活性的含氧基团，作为炎症递质与慢性胃炎有密切关系。在炎性细胞浸润过程中，氧自由基引起的脂质过氧化是组织损伤的主要原因。自由基的释放不仅可以通过脂质交联反应直接攻

击细胞膜，而且还可以攻击细胞核，引起 DNA 损伤。虽然少数碱基配对错误可以修复，但长期炎症作用可使错误遗传信息逐渐积累而最终导致癌变^[5]。CAG 可经肠上皮化生 (IM) 至不典型增生 (ATP) 最终演化为肠型胃癌，在这一演化模式中，氧自由基也发挥着作用。

目前 SOD 的防御和修复氧代谢产物的损伤作用得到了广泛研究。在正常情况下，SOD 是胃黏膜细胞的保护因子，具有清除氧自由基、抗胃黏膜上皮脂质过氧化，使氧自由基维持在低水平，不致造成胃黏膜上皮细胞的损伤；在病理情况下，机体通过酶系统和 (或) 非酶系统产生大量氧自由基，这些自由基能攻击生物膜磷脂中的多不饱和脂肪酸引发脂质过氧化，丙二醛 MDA 是脂质过氧化的最终分解产物，可与脂质过氧化中间产物胶联，使生物膜受损、蛋白质变性、DNA 损伤及细胞坏死。因此，MDA 水平是脂质过氧化物损伤效应的特征性指标^[6]。

本实验通过检测大鼠胃组织、血清 SOD 活性及 MDA 水平，结果发现 CAG 模型大鼠胃组织及血清 SOD 活性显著降低，胃组织及血清 MDA 水平显著升高，提示 CAG 模型大

鼠存在脂质过氧化；而猴头菌提取物颗粒干预后各剂量胃组织和血清 SOD 活性显著增高，MDA 水平显著降低 ($P < 0.05$)。实验结果说明，猴头菌提取物颗粒能够调整大鼠胃组织及血清氧自由基与抗氧化酶系统的平衡，对抗自由基的损伤作用，抑制脂质过氧化物反应，使胃黏膜得到保护并使病变逐渐修复，从而阻止 CAG 的发生。

参考文献

- [1] 李春梅. 谓葆治疗慢性萎缩性胃炎疗效观察[J]. 实用中医药杂志, 2006, 22(6): 364-365.
- [2] 姒健敏, 吴加国, 曹倩, 等. 鼠慢性萎缩性胃炎模型的建立及致萎缩因素探讨[J]. 中华消化杂志. 2001, 21(2): 75-79.
- [3] Xiang Zi, Si JM, Huang HD, et al. Chronic gastritis rat model and role of inducing factor [J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(21): 3212-3214.
- [4] 房静远, 刘文忠, 施尧, 等. 中国慢性胃炎共识意见[J]. 中华消化杂志, 2007, 27(1): 45-49.
- [5] 吴灵飞, 冯家琳, 苏剑东, 等. 胃舒散对大鼠慢性胃炎的治疗作用[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2007, 15(2): 88.
- [6] 李兰珍, 段永强, 朱向东, 等. 胃炎灵胶囊对慢性萎缩性胃炎模型大鼠氧化-抗氧化平衡的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2007, 15(5): 293-294.

