

# 胃痛灵保护胃粘膜作用及对胃溃疡愈合质量的影响

鄢顺琴<sup>1</sup> 凤良元<sup>1</sup> 苏英豪<sup>2</sup> 陈向涛<sup>1</sup> 许家林<sup>2</sup>

**内容提要** 采用无水乙醇、0.6 N HCl、0.6 N NaOH 等诱发大鼠急性胃溃疡，并用冰醋酸引发慢性溃疡模型，观察中药胃痛灵对胃粘膜的保护作用。用粘液组织化学染色、AgNOR 染色和免疫组化染色对大鼠愈合性胃溃疡再生粘膜进行定量观察，用胃痛灵治疗后和自然愈合的溃疡粘膜作比较。结果显示愈合性胃溃疡再生粘膜可能是胃溃疡复发的形态学基础，并可能与癌变有关；胃痛灵不仅能促进溃疡愈合，而且能提高胃溃疡的愈合质量，有助于防止胃溃疡的复发与癌变。

**关键词** 胃痛灵 胃溃疡 胃粘膜 再生粘膜

**Protective Effect of "Wei Tong Ling" on Gastric Mucosa and Influence on Quality of Gastric Ulcer Healing** Yan Shun-qin, Feng Liang-yuan, Su Ying-hao, et al *Anhui College of TCM, Hefei (230038)*

The acute gastric ulcer rat models were induced by dehydrated alcohol, 0.6 N hydrochloric acid and 0.6 N sodium hydroxide, and the chronic gastric ulcer rat models were established by means of acetic acid, the protective effect of Chinese medicine "Wei Tong Ling" (WTL) on gastric mucous membrane was studied. Using histochemical mucin stain, AgNOR stain and immunohistochemical technique the regenerated mucosa of healed gastric ulcer induced by acetic acid in rats was observed quantitatively. They were compared with that of WTL. The results showed that the regenerated mucosa of healed gastric ulcer might be the morphological basis for the recurrence of gastric ulcer and be associated with canceration. WTL could not only accelerate the healing of ulcer but also raise the quality of gastric ulcerous healing which was beneficial for the prevention of ulcer recurrence and canceration. The protective effect of WTL on gastric mucosa was confirmed by various assays.

**Key words** Wei Tong Ling, gastric ulcer, gastric mucosa, regenerated mucosa

我们曾有实验<sup>[1]</sup>证明胃痛灵对胃肠平滑肌有明显的解痉作用，与该药用于治疗胃脘痛有明显疗效相吻合。为进一步研究该药的作用，重点研究了对急慢性胃粘膜损害的保护作用以及对胃溃疡愈合质量的影响，现报告如下。

## 实验材料

1 动物 4 月龄 SD 大鼠，雌雄皆用，体重  $200 \pm 20$  g，安徽医学研究所实验动物中心提供。

2 药品 胃痛灵口服液（由大黄、白术、白芍、香附、枳实组成）由安徽中医学院天然医药保健品食品研究所提供，每毫升含生药 1.0 g。

1. 安徽中医学院（合肥 230038）；2. 安徽医科大学

3 器材 游标卡尺：0~125 mm，分度值 0.02 mm，成都量具刃具总厂产品。

## 方法与结果

### 1 对急性胃粘膜损伤的保护作用

1.1 对无水乙醇诱发溃疡的影响 选用禁食 48 h 后大鼠，随机分为胃痛灵 I 组（2.5 g/kg）、II 组（5.0 g/kg）、III 组（7.5 g/kg）和生理盐水组共 4 组，每组各 6 只，分别用生理盐水 5.0 ml/kg 及等体积受试药物灌胃，1 h 后，各鼠用无水乙醇 1 ml/只灌胃。1 h 后，颈椎脱臼处死大鼠取胃，用 1% 甲醛常规固定胃内外壁，10 min 后，沿胃大弯侧剪开，漂去内容物并平展，用游标卡尺测量出血性溃疡面积，按照

Okabe 改良法计算粘膜损伤指数以及溃疡抑制率<sup>(2)</sup>。用非参数秩和检验多组间比较,求得 H 值再进行 q 检验,两两比较其差异显著性。结果:胃痛灵 I、II、III 组胃溃疡指数分别是  $9.67 \pm 6.65$ 、 $1.10 \pm 0.89$ 、 $0.42 \pm 0.40$ ,与生理盐水组胃溃疡指数  $18.0 \pm 3.52$  比较,明显减少( $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.01$ )。其溃疡抑制率分别为 46.28%、93.8%、97.67%,显示胃痛灵有明显保护作用。

1.2 对盐酸诱发溃疡的影响 实验分组、给药及操作与统计方法同前。每组大鼠各 7 只,灌服 0.6 N HCl 1 ml/只诱发溃疡。结果:胃痛灵 I、II、III 组胃溃疡指数分别为  $0.36 \pm 0.48$ 、 $0.07 \pm 0.19$ 、 $0.21 \pm 0.27$ ,与生理盐水组胃溃疡指数  $7.28 \pm 1.25$  比较,差别有高度显著性( $P < 0.01$ ),溃疡抑制率分别为 95.05%、99.03%、97.11%,有明显保护作用。

1.3 对氢氧化钠诱发溃疡的影响 每组动物各 6 只,灌服 0.6 N NaOH 诱发溃疡,实验分组、给药及操作方法同前。结果:胃痛灵 I、II、III 组溃疡指数分别为  $4.57 \pm 2.30$ 、 $2.14 \pm 1.07$ 、 $0.8 \pm 0.27$ ,与生理盐水组胃溃疡指数  $6.57 \pm 0.76$  比较,也明显减少,差别有显著性( $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.01$ ),溃疡抑制率分别为 29.69%、67.08%、87.69%,显示有明显保护作用。

2 对慢性胃粘膜损伤的保护作用 用浸有冰醋酸直径为 5 mm 的圆形滤纸,按无菌要求常规手术操作,在麻醉大鼠的腺胃部前壁窦体分界处,于胃体部的浆膜面同一部位接触 2 次,每次 30 s,然后缝合腹壁。大鼠苏醒后,随机分为未治疗组 7 只,胃痛灵 I 组(2 g/kg)6 只,胃痛灵 II 组(4 g/kg)6 只,未损伤组 10 只。未治疗组与未损伤组每天灌服 5.0 ml/kg 生理盐水,给药组灌服与生理盐水组同体积的药物,每天 1 次,连续 16 天后,处死动物取胃作如下检查。

2.1 常规形态学检查 动物剖腹后取胃按前述方法测量胃粘膜异常灶大小。结果:冰醋酸损伤部位的表面粘膜“正常”或轻度凹陷,或凸凹不平,呈现愈合性溃疡,未治疗组凹陷范围较广,与胃痛灵 I、II 组比较无显著性差异( $P > 0.05$ )。

2.2 炎细胞密度计数 经上述检查后的胃标本,在冰醋酸损伤处(溃疡愈合处)取材 1~3 块,石蜡包埋,连续切片厚 5  $\mu$ m,苏木素-伊红染色(HE),用测微尺于高倍镜下计数 5 个视野( $125 \mu\text{m}^2/\text{视野}$ )中慢性炎细胞和中性白细胞数,取其平均值,为该炎细胞密度。结果:未治疗组慢性炎细胞和中性白细胞密度均明显高于其他各组( $P < 0.01$ );胃痛灵 I 组明显低

于胃痛灵 II 组( $P < 0.05$ ),与未损伤组间无显著性差异( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 各组动物炎细胞和中性白细胞密度计数 (个,  $\bar{x} \pm S$ )

| 组别     | 鼠数 | 慢性炎细胞                                     | 中性白细胞                                   |
|--------|----|-------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 未损伤    | 10 | $5.82 \pm 2.23^*$                         | $0.13 \pm 0.31^*$                       |
| 未治疗    | 7  | $71.00 \pm 43.39 \Delta$                  | $5.11 \pm 3.89 \Delta$                  |
| 胃痛灵 I  | 6  | $15.70 \pm 7.73^*$                        | $0.60 \pm 0.31^*$                       |
| 胃痛灵 II | 6  | $40.30 \pm 13.12^* \Delta \blacktriangle$ | $1.13 \pm 0.93^* \Delta \blacktriangle$ |

注:与未治疗组比较,  $^*P < 0.01$ ; 与未损伤组比较,  $\Delta P < 0.01$ ; 与胃痛灵 I 组比较,  $\blacktriangle P < 0.05$

2.3 愈合性溃疡镜下观察 溃疡面再生粘膜变薄,腺体稀疏并排列紊乱,间质有多少不等急慢性炎细胞浸润并可伴淋巴滤泡形成,呈轻—中度“局灶性萎缩性胃炎”改变。粘膜和粘膜下层可见异物肉芽肿形成,再生粘膜下为炎性肉芽组织,部分有肌层破坏中断,浆膜常与肝及网膜粘连。均表明为新近愈合之胃溃疡改变。再生粘膜常有异型囊形成,未治疗组和胃痛灵 II 组轻度各 1 只、中度各 2 只,共 6 只,胃痛灵 I 组未出现异型增生<sup>(3)</sup>。

2.4 粘液组织化学染色 用阿里新蓝—过碘酸雪夫氏染色,即 AB(pH 2.5)/PAS 和 AB(pH 1.0)/PAS 染色以区别中性粘液、硫酸粘液和唾液酸粘液<sup>(4)</sup>。用鸟居明法<sup>(5)</sup>测量表面粘液厚度( $T_1, \mu\text{m}$ )、粘膜内粘液厚度( $T_2, \mu\text{m}$ )和粘膜固有层厚度( $T_3, \mu\text{m}$ ),计算表面粘液指数( $T_1/T_2$ )、粘膜内粘液指数( $T_2/T_3$ )和总粘液指数 [ $(T_1 + T_2)/T_3$ ] 以反映中性粘液分泌状况。结果见表 2。

表 2 各组动物粘液分泌状况比较 ( $\bar{x} \pm S$ )

| 组别     | 鼠数 | $T_1/T_2$              | $T_2/T_3$           | $(T_1 + T_2)/T_3$   |
|--------|----|------------------------|---------------------|---------------------|
| 未治疗    | 7  | $0.005 \pm 0.003^{**}$ | $0.346 \pm 0.264^*$ | $0.351 \pm 0.264^*$ |
| 胃痛灵 I  | 6  | $0.013 \pm 0.008$      | $0.608 \pm 0.211$   | $0.622 \pm 0.245$   |
| 胃痛灵 II | 6  | $0.003 \pm 0.002^{**}$ | $0.273 \pm 0.034^*$ | $0.277 \pm 0.033^*$ |

注:与胃痛灵 I 组比较,  $^*P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$

胃痛灵 I 组胃体  $T_1/T_3$ 、 $T_2/T_3$ 、 $(T_1 + T_2)/T_3$  值均明显高于其他两组,并有显著性差异( $P < 0.05$ ,  $0.01$ )。粘液组化染色,显示 5 只异型增生上皮出现硫酸粘液,此外异型增生上皮粘液分泌明显减少,甚至消失。

2.5 核仁相关区嗜银蛋白(AgNOR)染色 采用改良 Ploton 银染法<sup>(6)</sup>,各组每只大鼠均取材,选择 50 个完整清晰的细胞观察其核内 AgNOR 颗粒数,计算平均每个细胞颗粒数;随机选 50 个颗粒,计算平均每个颗粒最大径( $\mu\text{m}$ )、靠边颗粒总个数及异型

表3 中度异型增生与正常粘膜 AgNOR 的比较 ( $\bar{x} \pm S$ )

| 组 别    | 鼠数 | 阳性颗粒个数           | 颗粒最大径( $\mu\text{m}$ ) | 靠边颗粒个数            | 异型颗粒个数           |
|--------|----|------------------|------------------------|-------------------|------------------|
| 正常粘膜   | 19 | 1.24 $\pm$ 0.11  | 1.82 $\pm$ 0.21        | 5.63 $\pm$ 1.89   | 0 或偶见            |
| 中度异型增生 | 4  | 2.04 $\pm$ 0.47* | 2.34 $\pm$ 0.41*       | 31.25 $\pm$ 4.19* | 3.50 $\pm$ 1.91* |

注: 与正常粘膜组比, \* $P < 0.01$

颗粒总个数(不规形、碎片状、分枝状、条索状等定为异型颗粒)。结果: 发现中度异型增生和异型囊上皮细胞核中 AgNOR 阳性颗粒数、颗粒最大径、靠边颗粒数和异型颗粒数均明显高于非溃疡区正常粘膜, 见表 3。

2.6 免疫组化染色 采用 ABC 法对异型增生上皮癌胚抗原(CEA)进行检查。结果: 显示 3 只中度异型增生上皮 CEA 为弱阳性表达。

## 讨 论

日常生活中引起胃粘膜损害的因素很多, 最常见的有酒精、酸、碱等, 它们有一定的代表性。尽管它们对胃粘膜损害的机制及过程不同, 但最终均为降低或破坏胃粘膜的防御功能。实验表明胃痛灵对无水乙醇、酸、碱诱发的急性胃粘膜损伤均有明显的保护作用, 说明其保护作用是多方面的。通过冰醋酸诱发大鼠慢性胃粘膜损伤实验, 发现溃疡可自然愈合, 溃疡面再生粘膜肉眼观察“正常”或仅轻度凹陷, 但镜下呈现轻一中度“局灶性萎缩性胃炎”改变, 有炎症存在。现代认为萎缩性胃炎可导致胃溃疡形成<sup>(7)</sup>, 胃溃疡多发生在慢性胃炎的基础上<sup>(8)</sup>。说明胃溃疡愈合后应按慢性胃炎治疗一段时间, 并活检随访跟踪, 本实验研究为此提供了依据。

鸟居明认为粘液系数减少表明粘膜防御能力减弱, 特别是表面粘液系数减少, 可能与粘膜病变有密切关系, 相反粘液系数增加, 则表明粘膜防御功能增强, 可考虑将此作为抗溃疡作用的研究指标。药物作用性质不同, 对胃粘膜各部位粘液的影响各异<sup>(5)</sup>。实验发现胃痛灵 1 组可使胃体(冰醋酸损伤部位)表面粘液系数、粘膜内粘液系数和总粘液系数均有明显增加, 表明该药有其独特之处, 胃痛灵适当剂量可使胃粘膜防御功能明显增强, 为该药对抗急慢性胃粘膜损伤提供了一定的理论依据。

目前普遍认为中、重度异型增生和异型囊是重要的癌前病变<sup>(9, 10)</sup>, 而出现硫酸粘液和 CEA(+)的上皮与胃癌关系密切<sup>(11)</sup>。AgNOR 反映 rDNA 转录水平, 为胃癌及癌前病变诊断分级较为客观的辅助定量指标<sup>(6)</sup>。冰醋酸涂抹法所引起的大鼠胃溃疡在光镜下, 溃疡形态结构类似人胃溃疡<sup>(12)</sup>, 所出现愈合型

胃溃疡再生粘膜以及中度异型增生和异型囊上皮细胞 AgNOR 颗粒数目、大小、分布和形态异常均明显高于非溃疡区正常粘膜, 属首次发现。结合日前已有胃溃疡再生粘膜出现低分化腺癌的情况<sup>(3)</sup>, 我们认为胃溃疡的治疗不仅要考虑促进溃疡愈合, 更应考虑愈合质量。对抗溃疡药物的评价亦应如此。

从慢性胃溃疡病理发现, 胃痛灵 I 组未见异型增生, 再生粘膜接近正常, 表明胃痛灵适当剂量在促进溃疡愈合的同时, 可防止癌前病变发生, 是一个很有前景的药物。

## 参 考 文 献

1. 凤良元, 鄢顺琴, 徐兆兰, 等. 胃痛灵对小鼠胃排空、肠推进功能的影响. 安徽中医学院学报 1992; 11(增刊): 49.
2. 凤良元, 鄢顺琴, 杨 敏. 胃粘膜保护剂的研究与应用. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1993: 79.
3. 张荫昌. 胃病理及胃粘膜活检. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1988: 13—15.
4. 董聿明, 李 昆, 刘世德, 等. 胃粘膜肠上皮化生类型及其与胃癌的关系——光镜、粘液组织化学及电镜观察. 中华肿瘤杂志 1984; 6(5): 342.
5. 鸟居明, 有泉雅博, 岩崎仁, 等. シツト胃被覆すよび粘膜内粘液の组织化学的研究——数种薬剤の胃粘液に対する影响. 日本消化器病学会杂志 1984; 81(7): 1529.
6. 余景瑞, 孙幼芳. 核仁组成区测定对胃癌和癌前病变诊断上的意义. 癌症. 1993; 12(1): 30.
7. Correa P. Chronic gastritis: a clinico-pathologic classification. Am J Gastroenterol 1988; 83: 504.
8. 郑芝田. 胃肠病学. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 210—216.
9. 雷道年, 李吉友. 胃粘膜病变的病理学研究进展. 中华病理学杂志 1991; 20(2): 81.
10. 刘为纹. 胃粘膜癌前病变研究进展. 中华消化杂志 1992; 12(1): 20.
11. Murayama H, Kikuchi M, Enjoji M. Changes in gastric mucosa that antedate gastric carcinoma. Cancer 1990; 66(9): 2017.
12. 陈永祥. 贯煎对四种实验性胃溃疡的防治作用. 中药药理与临床 1990; (4): 1.

(收稿: 1994—08—24 修回: 1995—01—20)