

本文引用:喻斌,曾孟晖,徐寅,杜珊,黄柳向,毛一之,符佳.肝胃百合汤对慢性应激与幽门螺杆菌双重损伤因素模型小鼠胃黏膜组织HSP70、NF- $\kappa$ B蛋白表达的影响[J].湖南中医药大学学报,2019,39(9):1073-1078.

# 肝胃百合汤对慢性应激与幽门螺杆菌双重损伤因素模型小鼠胃黏膜组织 HSP70、NF- $\kappa$ B 蛋白表达的影响

喻斌<sup>1</sup>,曾孟晖<sup>2</sup>,徐寅<sup>1</sup>,杜珊<sup>3</sup>,黄柳向<sup>1</sup>,毛一之<sup>3</sup>,符佳<sup>1</sup>

(1.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙410007;2.湖南省人民医院星沙院区/长沙县人民医院,湖南长沙410100;  
3.湖南中医药大学,湖南长沙410208)

**[摘要]** 目的 观察肝胃百合汤对慢性应激与Hp感染双因素损伤模型小鼠胃组织NF- $\kappa$ B、HSP70蛋白表达的影响,并研究其治疗机制。方法 将60只雄性小鼠随机分为6组,分别为空白组、单纯应激组、单纯Hp组、Hp+应激组、肝胃百合汤组及雷尼替丁组;空白组和单纯Hp组正常饲养,不限制进食进水;其余各组小鼠随机选取禁食、禁水、电击、行为束缚等10种刺激方法制备慢性应激小鼠模型。于造模第7天时,除空白组及单纯应激组外,其余各组小鼠给予Hp菌液灌胃;连续造模14d时,肝胃百合汤组小鼠灌胃肝胃百合汤,雷尼替丁组小鼠予以灌胃盐酸雷尼替丁,其他各组小鼠灌胃蒸馏水;连续干预14d后,取胃组织检测溃疡指数;采用免疫组化法检测小鼠胃黏膜组织HSP70、NF- $\kappa$ B的蛋白表达。结果 对比空白组,单纯Hp组、单纯应激组以及Hp+应激组小鼠的溃疡指数与HSP70、NF- $\kappa$ B蛋白表达明显升高( $P<0.01$ ),且Hp+应激组小鼠的溃疡指数及NF- $\kappa$ B蛋白表达显著高于单纯应激组及单纯Hp组( $P<0.01$ );对比Hp+应激组,肝胃百合汤组和雷尼替丁组小鼠溃疡指数均显著降低( $P<0.01$ ),且肝胃百合汤小鼠的溃疡指数组显著低于雷尼替丁组( $P<0.01$ );肝胃百合汤组和雷尼替丁组HSP70蛋白表达显著增加( $P<0.01$ ),NF- $\kappa$ B蛋白表达显著降低( $P<0.01$ ),且肝胃百合汤组HSP70蛋白表达量大于雷尼替丁组,NF- $\kappa$ B蛋白表达量低于雷尼替丁组( $P<0.01$ )。结论 慢性应激与Hp可协同致胃黏膜损伤;肝胃百合汤可能是通过使HSP70蛋白表达增加,加强胃组织的自身修复作用,使受体的自身免疫能力提高,并降低NF- $\kappa$ B蛋白表达,减少其活性,使受损胃组织的炎症反应降低,从而起到抑制Hp,修复受损胃组织,加快胃溃疡好转的作用。

**[关键词]** 肝胃百合汤;慢性应激性胃溃疡;幽门螺杆菌;HSP70;NF- $\kappa$ B

**[中图分类号]** R285.5;R573.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2019.09.005

## Effects of Ganwei Baihe Decoction on Expressions of HSP70 and NF- $\kappa$ B Proteins in Gastric Mucosa Tissue of Model Mice with Double Injury Factors of Chronic Stress and *Helicobacter pylori*

YU Bin<sup>1</sup>, ZENG Menghui<sup>2</sup>, XU Yin<sup>1</sup>, DU Shan<sup>3</sup>, HUANG Liuxiang<sup>1</sup>, MAO Yizhi<sup>3</sup>, FU Jia<sup>1</sup>

(1. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China;

2. Xingsha Branch of Hunan Provincial People's Hospital/People's Hospital of Changsha County, Changsha,

Hunan 410100, China; 3. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the effects of Ganwei Baihe Decoction on expressions of HSP70 and NF- $\kappa$ B proteins in gastric mucosa tissue of model mice with double injury factors of chronic stress and *Helicobacter pylori*, and to study its mechanism of treatment. **Methods** A total of 60 male mice were randomly divided into 6 groups: blank group, stress group, Hp group, Hp + stress group, Ganwei Baihe Decoction group, and ranitidine group. The blank group and the Hp group were given normal diet, without limiting the intake of food and water; the other groups were randomly given 1 of the 10 stimulus methods such as fasting food, fasting water, electric shock, behavior constraints and other methods to prepare chronic stress mouse models. On the 7th day of modeling, except the blank group and the stress group, the other groups were given Hp

**[收稿日期]** 2018-07-05

**[基金项目]** 湖南省中医药管理局重点课题(201512);湖南省教育厅科学研究重点项目(17A158)。

**[作者简介]** 喻斌,男,主任医师,教授,硕士研究生导师,研究方向:消化系统疾病的中西医结合诊治,E-mail:yubin410@163.com。

bacterium solution by gavage. After 14 d of continuous modeling, the Ganwei Baihe Decoction group was given Ganwei Baihe Decoction by gavage, the ranitidine group was given ranitidine hydrochloride by gavage, and the rest groups were given distilled water by gavage. After 14 d of continuous intervention, gastric tissue was selected to determine ulcer indexes. The expressions of HSP70 and NF- $\kappa$ B proteins in gastric mucosa tissue of mice were detected by immunohistochemistry. **Results** The ulcer indexes and HSP70 and NF- $\kappa$ B protein expressions in the stress group, the Hp group and the Hp + stress group were significantly higher than those in the blank group ( $P < 0.01$ ), and the ulcer index and NF- $\kappa$ B protein expression in the Hp + stress group were significantly higher than those in the stress group and the Hp group ( $P < 0.01$ ). Compared with the Hp + stress group, the ulcer indexes in the Ganwei Baihe Decoction group and the ranitidine group were significantly decreased ( $P < 0.01$ ), and the ulcer index in the Ganwei Baihe Decoction group was significantly lower than that in the ranitidine group ( $P < 0.01$ ). The expression of HSP70 protein in the Ganwei Baihe Decoction group and the ranitidine group was significantly increased ( $P < 0.01$ ), and the NF- $\kappa$ B decreased expression was significantly decreased ( $P < 0.01$ ). And the expression quantity of HSP70 protein in the Ganwei Baihe Decoction group was higher than that in the ranitidine group, and the expression quantity of NF- $\kappa$ B protein was lower than that in the ranitidine group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Chronic stress and Hp can cause gastric mucosal injury in synergy. Ganwei Baihe Decoction can increase the expression of HSP70 protein, promote self-repair function of gastric tissue, enhance the immunity of receptors, decrease NF- $\kappa$ B protein expression and activity, and decrease the inflammatory reaction of gastric tissue, so as to achieve the effects of inhibiting Hp, repairing gastric mucosal injury, and promoting ulcer healing.

[**Keywords**] Ganwei Baihe Decoction; chronic stress gastric ulcer; *Helicobacter pylori*; HSP70; NF- $\kappa$ B

胃溃疡(gastric ulcer, GU)是指在饮食药物刺激、精神应激、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)感染等条件下,由于胃酸或胃蛋白酶自我消化破坏胃组织,而引起的溃疡,其破坏程度通常达到或超过了胃黏膜肌层。而Hp也是溃疡发生的重要原因之一。Matsushima等<sup>[1]</sup>通过调研发现,神户大地震发生后的一段时间,消化性溃疡的人群显著增加,其中很大一部分患者都是由于精神压力过大导致,同时Hp感染在胃溃疡的发病中也有不可忽视的作用。根据调查结果,Yamamoto等<sup>[2]</sup>对应激与Hp感染双重损伤因素对小鼠胃组织的损害作用进行了实验研究,得出了Hp感染会使强迫游泳小鼠出现的胃黏膜破坏更加严重的结论。而Guo等<sup>[3]</sup>研究发现,感染了Hp的BALB/c小鼠,慢性心理应激会使其胃中Hp繁殖量明显增加,并使Hp导致的胃组织损伤更加严重,证明慢性应激与Hp对胃黏膜的损伤有协同作用。

对于慢性应激引起并同时有Hp感染的消化性溃疡患者,现代医学一般选择三联或四联疗法来清除Hp、保护胃黏膜,此疗法起效较快,可有容易耐药、副作用较多、费用较高的不足之处,且胃中定植的Hp虽被清除,但慢性应激使患者产生的不适感并没有太大缓解。肝胃百合汤是已故湖湘中医五老之一的夏度衡教授的经验方,也是夏教授“后天脾胃难离肝”的学术思想的代表方,本院使用此方治疗合并有Hp感染的肝胃气滞型胃溃疡常有显著疗效。通过前期的各项研究<sup>[4-7]</sup>,得出了肝胃百合汤能明显

缓解肝胃气滞型胃溃疡患者的难受症状,对胃组织的修复有促进作用,且能有效杀灭Hp的结论。根据这个结论,我们进一步推测肝胃百合汤可能是通过加强热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)的表达,降低核转录因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)的活性来治疗合并Hp感染的慢性应激性胃溃疡。为中医药预防和治疗合并Hp感染的慢性应激性胃溃疡提出新的诊疗方法与实验依据,现将实验报道如下。

## 1 材料

### 1.1 实验动物和菌种

6周龄雄性健康BALB/c小鼠(SPF级)60只,质量在19~22g之间,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,许可证号:SYXK(湘)2015-0003,动物质量合格号:43004700025541。动物饲养环境:温度20~25℃,湿度50%~70%。幽门螺杆菌:悉尼标准菌株(悉尼菌株I, SSI),菌株含有空泡细胞毒素(vacA)和细胞毒素相关基因(cagA)蛋白由湖南中医药大学微生物免疫教研室提供,浓度为 $1 \times 10^9$  cfu/mL。

### 1.2 实验药物

肝胃百合汤(百合15g,柴胡9g,郁金9g,乌药9g,川楝子9g,丹参9g,白芍9g,蒲公英15g,甘草6g),饮片购自湖南中医药大学第一附属医院中药房;煎煮饮片并使用离心机去除药物中残渣,将药物浓缩至每1mL含1g生药,置于4℃冰箱中备用。盐酸雷尼替丁胶囊批号:1602224,购自佛山手

心制药有限公司,规格:0.15 g/粒。

### 1.3 主要仪器及试剂

GIS-1000 数码凝胶图像处理系统(天能科技有限公司),PM 8AD 摄像显微镜(奥林巴斯公司),Image-Pro-Plus 图像分析软件(Media Cybernetics)。PBS (pH 7.2~7.6)、枸橼酸盐缓冲液均购自 Wellbio 公司,HSP70 一抗(批号 10995-1-AP)、NF- $\kappa$ B 一抗(批号 14220-1-AP)均购自 Proteintech 公司。

## 2 方法

### 2.1 实验分组及造模方法

将 60 只 BALB/C 小鼠按体质量分层随机分成 6 组,分别为空白组、单纯应激组、单纯 Hp 组、Hp+应激组、雷尼替丁组、肝胃百合汤组,每组 10 只。空白组及单纯 Hp 组正常饲养,不限制饮水及纳食。其他组按照相关文献<sup>[8-9]</sup>随机选取禁食、禁水、电击、行为束缚等 10 种刺激方法制备慢性应激小鼠模型,固定于每天上午 9 时重新选择刺激因素,共制造小鼠模型 28 d。于造模第 7 天时,除空白组及单纯应激组外,其余各组小鼠使用 Hp 菌液 0.5 mL/只( $1 \times 10^9$  cfu/mL)灌胃,并在灌 Hp 菌液前 24 h 禁止进食,4 h 禁止饮水;灌胃后再禁食禁水 2 h。每次灌胃间隔 1 d,共灌胃 3 次。28 d 后,造模结束,剪断小鼠尾巴提取血液检测血清中 Hp 抗体,将小鼠胃组织制成病理切片,镜下察看其炎症情况。

### 2.2 干预及样本处理

小鼠连续造模 14 d 后,给予肝胃百合汤组小鼠灌胃肝胃百合汤,在灌胃前将药物按照人体用药量换算成小鼠等效剂量,换算后为 12.2 g/(kg·d)。将盐酸雷尼替丁胶囊用蒸馏水溶解后,按照 60 kg 成人用药量换算成小鼠等效剂量 40 mg/(kg·d),然后给雷尼替丁组小鼠灌胃;剩下各组小鼠给予同等体积(均为 0.4 mL/d)蒸馏水灌胃。灌胃时间固定为每天更改刺激因素前 1 h,连续灌胃 14 d。2 周灌胃结束后,将所有小鼠禁食禁水 12 h,然后处死取出胃组织,从胃大弯侧将胃组织剪开,把其中残留物使用冰生理盐水冲洗干净,使用微测尺测量黏膜溃疡或糜烂长度,计算溃疡指数。选择胃黏膜损伤较多的位置,取一块约 1 cm $\times$ 0.5 cm 的胃标本,用生理盐水将其洗净,放置于 4%多聚甲醛中处理 24 h 后,切 5  $\mu$ m 薄片,封片,用于免疫组化检测。

### 2.3 检测指标及方法

2.3.1 小鼠溃疡指数及溃疡抑制率 按照 Guth 标准测算胃黏膜溃疡指数(ulcer index, UI)及溃疡抑制率,使用微测尺测量胃组织中溃疡或糜烂的长度(mm):若糜烂为斑点状计 1 分;糜烂不足 1 mm 则为 2 分;大于 1 mm 不足 2 mm 为 3 分;大于 2 mm 不足 3 mm 为 4 分;大于 3 mm 为 5 分;若同时宽度大于 1 mm 则分数翻倍,整个胃黏膜组织总分数即为溃疡指数。

溃疡抑制率=[(Hp+应激组平均溃疡指数-药物干预组平均溃疡指数)/Hp+应激组平均溃疡指数] $\times$ 100%

2.3.2 小鼠胃黏膜组织 HE 染色 将所取胃黏膜使用石蜡包埋,然后切片脱蜡水洗,在苏木素染液中浸泡染色 2~4 min,水洗;置于 1%盐酸中分化约 10 s,再使用流水冲洗 5~10 min,直至淡紫红色的细胞核变为蓝色,置于伊红染液中浸染 30 s,再分别使用 60%~100%浓度乙醇脱水,使用二甲苯 I、二甲苯 II 透明,中性树胶封片,用光镜观察样本。

2.3.3 小鼠胃组织 HSP70 及 NF- $\kappa$ B 蛋白表达 采用免疫组化法。按试剂盒说明书操作,制成封片后将样本放于显微镜下观测,并使用 IPP 图像分析软件分析观测的图像。在每个封片观测到的图像中,随机选择 3 个高倍视野,计算蛋白阳性表达面积占所选取区域总面积的百分比,作为 HSP70、NF- $\kappa$ B 的蛋白表达量,并进行半定量分析。

### 2.4 统计学处理

数据使用 SPSS 17.0 软件进行处理与分析,计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行多组间比较。符合正态分布,同时方差齐性时,采用 LSD 法,方差不齐时采用 Tamhane's T2 法,不符合正态分布采用非参数检验。 $P < 0.05$  认为差异有统计学意义, $P < 0.01$  认为差异有显著统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 小鼠治疗后溃疡指数及溃疡抑制率比较

对比空白组,单纯 Hp 组、单纯应激组和 Hp+应激组溃疡指数明显升高( $P < 0.01$ ),同时 Hp+应激组高于单纯应激组及单纯 Hp 组( $P < 0.01$ );对比 Hp+应激组,肝胃百合汤组和雷尼替丁组溃疡指数明显减小( $P < 0.01$ ),同时肝胃百合汤组溃疡指数低于雷

尼替丁组( $P<0.01$ )。雷尼替丁组抑制溃疡的百分比低于肝胃百合汤组。结果见表1。

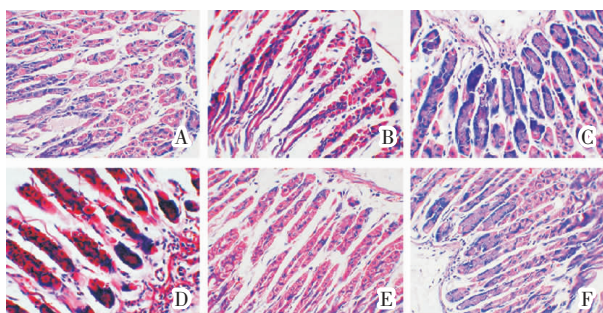
表1 各组小鼠UI及溃疡抑制率的比较( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

组别	UI	溃疡抑制率/%
空白组	0.30±0.48	-
单纯Hp组	3.50±0.53 <sup>###**△△</sup>	-
单纯应激组	4.40±0.52 <sup>###**△△</sup>	-
Hp+应激组	6.80±1.14 <sup>###</sup>	-
雷尼替丁组	2.20±0.63 <sup>###**</sup>	67.65
肝胃百合汤组	1.50±0.53 <sup>###**△△</sup>	77.94

注:与空白组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ,<sup>##</sup> $P<0.01$ ;与Hp+应激组比较,<sup>\*</sup> $P<0.01$ ;与雷尼替丁组比较,<sup>△△</sup> $P<0.01$

### 3.2 各组小鼠胃组织病理改变

空白组:胃组织光滑柔软,未见到黏膜肿胀或红斑,光镜下可见胃黏膜细胞与腺体分布规整连续;单纯Hp组:胃组织表面红肿,不够平整,有些许糜烂,腺体排列稍纷乱,光镜下可观察到浸润的炎性细胞;单纯应激组:胃组织黏膜层损坏,皱襞失去连续,能观察到掉落坏死的细胞与被胃酸破坏的组织,并能看到部分胃黏膜糜烂和呈点线状的溃疡,光镜下可见部分浸润的炎性细胞;Hp+应激组:胃组织表面被破坏较严重,可见多处皱襞没有连续性,有大量掉落的细胞、被破坏的组织以及出血,能见到许多糜烂的黏膜和点线状的溃疡损害,浸润的炎性细胞比较多,胃黏膜肌层甚至都可见炎性细胞;肝胃百合汤组:胃组织的破坏明显少于Hp+应激组,腺体分布规整连续,个别可见少许红肿,可观察到些许呈点状的糜烂,黏膜未见溃疡损害,光镜下仅观察到少许的炎症反应;雷尼替丁组:胃黏膜较平滑,可见程度较轻的肿胀,腺体的分列尚连续,胃组织被破坏的地方均不深,有些许糜烂,未见到较显眼的溃疡,光镜下能观察的浸润的炎性细胞。见图1。

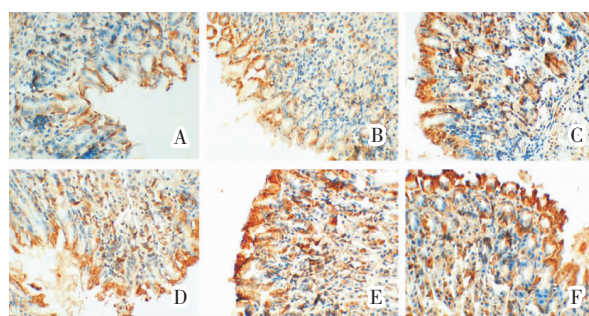


注:A.空白组;B.单纯Hp组;C.单纯应激组;D.Hp+应激组;E.肝胃百合汤组;F.雷尼替丁组

图1 小鼠胃黏膜组织病理观察光镜图(HE,×400)

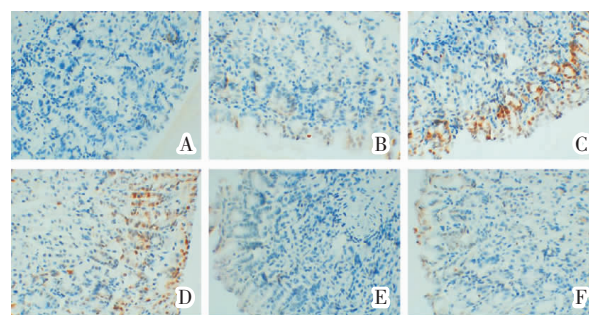
### 3.3 各组小鼠胃组织免疫组化结果

黄褐色部分在免疫组织化学图像中为阳性表现。在显微镜下可发现,空白组小鼠胃组织HSP70、NF- $\kappa$ B阳性区域较小;单纯Hp组、单纯应激组和Hp+应激组HSP70、NF- $\kappa$ B在图像中阳性区域均显著高于空白组,且Hp+应激组多于单纯Hp组、单纯应激组;肝胃百合汤组和雷尼替丁组均有大部分HSP70蛋白阳性表达,且阳性区域明显大于Hp+应激组,其中肝胃百合汤组阳性表达高于雷尼替丁组;肝胃百合汤组和雷尼替丁组胃组织NF- $\kappa$ B在图像中仅有少许阳性区域,远低于Hp+应激组,且肝胃百合汤组NF- $\kappa$ B阳性表达低于雷尼替丁组。HSP70、NF- $\kappa$ B蛋白的表达分别见图2和图3。



注:A.空白组;B.单纯Hp组;C.单纯应激组;D.Hp+应激组;E.肝胃百合汤组;F.雷尼替丁组

图2 各组小鼠胃黏膜组织HSP70蛋白表达(免疫组化,×400)



注:A.空白组;B.单纯Hp组;C.单纯应激组;D.Hp+应激组;E.肝胃百合汤组;F.雷尼替丁组

图3 各组小鼠胃黏膜组织NF- $\kappa$ B蛋白表达(免疫组化,×400)

### 3.4 各组小鼠胃组织HSP70、NF- $\kappa$ B蛋白表达的比较

各组小鼠胃组织HSP70蛋白表达的比较:对比空白组,单纯Hp组、单纯应激组和Hp+应激组小鼠胃组织HSP70蛋白表达明显升高( $P<0.01$ ),但是三组之间蛋白表达量的差异无统计学意义( $P>0.05$ );对比Hp+应激组,肝胃百合汤组及雷尼替丁组小鼠胃组织HSP70蛋白表达大幅升高( $P<0.01$ ),同时肝胃

百合汤组高于雷尼替丁组( $P<0.05$ ),结果见表2。

各组小鼠胃组织 NF- $\kappa$ B 蛋白表达的比较:对比空白组,单纯 Hp 组、单纯应激组和 Hp+应激组小鼠胃组织 NF- $\kappa$ B 蛋白表达明显上升( $P<0.01$ ),同时 Hp+应激组小鼠胃组织 NF- $\kappa$ B 蛋白表达量高于单纯应激组及单纯 Hp 组( $P<0.05$ );对比 Hp+应激组,肝胃百合汤组和雷尼替丁组 NF- $\kappa$ B 明显减少( $P<0.01$ ),且肝胃百合汤组少于雷尼替丁组( $P<0.05$ ),结果见表2。

表2 各组小鼠胃组织 HSP70、NF- $\kappa$ B 蛋白表达的比较( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

组别	HSP70(OD 值)	NF- $\kappa$ B(OD 值)
空白组	0.013 $\pm$ 0.007	0.044 $\pm$ 0.015
单纯应激组	0.043 $\pm$ 0.025 <sup>##</sup> $\Delta$	0.183 $\pm$ 0.037 <sup>###</sup> $\Delta\Delta$
单纯 Hp 组	0.037 $\pm$ 0.018 <sup>##</sup> $\Delta\Delta$	0.161 $\pm$ 0.035 <sup>###</sup> $\Delta\Delta$
Hp+应激组	0.053 $\pm$ 0.021 <sup>##</sup> $\Delta\Delta$	0.214 $\pm$ 0.032 <sup>###</sup> $\Delta\Delta$
雷尼替丁组	0.091 $\pm$ 0.018 <sup>###</sup>	0.083 $\pm$ 0.026 <sup>###</sup>
肝胃百合汤组	0.116 $\pm$ 0.019 <sup>###</sup> $\Delta$	0.062 $\pm$ 0.018 <sup>###</sup> $\Delta$

注:与空白组比较,## $P<0.01$ ;与 Hp+应激组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与雷尼替丁组比较, $\Delta$  $P<0.05$ , $\Delta\Delta$  $P<0.01$

#### 4 讨论

慢性应激性胃溃疡可分于传统医学“胃脘痛”“胃疡”的类别,疾病的发生经常是由先天体质欠佳、情绪意志失调、饮食饥饱无常、睡眠昼夜颠倒等引起;这些个人体质、生活习惯、情志调控的不足,使中州脾胃受损,不能很好起到人体气机运行枢纽的职责,进而导致全身气机混乱,升降失调。因此可认为疾病发生的机制是胃中气血失于调和,全身气机运行混乱。同时我们在临床中观察发现,合并有 Hp 感染的胃部疾病的患者常有口干苦、苔黄腻等湿热性质的表现,而 Hp 有传染性、病情容易反复、杀灭后仍有可能再次感染的致病特点,也类似于传统医学中湿热之邪重浊黏滞等的致病特点。所以对于此类疾病的治疗需以疏肝行气、和胃止痛、清热燥湿为原则。肝胃百合汤是已故的湖湘知名老中医夏度衡教授个人创制方,夏度衡教授结合众多古代医学名家的传世经典以及自己几十年治病救人的体会,发表了“后天脾胃难离肝”的学术主张,并在为病人处方选药的时候十分注意调节肝胃间相互的影响。肝气质刚强,并有相火藏于其中,用药治疗肝时,切记不可一味地使用辛香发散的药物来调畅肝气,因为此

类药物会引起肝木更加亢盛,克制脾胃之土,使其气阴损伤。肝胃百合汤此方正是根据夏度衡教授这个观点而创制。方中选药将疏肝行气,活血止痛作为主要原则,同时辅以清热、补虚,寒温并调,补泻同用,达到了调畅肝气,恢复脾胃气机升降枢纽职责的目的。

Hp 是一类定植于人体胃组织的革兰阴性微需氧杆菌,它是引起消化性溃疡重要因素<sup>[10-11]</sup>,并且很大一部分消化性溃疡都能通过清除 Hp 得到好转甚至完全治愈<sup>[12]</sup>;在经过大量医学临床观察与动物实验后,研究人员提出 Hp 与应激会相互协同损害胃组织,Hp 还会进一步加重应激性胃溃疡患者的病情<sup>[13]</sup>。HSP 是一类在机体应激时能起到保护作用的蛋白质,它在胃组织的修复中尤为重要。正常情况下,HSP 在细胞中的表达一直处于较低状态,但当机体受到损伤而产生应激反应时,HSP 将显著增加其在细胞中的表达。这类蛋白质中,对胃组织起到最重要保护作用的是 HSP70。NF- $\kappa$ B 是一个功能众多的转录调节因子,它与机体的炎症反应、免疫应答等都有密切关系。当感染、创伤、氧气缺乏等刺激机体使其处于应激状态时,NF- $\kappa$ B 被激活,开始调节许多与炎症反应有关的细胞因子、黏附分子和蛋白酶类的基因转录,使机体出现炎症反应。与此同时,相应的炎症因子也会进一步使 NF- $\kappa$ B 的活性加强,NF- $\kappa$ B 与炎症因子相互催化相互放大,使炎症对机体的伤害更加严重<sup>[14-15]</sup>。众多研究者发现,Hp 感染机会促进 NF- $\kappa$ B 的活化,而 HSP70 可以维持细胞的生存和功能,提高细胞抵抗力,对 Hp 的预防和杀灭起到了十分重要的作用<sup>[16-17]</sup>。同时,HSP70 与 NF- $\kappa$ B 也会相互竞争和对抗,HSP70 能够使 NF- $\kappa$ B 活化受到抑制,让它与炎症因子之间无法相互催化促进,有效加强了胃组织的自我修复能力并明显改善了炎性反应对机体的损伤<sup>[18]</sup>。

通过实验我们发现:慢性应激合并 Hp 感染对于小鼠胃组织的破坏性明显高于单纯慢性应激或单纯 Hp 感染。经过肝胃百合汤和雷尼替丁干预后,Hp+应激模型小鼠的 Hp 定植量明显减少,胃组织损伤情况显著好转,HSP70 蛋白表达升高,NF- $\kappa$ B 表达降低,且肝胃百合汤小鼠的溃疡指数组显著低于雷尼替丁组( $P<0.01$ ),HSP70 蛋白表达明显多于雷尼替丁组,NF- $\kappa$ B 蛋白表达明显少于雷尼替丁组( $P<0.01$ )。说明肝胃百合汤可显著减少慢性应激合并

Hp 感染胃溃疡的炎性反应并能加快溃疡的好转,且效果优于西药治疗。

综上所述,肝胃百合汤治疗慢性应激合并 Hp 感染胃溃疡的作用机制可能与使 HSP70 蛋白表达增加、抑制 Hp、修复受损胃组织、提高机体自身免疫能力、抑制 NF- $\kappa$ B 活化、改善炎性反应对机体的损伤等方面有关。

## 参考文献

- [1] MATSUSHIMA Y. Gastric ulcer formation after the Hanshin-Awaji earthquake: a case study of Helicobacter pylori infection and stress-induced gastric ulcers[J]. Helicobacter,1999,4(2): 94-99.
- [2] YAMAMOTO N, TAKASHI S, YOSHIHIRO F, et al. Influence of Helicobacter pylori infection on development of stress-induced gastric mucosal injury. [J]. Journal of Gastroenterology, 2000, 35(5): 332-340.
- [3] GUO G, JIA K R, SHI Y, et al. Psychological stress enhances the colonization of the stomach by Helicobacter pylori in the BALB/c mouse[J]. Stress, 2009, 12(6): 478-485.
- [4] 喻 斌,孙一卿.超微肝胃百合汤治疗胃溃疡 30 例疗效观察[J].湖南中医杂志,2011,27(2):21-22.
- [5] 喻 斌,冯桂梅,刘凌宇,等.不同剂型肝胃百合汤治疗胃溃疡患者临床观察[J].中医临床研究,2012,4(15):7-9.
- [6] 喻 斌,冯桂梅,刘凌宇,等.超微肝胃百合汤对胃溃疡患者表皮生长因子及白介素-10 的影响[J].湖南中医药大学学报,2012,32(9): 53-54.
- [7] 喻 斌,冯桂梅,刘凌宇,等.超微肝胃百合汤对胃溃疡患者 TNF- $\alpha$  及 IL-1 的影响[J].湖南中医杂志,2012,28(5):1-3.
- [8] 王 寅.慢性心理应激大鼠模型的建立及评价研究进展[J].蚌埠医学院学报,2010,35(2):206.
- [9] RIEDEL-HELLER S, LUPPA M. Depression in late-Life-Substantial Public Health Impact[J]. PpMp-Psychotherapie Psychosomatik Medizinische Psychologie, 2014,64(12):477-479.
- [10] KUIPERS E J, LIYTERLINDE A M, PENA A S, et al. Long-term sequelae of Helicobacter pylori gastritis [J]. Lancet,2010,345(2964):1525.
- [11] 黄泽辉,柯 晓.幽门螺杆菌感染与胃癌前病变的关系[J].现代中西医结合杂志,2008,17(15):2402-2406.
- [12] LANG L. Barry Marshall 2005 Nobel laureate in medicine and physiology[J]. Gastroenterology, 2005,129(6):1813-1814.
- [13] OH T Y, YEO M, HAN S U, et al. Synergism of Helicobacter pylori infection and stress on the augmentation of gastric mucosal damage and its prevention with alpha-tocopherol[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2005,38(11):1447-1457.
- [14] YANAI A, MAEDA S, SHIBATA W, et al. Activation of kappa B kinase and NF-kappaB is essential for Helicobacter pylori-induced chronic gastritis in Mongolian gerbils [J]. Infection and Immunity,2008,76(2):781-787.
- [15] KIM S Y, LEE Y C, KIM H K, et al. Helicobacter pylori CagA transfection of gastric epithelial cells induces interleukin-8 [J]. Cellular Microbiology, 2006,8(1):97-106.
- [16] 胡 玲,劳绍贤,邝枣园,等.对幽门螺旋杆菌相关胃病脾胃湿热证发生机制的思考[J].中西医结合学报,2008,6(6):565-568.
- [17] YEO M, PARK H K, KIM D K, et al. Restoration of heat shock protein 70 suppresses gastric mucosal inducible nitric oxide synthase expression induced by Helicobacter pylori [J]. Proteomics, 2004,4(11):3335-3342.
- [18] SCHELL M T, SPITZER A L, JOHNSIN J A, et al. Heat shock inhibits NF-kappaB activation in a dose-and time-dependent manner [J]. Journal of Surgical Research, 2005,129(1):90-93.

(本文编辑 杨 瑛)