

# 养阴活胃合剂对 CAG 大鼠胃黏膜细胞 TLRs 及相关信号转导通路的影响

伊 凡<sup>1</sup> 何小艳<sup>1</sup> 郭红梅<sup>2</sup> 曾韦革<sup>1</sup> 柳 静<sup>1</sup> 曾斌芳<sup>3</sup>

(1 新疆医科大学研究生学院, 乌鲁木齐, 830011; 2 新疆医科大学附属中医医院, 乌鲁木齐, 830000; 3 新疆中医学院, 乌鲁木齐, 830011)

**摘要** 目的:观察养阴活胃合剂对 CAG 大鼠胃黏膜细胞 TLRs 及其信号转导通路的影响,揭示养阴活胃合剂治疗 CAG 的治疗途径与作用靶点,分别从分子水平、蛋白水平阐述养阴活胃合剂治疗 CAG 的作用机制,并通过测定炎症因子的变化情况观察养阴活胃合剂在抗炎方面的作用。方法:将实验动物随机分为 6 组:空白对照组、模型组、阳性药物对照组及中药低剂量组、中剂量组、高剂量组,每组 16 只。除空白对照组常规饲养、自由进食水之外,其余 5 组将 2 g 水杨酸钠加入 100 mL 的 30% 乙醇溶液中,给大鼠灌胃,1 次/d,3 mL/次,配合隔日喂食不禁水法建立大鼠萎缩性胃炎模型,模型复制成功后中药治疗低、中、高剂量组分别喂饲养阴活胃合剂水煎剂 0.74 g/kg·d、1.48 g/kg·d 和 2.22 g/kg·d。12 周后测定血清中白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、干扰素- $\beta$ (IFN- $\beta$ )诱导型一氧化氮合成酶(NOS2)四种炎症因子含量,测定 TLRs 及其下游转导元件 mRNA 及蛋白的含量。结果:养阴活胃合剂能够改善大鼠胃黏膜病理状态,使病变胃黏膜趋于正常。与空白对照组比较,各组炎症因子及 TLRs 及其下游信号转导元件蛋白及 mRNA 含量均明显升高( $P < 0.05$ ),证明模型复制成功。与模型组相比,中药高剂量组 TNF- $\alpha$ 、IL-6、NOS2 含量均明显降低,阳性药物对照组及各中药剂量组对 TLRs 及其下游信号转导元件蛋白及 mRNA 含量均有不同程度的降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。而各养阴活胃剂剂量组之间比较,中药中剂量组 IFN- $\beta$  降低,中药高剂量组 TLRs 及其下游信号转导元件蛋白及 mRNA 含量均有不同程度下降,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论:1)养阴活胃合剂可以通过调控 TLR 样受体及其下游转导元件基因及蛋白水平,降低因 TLRs 通路激活所释放的炎症因子对胃黏膜的损伤,从而达到治疗慢性萎缩性胃炎的目的。2)养阴活胃合剂可降低慢性萎缩性胃炎大鼠血清中炎症因子水平,而抑制炎症反应可能有助于慢性萎缩性胃炎病情的改善。

**关键词** 慢性萎缩性胃炎;养阴活胃合剂;TLRs 受体;转导元件;炎性因子

## Effects of Yangyin Huowei Mixture on TLRs Cells and Signal Transduction Pathway in Rats with Chronic Atrophic Gastritis

Yi Fan<sup>1</sup>, He Xiaoyan<sup>1</sup>, Guo Hongmei<sup>2</sup>, Zeng Weiping<sup>1</sup>, Liu Jing<sup>1</sup>, Zeng Binfang<sup>2</sup>

(1 Graduate Scholl of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2 Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, China; 3 College of Traditional Chinese medicine, Urumqi 830011, China)

**Abstract Objective:** To observe the effect of Yangyin Huowei mixture on gastric mucosal cells and TLRs signal transduction pathway of rats with Chronic Atrophic Gastritis(CAG). In addition, to reveal the mechanism of Yangyin Huowei mixture in the treatment of CAG from molecular level and protein level and its anti inflammation changes from inflammatory factors. **Methods:** To randomly divide the experimental rats into 6 groups: blank control group, model group, positive drug group, low dose of Chinese medicine group, medium dose group, and high dose group, with 16 rats in each group. Except for the blank control group, which was given conventional breeding and free access to food and water, the other groups were given 2 g sodium salicylate adding into 100 mL 30% ethanol solution, 1 time a day, each time 3 mL. With feeding on alternate days without water, the establishment of CAG rats model were successfully reproduced. Yangyin Huowei mixture of water decoction of 0.74 g/kg/d, 1.48 g/kg/d, and 2.22 g/kg/d were given respectively to low dose of Chinese medicine group, medium dose group, and high dose group. After 12 weeks, to determine the level of serum IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\beta$  and NOS2 inflammatory factor and measure the original TLRs and downstream transduction mRNA and protein content. **Results:** Yangyin Huowei mixture can improve CAG and gastric mucosa lesion. Compared with blank control group, inflammatory factor, TLRs and its downstream signal transduction proteins and mRNA content in each group were significantly increased ( $P < 0.05$ ), which proved that the models were reproduced successfully. Compared with model group, TNF- $\alpha$ , IL - 6, NOS2 levels of high dose group were significantly lower, and in positive drug control group and the traditional Chinese medicine dose group, TLRs and its downstream signal transduction proteins and mRNA content also reduced, be-

基金项目:国家自然科学基金“养阴活胃合剂治疗慢性萎缩性胃炎作用机制研究”(编号:81160431)

作者简介:伊凡(1989—),男,在读硕士,研究方向:中医肝胆脾胃疾病的研究

通信作者:曾斌芳,男,博士,教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:中医肝胆脾胃疾病的研究

sides, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). In the comparison among Chinese medicine groups, IFN- $\beta$  decreased in middle-dose group, and in high dose group, TLRs and its downstream signal transduction proteins and mRNA content declined, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** (1) Yangyin Huowei mixture can improve original sample TLR receptors and their downstream transduction genes and protein level, reduce the release of inflammatory factor by TLRs pathway activation, and thus to treat CAG. (2) Yangyin Huowei mixture can reduce the serum level of inflammatory factors of CAG, and this may contribute to the improvement of CAG.

**Key Words** Yangyin Huowei mixture; Chronic atrophic gastritis; TLRs receptor; Original transduction; Inflammatory cytokines  
中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.12.027

慢性萎缩性胃炎 (Chronic Atrophic Gastritis, CAG) 是慢性胃炎诸多分类中的一种, 是指胃黏膜上皮细胞遭受反复损害而导致镜下胃黏膜产生病理性改变的疾病, 具体病理表现为胃黏膜固有腺体减少, 伴或不伴纤维替代、肠腺化生和/或假幽门腺化生的一种慢性胃部疾病<sup>[1]</sup>。1978 年世界卫生组织将本病归为癌前状态或癌前疾病的范畴, 而在 CAG 基础上伴有上皮化生 (Intestinal Metaplasia, IM) 或异型增生 (Dysplasia, Dys) 等病理表现者, 转癌率高达 4% ~ 12%<sup>[2]</sup>。历代医家多将本病归属于“痞满”“噎气”“胃脘痛”和“嘈杂”等范畴。现代医家普遍认为 CAG 的发生是多种致病因素综合作用的结果, 但对 CAG 的发病机制尚无准确阐述。目前大多认为本病的发生与幽门螺旋杆菌 (Helicobacter Pylori, Hp) 感染<sup>[3]</sup>、胆汁返流<sup>[4]</sup>、免疫因素、低维生素饮食<sup>[5]</sup>、年龄及遗传因素有关<sup>[6]</sup>。近期研究表明, CAG 的发病除与上述致病因素相关外, 与胃黏膜营养因子缺乏、血管活性因子与胃黏膜微循环的改变、维生素缺乏、Toll 样受体 (TLRs) 启动的炎性信号通路等<sup>[7]</sup>均有一定相关性, 并且 CAG 患者胃黏膜某些基因的表达与健康人群存在一定差异, 提示 CAG 患者胃黏膜细胞在某些基因表达水平上处于相对不稳定状态, 并且与免疫机制的参与有关<sup>[8]</sup>。

TLRs (Toll-like Receptor, TLR) 是一类新近发现的模式识别受体 (Pattern Recognition Receptor, PRR), 参与人体先天性免疫, 在天然免疫反应中发挥着极为重要的作用, 它是人体抵御外来侵袭的第一道屏障<sup>[9]</sup>。免疫系统通过释放多种细胞因子和化学因子来保护脏器抵御不同的损伤, 而 TLRs 又能通过激活信号转导通路而释放大量的炎性因子, 产生一系列疾病。微生物感染机体时, TLRs 启动的炎性信号通路诱导相关基因表达, 产生炎症反应<sup>[10]</sup>。研究发现, 大鼠消化系黏膜上结构性表达主要有 TLR2 及 TLR4, 其中 TLR4 主要在远端结肠和胃表达, 而 TLR2 主要在近端结肠上表达, 髓样分化因子 88 (MyD88) 是 TLRs 转导通路中关键的转接分子, 是

TLRs 信号转导通路中的关键靶分子, 并且它在整个消化系统表达一致<sup>[11]</sup>。由 MyD88 承接的转导途径称为 MyD88 依赖途径, 是几乎所有 TLRs (TLR3 除外) 信号转导的共同通路, 这一信号通路能调节多种炎症相关基因的表达, 促进 TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6 等炎症细胞因子大量释放, 最终对相关脏器受到损伤<sup>[12-13]</sup>。Myd88 非依赖途径由  $\beta$  干扰素 TIR 结构域衔接蛋白 (TRIF) 联接, 主要存在于 TLR3 和 TLR4 通路中, TLR3 可以直接绑定 TRIF, 而 TLR4 则是以 TRIF 相关接头分子 (TRAM) 作为桥梁间接招募 TRIF 从而释放大量的炎症因子, 产生炎症反应<sup>[14-15]</sup>。

本课题采用现代药理学的先进方法和技术, 在养阴活胃合剂药效学实验和临床疗效的基础之上, 以治疗慢性萎缩性胃炎的常用药物维酶素为阳性对照, 观察在养阴活胃合剂的作用下, CAG 大鼠胃黏膜细胞 TLRs 及其信号转导通路会产生怎样的变化, 以揭示养阴活胃合剂治疗 CAG 的治疗途径与作用靶点, 分别从基因水平、蛋白水平阐述养阴活胃合剂治疗 CAG 的作用机制, 并通过测定炎症因子的变化情况观察养阴活胃合剂在抗炎方面的作用, 揭示其防治 CAG 的科学内涵。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物 清洁级 (SPF) 成年雄性 Wistar 大鼠 96 只, 质量 150 ~ 200 g (由新疆医科大学实验动物中心提供 [使用许可证号: SYXK (新) 2003-0001])。

1.2 仪器 主要试剂与仪器: DAB 显色试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司, 批号: BD205), TRAM1 (A-15): Sc-87481, Anti-TRIF Antibody (ab13810), Anti-NF- $\kappa$ B antibody (ab16502), TRNzol 总 RNA 提取试剂 (田根生化科技有限公司, 批号 DP405-2), 2 × Taq PCR Master Mix (田根生化科技有限公司, 批号: KT201-02), TGLI8C 冷冻离心机 (长沙市英泰仪器有限公司), BIO-RAD 实时荧光定量 PCR 仪 (No. 785BR04374), 相关检测试剂盒 (武汉优尔生科技股份有限公司生产)。

1.3 受试药物 中药养阴活胃合剂(阿魏、芦根、海螵蛸、茯苓、砂仁、莪术、炙甘草、鸡内金、炙远志、白术、旋覆花等)由新疆维吾尔自治区中医药研究院提供。维酶素片(湖北绿金子药业有限责任公司生产,批号:120901)。

2 方法

2.1 造模 将96只实验大鼠随机分为6组:空白对照组、模型组、阳性药物(维酶素)对照组及中药高剂量组、中药中剂量组、中药低剂量组,每组16只。大鼠标准颗粒饲料适应性喂养1周,空白对照组大鼠自由进食水、常规饲养,其余5组大鼠均予以造模因素复制CAG大鼠模型,具体方法如下:将2g水杨酸钠加入100mL的30%乙醇溶液中灌胃,1次/d,1mL/100g,并于灌胃前1h禁水、禁食,复制CAG大鼠模型,所有大鼠在施加造模因素的同时配合隔日禁食不禁水法<sup>[25]</sup>。模型复制12周后结束,每组随机处死2只大鼠,取胃黏膜病理以判断CAG模型是否复制成功,参照《2000年全国慢性胃炎研

讨会》制定的病理学诊断标准进行评价。

2.2 给药 模型复制成功后,空白对照组喂饲生理盐水,模型组继续施以上述造模因素,中药治疗低、中、高剂量组分别喂饲养阴活胃合剂水煎剂0.74g/kg·d、1.48g/kg·d和2.22g/kg·d,根据人与动物之间给药剂量换算标准,灌胃量如下:低剂量:1.8mL/kg·d,中剂量:3.6mL/kg·d,高剂量:7.2mL/kg·d。对照组予维酶素0.86g/kg·d灌胃,共12周。

2.3 检测指标 胃黏膜病理采用苏木素-伊红(HE)染色法,胃黏膜TLRs及其下游信号转导元件MyD88、TRAF6、TRIF、TRAM、mRNA测定采用Real-time PCR法,胃黏膜TLRs及其下游信号转导元件MyD88、TRAF6、TRIF、TRAM蛋白表达的测定采用免疫组织化学法,炎症因子TNF-α、IFN-β、IL-6、NOS2的测定采用ELISA法,采用逆转录合成cDNA使用Thermo反转录试剂盒,上下游引物序列见表1。

表1 上下游引物序列

引物名称	扩增片段长度	引物序列
MyD88	169bp	上游5'-TACATACGCAACCAGCAGAAAC-3'/下游5'-TATCATTGGGGCAGTAGCAGAT-3'
TRAF6	192bp	上游5'-AATAAGGCAAAACCACGAAGAG-3'/下游5'-ATGTCAAAGCGGTAGAGACTT-3'
TRIF	207bp	上游5'-TGCTACCTACAAGTGCATCT-3'/下游5'-TTCCCTTTTACCATACAAGTG-3'
TRAM	207bp	上游5'-CATCTTTGTGCGCCCTTCAGTA-3'/下游5'-CTGTGCTTCGTTTGGAGAA-3'
TLR2	346bp	上游5'-GCTCTGTGAACTCCTGTCC-3'/下游5'-GAATCCTGCTCCTGTAGG-3'
TLR4	303bp	上游5'-TGGCATCATCTTCATTGTCC-3'/下游5'-TCCACAGCAGAAACCCAGA-3'

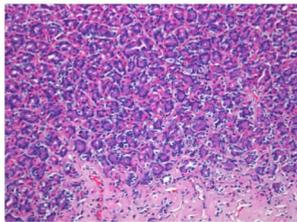


图1 空白对照组 (HE × 200 倍)

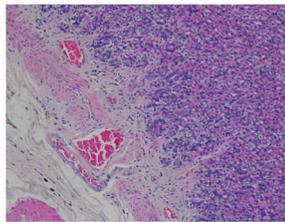


图2 模型组 (HE × 200 倍)

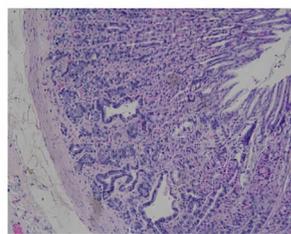


图5 中药中剂量组 (HE × 200 倍)

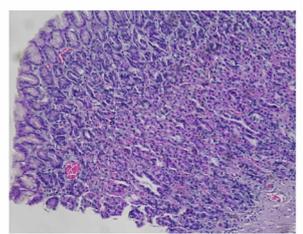


图6 中药低剂量组 (HE × 200 倍)

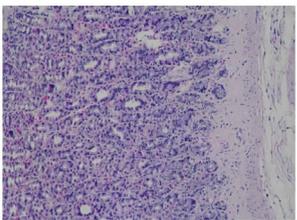


图3 阳性药物对照组 (HE × 200 倍)

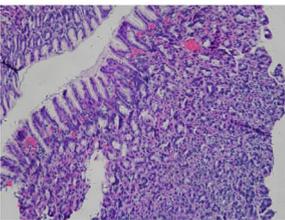


图4 中药高剂量组 (HE × 200 倍)

2.4 统计学方法 各数据均采用SPSS 17.0软件进行统计学分析,计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,经正态性及方差齐性检验,服从正态且方差齐,则采用单因素方差分析进行统计分析,若方差不齐则进行转换后采用单因素方差分析进行统计分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 病理组织学改变 HE染色结果显示空白对

对照组大鼠胃黏膜上皮完整,固有膜内血管纤维间质正常,细胞呈单柱状,可见排列整齐的腺体,黏膜固有层可见少量嗜酸性粒细胞散在,无增生和化生现象,肌层无明显变化(图 1)。模型组大鼠胃黏膜上皮表面可见坏死上皮细胞;腺体有不同程度的萎缩或不完全型增生,腺体间隙增宽,肠化;黏膜变薄,黏膜固有层内见较多炎性细胞,毛细血管充血,血管扩张,肌层变薄(图 2)。阳性药物对照组大鼠胃黏膜较薄,可见腺体数量减少,排列稀疏,间质有淋巴细胞局灶性浸润(图 3)。中药高剂量组胃黏膜较阳性药物对照组完整,腺体排列较整齐,可见散在淋巴细胞浸润,未见肠化(图 4)。中药中剂量组胃黏膜较阳性药物对照组完整,腺体数量略有减少,腺体排列较整齐,间质有淋巴细胞浸润,未见肠化(图 5)。中药低剂量组胃黏膜较薄,腺体数量减少,排列较稀疏,可见不同程度的萎缩,固有层可见散在淋巴细胞浸润,未见肠化(图 6)。

**3.2 胃黏膜 TLR2、TLR4 mRNA 及蛋白的测定** 与空白对照组相比,模型组 TLR2、TLR4 蛋白及 mRNA 含量均明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明大鼠胃黏膜在酒精刺激下,TLR2 及 TLR4 基因及蛋白表达水平均有明显升高;与模型组相比,阳性药物对照组、中药高剂量组、中药中剂量组及中药低剂量组 TLR2、TLR4 mRNA 及蛋白含量均明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明以上干预因素对 CAG 大鼠胃黏膜的 TLR2 及 TLR4 含量有下调作用;与阳性药物对照组相比,中药高剂量组 TLR2 蛋白及 mRNA 含量均降低,中药高剂量 TLR4 mRNA 含量降低,中药中剂量组 TLR4 蛋白含量降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明高剂量养阴活胃合剂对 TLR2、TLR4 蛋白及 mRNA 含量的下调作用优于阳性对照药物维酶素,而中剂量养阴活胃合剂对 TLR4 蛋白的下调作用更明显;养阴活胃各剂量组之间比较,中药高剂量组对 TLR2、TLR4 mRNA 及蛋白的下调作用更为明显。见表 2。

### 3.3 胃黏膜 TRIF、TRAM mRNA 及蛋白的测定

与空白组比较,TRIF、TRAM mRNA 及蛋白含量均明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明造模因素造成大鼠胃黏膜 TRIF、TRAM 基因及蛋白含量升高;与模型组相比,中药高剂量组、阳性药物对照组 TRIF 及 TRAM mRNA 含量明显降低,中药中剂量组 TRIF 蛋白含量明显降低,中药高剂量组 TRAM 蛋白含量明显降低,差异有统计学意义

( $P < 0.05$ ),说明中药养阴活胃合剂和维酶素均可对 TRIF 及 TRAM mRNA 产生下调作用;与阳性药物对照组相比,中药中剂量组 TRIF 蛋白含量明显降低,中药高剂量组 TRAM 蛋白含量明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明中剂量养阴活胃合剂对 TRIF 蛋白调控更明显,高剂量养阴活胃合剂对 TRAM 蛋白的调控更加明显,而中药养阴活胃合剂对 TRIF 及 TRAM mRNA 的调控与阳性药物维酶素相当;与中药高剂量组相比,其他两个剂量组对 TRIF、TRAM mRNA 及 TRAM 蛋白的调控不及高剂量养阴活胃合剂,而中剂量养阴活胃合剂对 TRIF 蛋白的调控优于高剂量。见表 3。

### 3.4 胃黏膜 MyD88、TRAF6 mRNA 及蛋白的测定

与空白组比较,MyD88、TRAF6mRNA 及蛋白含量均明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明造模因素造成大鼠胃黏膜 MyD88、TRAF6 基因及蛋白的水平升高;与模型组相比,阳性药物对照组、中药高剂量组、中药中剂量组、中药低剂量组 MyD88、TRAF6mRNA 含量降低,中药高剂量组、中药中剂量组及中药低剂量组 MyD88 蛋白含量降低,中药高剂量组及中药中剂量组 TRAF6 蛋白含量降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明养阴活胃合剂水煎剂和阳性对照药物维酶素对 MyD88、TRAF6mRNA 及蛋白水平均有不同程度的下调作用;与阳性药物对照组相比,中药高剂量组 MyD88、TRAF6mRNA 含量降低,中药高剂量组 MyD88 蛋白含量明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明高剂量养阴活胃合剂对 MyD88、TRAF6 mRNA 的调控优于维酶素,对 MyD88 蛋白的调控亦优于维酶素;各不同剂量的中药对以上转导元件的影响以中药高剂量组更加明显。见表 4。

### 3.5 炎症因子 IFN- $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、NOS2 的测定

模型组大鼠血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\beta$  及 NOS2 与空白对照组大鼠相比均有所升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),证明模型复制成功,大鼠有明显的炎症存在;而养阴活胃合剂可使大鼠血清中 4 种炎症因子均有所降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),其中又以养阴活胃合剂高剂量组降低更为明显,说明养阴活胃合剂可降低 CAG 大鼠血清中炎症因子水平。见表 5。

## 4 讨论

目前有关 CAG 的流行病学资料较少,但目前比较一致的看法是本病在胃癌高发地如东亚、东欧、南美等地区多发,且患病人群变异性较大,CAG 及肠

表2 CAG大鼠胃黏膜TLR2、TLR4 mRNA及蛋白的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	TLR2/ $\beta$ -Actin	F值	TLR4/ $\beta$ -Actin	F值	TLR2蛋白	F值	TLR4蛋白	F值
空白对照组	14	0.92 $\pm$ 0.37	127.83	1.60 $\pm$ 0.15	106.57	13.77 $\pm$ 1.35	43.49	17.34 $\pm$ 1.67	39.40
模型组	11	2.55 $\pm$ 0.11 *		2.17 $\pm$ 0.08 *		19.25 $\pm$ 1.35 *		24.95 $\pm$ 2.23 *	
阳性药物对照组	13	1.95 $\pm$ 0.19 * $\Delta$		1.95 $\pm$ 0.01 * $\Delta$		16.28 $\pm$ 1.98 * $\Delta$		21.10 $\pm$ 1.54 * $\Delta$	
中药高剂量组	13	1.85 $\pm$ 0.04 * $\Delta$ $\blacktriangle$		1.66 $\pm$ 0.21 * $\Delta$ $\blacktriangle$		15.66 $\pm$ 1.06 * $\Delta$ $\blacktriangle$		19.76 $\pm$ 1.68 * $\Delta$ $\blacktriangle$	
中药中剂量组	13	1.91 $\pm$ 0.06 * $\Delta$ $\blacktriangle$		1.70 $\pm$ 0.41 * $\Delta$ $\blacktriangle$		16.17 $\pm$ 0.71 * $\Delta$		21.73 $\pm$ 2.76 * $\Delta$	
中药低剂量组	12	1.91 $\pm$ 0.03 * $\Delta$ $\blacklozenge$		1.93 $\pm$ 0.04 * $\blacklozenge$		18.96 $\pm$ 1.14 * $\Delta$ $\blacklozenge$		21.80 $\pm$ 3.95 * $\Delta$ $\blacklozenge$	

注:n为各组大鼠数量;与空白对照组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$ ;与阳性对照组比较, $\blacktriangle P < 0.05$ ;与高剂量组比较, $\blacklozenge P < 0.05$ 。

表3 CAG大鼠胃黏膜TRIF、TRAM mRNA及蛋白的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	TRIF/ $\beta$ -Actin	F值	TRAM/ $\beta$ -Actin	F值	TRIF蛋白	F值	TRAM蛋白	F值
空白对照组	14	1.06 $\pm$ 0.04	47.65	1.07 $\pm$ 0.05	55.31	6.73 $\pm$ 0.92	107.66	7.99 $\pm$ 1.58	39.863
模型组	11	3.82 $\pm$ 0.70 *		3.74 $\pm$ 0.46 *		13.49 $\pm$ 2.12 *		12.93 $\pm$ 2.07 *	
阳性药物对照组	13	2.22 $\pm$ 0.57 * $\Delta$		2.14 $\pm$ 0.40 * $\Delta$		9.91 $\pm$ 1.07 * $\Delta$		10.86 $\pm$ 2.47 * $\Delta$	
中药高剂量组	13	2.67 $\pm$ 0.89 * $\Delta$		2.37 $\pm$ 0.45 * $\Delta$		13.20 $\pm$ 1.14 * $\Delta$ $\blacktriangle$		10.33 $\pm$ 1.39 * $\Delta$	
中药中剂量组	13	2.91 $\pm$ 0.54 * $\Delta$ $\blacklozenge$		2.85 $\pm$ 0.65 * $\Delta$ $\blacklozenge$		7.44 $\pm$ 0.97 * $\Delta$ $\blacklozenge$		11.84 $\pm$ 1.68 *	
中药低剂量组	12	3.40 $\pm$ 0.53 * $\Delta$ $\blacklozenge$		3.03 $\pm$ 0.67 * $\Delta$ $\blacklozenge$		13.04 $\pm$ 1.56 * $\Delta$ $\blacklozenge$		12.69 $\pm$ 1.89 * $\Delta$ $\blacklozenge$	

注:n为各组大鼠数量;与空白对照组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$ ;与阳性对照组比较, $\blacktriangle P < 0.05$ ;与高剂量组比较, $\blacklozenge P < 0.05$ 。

表4 CAG大鼠胃黏膜TRAF6、MyD88 mRNA及蛋白的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	MyD88/ $\beta$ -Actin	F值	TRAF6/ $\beta$ -Actin	F值	MyD88	F值	TRAF6	F值
空白对照组	14	1.14 $\pm$ 0.17	56.74	1.35 $\pm$ 0.11	39.98	10.29 $\pm$ 1.33	127.83	6.88 $\pm$ 1.62	92.37
模型组	11	2.24 $\pm$ 0.21 *		2.23 $\pm$ 0.22 *		21.37 $\pm$ 3.27 *		18.05 $\pm$ 1.78 *	
阳性药物对照组	13	1.16 $\pm$ 0.18 * $\Delta$		1.62 $\pm$ 0.19 * $\Delta$		16.83 $\pm$ 2.31 * $\Delta$		14.32 $\pm$ 3.01 * $\Delta$	
中药高剂量组	13	1.07 $\pm$ 0.14 * $\Delta$ $\blacktriangle$		1.42 $\pm$ 0.10 * $\Delta$ $\blacktriangle$		14.63 $\pm$ 1.47 * $\Delta$ $\blacktriangle$		14.55 $\pm$ 3.06 * $\Delta$	
中药中剂量组	13	1.44 $\pm$ 0.06 * $\Delta$ $\blacklozenge$		1.48 $\pm$ 0.04 * $\Delta$		15.09 $\pm$ 1.23 * $\Delta$		15.06 $\pm$ 2.72 * $\Delta$	
中药低剂量组	12	1.16 $\pm$ 0.06 * $\Delta$ $\blacklozenge$		1.62 $\pm$ 0.36 * $\Delta$ $\blacklozenge$		17.31 $\pm$ 2.11 * $\Delta$ $\blacklozenge$		17.36 $\pm$ 1.86 * $\Delta$ $\blacklozenge$	

注:n为各组大鼠数量;与空白对照组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$ ;与阳性对照组比较, $\blacktriangle P < 0.05$ ;与高剂量组比较, $\blacklozenge P < 0.05$ 。

表5 CAG大鼠血清IFN- $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、NOS2的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	IFN- $\beta$ (ng/mL)	F值	TNF- $\alpha$ (ng/mL)	F值	IL-6(ng/mL)	F值	NOS2(ng/mL)	F值
空白对照组	14	37.80 $\pm$ 3.40	27.63	20.34 $\pm$ 1.37	42.38	36.28 $\pm$ 3.05	75.38	80.14 $\pm$ 10.82	35.66
模型组	11	49.71 $\pm$ 3.51 *		25.36 $\pm$ 1.12 *		46.29 $\pm$ 10.29 *		91.26 $\pm$ 9.71 *	
阳性药物对照组	13	46.35 $\pm$ 4.02 * $\Delta$		24.22 $\pm$ 1.61 * $\Delta$		46.97 $\pm$ 4.56 *		93.38 $\pm$ 14.76 *	
中药高剂量组	13	44.64 $\pm$ 2.71 * $\Delta$ $\blacktriangle$		23.73 $\pm$ 1.83 * $\Delta$		41.79 $\pm$ 3.75 * $\Delta$ $\blacktriangle$		83.66 $\pm$ 9.56 * $\Delta$	
中药中剂量组	13	45.23 $\pm$ 1.94 * $\Delta$		24.75 $\pm$ 1.26 * $\blacklozenge$		43.01 $\pm$ 4.53 *		89.91 $\pm$ 6.98 *	
中药低剂量组	12	48.51 $\pm$ 3.03 *		25.26 $\pm$ 1.67 *		45.08 $\pm$ 6.19 *		92.22 $\pm$ 8.83 *	

注:n为各组大鼠数量;与空白对照组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$ ;与阳性对照组比较, $\blacktriangle P < 0.05$ ;与高剂量组比较, $\blacklozenge P < 0.05$ 。

化的患病率相对较高,且无明显性别差异;我国自开展电子胃镜和纤维胃镜检查以来,CAG检出率出现上升趋势,占胃镜受检患者总数的7.5%~13.8%,而在全世界范围内老年人发病率更高,且发病率与年龄呈正相关,国际卫生组织调查发现20~50岁患病率仅10%左右,而51~65岁则高达50%以上<sup>[16-17]</sup>。

本课题中空白对照组大鼠胃黏膜上皮完整,细胞排列整齐,无上皮细胞脱落或缺损,固有层腺体排列整齐,形状规则,仅见少量散在淋巴细胞浸润,黏膜平滑肌呈环形排列,黏膜下层及浆膜层少数血管扩张充血。模型组大鼠胃黏膜上皮表面可见坏死脱落的上皮细胞,腺体不同程度的萎缩减少及肠上皮化生,局部腺体有异常增生,表现为腺体形状不规

则,呈囊泡状及异性增生,腺体排列较紧密,层次增多,固有膜见散在淋巴细胞浸润,毛细血管明显扩张充血,肌层变薄。阳性药物对照组胃黏膜较薄,腺体数量减少,排列稀疏,间质有淋巴细胞局灶性浸润。中药高剂量组胃黏膜较阳性药物对照组完整,腺体排列较整齐,可见散在淋巴细胞浸润,未见肠化。中药中剂量组和中药低剂量组可见胃黏膜较薄,腺体数量减少,排列较稀疏,可见不同程度的萎缩,固有层可见散在淋巴细胞浸润,未见肠化。本研究结果提示养阴活胃合剂能够改善大鼠胃黏膜病理状态,使病变胃黏膜趋于正常。结果表明,养阴活胃合剂可以使慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜病理趋于正常,并且能够下调胃黏膜 TLR2、TLR4 mRNA 及蛋白水平,并且能够使 TLRs 转导通路中下游转导元件 mRNA 及蛋白含量降低,尤其抑制了 MyD88 依赖型通路中的转导元件 mRNA 及蛋白的表达,使炎症因子水平降低,达到治疗慢性萎缩性胃炎的目的。

CAG 是一种以胃黏膜变薄甚至萎缩、固有腺体减少或消失为病理特征的慢性胃病,病理检查可见伴有肠上皮化生、不典型增生等特征,因本病临床症状不典型,故临床诊疗过程中与慢性浅表性胃炎难以区别,但本病危害较浅表性胃炎更重,特别是胃黏膜萎缩并伴有肠上皮化生或不典型增生者有发展成胃癌的倾向<sup>[26]</sup>。CAG 是多种病理因素综合作用的结果,西医目前对本病的治疗以对症治疗、消除病因为主,尚无明确报道指出某种药物能够使已经萎缩的胃黏膜恢复正常。中医药是前代医家留给我们的宝贵财富,中医在其整体观念、辨证论治的思维方法指导下,对本病的治疗有着独到的优势。祖国传统医学以四诊合参、辨证施治为诊疗特点,因人而异,辨证论治,在对症治疗 CAG 消除症状方面有着独到的优势。导师曾斌芳教授结合多年临床经验,在中医养阴活血、化痰和胃原则下,结合多年临床经验,精选芦根、白术、鸡内金、乌贼骨、莪术、牡丹皮、旋覆花、炙远志、砂仁、茯苓、炙甘草等药,组成用于治疗 CAG 所致的胃痛、胃痞的养阴活胃合剂,临床疗效颇佳。组方中芦根“性甘、味寒,归肺、胃经”,功能清热除烦、生津止呕、利尿。既可养阴、治疗“燥化”症状,又可用于和胃降逆,故为君药;臣药配伍莪术、牡丹皮、海螵蛸取其活血滋阴之意,同时配伍白术、茯苓益气健脾,化湿助运;佐以旋覆花、炙远志疏理肝气,化痰通络,鸡内金、砂仁、阿魏健脾和胃,消食

化积,炙甘草为方中使药,起到调和诸药的作用。

#### 参考文献

- [1] 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 慢性胃炎中西医结合诊疗共识意见(2011·天津)[J]. 现代消化及介入治疗, 2012, 17(3): 172-177.
- [2] 中华中医药学会脾胃病分会. 慢性萎缩性胃炎中医诊疗共识意见[J]. 中医杂志, 2010, 51(8): 749-753.
- [3] Van Doorn LJ, Henskens Y, Nouhan N. The efficacy Laboratory diagnosis of Helicobacter pylori infect in gastric biopsy specimens in related to bacterial density and VacA CagA and ice A genotypes[J]. Clin Microbiol, 2000, 38(1): 13-17.
- [4] 林金坤, 曾志荣, 高修红. 十二指肠胃返流与胃黏膜炎症关系探讨[J]. 中华消化杂志, 2004, 24(2): 87-90.
- [5] 张沥, 张冷霞, 徐俊荣, 等. 热盐水致胃黏膜细胞凋亡及对热休克蛋白表达影响[J]. 世界华人消化杂志, 2003, 11(12): 2038-2041.
- [6] Thye T, Burchard GD, Niluis M, et al. Genome wide link age analysis identifies polymorphism in the human interferon-receptor affecting Helicobacter Pylori infection[J]. Am J Hum Genet, 2003, 72(2): 448-453.
- [7] Osamu Takeuchi, Shizuo Akira. Pattern recognition receptors and inflammation[J]. Cell, 2010, 140(16): 805.
- [8] 陈胜良, 萧树东. 萎缩性胃炎与非萎缩性胃炎胃黏膜共同表达谱的对照研究[J]. 中华消化杂志, 2003, 23(5): 297-300.
- [9] Maizels RM. Infections and auey · helminths, hygiene and host immune regulation[J]. Current Opinion Immunol, 2005, 17(6): 656.
- [10] 姜华姜, 玉姬. 益气活血复方对 Toll 样受体 4 信号转导通路及下游炎症因子的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(2): 219.
- [11] 罗兵, 李涛, 徐元宏. Toll 样受体的信号转导及抗感染免疫研究进展[J]. 免疫学杂志, 2011, 27(2): 165-169.
- [12] Ortega-Cava CF, Ishihara S, Rumi MA, et al. Strategic compartmentalization of Toll-like receptor 4 in the mouse gut[J]. Immunol, 2003, 170(8): 3977-3985.
- [13] Michael H, Koguta, Muhammad Iqba, et al. Expression and function of Toll-like receptors in chicken heterophils[J]. Developmental and Comparative Immunology, 2005(29): 791.
- [14] 解鸿翔, 周红. 信号分子 TRIF 的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2012, 28(2): 217-219.
- [15] 叶慧慧, 张咏梅. Toll 样受体与消化系统损伤的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(22): 2339-2343.
- [16] 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(2009, 深圳)[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2010, 18(5): 345-348.
- [17] 中华中医药学会脾胃病分会. 慢性萎缩性胃炎中医诊疗共识意见[J]. 中医杂志, 2010, 51(8): 749-753.