

疏肝和胃降逆汤对胃食管反流病肝胃不和证患者食管黏膜蛋白酶激活受体-2 及环氧合酶-2 蛋白表达的影响

马乾章¹ 刘鹏² 白光¹

(1 辽宁中医药大学附属医院脾胃病科, 沈阳, 110033; 2 辽宁中医药大学实验中心教研室, 沈阳, 110033)

摘要 目的:探讨疏肝和胃降逆汤对胃食管反流病(GERD)肝胃不和证患者食管黏膜蛋白酶激活受体-2(PAR-2)及环氧合酶-2(COX-2)蛋白表达的影响。方法:选取2015年1月至2016年1月辽宁中医药大学附属医院收治GERD患者178例作为研究对象,以随机数表法分为观察组和对照组,每组89例。2组均给予奥美拉唑肠溶片治疗,观察组在此基础上给予疏肝健脾和胃方治疗。观察2组基线期和治疗后12周(治疗后)反流性疾病问卷(RDQ)症状积分及食管黏膜PAR-2及COX-2蛋白表达变化。结果:基线期,2组RDQ症状积分、食管黏膜PAR-2及COX-2蛋白表达基本相同,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,观察组RDQ症状积分、食管黏膜PAR-2及COX-2蛋白表达显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。观察组RDQ症状积分与食管黏膜PAR-2及COX-2蛋白表达正相关($P < 0.05$),对照组RDQ症状积分与食管黏膜PAR-2及COX-2蛋白表达无明显相关性($P > 0.05$)。结论:奥美拉唑肠溶片联合温阳活血汤治疗胃食管反流病肝胃不和证具有较好的疗效,其机制可能是通过降低患者食管黏膜PAR-2及COX-2蛋白表达而起治疗作用。

关键词 疏肝和胃降逆汤;胃食管反流病;中医辨证;蛋白酶激活受体-2;环氧合酶-2;肝胃不和证;蛋白表达;信号通路

Effects of Shugan Hewei Jiangni Decoction on Esophageal Mucosal of PAR-2 and COX-2 Protein in Patients with Gastroesophageal Reflux Disease and with Disharmony between Liver and Stomach Syndrome

Ma Qianzhang¹, Liu Peng², Bai Guang¹

(1 Department of Spleen and Stomach, Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110033, China; 2 Teaching and Research Center of Experimental Center, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110033, China)

Abstract Objective: To explore the effects of Shugan Hewei Jiangni Decoction on protease activated receptor-2 (PAR2) and Cyclooxygenase-2 (COX-2) protein in patients with gastroesophageal reflux disease (GERD) and with disharmony between liver and stomach syndrome. **Methods:** A total of 178 patients with GERD were selected, from January 2011 to January 2016 in the Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, as the research subjects. And they were randomly divided into the observation group and the control group, with 89 cases in each group. Patients of the two groups were both given with Omeprazole Enteric-coated Tablets for the treatment. And Shugan Hewei Jiangni Decoction was added in the observation group. Changes in symptom score of Reflux diagnostic questionnaire (RDQ), esophageal mucosal of PAR-2 and COX-2 protein in the two groups were observed at baseline phase and 12 week after treatment. **Results:** During the baseline phase, symptom score of RDQ, esophageal mucosal of PAR-2 and COX-2 protein in the two groups was basically the same. And there was no significant difference ($P > 0.05$); After treatment, symptom score of RDQ, esophageal mucosal of PAR-2 and COX-2 protein of the observation group was significantly lower than control groups, and it was statistically significant ($P < 0.05$). Pearson correlation coefficient showed that symptom score of RDQ in the observation group were positive correlated with esophageal mucosal of PAR-2 and COX-2 ($P < 0.05$), while symptom score of RDQ in the control group were not correlated with esophageal mucosal of PAR-2 and COX-2 protein esophageal mucosal of PAR-2 ($P > 0.05$). **Conclusions:** Omeprazole Enteric-coated Tablets combined with Wenyang Huoxue Decoction has good efficacy in treating gastroesophageal reflux disease and disharmony between liver and stomach syndrome. The mechanism may be associated with reducing patients' esophageal mucosal of PAR-2 and COX-2 protein, to get clinical efficacy.

Key Words Shugan Hewei Jiangni Decoction; Gastroesophageal reflux disease; TCM differentiation; PAR-2; COX-2; Disharmony between liver and stomach syndrome; Protein expression; Signaling pathways

中图分类号: R289.5 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2018.10.032

基金项目: 沈阳市卫生局科研基金项目 (WSJ/KJC-01-JL-01)

作者简介: 马乾章 (1970.11—), 男, 博士研究生, 副主任医师, 研究方向: 中西医结合消化系统疾病, E-mail: mqz1970@163.com

肝和胃降逆汤对胃食管反流病(GERD)是临床上的常见多发慢性疾病,可影响患者生命质量^[1-2]。一项流行病学研究显示:我国GERD发病率为2.0%~6.2%^[3]。前期,我院在中医学理论指导下,采用疏肝和胃降逆汤治疗GERD肝胃不和证获得良好疗效。为进一步阐明其临床机制,本研究尝试从分子生物学角度探讨疏肝和胃降逆汤治疗GERD肝胃不和证的可能机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2015年1月至2016年1月我院收治178例GERD患者作为研究对象,以随机数表法分为观察组和对照组,每组89例。观察组中男61例,女28例;年龄19~56岁,平均年龄(27.34±8.10)岁;病程1~4年,平均病程(2.35±0.73)年;病情Ⅱ级51例,病情Ⅲ级18例。对照组中男45例,女32例;年龄53~72岁,平均年龄(65.78±7.34)岁;病程1~4年,平均病程(2.33±0.81)年;病情Ⅱ级49例,病情Ⅲ级20例。本研究经我院伦理学委员会批准,患者知情同意。2组性别、年龄、病程等比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 诊断标准 西医诊断标准^[4]:参考中华医学会消化病学分会制定的《中国胃食管反流病专家共识意见(2014年版)》中的GERD诊断标准:1)具备烧心和反流等GERD典型症状。2)无幽门梗阻或消化道梗阻证据。符合上述两条即可诊断为GERD。中医辨证分型标准^[5]:参考《中药新药临床研究指导原则》中的肝胃不和证诊断标准:主症包括1)胃脘、胁肋胀满疼痛,2)反酸,3)嗝气;兼症包括1)呃逆,2)情绪抑郁,3)苔白脉弦。具备主症中2项或2项以上,兼备兼症中2项或2项以上,即可确诊为肝胃不和证。

1.3 纳入标准 1)符合上述GERD西医诊断标准。2)符合上述肝胃不和证中医辨证分型标准。3)近期未参加过其他临床研究者。4)知情且签署知情同意书。

1.4 排除标准 1)妊娠期、哺乳期妇女。2)心、肝以及肾等重要器官功能不全者。

1.5 脱落与剔除标准 1)开启紧急揭盲;2)受试者中途失访;3)受试者发生严重不良事件;4)受试者主动撤回知情同意书;5)受试者违反试验要求以致影响研究真实性;6)资料不全以致影响疗效和安全性判断。

1.6 治疗方法 2组均给予奥美拉唑肠溶片(北京

亚宝生物药业有限公司,国药准字H20123096)口服,20 mg/次,2次/d,连续服用3个月。观察组在此基础上给予疏肝和胃降逆汤(半夏15 g、柴胡10 g、枳壳10 g、太子参10 g、川芎10 g、海螵蛸10 g、旋覆花8 g、代赭石7 g、陈皮5 g、穿山龙5 g、竹茹5 g),1剂/d,水煎早晚分服,连续服用3个月。

1.7 观察指标 基线期和治疗后在责任护士指导下,研究对象采用RDQ进行自评。

基线期和治疗后检测研究对象食管黏膜PAR-2及COX-2蛋白表达。方法如下:在胃镜辅助下于研究对象食管远端病变最明显处取活检组织,予以10%醛溶液固定标本,石蜡包埋,4 μm厚切片,采用免疫组织化学EnVision两步法检测食管黏膜PAR-2、COX-2蛋白表达,PAR-2标记采用兔抗人PAR-2单克隆抗体(购自福州晶泰生物技术有限公司),COX-2标记采用抗COX-2(小鼠)多克隆抗体(购自福州晶泰生物技术有限公司),用磷酸盐缓冲液代替一抗作为阴性对照,用已知阳性切片作阳性对照。光学显微镜下随机观察10个不同100倍视野,阳性细胞呈黄色或棕褐色。根据阳染细胞着色范围进行评分,无着色记0分,着色 $< 1/3$ 记1分,着色 $> 1/3$ 记2分,弥漫着色记3分。

1.8 疗效判定标准 采用RDQ症状积分作为GERD疗效的评价工具。该表设有烧心程度、胸痛程度、反酸程度、反食程度、烧心频度、胸痛频度、反酸频度、反食频度8个评价项目,总分40分。得分越高表示GERD病情越严重^[6]。

1.9 统计学方法 采用SPSS 20.0统计软件进行数据处理。计量资料若符合正态分布,以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验;Pearson相关系数分析RDQ症状积分与食管黏膜PAR-2、蛋白表达的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组基线期和治疗后RDQ症状积分比较 基线期,2组RDQ症状积分基本相同,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,观察组RDQ症状积分显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 2组基线期和治疗后食管黏膜PAR-2及COX-2蛋白表达比较 基线期,2组食管黏膜PAR-2及COX-2蛋白表达基本相同,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,观察组食管黏膜PAR-2及COX-2蛋白表达显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表 1 2 组 RDQ 症状积分比较($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	基线期	治疗后
观察组($n=89$)	23.42 ± 4.07	13.42 ± 3.14
对照组($n=89$)	23.54 ± 5.51	16.03 ± 5.13
t	0.165	4.093
P	>0.05	<0.05

表 2 2 组食管黏膜 PAR-2 及 COX-2 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	PAR-2(mRNA)	COX-2(mRNA)
观察组($n=89$)		
基线期	1.73 ± 0.67	1.81 ± 0.87
治疗后	1.04 ± 0.71 * Δ	1.08 ± 0.80 * Δ
对照组($n=89$)		
基线期	1.74 ± 0.65	1.79 ± 0.85
治疗后	1.66 ± 0.67 *	1.57 ± 0.67 *

注:与本组治疗前比较,* $P < 0.05$;与对照组治疗后比较, $\Delta P < 0.05$

2.3 RDQ 症状积分与食管黏膜 PAR-2、蛋白表达的 Pearson 相关系数 Pearson 相关系数显示,观察组 RDQ 症状积分与食管黏膜 PAR-2 及 COX-2 蛋白表达正相关($P < 0.05$),对照组 RDQ 症状积分与食管黏膜 PAR-2 及 COX-2 蛋白表达无明显相关性($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 RDQ 症状积分与食管黏膜 PAR-2 及 COX-2 蛋白表达的 Pearson 相关系数

组别	PAR-2		COX-2	
	r	P	r	P
观察组	0.725	<0.05	0.734	<0.05
对照组	0.097	>0.05	0.146	>0.05

3 讨论

现代临床对于 GERD 的发病机制有众多假说,主要可分为两类^[7-10]。一类认为反流进入食管的胃或十二指肠内容物对食管黏膜的化学损伤作用导致 GERD 的发生;另一类认为细胞因子介导食管上皮免疫炎症反应导致 GERD 的发生。已知的是,若然烧心、反酸、呃逆等 GERD 典型临床症状等不到有效控制可进展为糜烂性食管炎、Barret 食管甚至食管腺癌,祸及到邻近咽喉、气管、肺等器官,进展为哮喘等^[11-12]。中医学并不以“胃食管反流病”“GERD”的规则命名,但究其症状可将该病纳入“吞酸”“吐酸”“结胸”“嘈杂”“食管瘴”等范畴^[13-15]。基于藏象学说的中医学与现代临床对该病有不同的见解,认为该病病因多是情志失调、酒食所伤或脾胃虚弱;食管归于胃,为胃气所主,认为该病的病机与肝、脾、胃等脏腑功能失调密切相关;《素问·六元正气大论

篇》曰:“木郁之发,民病胃脘当心而痛”。指出胃为水谷之海,胃失和降则可致胃脘胀满、嗝气呃逆、胃中嘈杂、呕恶吞酸等^[16]。本组病例均为肝胃不和证,以实证、热证较多,虚证较少,未见寒证,拟肝郁化热。我们认为肝失疏泄,肝胃气滞,不降为滞,反升逆,胃失和降,胃中浊气上逆为胃食管反流病肝胃不和证的病机。以通为用、以降为和为该病治则大法,考虑肝胃不和证在用药方面应予以疏肝、清热以和胃,理气以降逆。

我们基于上述理论基础,拟定疏肝和胃降逆汤治疗胃食管反流病肝胃不和证。温阳活血汤由柴胡、枳壳、陈皮、半夏、太子参、川芎、旋覆花、代赭石、海螵蛸、穿山龙、竹茹等 13 味中药组成。方中:柴胡、枳壳、陈皮、半夏为君药,共奏功善疏通气机,和胃降逆;太子参、川芎为臣药,共奏功善疏肝解郁、健脾益气;旋覆花、代赭石、海螵蛸为佐药,共奏功善制酸敛疡、降气平肝;穿山龙、竹茹为使药,共奏功善剔除胃络瘀毒。诸药共奏起疏肝和胃,理气降逆,泄热宽胸之功。本研究结果显示,基线期,2 组 RDQ 症状积分基本相同($P > 0.05$);治疗后,观察组 RDQ 症状积分显著低于对照组($P < 0.05$)。由此可见,奥美拉唑肠溶片联合温阳活血汤治疗胃食管反流病肝胃不和证可增进疗效;温阳活血汤可有效治疗胃食管反流病肝胃不和证。

本研究 Pearson 相关系数显示,观察组 RDQ 症状积分与食管黏膜 PAR-2 及 COX-2 蛋白表达正相关($P < 0.05$),对照组 RDQ 症状积分与食管黏膜 PAR-2 及 COX-2 蛋白表达无明显相关性($P > 0.05$)。提示,食管黏膜 PAR-2 及 COX-2 蛋白表达的改变可能与 GERD 肝胃不和证患者的典型临床症状有关。既往研究显示,食管黏膜 PAR-2 高蛋白表达病例相对低蛋白表达病例对刺激的反应阈值低,所以食管黏膜 PAR-2 高蛋白表达病例对于胃灼热感或内脏痛相对低蛋白表达病例敏感^[17-18]。一项关于 GERD 食管黏膜的研究指出,COX-2 在正常组织中并不表达,但在在炎症反应组织中可出现高表达;COX-2 可降低神经纤维的刺激阈值;COX-2 是白细胞的趋化因子;同时 COX-2 的产物前列腺素 E₂ 与疼痛和炎症反应有直接相关^[19-20]。故本研究推测,温阳活血汤可通过降低 GERD 肝胃不和证患者食管黏膜 PAR-2 及 COX-2 蛋白表达,从而缓解其典型临床症状。但现阶段并无足够证据证明食管黏膜 PAR-2 及 COX-2 就是温阳活血汤的直接靶点。其深入机制有待进一步研究。

综上所述,奥美拉唑肠溶片联合温阳活血汤治疗胃食管反流病肝胃不和证具有较好的疗效,其机制可能是通过降低患者食管黏膜 PAR-2 及 COX-2 蛋白表达而达到治疗作用。

参考文献

- [1] 杨健,刘梅,何健,等.胃食管反流病研究进展[J].检验医学与临床,2012,9(14):1752-1754.
- [2] 牟向东,谢鹏雁.胃食管反流病生活质量的研究现状[J].社区医学杂志,2008,6(7):47-49.
- [3] 危北海.胃食管反流病中西医结合治疗的现状和展望[J].北京中医药,2008,27(3):163-164.
- [4] 周丽雅.2014《中国胃食管反流病专家共识意见》要点[J].中华医学信息导报,2014,29(23):21.
- [5] 国家食品药品监督管理局.中药新药临床研究指导原则[S].北京:中国医药科技出版社,2002:101.
- [6] 赵迎盼,廖宇,钟家珮,等.胃食管反流病问卷(GerdQ)与反流性疾病问卷(RDQ)的比较研究[J].胃肠病学和肝病杂志,2015,24(5):572-574.
- [7] 田燕,陈吉.炎症介质与胃食管反流病发病机制的研究进展[J].疾病监测与控制,2016,10(1):34-35.
- [8] 罗璇.胃食管反流病发病机制研究进展[J].微量元素与健康研究,2015,32(4):60-61.
- [9] 吴丽权,张亚历,朱薇.非糜烂性胃食管反流病烧心症状感知机制的认识[J].现代消化及介入诊疗,2016,21(4):667-670.
- [10] 朱宝宇,宋德锋,施春雨,等.胃食管反流病发病机制研究进展[J].中国实验诊断学,2015,5(2):344-346.

- [11] 戴结,胡炳德,赵晓玲,等.胃食管反流症状与 Barrett 食管关系的 Meta 分析[J].胃肠病学和肝病杂志,2016,25(9):1030-1036.
- [12] 崔西玉,陈曼彤,吴穗清.胃食管反流病与哮喘关系初探[J].现代消化及介入诊疗,2005,10(2):76-78.
- [13] 秦永菊,孙志广.胃食管反流病的中西医病机及治疗研究进展[J].中国中西医结合消化杂志,2015,23(2):147-149.
- [14] 王文婷,张厂,王林恒,等.胃食管反流病中医证候学研究探索[J].环球中医药,2016,9(8):931-936.
- [15] 丁文娟,唐翰章,龚枚.胃食管反流中医证型与胃镜下食道像关系探析[J].亚太传统医药,2015,11(19):89-90.
- [16] 楚振荣,李春婷.浅谈胃食管反流病之中医辨证治疗[J].中国临床研究,2015,28(6):817-819.
- [17] 谢冰颖,葛振华,周凡,等.慢性浅表性胃炎胃黏膜增殖细胞核抗原和热休克蛋白与中医证型的关系[J].中国中西医结合消化杂志,2009,17(1):31-33.
- [18] 吴齐飞,吴继敏,白兴华,等.胃食管反流病患者在督脉背段的压痛反应规律[J].中国针灸,2014,34(8):775-777.
- [19] Scholz M, Ulbrich HK, Soehnlein O, et al. Diaryl-dithiolanes and isothiazoles: COX-1/COX-2 and 5-LOX-inhibitory, *OH scavenging and anti-adhesive activities [J]. Bioorg Med Chem, 2009, 17(2): 558-568.
- [20] 邹磊,李道堂,穆殿斌,等.食管鳞状细胞癌中 Survivin 和 COX-2 的表达与临床病理因素的关系[J].中国肿瘤临床,2007,34(12):670-673.

(2017-09-09 收稿 责任编辑:杨觉雄)

(上接第 2495 页)

- [7] 金炫廷,马堃,单婧.补肾活血中药治疗多囊卵巢综合征导致排卵障碍性不孕的临床研究[J].中国中药杂志,2014,39(1):140-143.
- [8] 孔冬冬,邸莎,马淑然,等.中医药治疗多囊卵巢综合征方剂用药规律分析[J].中国实验方剂学杂志,2015,54(23):202-206.
- [9] 卢永军,阮祥燕,田玄玄,等.多囊卵巢综合征综合治疗疗效的评价[J].首都医科大学学报,2013,34(4):525-529.
- [10] 梁茂新,高天舒.《中药新药临床研究指导原则》脏腑诸证考察与分析[J].中国中医基础医学杂志,2008,33(5):330-331.
- [11] 国家中医药管理局发布中华人民共和国中医药行业标准——《中医病证诊断疗效标准》[J].中医药管理杂志,1994,10(6):2.
- [12] 曾晓霞,胡云华.肝脾肾在有多囊卵巢综合征治疗中的重要性[J].长春中医药大学学报,2010,26(6):853-854.
- [13] 曾英雅.健脾益肾活血法脾肾阳虚型多囊卵巢综合征不孕临床研究[J].亚太传统医药,2015,11(22):72-73.
- [14] 赖毛华,马红霞,刘华,等.腹针治疗脾肾阳虚型多囊卵巢综合征 60 例临床观察[J].江苏中医药,2012,44(8):53-54.
- [15] 王兴娟,金华良,刘颖.脾虚与多囊卵巢综合征伴发代谢综合征相关性研究[J].中国中西医结合杂志,2010,30(11):1149-1152.

- [16] 刘彩凤,范晓萍,王慧颖,等.李坤寅教授运用金匮肾气丸加味治疗多囊卵巢综合征合并不孕症经验介绍[J].新中医,2016,48(2):182-185.
- [17] 陶剑飞,卢兴宏.中药周期疗法治疗女大学生多囊卵巢综合征 30 例临床观察[J].新中医,2011,43(7):75-77.
- [18] 王旭初,王国华,马景兰,等.中西医结合治疗多囊卵巢综合征合并不孕 20 例[J].现代中西医结合杂志,2001,10(20):1941.
- [19] Dasgupta A, Khan A, Banerjee U, et al. Predictors of insulin resistance and metabolic complications in polycystic ovarian syndrome in an eastern Indian population [J]. Indian J Clin Biochem, 2013, 28(2):169-176.
- [20] Ganor-Paz Y, Friedler-Mashiach Y, Ghetler Y, et al. What is the best treatment for women with polycystic ovarian syndrome and high LH/FSH ratio? A comparison among in vitro fertilization with GnRH agonist, GnRH antagonist and in vitro maturation [J]. J Endocrinol Invest, 2016, 39(7):799-803.
- [21] Yonggang H, Xiaosheng L, Zhaoxia H, et al. Effects of human chorionic gonadotropin combined with clomiphene on Serum E₂, FSH, LH and PRL levels in patients with polycystic ovarian syndrome [J]. Saudi J Biol Sci, 2017, 24(2):241-245.

(2017-07-06 收稿 责任编辑:杨觉雄)