doi: 10.3969/j.issn.1002 – 7386.2017.08.007

·论著·

复方铝酸铋颗粒对 IL-1β 致乙酸胃溃疡复发模型抑制作用的研究

陈婉珍 张芷嫣 王辉 朱方石

【摘要】 目的 探讨复方铝酸铋颗粒(得必泰)对 IL-1β 致乙酸胃溃疡复发模型的抑制作用。方法 采用雷贝拉唑干预乙酸致大鼠胃溃疡的溃疡愈合模型,将大鼠随机分为空白组、模型组、雷贝拉唑组及得必泰组。予 0.9% 氯化钠溶液、雷贝拉唑及得必泰 + 雷贝拉唑混悬液灌胃干预溃疡愈合大鼠 7 周后,再予大鼠腹腔注射 IL-1β 诱导溃疡复发形成。检测各组大鼠血清学及病理学指标。结果 与模型组比较,雷贝拉唑组及得必泰组溃疡复发率及溃疡指数差异有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较,雷贝拉唑组 PGE2、EGF 含量升高,GAS 明显下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$);得必泰组 PGE2、EGF 升高和 GAS 下降均差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。得必泰组具有一定的优势倾向;雷贝拉唑组及得必泰组大鼠未复发典型溃疡的胃黏膜形态及病理组织学形态均较模型组好。结论 得必泰联合雷贝拉唑对 IL-1β 致乙酸胃溃疡复发具有抑制作用。

【关键词】 复方铝酸铋颗粒;IL-1β;胃溃疡;复发;得必泰
【中图分类号】 R 573.11 【文献标识码】 A 【文章编号】 1002 – 7386(2017)08 – 1148 – 04

Study of the inhibitory effects of compound bismuth aluminate granules on IL-1β induced relapse models of acetic acid gastric ulcer in rats *CHEN Wanzhen, ZHANG Zhiyan, WANG Hui, et al. The Third Clinical Medical College of Nanjing TCM University, Nanjing* 210028, *China*

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the inhibitory effects of compound bismuth aluminate granules (Debitai) on IL-1β induced relapse models of acetic acid gastric ulcer in rats. **Methods** The rats were randomly divided into blank group, model group, rabeprazole group and Debitai group. The rats models with acetic acid induced gastric ulcer were interfered by rabeprazole, and the healing rats were given 0.9% sodium chloride solution, rabeprazole, Debitai + rabeprazole suspension by gavagee for 7 weeks, then IL-1β was injected intraperitoneally to induce relapse models of gastric ulcer. The serum indexes and pathological indexes were detected in all the groups. **Results** There were significant differences in relapse rates and gastric ulcer indexes between model group and rabeprazole group, Debitai group ($P<0.01$). As compared with those in model group, the serum levels of PGE2 and EGF in rabeprazole group and Debitai group were significantly increased ($P<0.05$ or $P<0.01$), however, the serum levels of GAS were significantly decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$). The serum levels of PGE2 and EGF in Debitai group were significantly increased, but the serum levels of GAS were significantly decaresed ($P<0.05$ or $P<0.01$). The gastric mucous membrane morphous and histopathological morphous in rabeprazole group and Debitai group were superior to those in model group. **Conclusion** The Debitai combined with rabeprazole has inhibitory effects on the relapse of IL-1β induced acetic acid gastric ulcer in rats.

【**Key words**】 compound bismuth aluminate granules; IL-1β; gastric ulcer; relapse

胃溃疡(gastric ulcer,GU)是一种常见的消化道疾病,主要与胃及十二指肠黏膜的正常防御-修复系统和损伤因素失衡相关[1]。随着质子泵抑制剂、胃黏膜保护剂等的广泛应用,其治愈率超过 90%。然而由于 H. pylori 感染、长期服用 NSAIDs 及阿司匹林等导致愈合溃疡容易复发,据不全统计,溃疡治疗后 1 年复发率可达 50% 以上[2]。因此,有效预防溃疡复发亦成为临床常见问题之一。复方铝酸铋颗粒(得必泰)是临床常用铋剂之一,主要用于消化性溃疡、慢性胃炎、十二指肠球炎等疾病的治疗。临床小样本观察发现,长期使用复方铝酸铋颗粒一定程度上能抑制或减少胃溃疡的复发。本文拟通过对 IL-1β 致大鼠愈合溃疡的再诱发的研究,评价得必泰在抗溃疡复发中的作用。总结如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 25 只,体重(200 ± 20) g,由南通大学动物中心提供,许可证号:SCXK(苏)2014-0001。

项目来源:中国中医科学院江苏分院横向课题(编号:H1401);江苏省科技创新与成果转化专项课题(编号:BM 2009203)

作者单位:210028 南京市,南京中医药大学第三临床医学院(陈婉珍、张芷嫣、王辉);江苏省中医药研究院中西医结合临床研究室(朱方石)

通讯作者:朱方石,210028 南京市,江苏省中医药研究院中西医结合临床研究室;

E-mail:zhufangshi@126.com

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2 主要药物及试剂 雷贝拉唑肠溶胶囊 20 mg×7 粒(江苏济川制药有限公司);复方铝酸铋颗粒(得必泰) 1.3 g×18 袋(辽宁奥达制药有限公司);GAS、EGF、PGE2 ELISA 试剂盒购置于南京建成生物工程研究所;苏木素-伊红(HE)染液购置于武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 主要仪器 RV10 旋转蒸发仪(德国 IKA 集团);三用恒温水箱(美国 Cole-Parmer 公司);CKX 31 倒置生物显微镜(日本 Olympus 公司);Axio Observer A1 倒置荧光显微镜(德国 ZEISS 公司);图像分析系统(德国 LEICA 公司);全波长酶标仪(美国 Thermo)。

1.4 造模方法

1.4.1 建立大鼠 GU 模型:采用改良的 Okabe 乙酸致胃溃疡方法[3],将 20 只 SD 大鼠予 10% 水合氯醛 0.3 ml/100 g 麻醉后,碘伏皮肤消毒,于剑突下 1~2 cm 剪开皮肤、逐层分离,打开腹腔轻拉出胃,于窦体交界处贴敷沾有 98% 冰乙酸的 5 film 滤纸 2 次,每次 30 s,0.9% 氯化钠溶液冲洗干净后局部喷洒青霉素 G 后缝合腹腔,再予青霉素 G 40 万 U 肌内注射预防感染,术后 24 h 正常喂养。术后第 2 天随机处死 2 只大鼠,确认乙酸胃溃疡模型建立。

1.4.2 雷贝拉唑干预使溃疡愈合:根据《药理实验方法学》人与动物间体表面积折算的等效剂量换法[4]计算大鼠用药剂量,予大鼠 1.8 mg/kg 雷贝拉唑混悬液 2 m/dl 灌胃 6 周(经预实验,予雷贝拉唑干预胃溃疡大鼠,每周处死 3 只大鼠,观察其胃黏膜形态,至 6 周时溃疡完全愈合)。6 周后随机处死 2 只大鼠确认溃疡愈合。

1.4.3 分组及抗溃疡复发给药:随机分为 4 组,每组 5 只,并计算大鼠用药剂量如下:①空白组:正常饲养,予普通颗粒状饲料及大鼠清洁用水;②模型组:正常饲养,另予 0.9% 氯化钠溶液 2 ml/d 灌胃;③雷贝拉唑组:正常饲养,另予 1.8 mg·kg^{-1}·d^{-1}雷贝拉唑混悬液 2 ml/d 灌胃×7 周;④得必泰组:正常饲养,另予 0.23 g·kg^{-1}·d^{-1}得必泰混悬液+1.8 mg·kg^{-1}·d^{-1}雷贝拉唑 2 ml/d 灌胃×7 周。

1.4.4 IL-1β 致乙酸 GU 复发模型:参考文献造模方法[5]:除正常组外,模型组和各药物干预组 7 周后予大鼠腹腔注射 1 μg/kg 的 IL-1β,48 h 后诱导溃疡复发形成。

1.5 标本的采集及制备

1.5.1 血清学标本:腹主动脉采血 3 ml/只,以 3 000 r/min 离心 10 min,分离上层血清,置于 -80℃ 冰箱保存备用。

1.5.2 病理学标本:采血后将大鼠用颈椎脱臼法处死,剖腹取出全胃,沿胃大弯侧剪开,0.9% 氯化钠溶液冲洗干净后,观察胃大体形态,用游标卡尺(精确到 0.01 mm)测量溃疡大小,留取部分溃疡及溃边标本约 1 cm×1 cm 大小用 4% 多聚甲醛固定备用。

1.6 检测指标及方法

1.6.1 大鼠一般情况及胃标本大体形态:观察大鼠毛色、体重、大便、进食量、饮水量、精神状态及活动度等;观察胃黏膜的色泽、皱襞形态及溃疡形成等。

1.6.2 溃疡指数及溃疡抑制率[6]:溃疡指数(UI)=溃疡最长径×最宽径;溃疡抑制率=(模型组 UI-给药组 UI)/模型组 UI×100%。

1.6.3 血清 PGE2、EGF、GAS 检测:采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清前列腺素 E2(PGE2)、表皮生长因子(EGF)及胃泌素(GAS)含量,严格按照试剂盒操作步骤操作。

1.6.4 病理学方法:取出 4% 多聚甲醛固定的胃组织标本,不同浓度乙醇梯度脱水后,二甲苯透明,石蜡浸泡后常规石蜡包埋,经切片、摊片及烤片后,将制备的 5 μm 切片 37℃ 温箱 12 h 后,二甲苯脱蜡,不同浓度乙醇梯度进行去二甲苯处理,苏木素-伊红(HE)染液染色后,中性树脂封片,光学显微镜下观察大鼠胃黏膜组织的病理学变化。

1.7 统计学分析 应用 SPSS 17.0 统计软件,计数资料采用 χ^2 检验,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠的一般情况 乙酸致胃溃疡术后第 1 天,死亡 1 只大鼠,考虑感染可能性大。空白组大鼠毛色光泽,体型肥胖,活动灵敏。模型组大鼠自造模起 2 周后毛色发黄无光泽、稀疏易脱落,并随造模时间推移大鼠逐渐喜聚集,活动减少,并出现大便稀软现象,进食量及饮水量亦较正常组减少。雷贝拉唑干预 6 周(溃疡愈合)后,大鼠毛色、精神状态、体重和活动情况逐渐恢复至基本正常。分组药物干预,雷贝拉唑组与得必泰组大鼠较模型组大鼠毛色光泽,活动灵敏,进食量及体重增加。

2.2 大鼠溃疡复发率、UI、溃疡抑制率 模型组 5 只大鼠均可见溃疡复发,雷贝拉唑组 3 只大鼠溃疡复发,得必泰组为 2 只大鼠溃疡复发。药物干预组与模型组溃疡复发率及溃疡指数比较,差异有统计学意义($P<0.01$);2 组治疗组组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$),得必泰组 UI 及溃疡抑制率的数值呈略优趋势。见表 1。

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1 3 组大鼠复发数、复发率(%)、UI 及溃疡抑制率 $n=5$

组别	复发数	复发率(%)	UI(mm^2, $\bar{x}\pm s$)	溃疡抑制率(%)
模型组	5	100	23.69±1.26	0
雷贝拉唑组	3	60	13.72±2.00*	42
得必泰组	2	40	9.16±1.93*	45

注:与模型组比较,* $P<0.01$

2.3 肉眼观大鼠胃黏膜形态 空白组大鼠胃黏膜完整,皱襞集中,无充血、水肿或糜烂。模型组大鼠胃黏膜溃疡灶明显,溃疡中心苍白,溃疡凹陷较深,周围黏膜充血水肿明显。4 组未复发典型溃疡的大鼠胃黏膜情况:雷贝拉唑组黏膜完整,可见溃疡瘢痕,无明显黏膜皱襞集中。得必泰组大鼠胃黏膜可见溃疡瘢痕,周围黏膜充血水肿,黏膜皱襞集中明显。见图 1。

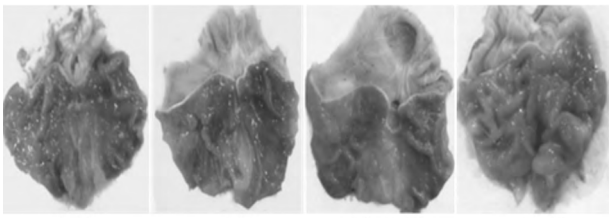


图 1 4 组大鼠胃黏膜形态

2.4 大鼠的病理组织学形态 正常组大鼠胃黏膜上皮完整,腺体排列规整,未见明显炎性细胞浸润。模型组大鼠胃黏膜上皮缺损,再生黏膜薄,炎性细胞浸润多,囊状扩张的腺体数目多。各组未复发典型溃疡的大鼠胃黏膜病理切片:雷贝拉唑组大鼠胃黏膜上皮较完整,再生黏膜厚,炎性细胞浸润少,囊状扩张的腺体数目较少。得必泰组大鼠胃黏膜上皮较完整,再生黏膜较厚,炎性细胞浸润较少,囊状扩张的腺体的数目少。见图 2。

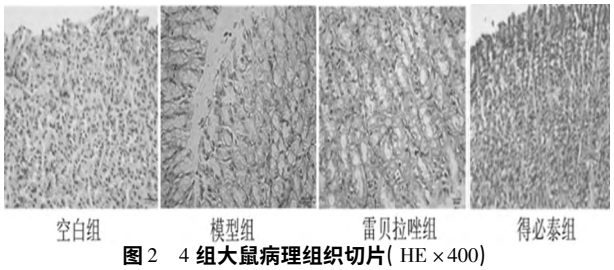


图 2 4 组大鼠病理组织切片(HE×400)

2.5 大鼠血清 PEG2、EGF、GAS 的含量 与正常组比较,模型组大鼠中 PGE2、EGF 的含量均呈不同程度下降、GAS 升高,其中 PGE2、EGF 差异有统计学意义($P<0.05$),表明溃疡复发过程中 PGE2、EGF 含量明显下降。雷贝拉唑干预后,PGE2、EGF 含量升高,GAS 含量明显下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。得必泰组 PGE2、EGF 和 GAS 与模型组比较差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。但治疗组组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。得必泰组调节异常的数值差异有一定的优势倾向。见表 2。

表 2 4 组血清 PGE2、EGF、GAS 含量比较 ng/L, $\bar{x}\pm s$

组别	PGE2	EGF	GAS
正常组	1 021.65±194.87	859.57±68.22	740.50±95.36#
模型组	646.73±191.26*	662.6±43.42*	902.27±83.69*
雷贝拉唑组	983.20±101.20△	803.22±30.47△	694.94±57.56☆
得必泰组	1 156.38±41.36#	821.30±56.77△	755.01±28.00△

注:与正常组比较,* $P<0.05$,# $P<0.01$;与模型组比较,△ $P<0.05$,☆ $P<0.01$

3 讨论

胃溃疡[1]是指在各种致病因素作用下黏膜发生炎性及坏死性病变,其病变可深达黏膜肌层,是临床较为常见的消化系统疾病之一。目前临床用药主要包括抑制胃酸分泌药物、保护胃黏膜药物及抗 H. pylori 药物等[7],其临床治疗有效率较高,但是有效控制溃疡复发是当前面临的难题之一。除积极控制发病危险因素、干预生活方式外[8],预防性药物治疗仍是临床关注重点。

复方铝酸铋颗粒(得必泰)是一种复方制剂,主要成分为铝酸铋、重质碳酸镁、碳酸氢钠及弗朗鼠李皮、小茴香、甘草等中药提取物。研究显示,得必泰具有增强胃、十二指肠黏膜屏障,促进黏膜再生,提高溃疡愈合率的作用[9]。前列腺素 E2(PGE2)是一种重要的胃黏膜保护因素,可促进胃黏膜屏障修复,改善胃黏膜血供[10]。消化性溃疡患者其血清 PGE2 含量降低,溃疡愈合后其含量增加[11]。表皮生长因子(EGF)是对组织细胞有强烈的促分裂作用的一种蛋白,具有抑制胃酸的分泌,促进损伤黏膜的修复等作用[12]。胃泌素(GAS)可以反映胃黏膜炎症状况,在 GU 的发生发展过程中,血清 GAS 水平升高,随着溃疡的愈合,其水平可下降至正常[13]。

本实验研究结果提示,对于胃溃疡愈合者,预防性给予 PPI(雷贝拉唑)一定程度上能抑制溃疡复发,联合应用铋剂,如得必泰,可提高溃疡愈合质量,降低溃疡复发率及溃疡指数,提高溃疡抑制率,其效果优于单纯使用雷贝拉唑。雷贝拉唑组及得必泰组未复发典型

(下转 1154 页)

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

纤维化作用。MMP1 是机体中反映促进胶原降解作用的重要指标,而 TIMP1 是抑制胶原酶降解活性的重要指标,两者在机体中存在某种平衡,当机体出现肝硬化时,这种平衡被打破,导致纤维化形成[11]。本组研究表明乙肝抗纤汤具有明显 TIMP1 和 TIMP1/MMP1 水平,提高 MMP1 水平,说明乙肝抗纤汤同时具有提高胶原酶活性,同时具有解除胶原酶降解活性抑制作用,从而达到改善机体肝硬化和肝纤维化的作用。

肝纤维化的发生发展是一个多因素参与的复杂的动态过程,多种细胞因子在肝纤维化发生发展的过程中具有十分重要的调控作用。细胞因子与其受体结合后,导致转录因子的启动和信号通路被激活。根据细胞因子对肝硬化的作用不同分为两类:一类是促肝纤维化的细胞因子,主要有肿瘤坏死因子-α、IL-1、IL-8 和血小板衍生因子等;另一类为抗纤维化的细胞因子,主要有 IL-10 和 INF-γ 等组成[12]。肝硬化后出现上述细胞因子的紊乱,是导致肝细胞纤维化的重要原因。本组研究表明乙肝抗纤汤具有明显降低机体的 IL-6 和 IL-8 水平,而升高机体的 INF-γ 和 IL-10 水平具有明显改善肝硬化患者机体的细胞因子紊乱的作用。INF-γ 是目前研究较多的抗纤维化的细胞因子,具有抑制成纤维细胞胶原蛋白的合成的作用[13]。IL-10 是抑制纤维化的细胞因子,具有促进胶原酶的合成,抑制胶原的表达,延缓肝纤维化的进程[14]。IL-8 和 IL-6 作为肝细胞的刺激因子,可以诱导肝细胞的急性期反应,促进机体的 α-巨球蛋白的表达,抑制胶原酶的活性,促进肝纤维化的形成。本组研究进一步说明乙肝抗纤汤改善肝纤维化可能与纠正患者机体的细胞因子紊乱,降低 IL-8 和 IL-6 水平,提高机体的 IL-10 和 INF-γ 水平有关。

总之,乙肝抗纤汤联合恩替卡韦治疗乙肝肝硬化的疗效显著,可能与乙肝抗纤汤具有改善肝细胞损伤,缓解肝纤维化,纠正机体的炎性因子紊乱有关。

参考文献

1 陈霖,黄玉波,徐军,等. HBV 感染慢性肝病患者血清 GP73 浓度对肝纤维化程度的诊断意义. 中华实验和临床病毒学杂志,2014,28:44-46.

2 李小溪,李波,李筱涵,等. 肝纤维化相关细胞因子的血清学检测对慢性乙型肝炎肝纤维化进程的诊断价值. 现代生物医学进展,2014,14:3109-3111.

3 张东锋,王煜姝,腾军放. 骨髓间充质干细胞联合青霉胺治疗肝豆状核变性肝纤维化的效果. 实用医学杂志,2015,31:3195-3199.

4 赵乾,吴新慈. 拉米夫定联合复方牛胎肝提取物治疗肝纤维化的临床疗效及安全性评价. 中国临床药理学杂志,2015,31:1088-1090.

5 葛华阶,白定华,夏晓玲,等. 软肝丸治疗血吸虫病肝纤维化的效果. 中国血吸虫病防治杂志,2014,26:197-199,202.

6 杨瑞华,李芹,陈玮. 扶正化瘀胶囊治疗慢性乙型肝炎肝纤维化疗效的 Meta 分析. 中华肝脏病杂志,2015,23:295-296.

7 贾华锋. 乙肝抗纤汤联合干扰素治疗乙型肝炎后肝纤维化疗效观察. 现代中西医结合杂志,2016,25:631-633.

8 李宏. 乙肝抗纤汤联合干扰素治疗乙肝后肝纤维化 60 例. 陕西中医,2011,32:26-28.

9 梁柱权,郭小苗,党冬梅. 乙肝抗纤汤联合干扰素治疗乙肝肝纤维化临床疗效. 海峡药学,2015,27:155-156.

10 张硕,袁希平,王庆林. 根皮苷对血吸虫病肝纤维化小鼠肝脏中 TGF-β1 和 PDGF-BB 表达的影响. 华西药学杂志,2015,30:42-46.

11 王建春,陈坚,刘绪舜. 脾切除贲周血管离断术对肝硬化患者术后血清 MMP-1、TIMP-1 及肝纤维化指标的影响. 临床外科杂志,2015,23:200-202.

12 Asanoma M,Ikemoto T,Mori H,et al. Cytokine expression in spleen affects progression of liver cirrhosis through liver-spleen cross-talk. Hepatol Res,2014,44:1217-1223.

13 Sun Y,Lu Y,Xie L,et al. Interferon gamma polymorphisms and hepatitis B virus-related liver cirrhosis risk in a Chinese population. Cancer Cell Int,2015,15:35.

14 Liu Y,Yu MC,Zhang AQ,et al. Interleukin-10 gene promoter polymorphism and risk of liver cirrhosis. Genet Mol Res,2015,14:1229-1234.

(收稿日期:2016-11-02)

(上接 1150 页)

溃疡的大鼠胃黏膜形态及病理组织学形态均较模型组好。雷贝拉唑联合得必泰其调节血清中 PGE2、EGF 及 GAS 的作用较单纯使用雷贝拉唑效果亦增强。说明临床预防消化性溃疡复发,在使用 PPI 的同时联合应用得必泰,在抑制其复发方面可能显示出最佳效果。

参考文献

1 中华消化杂志编委会. 消化性溃疡病诊断与治疗规范(2013 年,深圳). 中华消化杂志,2014,34:73-76.

2 陈灏珠主编. 实用内科学. 第 13 版. 北京:人民卫生出版社,2009.1981-1989.

3 Okabe S,Roth JL,Pfeiffer CJ. A method for experimental,penetrating gastric and duodenal ulcers in rats. Observations on normal healing. Am J Dig Dis,1971,16:277-284.

4 徐叔云,卞如濂,陈修主编. 药理实验方法学. 第 3 版. 北京:人民卫生出版社,2002.1861.

5 申定珠,李家邦,叶川,等. IL-1β 致乙酸性胃溃疡复发大鼠的比较蛋白质组学分析. 世界华人消化杂志,2007,15:332-339.

6 Berenguer B,Alarcón de la Lastra C,Moreno FJ,et al. Chronic gastric ulcer healing in rats subjected to selectiveand non-selective cyclooxygenase-2 inhibitors. Eur J Pharmacol,2002,442:125-135.

7 尹江燕,陈道荣. 消化性溃疡药物治疗的进展. 医学综述,2013,19:2000-2002.

8 殷冬林,王健. 寒冷气候对南昌地区消化性溃疡及其合并上消化道出血的影响与预防策略. 世界华人消化杂志,2013,21:3914-3919.

9 崔荣丽,董秀云,刘秀敏. 含铋药物对胃黏膜的保护作用及其机制的研究. 北京医学,2006,28:749-750.

10 胡义亭,甄承恩,邢国章,等. 消化性溃疡患者转化生长因子 α、表皮生长因子和前列腺素 E_2 的关系. 世界华人消化杂志,2002,10:43-47.

11 王高云,时昭红,张介眉. 促愈颗粒对胃溃疡患者胃液 EGF 含量和胃粘膜组织 PGE2 含量的影响. 湖北中医杂志,2009,31:6-8.

12 郝正魁,刘希双,王秀娟. 表皮生长因子及其受体在糜烂胃黏膜中的表达. 世界华人消化杂志,2013,21:332-335.

13 张忠,孙丽萍,宫月华,等. 胃黏膜癌变过程中血清胃泌素水平的变化及其影响因素的研究. 中国实用内科杂志,2006,26:1878-1880.

(收稿日期:2016-09-17)

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net