

# 苗药良姜胃疡胶囊对胃溃疡模型大鼠的预防作用及机制研究<sup>△</sup>

邓连力<sup>1\*</sup>, 张金娟<sup>2</sup>, 梁冰<sup>2</sup>, 熊英<sup>2</sup>, 廖尚高<sup>1,3</sup>, 王海波<sup>4</sup>, 何迅<sup>3,5#</sup> [1. 贵州医科大学药学院, 贵阳 550025; 2. 贵州医科大学基础医学院, 贵阳 550025; 3. 贵州省药物制剂重点实验室, 贵阳 550004; 4. 葵花药业集团(贵州)宏奇有限公司, 贵州六盘水 553400; 5. 贵州医科大学医药卫生管理学院, 贵阳 550025]

中图分类号 R285.5; R573.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)07-0946-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.07.18

**摘要** 目的: 研究苗药良姜胃疡胶囊对胃溃疡大鼠模型的预防作用及机制。方法: 将大鼠随机分为正常组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、阳性对照组(奥美拉唑, 0.02 g/kg)和良姜胃疡胶囊低、中、高剂量组(0.3、0.6、1.2 g/kg), 每组12只。每天灌胃给药1次, 连续给药1周。末次给药1 h后, 除正常组外, 其余各组大鼠均灌胃无水乙醇复制胃溃疡模型。造模1 h后, 测定各组大鼠胃液量、胃液pH、胃蛋白酶活力、胃溃疡面积及胃溃疡抑制率; 苏木精-伊红(HE)染色后显微镜下观察各组大鼠胃黏膜组织病理学变化, 酶联免疫吸附试验法检测各组大鼠血清中肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素6(IL-6)水平; Western blot法检测各组大鼠胃组织中核转录因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)通路相关蛋白[磷酸化核转录因子 $\kappa$ B亚基65(p-NF- $\kappa$ B p65)、磷酸化核转录因子 $\kappa$ B抑制蛋白 $\alpha$ (p-I $\kappa$ B $\alpha$ )]的水平。结果: 与正常组比较, 模型组大鼠胃液量、胃蛋白酶活力、胃溃疡面积和血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6水平及胃组织中p-NF- $\kappa$ B p65、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 水平均显著增加/升高( $P < 0.05$ ), 胃液pH显著降低( $P < 0.01$ ); 胃组织黏膜充血红肿、黏膜上皮细胞缺损明显、腺体结构破坏、细胞结构不完整。与模型组比较, 阳性对照组和良姜胃疡胶囊中、高剂量组大鼠胃液量、胃蛋白酶活力、胃溃疡面积和TNF- $\alpha$ 、IL-6水平均显著减少/降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ), 胃液pH显著升高( $P < 0.05$ ); 胃组织黏膜正常、腺体破坏减轻、细胞结构基本完整; 良姜胃疡胶囊高剂量组大鼠胃组织中p-NF- $\kappa$ B p65、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 水平显著降低( $P < 0.05$ )。结论: 良姜胃疡胶囊可通过升高胃液pH, 抑制胃蛋白酶活力, 减少炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-6的释放, 抑制NF- $\kappa$ B通路相关蛋白表达, 从而发挥其对胃溃疡的预防作用。

**关键词** 苗药; 良姜胃疡胶囊; 胃溃疡; 胃蛋白酶活力; 核转录因子 $\kappa$ B通路; 大鼠

## Study on Provention Effect and Mechanism of Miao Medicine Liangjiang Weiyang Capsule on Gastric Ulcer Model Rats

DENG Lianli<sup>1</sup>, ZHANG Jinjuan<sup>2</sup>, LIANG Bing<sup>2</sup>, XIONG Ying<sup>2</sup>, LIAO Shangao<sup>1,3</sup>, WANG Haibo<sup>4</sup>, HE Xun<sup>3,5</sup>  
(1. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 2. School of Basic Medicine,

- [12] 张艳. 复方羊角颗粒治疗偏头痛43例[J]. 河南中医, 2017, 37(4): 630-632.
- [13] 刘伟, 来华安. 复方羊角胶囊治疗头痛100例临床疗效观察[J]. 陕西中医学院学报, 2002, 25(4): 21-23.
- [14] 袁华. 复方羊角颗粒联合氟桂利嗪治疗偏头痛的疗效观察[J]. 中医临床研究, 2014, 6(9): 16-21.
- [15] 张馨, 王野成. 佐米曲普坦治疗无先兆性偏头痛临床疗效研究[J]. 北华大学学报, 2014, 15(3): 355-357.
- [16] 赵岩. 头痛汤对偏头痛大鼠模型中脑导水管周围灰质c-fos、c-jun基因表达影响[D]. 济南: 山东中医药大学, 2006.
- [17] 姜维, 韦红梅, 赵美, 等. 大鼠偏头痛模型的制作改进及评判指标选择[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(9): 1623-1627.
- [18] 董兰真, 蒲圣雄. 偏头痛与神经源性炎症的研究进展[J]. 重庆医学, 2015, 44(8): 1126-1128.
- [19] MALHOTRA R. Understanding migraine: potential role of neurogenic inflammation[J]. *Ann Indian Acad Neurol*, 2016, 19(2): 175-182.
- [20] YAKSH TL, ALLEN JW, VEESART SL, et al. Role of meningeal mast cells in intrathecal morphine-evoked granuloma formation[J]. *Anesthesiology*, 2013, 118(3): 664-678.
- [21] 倪红霞, 王春梅. 白芷总香豆素联合白芷挥发油对大鼠偏头痛的预防作用及机制[J]. 吉林大学学报, 2018, 44(3): 487-492.
- [22] DRUMMOND PD. Effect of tryptophan depletion on symptoms of motion sickness in migraineurs[J]. *Neurology*, 2005, 65(4): 620-622.
- [23] 刘洁, 李利民, 宁楠, 等. 半夏泻心汤对偏头痛模型大鼠血液流变学及神经递质影响的实验研究[J]. 成都中医药大学学报, 2015, 38(1): 13-20.

<sup>△</sup>基金项目: 贵州省科技计划项目(No. 黔科合支撑[2017]2888)

\* 硕士研究生。研究方向: 中药药效物质基础及作用机制。电话: 0851-88308118。E-mail: 319903684@qq.com

# 通信作者: 教授, 硕士生导师。研究方向: 中药制剂及质量控制。电话: 0851-88308118。E-mail: 2812878586@qq.com

(收稿日期: 2018-09-25 修回日期: 2019-01-10)

(编辑: 唐晓莲)

Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 3. Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics, Guiyang 550004, China; 4. Sunflower Pharmaceutical Group (Guizhou) Hongqi Co., Ltd., Guizhou Liupanshui 553400, China; 5. School of Medicine and Health Management, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the protective effect and mechanism of Miao medicine Liangjiang weiyang capsule on gastric ulcer model rats. METHODS: Rats were randomly divided into normal group (normal saline), model group (normal saline), positive control group (omeprazole, 0.02 g/kg) and Liangjiang weiyang capsule low-dose, medium-dose and high-dose groups (0.3, 0.6, 1.2 g/kg), with 12 rats in each group. All rats were intragastrically administered once a day for consecutive one week. 1 h after last administration, all rats except those in normal group were given the absolute ethanol to induce gastric ulcer model. 1 h after modeling, gastric juice volume, gastric juice pH, pepsin activity, gastric ulcer area and inhibitory rate of gastric ulcer were recorded in each group. Histopathological changes of gastric mucosa in rats of each group were observed by HE staining. The serum levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 were determined by ELISA. The expression of nuclear factor- $\kappa$ B pathway related protein (p-NF- $\kappa$ B p65, p-I $\kappa$ B $\alpha$ ) in gastric tissue of rats were determined by Western blot. RESULTS: Compared with normal group, gastric juice volume, pepsin activity, gastric ulcer area, TNF- $\alpha$  and IL-6 levels in serum, p-NF- $\kappa$ B p65 and p-I $\kappa$ B $\alpha$  levels in the gastric tissue were significantly increased/rised ( $P < 0.05$ ), while gastric juice pH was significantly decreased ( $P < 0.01$ ); there were gastric mucosal hyperemia and redness, obvious defect of mucosal epithelial cells, destruction of gland structure and incomplete cell structure. Compared with model group, gastric juice volume, pepsin activity, gastric ulcer area and the levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 were reduced/decreased significantly in positive control group, Liangjiang weiyang capsule medium-dose and high-dose groups ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), while pH value of gastric juice was increased significantly ( $P < 0.05$ ); gastric mucosa was normal, gland destruction was alleviated and cell structure was intact. The levels of p-NF- $\kappa$ B p65 and p-I $\kappa$ B $\alpha$  in gastric tissue were significantly decreased in Liangjiang weiyang capsule high-dose groups ( $P < 0.05$ ). CONCLUSIONS: Liangjiang weiyang capsule play a role to protect gastric ulcer by increasing gastric juice pH, inhibiting pepsin activity, reducing the release of inflammatory factors as TNF- $\alpha$ , IL-6 and inhibiting the expression of NF- $\kappa$ B pathway related protein.

**KEYWORDS** Miao medicine; Liangjiang weiyang capsule; Gastric ulcer; Pepsin activity; NF- $\kappa$ B; Rats

胃溃疡(Gastric ulcer, GU)是以长期反复发作的周期性、节律性的上腹疼痛为主要临床表现的消化系统常见病<sup>[1]</sup>,相关研究统计,全世界胃溃疡的年发病率超过2.5%<sup>[2]</sup>,炎症糜烂、浅表性溃疡及胃肠道出血是胃溃疡的主要表现,胃黏膜损害和过度的炎症反应[如肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素6(IL-6)等炎症因子的过度表达]被认为是导致胃溃疡的直接原因,而核转录因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)及其抑制蛋白 $\alpha$ (I $\kappa$ B $\alpha$ )的异常表达是引起过度炎症反应的重要因素<sup>[3]</sup>。

良姜胃疡胶囊系由苗药铁筷子、吴茱萸、地乌泡等组成的复方制剂<sup>[4]</sup>,具有温胃散寒、理气止痛等功效,临床上用于胃溃疡及十二指肠溃疡的治疗,并具有良好的治疗效果,但其作用机制尚不清楚。因此,本研究拟通过检测良姜胃疡胶囊对无水乙醇所致胃溃疡模型大鼠血清中炎症因子的表达及胃黏膜组织中NF- $\kappa$ B亚基65(NF- $\kappa$ B p65)及I $\kappa$ B $\alpha$ 的磷酸化情况,探讨该药对胃溃疡的预防作用机制,为其临床合理用药提供依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

PHS-25数显台式pH计(上海越平科学仪器有限公司);BI-2000医学图像分析系统(成都泰盟科技有限公司);XS205万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多科学

仪器公司);RP6002K电子天平(上海寺冈电子有限公司);5810 R高速冷冻离心机(美国Eppendorf公司);ELx800-MV酶标仪(美国Bio-Tek公司);DYY-7C电泳仪(北京市六一仪器厂);IX71光学显微镜(日本Olympus公司);XRS+化学发光成像系统(美国伯乐生命医学产品有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

良姜胃疡胶囊[葵花药业集团(贵州)宏奇有限公司,批号:20180501,规格:0.5 g/粒];奥美拉唑肠溶胶囊(成都天台山制药有限公司,批号:171013,规格:20 mg/粒);无水乙醇(天津市风船化学试剂科技有限公司,批号:20161202);胃蛋白酶试剂盒(批号:20180523)、TNF- $\alpha$ 试剂盒(批号:20180524)、IL-6试剂盒(批号:20180524)均购自南京建成生物工程研究所;NF- $\kappa$ B p65兔多克隆抗体(批号:8242-S)、磷酸化NF- $\kappa$ B p65(p-NF- $\kappa$ B p65)兔多克隆抗体(批号:3033-T)、I $\kappa$ B $\alpha$ 兔多克隆抗体(批号:4814-T)、磷酸化I $\kappa$ B $\alpha$ (p-I $\kappa$ B $\alpha$ )兔多克隆抗体(批号:2859-T)均购自美国Cell Signaling公司;辣根酶(HRP)标记的山羊抗兔免疫球蛋白G(HRP-IgG)抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号:129736);兔 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号:AG07197903)。

### 1.3 动物

SPF级SD大鼠,♀♂各半,体质量180~220 g,购自长沙市天勤生物技术有限公司,动物生产许可证号:SCXK(湘)2014-0011。本实验过程中对大鼠的处理已通过贵州医科大学药学院动物伦理委员会同意。

## 2 方法

### 2.1 分组、给药与造模

取大鼠72只,随机分为正常组、模型组、阳性对照组和良姜胃疡胶囊低、中、高剂量组,每组12只,♀♂各半。阳性对照组大鼠灌胃奥美拉唑(0.02 g/kg,根据人临床用药剂量换算,用时生理盐水溶解),良姜胃疡胶囊低、中、高剂量组大鼠分别灌胃良姜胃疡胶囊0.3、0.6、1.2 g/kg(根据人临床用药剂量换算,分别相当于人临床用药剂量的0.5、1、2倍,用时生理盐水溶解),正常组和模型组大鼠灌胃等量生理盐水,各组大鼠每天灌胃给药1次,连续给药1周。除正常组(等量生理盐水)外,各组大鼠于末次给药1 h后,灌胃无水乙醇(5 mL/kg),复制胃溃疡模型<sup>[5-6]</sup>。

### 2.2 大鼠胃液量、胃液pH、胃蛋白酶活力的检测

造模1 h后,各组取8只大鼠麻醉,腹主动脉取血适量,作为血浆样品。然后自胸骨剑突下沿腹中线开腹,暴露胃,摘取全胃,小心挤出胃内容物置于离心管中,3 000 r/min离心(离心半径为7 cm,下同)5 min,分离上清液(即为胃液),以量筒准确测量胃液量;然后采用pH计测定各组大鼠胃液pH,按胃蛋白酶活力检测试剂盒说明书操作,测定各组大鼠胃液中胃蛋白酶的活力。

### 2.3 大鼠胃溃疡面积及胃溃疡抑制率的测定

胃液取完后,切下全胃,先注入冰生理盐水将胃清洗干净,胃内注入1%甲醛溶液,并将胃浸入1%的甲醛溶液中固定48 h,固定完成后,沿胃大弯剪开胃组织,展开,测量胃溃疡区域的面积,参照文献方法<sup>[6]</sup>计算胃溃疡抑制率[胃溃疡抑制率=(模型组大鼠胃溃疡面积-给药组大鼠胃溃疡面积)/模型组大鼠胃溃疡面积×100%]。

### 2.4 大鼠胃黏膜组织病理学观察

各组大鼠胃组织胃溃疡面积测定结束后,胃组织重新置于4%多聚甲醛继续固定24 h,按常规步骤制备石蜡包埋切片,二甲苯脱蜡,乙醇梯度脱水后,苏木精-伊红(HE)染色,再常规脱水、透明、树脂封片,于显微镜下观察各组大鼠胃组织病理学变化。

### 2.5 血清中TNF-α、IL-6水平测定

取“2.2”项下血浆样品,4℃条件下,3 000 r/min离心10 min,分离血清,采用TNF-α、IL-6试剂盒分别测定血清中TNF-α、IL-6水平,具体操作步骤严格按照试剂盒说明书方法进行。

### 2.6 NF-κB通路相关蛋白表达水平检测

造模1 h后,各组另取4只大鼠麻醉,取胃组织沿胃大弯剪开,生理盐水洗净,滤纸吸干,每组称取胃组织

300 mg,用眼科剪于冰浴上剪碎,加入8倍量的RIPA裂解液,裂解30 min,收集于1.5 mL的离心管中,4℃条件下,12 000 r/min离心(离心半径为7 cm)10 min,收集上清液,即得总蛋白提取液。采用二喹啉甲酸(BCA)法对总蛋白提取液进行蛋白浓度测定,经蛋白上样缓冲液稀释后,100℃沸水变性,备用。每组取蛋白样品20 μg进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,电泳结束后转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,以5%脱脂奶粉置于摇床上封闭1 h,加入相应一抗[p-NF-κB p65(1:1 000)、NF-κB p65(1:1 000)、p-IκBα(1:1 000)、IκBα(1:1 000)、β-actin(1:5 000)],4℃孵育过夜,次日用TBST洗膜3次,每次5 min;加入二抗[HRP-IgG(1:5 000)],室温孵育1 h,然后TBST洗膜3次,每次5 min,然后进行显影处理,采用Image Lab 3.0软件分析目标条带和内参条带的灰度值,以目标蛋白与β-actin灰度值的比值表示该蛋白的相对表达水平。

### 2.7 统计学方法

应用SPSS 22.0软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析。方差齐时,组间两两比较采用LSD检验;方差不齐时,采用Dunnett's *t*检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 各组大鼠胃液量、胃液pH、胃蛋白酶活力测定结果

与正常组比较,模型组大鼠胃液量、胃蛋白酶活力均显著增加( $P < 0.01$ ),胃液pH显著降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,阳性对照组和良姜胃疡胶囊中、高剂量组大鼠胃液量、胃蛋白酶活力均显著减少/降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),胃液pH显著增加( $P < 0.05$ )。各组大鼠胃液量、胃液pH、胃蛋白酶活力测定结果见表1。

表1 各组大鼠胃液量、胃液pH、胃蛋白酶活力测定结果( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Tab 1 Results of gastric juice volume, gastric juice pH and pepsin activity of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	剂量,g/kg	胃液量,mL	胃液pH	胃蛋白酶活力,U/mL
正常组		1.05±0.38	4.53±0.44	16.04±4.87
模型组		3.91±0.78 <sup>##</sup>	2.42±0.62 <sup>##</sup>	32.39±8.45 <sup>##</sup>
阳性对照组	0.02	2.08±0.80 <sup>**</sup>	3.48±0.54 <sup>**</sup>	19.05±5.57 <sup>**</sup>
良姜胃疡胶囊低剂量组	0.3	3.39±0.66	2.94±0.64	24.75±2.27
良姜胃疡胶囊中剂量组	0.6	3.03±0.84 <sup>*</sup>	3.18±0.46 <sup>*</sup>	21.44±5.22 <sup>**</sup>
良姜胃疡胶囊高剂量组	1.2	2.51±0.69 <sup>**</sup>	3.30±0.65 <sup>*</sup>	19.95±3.60 <sup>**</sup>

注:与正常组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

Note: vs. normal group, <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; vs. model group, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$

### 3.2 各组大鼠胃溃疡面积及溃疡抑制率测定结果

与正常组比较,模型组大鼠胃溃疡面积显著增加( $P < 0.01$ )。与模型组比较,阳性对照组和良姜胃疡胶

囊各剂量组大鼠胃溃疡面积显著减少( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),且良姜胃疡胶囊的作用呈现一定的量效关系,各组大鼠胃溃疡面积及溃疡抑制率测定结果见表2。

表2 各组大鼠胃溃疡面积及溃疡抑制率测定结果( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Tab 2 Results of gastric ulcer area and ulcer inhibition rate of rats in each group ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	剂量, g/kg	胃溃疡面积, mm <sup>2</sup>	溃疡抑制率, %
正常组			
模型组		87.6±15.4 <sup>##</sup>	
阳性对照组	0.02	40.2±9.5 <sup>**</sup>	54.1
良姜胃疡胶囊低剂量组	0.3	67.2±12.8 <sup>*</sup>	23.3
良姜胃疡胶囊中剂量组	0.6	46.4±11.8 <sup>**</sup>	47.0
良姜胃疡胶囊高剂量组	1.2	36.6±11.9 <sup>**</sup>	58.2

注:与正常组比较, <sup>##</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较, <sup>\*</sup> $P<0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P<0.01$

Note: vs. normal group, <sup>##</sup> $P<0.01$ ; vs. model group, <sup>\*</sup> $P<0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P<0.01$

### 3.3 各组大鼠胃黏膜组织病理学观察结果

正常组大鼠胃黏膜腺体排列整齐,黏膜、黏膜下层结构完整,无损伤。与正常组比较,模型组大鼠胃组织黏膜充血红肿、黏膜上皮细胞缺损明显、腺体结构破坏、细胞结构不完整。与模型组比较,阳性对照组和良姜胃疡胶囊中、高剂量组大鼠胃组织黏膜正常、腺体破坏减轻、细胞结构基本完整。各组大鼠胃黏膜组织病理学观察结果见图1。

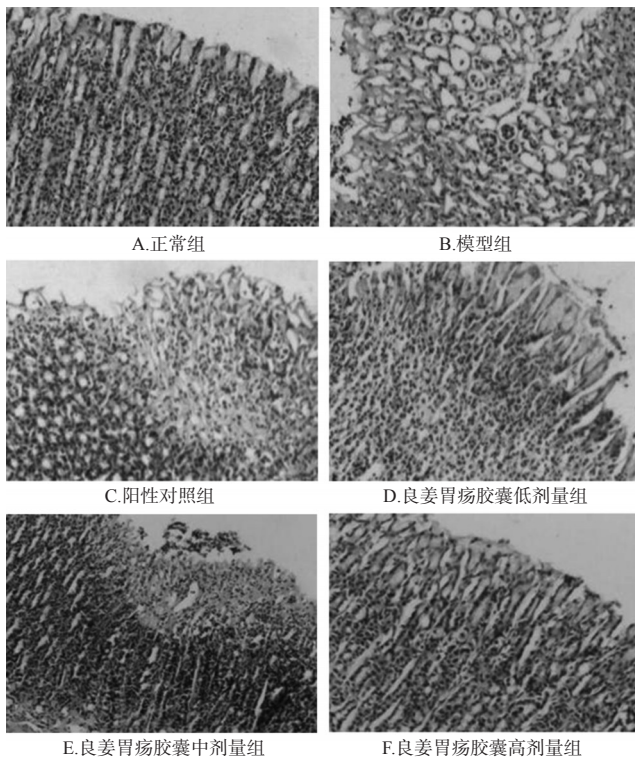


图1 各组大鼠胃黏膜组织病理学观察结果(HE染色, ×200)

Fig 1 Pathological morphological observation of gastric mucosa of rats in each group (HE staining, ×200)

### 3.4 各组大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6水平测定结果

与正常组比较,模型组大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6水平显著升高( $P<0.01$ )。与模型组比较,阳性对照组和良姜胃疡胶囊中、高剂量组大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6水平显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。各组大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6水平测定结果见表3。

表3 各组大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6水平测定结果( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Tab 3 Serum levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 of rats in each group ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	剂量, g/kg	TNF- $\alpha$ , pg/mL	IL-6, pg/mL
正常组		46.39±4.06	111.61±10.39
模型组		97.82±8.12 <sup>##</sup>	173.18±12.81 <sup>##</sup>
阳性对照组	0.02	80.48±4.52 <sup>**</sup>	138.53±9.88 <sup>**</sup>
良姜胃疡胶囊低剂量组	0.3	88.85±3.95	164.84±11.78
良姜胃疡胶囊中剂量组	0.6	85.40±5.90 <sup>*</sup>	150.52±13.57 <sup>*</sup>
良姜胃疡胶囊高剂量组	1.2	78.65±7.21 <sup>**</sup>	147.62±12.58 <sup>**</sup>

注:与正常组比较, <sup>##</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较, <sup>\*</sup> $P<0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P<0.01$

Note: vs. normal group, <sup>##</sup> $P<0.01$ ; vs. model group, <sup>\*</sup> $P<0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P<0.01$

### 3.5 NF- $\kappa$ B通路相关蛋白表达水平检测结果

与正常组比较,模型组大鼠胃组织p-NF- $\kappa$ B p65、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白表达水平显著升高( $P<0.05$ ),NF- $\kappa$ B p65、I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白表达水平显著降低( $P<0.05$ )。与模型组比较,良姜胃疡胶囊高剂量组p-NF- $\kappa$ B p65、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白表达水平显著降低( $P<0.05$ ),良姜胃疡胶囊中、高剂量组NF- $\kappa$ B p65、I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白表达水平显著升高( $P<0.05$ )。各组大鼠胃组织中p-NF- $\kappa$ B p65、NF- $\kappa$ B p65、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 、I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白电泳图见图2,测定结果见表4。

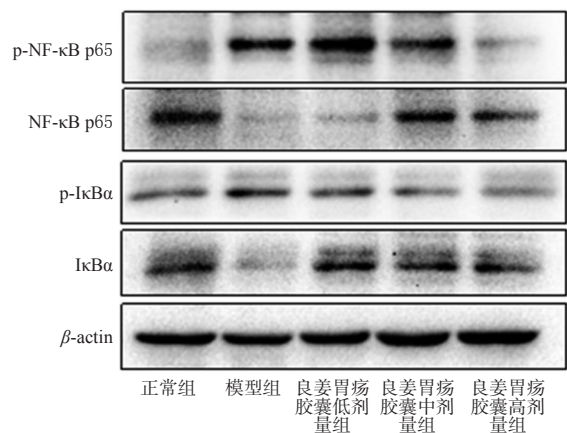


图2 各组大鼠胃组织p-NF- $\kappa$ B p65、NF- $\kappa$ B p65、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 、I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白表达的电泳图

Fig 2 Electrophoretic diagrams of protein expression of p-NF- $\kappa$ B p65, NF- $\kappa$ B p65, p-I $\kappa$ B $\alpha$  and I $\kappa$ B $\alpha$  in gastric tissue of rats in each group

## 4 讨论

胃溃疡是临床常见的消化道疾病,是指胃黏膜在接触某些有害物质引起的胃黏膜炎症、糜烂和出血的统

表4 各组大鼠胃组织中 p-NF-κB p65、NF-κB p65、p-IκBα、IκBα 蛋白相对表达量的测定结果 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=4$ )

Tab 4 Relative protein expression of p-NF-κB p65, NF-κB p65 p-IκBα and IκBα in gastric tissue of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=4$ )

组别	p-NF-κB p65/β-actin	NF-κB p65/β-actin	p-IκBα/β-actin	IκBα/β-actin
正常组	0.29±0.02	0.87±0.06	0.51±0.04	0.88±0.07
模型组	0.69±0.07 <sup>#</sup>	0.48±0.11 <sup>#</sup>	0.84±0.09 <sup>#</sup>	0.47±0.05 <sup>#</sup>
良姜胃疡胶囊低剂量组	0.87±0.20	0.52±0.09	0.76±0.08	0.81±0.10 <sup>*</sup>
良姜胃疡胶囊中剂量组	0.66±0.08	0.69±0.05 <sup>*</sup>	0.72±0.08 <sup>*</sup>	0.81±0.07 <sup>*</sup>
良姜胃疡胶囊高剂量组	0.37±0.06 <sup>*</sup>	0.71±0.04 <sup>*</sup>	0.65±0.06 <sup>*</sup>	0.83±0.12 <sup>*</sup>

注:与正常组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P<0.05$

Note:vs. normal group,<sup>#</sup> $P<0.05$ ;vs. model group,<sup>\*</sup> $P<0.05$

称<sup>[7]</sup>。相关研究表明,胃酸、胃蛋白酶等攻击因子是导致胃溃疡的直接原因。因此,保护胃黏膜、减少胃液分泌量、降低胃液酸度、维持胃黏膜屏障作用,是防治胃溃疡的有效措施<sup>[8]</sup>。奥美拉唑是质子泵抑制剂,能够抑制 H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性、抑制胃酸分泌,同时能够降低胃蛋白酶活性、促进胃黏膜修复<sup>[9]</sup>,故本研究以其为阳性对照药(由于其不作用于 NF-κB 通路,故作用机制研究不以其为阳性对照)。笔者通过对大鼠胃液量、胃液 pH、胃蛋白酶活力、胃溃疡面积的测定,发现良姜胃疡胶囊中、高剂量均能有效地减少胃液分泌、升高胃液 pH、降低胃蛋白酶活力、减少胃溃疡面积,从而降低其对胃黏膜的损害。

炎症因子的异常表达贯穿在胃溃疡的发生发展过程中<sup>[10]</sup>,其表达水平的变化可反映胃溃疡发展的严重程度<sup>[11]</sup>。其中,TNF-α 是侵袭性炎症因子之一,在机体中主要介导抗肿瘤及免疫调节,同时参与炎症演变和疾病的发生发展过程;IL-6 可导致黏膜血管出血和损伤,与胃溃疡的发展也有关系<sup>[11]</sup>。本研究结果显示,良姜胃疡胶囊能够显著降低胃溃疡模型大鼠血清中 TNF-α、IL-6 等炎症因子水平,从而减轻炎症因子对胃黏膜的损伤。

NF-κB 信号通路参与炎症反应的发生,与胃黏膜损伤的发生过程有关<sup>[12]</sup>。NF-κB 家族由 p65 和 p50 亚基组成,存在于细胞质中,NF-κB 的 p65 亚基与 IκBα 结合,覆盖 p50 的核定位信号,不能发挥转录调节功能<sup>[13]</sup>。在外界刺激时,上游级联反应诱导 IκBα 磷酸化,进而诱导 p65 亚基磷酸化,释放 p50 核定位信号,p50 进入核内激活炎症基因转录和表达,诱导炎症发生。本研究结果显示,良姜胃疡胶囊能下调胃黏膜组织中 NF-κB p65、IκBα 磷酸化表达,抑制 NF-κB 通路介导的炎症反应,发挥胃黏膜保护作用。

综上所述,良姜胃疡胶囊可减少胃液分泌量、升高胃液 pH、抑制胃蛋白酶活力,其抗胃溃疡的作用机制可

能与减少炎症因子 TNF-α、IL-6 的产生以及抑制 NF-κB 通路相关蛋白的表达有关。

### 参考文献

- [1] 杨伟兴,李兵,曾俊,等.中医药对胃溃疡及相关因子 Bcl-2、NF-κB 的研究进展[J].世界最新医学信息文摘,2018,18(18):96-98.
- [2] KAZMI I, SALEEM S, AHMAD T, et al. Protective effect of oleane-12-en-3β-ol-28-oic acid 3β-D-glucopyranoside in ethanol induced gastric ulcer by enhancing the prostaglandin E2 level[J]. *J Ethnopharmacol*, 2018.DOI: 10.1016/j.jep.2017.09.012
- [3] LI W, WANG X, ZHANG H, et al. Anti-ulcerogenic effect of cavidine against ethanol-induced acute gastric ulcer in mice and possible underlying mechanism[J]. *Int Immunopharmacol*, 2016.DOI:10.1016/j.intimp.2016.06.016.
- [4] 邱德文,杜江.中华本草苗药卷[M].贵阳:贵州科技出版社,2005:617.
- [5] 王慧,甘超汝,张杰,等.参积护胃颗粒对无水乙醇诱导大鼠实验性胃溃疡的保护作用研究[J].中南药学,2014,12(4):315-318.
- [6] ANTONISAMY P, DURAI PANDIYAN V, ARAVINTHAN A, et al. Protective effects of friedelin isolated from azima tetracantha Lam. against ethanol-induced gastric ulcer in rats and possible underlying mechanisms[J]. *Eur J Pharmacol*, 2015.DOI:10.1016/j.ejphar.2015.01.015.
- [7] 洪金标,易受乡,黄芸,等.艾灸血浆对乙醇损伤的人胃黏膜上皮细胞的影响[J].世界华人消化杂志,2010,18(31):3287-3293.
- [8] 张琪,梁海业,陈世新,等.基于 Keap1-Nrf2-ARE 通路维持黏膜屏障完整探讨舒胃汤防治胃溃疡的研究[J].现代中西医结合杂志,2016,25(13):1395-1397.
- [9] 李朝芬.奥美拉唑治疗胃溃疡的研究进展[J].世界最新医学信息文摘,2017,17(41):77.
- [10] TAKEUCHI K, UESHIMA K, HIRONAKA Y, et al. Oxygen free radicals and lipid peroxidation in the pathogenesis of gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rats[J]. *Digestion*, 1991,49(3):175-184.
- [11] 迟栋.绞股蓝水提物对束缚水浸应激性胃溃疡模型大鼠的预防作用[J].中国药房,2017,28(13):1773-1776.
- [12] MEI X, XU D, XU S, et al. Novel role of Zn (II) curcumin in enhancing cell proliferation and adjusting proinflammatory cytokine-mediated oxidative damage of ethanol-induced acute gastric ulcers[J]. *Chem Biol Interact*, 2012, 197(1):31-39.
- [13] 王琛. NF-κB 信号通路在七氟烷预处理对大鼠心肌缺血保护机制中的作用[D].苏州:苏州大学,2011.

(收稿日期:2018-10-24 修回日期:2019-01-08)

(编辑:唐晓莲)