

胃康舒宁对大鼠慢性萎缩性胃炎癌前病变癌相关细胞因子的影响

杨丽萍, 张文娴, 蒋时红, 刘旺根, 王琦, 王雪萍

■背景资料

胃癌的发生是从慢性浅表性胃炎→慢性萎缩性胃炎→肠上皮化生→非典型增生→胃癌的多阶段发展过程。单纯性慢性萎缩性胃炎属胃癌前状态, 伴有肠化生或不典型增生者被认为是癌前病变。近年来, PLGC的转化与逆转渐受关注, 中医药对此辨证施治比现代医学更具有优势。

杨丽萍, 张文娴, 蒋时红, 刘旺根, 王琦, 王雪萍, 河南中医学院基础医学院 河南省郑州市 450003

刘旺根, 郑州大学基础医学院 河南省郑州市 450001

河南省教育厅自然科学基金资助项目, No. 2008A360021
作者贡献分布: 此课题由刘旺根设计; 研究过程由杨丽萍、张文娴、蒋时红、刘旺根、王琦及王雪萍操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由蒋时红与王琦提供; 数据分析由杨丽萍完成; 本论文写作由杨丽萍与张文娴完成。

通讯作者: 刘旺根, 讲师, 450008, 河南省郑州市金水路1号, 河南中医学院基础医学院。agle28@tom.com

电话: 0371-65680256

收稿日期: 2009-04-11 修回日期: 2009-05-21

接受日期: 2009-05-21 在线出版日期: 2009-07-08

Impact of Weikang Shuning Decoction on cytokines involved in the development of gastric precancerous lesions in rats with chronic atrophic gastritis

Li-Ping Yang, Wen-Xian Zhang, Shi-Hong Jiang, Wang-Gen Liu, Qi Wang, Xue-Ping Wang

Li-Ping Yang, Wen-Xian Zhang, Shi-Hong Jiang, Wang-Gen Liu, Qi Wang, Xue-Ping Wang, College of Basic Medicine, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450003, Henan Province, China

Wang-Gen Liu, College of Basic Medicine, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, Henan Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Henan Provincial Education Department, No. 2008A360021

Correspondence to: Wang-Gen Liu, College of Basic Medicine, Henan University of Traditional Chinese Medicine, 1 Jinshui Road, Zhengzhou 450003, Henan Province, China. agle28@tom.com

Received: 2009-04-11 Revised: 2009-05-21

Accepted: 2009-05-21 Published online: 2009-07-08

Abstract

AIM: To investigate the impact of Weikang Shuning Decoction on cytokines involved in the development of gastric precancerous lesions in rats with chronic atrophic gastritis.

METHODS: Sixty Wistar rats were randomly divided into four groups, namely, normal control group, model control group, Vitacoenzyme group and Weikang Shuning decoction group. A rat model of gastric precancer-

ous lesions was created by administration of *N*-methyl-*N*-nitroso-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) via drinking water. After the rats were treated with Vitacoenzyme and Weikang Shuning Decoction for 12 weeks, respectively, the levels of serum EGF, TGF- α , GH, TNF- α , IGF-II and bFGF were determined by radioimmunoassay (RIA).

RESULTS: The levels of serum GH, TNF- α and IGF-II in the Weikang Shuning Decoction group were significantly higher than those in the model control group ($0.24 \pm 0.10 \mu\text{g/L}$ vs $0.11 \pm 0.04 \mu\text{g/L}$, $91.46 \pm 7.63 \mu\text{g/L}$ vs $83.64 \pm 3.75 \mu\text{g/L}$ and $0.38 \pm 0.12 \mu\text{g/L}$ vs $0.27 \pm 0.17 \mu\text{g/L}$, respectively, $P < 0.05$ or 0.01). In contrast, the levels of serum EGF, TGF- α and bFGF in the Weikang Shuning Decoction group were significantly lower than those in the model control group ($0.40 \pm 0.11 \mu\text{g/L}$ vs $0.56 \pm 0.15 \mu\text{g/L}$, $0.021 \pm 0.006 \mu\text{g/L}$ vs $0.029 \pm 0.012 \mu\text{g/L}$ and $1.44 \pm 0.37 \mu\text{g/L}$ vs $3.26 \pm 0.45 \mu\text{g/L}$, respectively; $P < 0.05$ or 0.01).

CONCLUSION: Weikang Shuning Decoction has a good therapeutic effect against gastric precancerous lesions in rats, and its efficacy is superior to that of Vitacoenzyme. Regulation of serum EGF, TGF- α , GH, TNF- α , IGF-II and bFGF levels may be one of the mechanisms underlying the therapeutic effect of Weikang Shuning Decoction against gastric precancerous lesions.

Key Words: Weikang Shuning Decoction; Chronic atrophic gastritis; Precancerous lesions of gastric cancer; Cancer-related cytokines; Rats

Yang LP, Zhang WX, Jiang SH, Liu WG, Wang Q, Wang XP. Impact of Weikang Shuning Decoction on cytokines involved in the development of gastric precancerous lesions in rats with chronic atrophic gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(19): 1978-1981

摘要

目的: 探讨胃康舒宁对胃癌前病变(PLGC)大鼠血清多种癌相关细胞因子的影响。

■同行评议者

管冬元, 副教授, 上海中医药大学基础医学院实验医学教研室

方法: 将60只Wistar大鼠随机分为4组: 正常组、模型组、维酶素组和胃康舒宁组。采用饮用 N -甲基- N -亚硝基- N -硝基胍(MNNG)建立大鼠胃癌前病变模型, 用维酶素和胃康舒宁治疗12 wk后, 用放射免疫法检测各组大鼠血清中表皮生长因子(EGF)、转化生长因子- α (TGF- α)、生长激素(GH)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、胰岛素样生长因子-II(IGF-II)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)的水平。

结果: 与模型组大鼠相比, 胃康舒宁组大鼠血清GH, TNF- α , IGF-II水平显著增高($0.24 \pm 0.10 \mu\text{g/L}$ vs $0.11 \pm 0.04 \mu\text{g/L}$, $91.46 \pm 7.63 \mu\text{g/L}$ vs $83.64 \pm 3.75 \mu\text{g/L}$, $0.38 \pm 0.12 \mu\text{g/L}$ vs $0.27 \pm 0.17 \mu\text{g/L}$, $P < 0.05$ 或 0.01), EGF, TGF- α , bFGF水平明显降低($0.40 \pm 0.11 \mu\text{g/L}$ vs $0.56 \pm 0.15 \mu\text{g/L}$, $0.021 \pm 0.006 \mu\text{g/L}$ vs $0.029 \pm 0.012 \mu\text{g/L}$, $1.44 \pm 0.37 \mu\text{g/L}$ vs $3.26 \pm 0.45 \mu\text{g/L}$, $P < 0.05$ 或 0.01)。

结论: 胃康舒宁对大鼠胃癌前病变具有良好的治疗和逆转作用, 其疗效优于维酶素, 而调节EGF, TGF- α , GH, TNF- α , IGF-II, bFGF的分泌水平是其防治慢性萎缩性胃炎的作用机制之一。

关键词: 胃康舒宁; 慢性萎缩性胃炎; 胃癌前病变; 癌相关细胞因子; 大鼠

杨丽萍, 张文娴, 蒋时红, 刘旺根, 王琦, 王雪萍. 胃康舒宁对大鼠慢性萎缩性胃炎前病变癌相关细胞因子的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17(19): 1978-1981

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1978.asp>

0 引言

近年来, 胃癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)的转化与逆转渐受关注, 中医药对此辩证施治更具有较大优势。本课题组立足于补气养阴、化浊解毒为治则, 自拟胃康舒宁方, 临床应用及试验研究提示本方对不同病程的萎缩性胃炎具有良好疗效^[1]。本文进一步观察胃康舒宁对PLGC大鼠血清癌相关细胞因子的影响, 探讨其可能的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级 δ Wistar大鼠60只, 体质量 110 ± 10 g, 动物及清洁级动物专用饲料均由河南省实验动物中心提供。 N -甲基- N -亚硝基- N -硝基胍(N -methyl- N -nitro- N -nitrosoguanidine, MNNG)为Fluka公司产品; 各种癌相关细胞因子由郑州大

学第一附属医院放免室检测。

1.2 方法

1.2.1 药物配制: (1)维酶素溶液的配制: 将90片维酶素剥去糖衣, 充分研碎后溶于220 mL制成0.79%的溶液, 入瓶后将药瓶于沸水中加压蒸40 min, 石蜡封口, 4℃冰箱保存备用, 给药前复温, 并保证用药期间每周配药1次。(2)胃康舒宁水煎剂的配制: 太子参15 g、石斛15 g、白术10 g、当归10 g、白芍15 g、竹茹12 g、土元10 g等, 均购自河南中医学院第三附属医院, 经水煎、600 g/L乙醇沉淀48 h、过滤, 用前按课题设置要求浓缩成所需剂量的溶液, 保存方法同维酶素。

1.2.2 分组及用药: 雄性Wistar大鼠60只, 先将动物随机分为2组: 正常对照组12只, 常规饲养24 wk后, 每日灌胃蒸馏水2 mL, 直至实验结束; 余大鼠采用限期饮水给药法建立大鼠PLGC模型, 每日将新鲜配制浓度为100 g/L的MNNG饮用液供大鼠自由饮用, 连续24 wk。造模中死亡5只, 造模结束时(24 wk末)随机抽检7只了解PLGC的发生, 剩余36只存活大鼠即为有效动物。再将36只存活大鼠随机分为3组, 分别按下面方法处理12 wk: 模型组12只, 每日1次灌服自来水2 mL; 维酶素组: 12只已造模大鼠, 每日1次按成人等效剂量的10倍灌服维酶素溶液2 mL; 胃康舒宁组: 12只已造模大鼠, 给予生药含量相当于成人等效剂量10倍的胃康舒宁溶液灌胃, 每日1次, 每次2 mL。各组灌胃均12 wk。

1.2.3 取材: 所有大鼠于末次给药后禁食12 h, 观察记录一般情况, 乙醚麻醉, 称取体质量, 心尖取血后处死, 分离血清, -20℃保存, 待检。

1.2.4 指标测定: 采用放免法分别检测血清中表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、转化生长因子- α (transforming growth factor- α , TGF- α)、生长激素(growth hormone, GH)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、胰岛素样生长因子-II(insulin-like growth factor-II, IGF-II)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)含量, 各项指标检测均由郑州大学第一附属医院放免室完成。

统计学处理 将所有实验数据用Excel建立数据库, 计数资料用 χ^2 检验, 计量资料用方差分析 t 检验。

2 结果

与模型组大鼠相比, 用药组大鼠血清GH、

■研发前沿

胃癌是我国最常见的癌症之一, 胃癌前病变(PLGC)的研究一直是消化科、肿瘤科热点。现代中医药应用研究表明: 胃癌前病变是可以逆转的, 因此中医药对本病的研究, 既是优势, 也是热点。

■应用要点

本方用药轻灵, 清热而不伤胃, 养阴而不恋邪, 且无壅滞之弊, 寓治于养之中, 是治疗不同证候萎缩性胃炎之较好方剂, 在多年临床应用该药治疗慢性萎缩性胃炎的实践中, 取得了良好疗效。

■名词解释

癌前状态：指易恶变的全身性或局部的疾病或状态，而癌前病变则是病理学概念。胃癌的癌前状态有：(1)慢性萎缩性胃炎；(2)胃息肉；(3)残胃炎；(4)恶性贫血胃体有显著萎缩者；(5)少数胃溃疡患者。而胃癌前病变是一个组织病理学概念，主要包括2个方面，即胃黏膜肠上皮化生(IM)和异性增生(Dys)。癌前病变也和癌前状态一样，有较轻度的，也有较重度的，轻度的可以逆转消失，或发展为重度的，但重度的癌前病变也不一定都发展成为胃癌，在适当的条件下或合理的治疗之后，逆转而趋向于正常分化。

表 1 各组大鼠血清癌相关细胞因子的变化 (mean ± SD, μg/L)

分组	n	EGF	TGF-α	GH	TNF-α	IGF- II	bFGF
正常组	12	0.35 ± 0.12	0.020 ± 0.009	0.26 ± 0.13	98.45 ± 11.44	0.53 ± 0.21	1.32 ± 0.27
模型组	11	0.56 ± 0.15 ^b	0.029 ± 0.012 ^a	0.11 ± 0.04 ^b	83.64 ± 3.75 ^b	0.27 ± 0.17 ^b	3.26 ± 0.45 ^b
维酶素组	11	0.52 ± 0.15 ^b	0.019 ± 0.007 ^c	0.14 ± 0.06 ^b	86.33 ± 4.12 ^{be}	0.33 ± 0.17 ^b	2.44 ± 0.42 ^{ac}
胃康舒宁组	12	0.40 ± 0.11 ^{ad}	0.021 ± 0.006 ^c	0.24 ± 0.10 ^{df}	91.46 ± 7.63 ^{ace}	0.38 ± 0.12 ^{ac}	1.44 ± 0.37 ^{cf}

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 正常组; ^cP<0.05, ^dP<0.01 vs 造模对照组; ^eP<0.05, ^fP<0.01 vs 维酶素组。

TNF-α、IGF- II水平显著增高($P<0.05$ 或 0.01)，EGF、TGF-α、bFGF水平明显降低($P<0.05$ 或 0.01)。各组大鼠血清癌相关细胞因子的变化见表1。

3 讨论

胃癌的发生是从慢性浅表性胃炎→慢性萎缩性胃炎→肠上皮化生→非典型增生→胃癌的多阶段发展过程。单纯性慢性萎缩性胃炎属胃癌前状态，伴有肠化生或不典型增生者被认为是癌前病变。近年来，PLGC的转化与逆转渐受关注，中医药对此辩证施治比现代医学更具有优势。现代中医认为，慢性萎缩性胃炎的病因多为胃阴不足，脾气虚弱，肝郁气滞，湿浊毒邪蕴于血分而成，病位在脾胃肝胆，牵及肺肾。本课题组立足于补气养阴、化浊解毒为治则，自拟胃康舒宁方，具有“升脾阳，泻阴火，活血滞，化湿浊，标本同治，气阴双补”的功效。本方用药轻灵，清热而不伤胃，养阴而不恋邪，且无壅滞之弊，寓治于养之中，是治疗PLGC的较好方剂。本项目前期研究结果也显示：胃康舒宁对PLGC大鼠胃黏膜萎缩、肠上皮化生、非典型增生状况均有显著地改善作用^[1]。

近年来，随着分子生物学的发展，人们发现了许多促进不同类型细胞分裂和分化的生长因子，如EGF、TGF、TNF、IGF、VEGF及FGF等，他们受基因调控，通过与细胞膜上特异性受体结合而在调节细胞分化、增殖，维持上皮完整性中扮演重要角色^[3]。

EGF主要由颌下腺、十二指肠勃氏(Brunner)腺和胰腺分泌，对于促进胃肠道黏膜上皮的增生，增加胃黏膜血流量、表面黏液和碳酸氢盐的分泌，抑制胃酸分泌等有重要作用，对消化道的生长、分化及成熟具有重要的调节作用，与胃癌的发生、发展有着密切的关系^[4-5]。研究证实，慢性萎缩性胃炎状态下，长期炎症刺激使原癌基因C-erb-1的活化而过度表达癌基因产物

表皮生长因子(epidermal growth factor receptor, EGFR)，后者与表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)结合后，使细胞的分裂与增殖异常，引起胃黏膜的胃黏膜肠上皮化生、异型增生，最后导致胃癌发生^[6-7]。TGF-α是维持胃黏膜完整性的最重要肽类物质。其作用主要是促进上皮迁移和增殖，促进局部血液循环，抑制胃酸分泌，保护胃肠道黏膜细胞。生理水平的TGF-α主要参与胃黏膜损伤后修复，但过高水平的TGF-α在多种上皮组织中有促增殖作用而表现出潜在的致癌作用。bFGF是一种重要的细胞分裂原，具有促进细胞分化和增生，血管生成以及创伤愈合等多种生物学效应。研究发现：大肠癌、肺癌、垂体腺瘤、黑色素瘤、前列腺癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌和消化系统的神经内分泌瘤有不同程度的bFGF蛋白表达，并与某些肿瘤的血管密度，转移趋势有关^[8]。Rogeli *et al*^[9]也发现bFGF参与细胞恶性转化。因此，此3种细胞因子对于胃黏膜的作用被认为具有“双刃性”，即在生理水平下可维持或促进胃黏膜损伤后修复，过高水平分泌却表现出致癌作用。本研究发现，PLGC模型组大鼠血清EGF、TGF-α、bFGF水平较正常组大鼠明显增高($P<0.01$ 或 $P<0.05$)，表明上述3种细胞因子可能参与了PLGC的发生和转化过程。经胃康舒宁治疗后血清EGF水平明显降低，表明中药胃康舒宁可以下调内源性EGF、TGF-α、bFGF的分泌而逆转PLGC胃黏膜的增殖异常，从而阻断其向胃癌转化。

TNF-α由单核巨噬细胞、淋巴细胞分泌，具有抗肿瘤、抗病毒、参与多种免疫调节过程的球蛋白，能特异地杀伤肿瘤细胞，而对正常细胞无不良影响。研究表明，中草药的抗肿瘤活性和增强机体免疫作用都与其能诱导TNF有关^[10-11]。GH是由脑垂体远侧部嗜酸性细胞分泌的含氮类激素，除了对胃肠道黏膜上皮细胞的代谢、生长和分化有直接的调节作用，还可刺激多种组织产生IGF，通过胰岛素样生长因子介导而起

作用, 所以GH与胃泌素一样被认为是胃黏膜的主要营养因子, 对整个胃黏膜生长和修复有极重要的作用^[12]. IGF-II是由67个氨基酸组成的多肽, 通过自分泌或旁分泌作用促细胞转化, 刺激DNA与蛋白合成, 促进细胞有丝分裂, 而在细胞增殖、分化、凋亡及突变等过程中起重要作用^[13]. 本研究发现, PLGC模型大鼠存在着血清GH、TNF- α 、IGF-II水平低下($P<0.01$), 表明PLGC的发生和转化可能与三者缺乏造成的胃黏膜营养匮乏、上皮修复障碍及机体免疫力低下有关. 经胃康舒宁治疗后, 大鼠胃黏膜炎症和萎缩程度明显减轻, 血清GH、TNF- α 、IGF-II水平显著增高($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 提示促使上述3种细胞因子的分泌增加, 可能是其逆转PLGC胃黏膜的增殖异常, 从而阻断其向胃癌转化的作用机制之一. 但对TNF- α 、IGF-II的作用仍未调节到接近正常水平, 提示本研究对该药的应用可能尚未达到最佳量效和/或时效关系. 对此, 本课题组也将继续进行关注和深入研究.

4 参考文献

- 1 刘旺根, 王琦, 冯黎. 胃康舒宁对大鼠胃癌前病变胃黏膜病理形态及细胞凋亡指数影响的研究. 中外健康文摘 2007; 4: 469-470
- 2 刘旺根, 王守东, 冯黎. 胃康舒宁对胃癌前病变大鼠胃黏膜上皮细胞凋亡及其相关调控基因表达的影响. 河南中医 2007; 27: 20-21
- 3 Jankowski J, al-Rawi HJ, Johnston DA, Hopwood D, Filipe MI, Coghil G, Wormsley KG. Growth regulatory peptides in gastric mucosa. *Clin Sci (Lond)* 1992; 82: 581-587
- 4 Konturek JW, Bielanski W, Konturek SJ, Bogdal J, Oleksy J. Distribution and release of epidermal growth factor in man. *Gut* 1989; 30: 1194-1200
- 5 章宏, 姒建敏, 王开明, 袁笑萍, 丁伟, 黄怀德. 表皮生长因子及其受体在慢性萎缩性胃炎中的表达和致癌变意义的探讨. 中国肿瘤临床 1998; 25: 85-93
- 6 蔡锦莲, 李爱娣, 曾兰英. 萎胃散对慢性萎缩性胃炎患者EGF和GH的影响. 中医药学刊 2006; 24: 1266-1268
- 7 刘旺根, 蒋时红. 黄芪建中汤干预脾虚型慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜表皮生长因子含量、诱导型一氧化氮合成酶和表皮生长因子受体基因的表达. 中国临床康复 2006; 10: 123-125
- 8 Yamanaka Y, Friess H, Buchler M, Beger HG, Uchida E, Onda M, Kobrin MS, Korc M. Overexpression of acidic and basic fibroblast growth factors in human pancreatic cancer correlates with advanced tumor stage. *Cancer Res* 1993; 53: 5289-5296
- 9 Ikeguchi R, Kakinoki R, Matsumoto T, Yamakawa T, Nakayama K, Morimoto Y, Tsuji H, Ishikawa J, Nakamura T. Basic fibroblast growth factor promotes nerve regeneration in a C- α -ion-implanted silicon chamber. *Brain Res* 2006; 1090: 51-57
- 10 Yamashiki M, Nishimura A, Nomoto M, Suzuki H, Kosaka Y. Herbal medicine 'Sho-saiko-to' induces tumour necrosis factor- α and granulocyte colony-stimulating factor in vitro in peripheral blood mononuclear cells of patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 11: 137-142
- 11 王冠福, 李伟毅, 张敏, 程丽萍, 陈广洁, 孙福梅, 朱云凤. 灵苓胶囊对小鼠特异性体和肿瘤坏死因子产生以及抗S₁₈₀肉瘤的作用. 上海免疫学杂志 1995; 15: 233-235
- 12 马阿火, 任疆, 王晓丽, 潘颖颖, 吕文嫦, 姒建敏. 慢性萎缩性胃炎患者血清生长激素水平的研究. 慢性萎缩性胃炎患者血清生长激素水平的研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2003; 12: 553-555
- 13 Iizuka N, Oka M, Tamesa T, Hamamoto Y, Yamada-Okabe H. Imbalance in expression levels of insulin-like growth factor 2 and H19 transcripts linked to progression of hepatocellular carcinoma. *Anticancer Res* 2004; 24: 4085-4089

■同行评价

本文在前期临床报道的基础上, 从癌细胞相关因子方面探讨了胃康舒宁对大鼠胃癌前病变(PLGC)的作用机制, 对于进一步揭示其防治的分子机制做了有益的探索, 具有一定的临床指导意义与科学探索价值.

编辑 李军亮 电编 吴鹏联

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆 2008年版《中文核心期刊要目总览》

本刊讯 《中文核心期刊要目总览》(2008年版)采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达80余种, 统计文献量达32400余万篇次(2003-2005年), 涉及期刊12400余种. 本版还加大了专家评审力度, 5500多位学科专家参加了核心期刊评审工作. 经过定量评价和定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1980余种核心期刊, 分属七大编73个学科类目. 《世界华人消化杂志》入选本版核心期刊库(见R5内科学类核心期刊表, 第66页). (常务副总编辑: 张海宁 2009-07-08)