

本文引用:喻斌,杜珊,阳力,刘振杰,曾孟晖,毛一之.肝胃百合汤对慢性应激性胃溃疡模型小鼠的影响[J].湖南中医药大学学报,2018,38(10):1115-1119.

## 肝胃百合汤对慢性应激性胃溃疡模型小鼠的影响

喻斌<sup>1</sup>,杜珊<sup>2</sup>,阳力<sup>1</sup>,刘振杰<sup>1</sup>,曾孟晖<sup>2</sup>,毛一之<sup>2</sup>

(1.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙410007;2.湖南中医药大学,湖南长沙410208)

**〔摘要〕**目的 观察肝胃百合汤治疗慢性应激性胃溃疡的疗效。方法 将40只BALB/c小鼠随机分为空白组、模型组、肝胃百合汤组(中药组)、雷尼替丁组(西药组),空白组常规饲养,其余3组按照不可预知慢性应激方法造模,持续28d;造模14d后各组给予相应灌胃处理14d;观察小鼠一般行为学、旷场实验、体质量变化,计算溃疡指数(ulcer index,UI)及溃疡抑制率、胃黏膜病理改变。结果 造模14d后模型组小鼠行为学明显异常,旷场实验各项得分及体质量明显低于空白组,灌胃14d后中药组小鼠一般行为改善,旷场实验各项得分及体质量与模型组对比明显上升;中药组UI低于模型组及西药组,且溃疡抑制率高于西药组;与空白组比,模型组小鼠胃黏膜可见散在糜烂及点状溃疡;与模型组比,西药组可见较多点状糜烂,未见明显溃疡,中药组仅见少量糜烂。结论 肝胃百合汤能减轻小鼠胃黏膜炎症,修复胃黏膜、促进溃疡愈合。

**〔关键词〕**慢性应激性胃溃疡;肝胃百合汤;肝胃气滞证

**〔中图分类号〕**R285.5;R573.3

**〔文献标志码〕**A

**〔文章编号〕**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.10.005

### Effect of Ganwei Baihe Decoction on a Mouse Model of Chronic Stress Gastric Ulcer

YU Bin<sup>1</sup>, DU Shan<sup>2</sup>, YANG Li<sup>1</sup>, LIU Zhenjie<sup>1</sup>, ZENG Menghui<sup>2</sup>, MAO Yizhi<sup>2</sup>

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

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

**〔Abstract〕 Objective** To observe the efficacy of Ganwei Baihe Decoction in the treatment of chronic stress gastric ulcer. **Methods** Forty BALB/c mice were randomly divided into blank group, model group, Ganwei Baihe Decoction (TCM) group, and ranitidine (WM) group. The blank group was given routine care. For the other three groups, a mouse model was established by unpredictable chronic stress for 28 days. At 14 days after model establishment, each group was given the corresponding drug by gavage for 14 days. The general behavior, open field test, and body mass change were observed. The ulcer index (UI), rate of ulcer inhibition, and pathological changes in the gastric mucosa were evaluated. **Results** At 14 days after model establishment, the model group showed obvious abnormal behavior; the model group also had significantly lower scores for each item of the open field test and significantly lower body mass than the blank group. After 14 days of drug administration by gavage, the general behavior of the TCM group was improved; the TCM group had significantly higher scores for each item of the open field test and significantly higher body mass than the model group; the TCM group had a significantly lower UI than the model group and the WM group; the rate of ulcer inhibition was significantly higher in the TCM group than in the WM group; compared with the blank group, the model group showed scattered erosion and punctate ulcer in the gastric mucosa; compared with the model group, the WM group showed more punctate erosion but no obvious ulcer in the gastric mucosa, while the TCM group showed only a small amount of erosion. **Conclusion** Ganwei Baihe Decoction can reduce inflammation of the gastric mucosa, repair the gastric mucosa, and promote ulcer healing.

**〔Keywords〕** chronic stress gastric ulcer; Ganwei Baihe Decoction; Qi-stagnation syndrome of liver and stomach

〔收稿日期〕2017-10-31

〔基金项目〕湖南省中医药管理局重点课题(201512)。

〔作者简介〕喻斌,男,教授,硕士研究生导师,研究方向:中医药治疗脾胃病,E-mail:yubin410@163.com。

慢性应激性胃溃疡是一种特殊类型的胃溃疡,是指在长期严重心理应激状态下(如情志抑郁、精神创伤、心理恐惧或紧张)或长期服用对胃黏膜有损害的药物(如非甾体类消炎药、激素、利血平等)所致的胃黏膜病变<sup>[1]</sup>。在长期、持续的工作或生活压力下,越来越多的人处于慢性心理应激状态,慢性应激长时间作用于人体,可导致人体多系统产生疾病<sup>[2]</sup>。机体在遭受慢性、持续的应激时,可导致胃酸分泌增多、胃黏膜保护屏障功能减弱,从而损伤胃黏膜糜烂,产生溃疡。中医认为肝主疏泄在慢性应激反应中起着主宰性作用,肝失疏泄,气机郁滞是本病的主要病机。本研究利用不可预知的慢性应激方法建立肝胃气滞型胃溃疡小鼠模型,并利用肝胃百合汤治疗,进一步探索慢性应激与肝胃之间的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

健康 BALB/c 雄性小鼠(SPF级)40只,6周龄,体质量 19~22 g,适应性饲养 3 d,温度 20~25 ℃,湿度 50%~70%。实验动物均购自湖南斯莱克景达实验动物公司,许可证号:SYXK(湘)2015-0003。

### 1.2 实验药品

肝胃百合汤处方:百合 15 g,柴胡 9 g,郁金 9 g,乌药 9 g,川楝子 9 g,丹参 9 g,白芍 9 g,蒲公英 15 g,甘草 6 g,购于湖南中医药大学第一附属医院中药房。将饮片浸泡 30 min,煎煮沸腾后文火煎煮 20 min,过滤药汁。相同方法煎煮 2 次,药汁混合后过滤,浓缩至每 1 mL 含生药 1 g,4 ℃ 冰箱冷藏备用。盐酸雷尼替丁胶囊产自佛山手心制药,规格为 0.15 g/粒,批号 1602224。

### 1.3 主要实验仪器及试剂

CM1950 冷冻切片(德国莱卡公司);ET-12P 组织脱水机(江西富华生物技术有限公司);BMJ-III 包埋机(常州中威电子仪器公司);PM-8AD 奥林巴斯摄像显微镜(日本奥林巴斯株式会社)。苏木素、伊红染液(上海未尔晟生物技术有限公司)。

### 1.4 动物分组及模型制备

将动物适应性饲养 3 d 后称质量,按体质量分层随机分为空白组、模型组、中药组、西药组,每组 10 只,用苦味酸标记后分组饲养。按照相关文献<sup>[3-4]</sup>选取 10 种不可预知刺激因素制备慢性应激小鼠模

型,并依据前期预实验改进,具体方法如下:(1)潮湿垫料+倾斜饲养、热水泳、禁食 24 h、禁水 24 h、夹尾 5 min、行为束缚、陌生物品、昼夜交替、陌生气味。每天随机从上述 10 种刺激方式中选取 1 种,需避免前后两天使用同一种刺激方式。每日上午 9 点更换刺激方法,连续造模 28 d。空白组常规饲养,自由摄食。分别于造模前、造模第 14 天、第 28 天观察小鼠行为学的改变,利用旷场试验计算各组小鼠水平、垂直、清洁评分,应较空白组明显减少。抽样采集小鼠胃组织黏膜,肉眼下及光镜下发现溃疡及糜烂;小鼠旷场实验表现异常及胃黏膜改变则表明模型制备成功。

### 1.5 干预方法

造模 14 d 后,按 60 kg 成人表面积换算,中药组给予肝胃百合汤 12.2 g/kg 灌胃。西药组给予盐酸雷尼替丁胶囊(60 kg 成人用量每次 0.15 g,2 次/d),换算后给药量为 40 mg/kg,给药前用蒸馏水溶解。灌胃容积按照 1 mL/100 g 体质量换算,空白组与模型组则每日给予 0.4 mL 蒸馏水灌胃。在每日更换造模方法前 1 小时每组分别给予相应药物或蒸馏水灌胃。

### 1.6 观察指标及检测方法

1.6.1 一般行为学 实验过程中观察小鼠毛色、精神状态、饮水量、大便情况、行为变化等。利用旷场试验观察小鼠水平得分(小鼠四爪全部穿越的方格数,每完全通过 1 次计 1 分)、垂直得分(小鼠直立、前爪离开地面或爬在墙壁的次数,每次计 1 分)及清洁评分(小鼠清洁自己皮毛的次数,每清洁 1 次计 1 分)。每次评定完后均应清理干净小鼠留在箱内的排泄物,防止影响下个动物的评定。

1.6.2 溃疡指数及溃疡抑制率 根据 Guth 标准计算胃黏膜溃疡指数(ulcer index,UI)及溃疡抑制率<sup>[5]</sup>,使用微测尺按溃疡或糜烂长度计算(mm):斑点状糜烂计 1 分;糜烂长度小于 1 mm 计 2 分;大于 1 mm 不足 2 mm 计 3 分;大于 2 mm 不足 3 mm 计 4 分;大于 3 mm 计 5 分;糜烂宽度大于 1 mm 时则分值加倍,全胃得分之总和则为溃疡指数。

溃疡抑制率=(模型组溃疡平均指数-给药组溃疡平均指数)/模型组溃疡平均指数×100%。

1.6.3 光镜下观察胃黏膜 取小鼠胃黏膜组织,以 4%多聚甲醛固定,经脱水、石蜡包埋、切片、石蜡脱

水后,放入苏木素染液浸染 4 min,水洗后经伊红染液染色 30 s,分别用二甲苯 I、二甲苯 II 透明,中性树胶封片后在光镜下观察胃黏膜组织。

### 1.7 统计方法

使用 SPSS 17.0 软件进行实验数据处理与分析,计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,使用单因素方差分析(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。使用重复测量的方差分析对同一指标不同时间点比较。 $P<0.05$  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。

## 2 结果与分析

### 2.1 各组小鼠一般行为学变化

空白组小鼠精神良好,毛发浓密,富有光泽,食量正常,活动如常,二便正常,体质量有所增长。造模后模型组、中药组及西药组小鼠精神欠佳,萎靡不振,毛发缺乏光泽,食量明显少于同期空白组小鼠,喜欢聚集,倦怠少动,反应迟缓,大便颜色变深甚至

出现黑便,体质量增长幅度缓慢。各组小鼠给予相应灌胃处理后,模型组小鼠精神状况、食量、活动及大便情况与前相比,未见改善,体质量增长缓慢。中药组小鼠精神状态改善,毛发逐渐恢复光泽,反应灵敏,活动增多,食量逐渐增加至造模前水平,体质量增长幅度较前增加,大便逐渐正常,未再出现黑便。西药组小鼠精神状态较前稍有改善,毛色无明显改变,食量较前稍有增多,大便颜色仍较深,但未再出现黑便。

### 2.2 造模前及干预后各组小鼠旷场实验评分结果

各组小鼠在造模前行为学指标组间相互比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。造模 14 d 后模型组、中药组、西药组小鼠水平、垂直、清洁得分明显下降与空白组相比,差异具有显著统计学意义( $P<0.01$ )。各组小鼠经过 14 d 干预处理后,中药组与西药组小鼠水平得分、垂直得分、清洁得分明显上升,与模型组比较,差异具有显著统计学意义( $P<0.01$ );中药组水平得分、垂直得分、清洁得分高于西药组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 造模前及干预后各组小鼠旷场实验评分结果

( $\bar{x}\pm s, n=10$ , 分)

组别	水平得分			垂直得分			清洁得分		
	0 d	14 d	28 d	0 d	14 d	28 d	0 d	14 d	28 d
空白组	81.40±8.90	82.60±8.80	81.20±8.00	20.40±3.80	21.10±3.90	20.60±3.20	11.10±2.20	11.00±1.30	10.30±2.60
模型组	83.10±6.00	44.00±5.50**	20.80±3.50**	19.80±5.80	9.60±2.50**	4.80±1.30**	10.60±1.90	6.40±1.70**	3.80±0.80**
中药组	80.30±7.20	43.60±4.80**	56.50±4.40 <sup>△△#</sup>	21.10±4.10	9.80±2.00**	13.20±3.60 <sup>△△#</sup>	10.30±2.20	5.90±1.20**	7.70±1.90 <sup>△△#</sup>
西药组	81.60±6.10	42.10±4.60**	48.90±4.80 <sup>△△</sup>	20.80±4.70	9.90±3.50**	12.40±3.70 <sup>△△</sup>	10.40±2.10	5.50±2.30**	7.20±1.70 <sup>△△</sup>
F 值	184.09	56.04	40.25	123.26	46.72	30.12	83.87	20.54	18.36
P 值	0.560	0.009	0.003	0.740	0.002	0.004	0.690	0.007	0.001

注:与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较, $\Delta \Delta P<0.01$ ;与西药组比较,# $P<0.05$ 。

### 2.3 造模前及干预后各组小鼠体质量变化

各组小鼠在造模前体质量组间相互比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。造模 14 d 后模型组、中药组、西药组小鼠体质量增长缓慢,与空白组比较差异具有显著统计学意义( $P<0.01$ )。各组小鼠经过 14 d 灌胃处理后,中药组与西药组小鼠体质量增长明显,与模型组比较,差异具有显著统计学意义( $P<0.01$ );中药组小鼠体质量增长幅度高于西药组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

### 2.4 各组小鼠胃组织病理改变

光镜下观察,空白组胃黏膜光整平滑,无明显充血、水肿,极个别可见少量点状糜烂,未见溃疡及出

表 2 造模前及干预后各组小鼠体质量的变化 ( $\bar{x}\pm s, g$ )

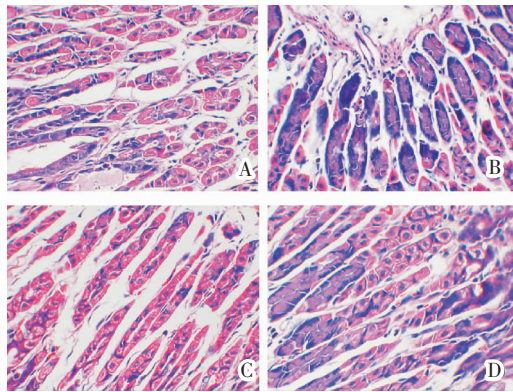
组别	n	0 d	14 d	28 d
空白组	10	21.20±0.50	25.60±2.30	29.20±3.40
模型组	10	20.90±0.80	22.60±1.30**	25.30±1.70**
中药组	10	21.30±0.40	23.10±1.10**	27.70±2.80 <sup>△△#</sup>
西药组	10	20.80±0.70	22.90±1.40**	26.40±3.10 <sup>△△</sup>
F 值		63.85	43.62	35.42
P 值		0.863	0.001	0.012

注:与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较, $\Delta \Delta P<0.01$ ;与西药组比较,# $P<0.05$ 。

血点,有少量炎性细胞浸润。模型组胃黏膜充血、水肿明显,可见散在糜烂及点状溃疡,上皮破损,炎性细胞浸润明显。中药组胃组织表面比较光整,部分黏



膜轻度充血、水肿,有少量点状糜烂,未见明显溃疡,有少量炎性细胞浸润。西药组胃组织表面尚光整,黏膜充血、水肿,可见较多点状糜烂,未见明显溃疡,有较多炎性细胞浸润。见图1。



注:A.空白组;B.模型组;C.中药组;D.西药组。

图1 各组小鼠胃组织病理光镜图(HE,×400)

## 2.5 各组干预后 UI 比较

干预后中药组、西药组与模型组相比,UI数值明显降低,差异具有显著统计学意义( $P<0.01$ )。中药组UI数值低于西药组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),且中药组溃疡抑制率明显高于西药组。结果见表3。

表3 各组治疗后 UI 及溃疡抑制率比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	UI(分)	溃疡抑制率(%)
空白组	10	0.30±0.48	-
模型组	10	5.90±1.10 <sup>##</sup>	-
中药组	10	1.60±0.84 <sup>**△</sup>	72.88
西药组	10	2.50±1.08 <sup>**</sup>	57.62
F值		102.44	-
P值		0.001	-

注:与空白组比较,## $P<0.01$ ;与模型组比较,\*\* $P<0.01$ ;与西药组比较,△ $P<0.05$ 。

## 3 讨论

现代医学认为慢性应激性胃溃疡发病机制可能与神经内分泌调节、体液免疫反应异常、胃黏膜损伤因素增强或屏障机制减弱、心理应激等有关。下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)是神经内分泌调节系统中一种重要的调节通路,机体在遭受强烈的外界或者心理刺激时做出反应,维持机体环境的稳定。国内外学者认为<sup>[6-8]</sup>,机体接受持续且过量的慢性应激时,中枢神经系统通过兴奋HPA轴,刺激糖皮质激素、促肾上腺素皮质、促肾

上腺皮质激素释放激素等神经内分泌激素分泌增多,引起胃酸分泌过多、内源性及外源性胃黏膜损伤因子增多、胃黏膜保护屏障功能减弱等。GC使胃壁细胞数量、胃酸及胃蛋白酶分泌增多,抑制胃黏膜细胞更新,破坏其完整性,加重胃黏膜糜烂,延缓溃疡愈合。

《素问·宣明五气》言:“肝藏魂。”肝在五志、七情中对应“怒”,郁怒最易伤肝。肝能调畅情志,若疏泄失职,可导致情志活动异常。从肝与五神、情志的对应关系,以及其生理特性来看,充分证明了肝与人类高级神经意识活动之间关系密切。现代医家多从肝着手研究中医与HPA轴的关系,认为情志伤肝多引起神经内分泌系统不同程度的兴奋,从而引发一系列的连锁反应,下丘脑-垂体-肾上腺皮质系统即为其中的一条途径<sup>[9]</sup>。慢性应激可认为是导致肝生理机能异常的一种特殊病邪,并使机体多个系统产生疾病<sup>[10]</sup>。慢性应激首先影响机体气机,肝疏泄功能正常,肝气条达,心情愉悦舒畅,情志活动正常,对外界刺激的耐受性也比较高。因此,肝是机体调节慢性应激反应的核心,肝主疏泄在慢性应激反应中起着主宰性作用。临床实践中须重视在应激状态时,应保持肝的疏泄功能得以正常发挥。

肝胃百合汤由已故名老中医夏度衡教授创制,夏老根据历代医家著作及自身多年行医经验,提出“后天脾胃难离肝”的观点,在遣方用药时非常重视肝胃之间的关系<sup>[11]</sup>。肝乃刚脏,内寓相火,治肝时忌用一派辛散之品以疏肝气,因刚燥之品将使肝木愈肆,耗散脾胃气阴。方中柴胡疏解肝经滞气,旋转中焦枢机。郁金擅行气解郁,川楝子长于清解肝火,乌药顺气止痛之功显著。白芍养阴柔肝,缓急止痛。气滞日久,瘀血阻络,故用丹参活血祛瘀,通络止痛。气滞日久易化火生热,蒲公英可清利湿热。久病多因实致虚,耗气伤阴,但温补之品过于滋腻,有碍脾胃运化,故取甘凉清润之百合以养正祛邪,补虚固本。甘草补脾益气,和胃调中。全方补散兼用,寒温并调,从而使肝气条达,以复中州脾胃升降之职。现代药理研究发现,方中柴胡其提取物柴胡皂苷能减轻炎症反应、抑制胃酸分泌<sup>[12]</sup>,改善抑郁样行为<sup>[13]</sup>。百合可以抗击应激给机体带来的损伤,改善焦虑状态<sup>[14]</sup>。郁金、丹参、川楝子能减轻炎症介质对胃黏膜的损害,缓解躯体疼痛<sup>[15-16]</sup>,其中郁金还可以舒缓痉挛的胃平滑

肌<sup>[17]</sup>。白芍具有抑制溃疡的作用,其提取物白芍苷协同甘草甲醇可以减少胃酸分泌<sup>[18]</sup>。因此肝胃百合汤无论从传统医学角度还是现代医学来看,其组方都十分科学。

本研究使用不可预知的慢性应激方法制备模型,造模后小鼠一般行为学异常,旷场实验各项评分及体质量较造模前降低,模型小鼠胃黏膜出现糜烂、溃疡,说明长期的慢性应激刺激可导致胃黏膜糜烂,溃疡产生。经过肝胃百合汤治疗后小鼠一般行为学改善,旷场实验各项评分及体质量增加,溃疡指数低于模型组、西药组,而溃疡抑制率明显高于西药组( $P<0.05$ )。说明肝胃百合汤能够减轻并修复胃黏膜损伤,促进溃疡愈合,且效果优于雷尼替丁。

### 参考文献:

- [1] 王 莹,丁世兰,齐学杰.应激性胃溃疡发病机制与中医药治疗的研究进展[J].天津中医药,2013,30(3):186-189.
- [2] 朱 宏,孙 静.应激与抑郁症关系的研究进展[J].精神医学,2013,26(5):388-390.
- [3] 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):206-208.
- [4] ROEDEL HELLER S, LUPPA M. Depression in late-Life-Substantial Public Health Impact[J]. Psychother Psych Med, 2014,64(12):477-479.
- [5] 徐叔云,卞如濂,陈 修.药理实验方法学[M].3 版.北京:人民卫生出版社,2002:1331-1332.
- [6] TOMITA R. Regulation of vasoactive intestinal peptide and substance P in the human pyloric sphincter[J]. Journal of Hepato-Gastroenterology, 2009,56(94):1403.
- [7] 张 爽,刘海峰,张成岗.应激性胃黏膜损伤发病机制的研究进展[J].世界华人消化杂志,2009,17(17):1697-1701.
- [8] 李志坤.药物治疗应激性胃溃疡的研究进展[J].医学研究生学报,2015,28(1):110-112.
- [9] 何蓉蓉,李秋兰,向飞军,等.四逆散传统饮片汤剂和配方颗粒对两种因素致小鼠肝损伤模型的药效比较[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(18):153-156.
- [10] 梁东辉.心病从肝论治的理论及临床应用[J].环球中医药,2015,8(11):1401-1403.
- [11] 周赛男.名老中医夏度衡之肝胃百合汤临床应用举隅[J].湖南中医药大学学报,2012,32(6):49,56.
- [12] 李国仁.柴胡有效成分及药理作用分析[J].陕西中医,2013,35(6):750-751.
- [13] 蔡珍珠,徐广有,温秋婷,等.柴胡皂苷对抑郁样大鼠行为及海马 Caspase-3、Caspase-9 蛋白表达的影响[J].北京中医药大学学报,2015,38(2):115-119.
- [14] 李 艳,苗明三.百合的化学、药理与临床应用分析[J].中医学报,2015,30(7):1021-1023.
- [15] 盛桂琴,吕 宾,金海峰.温郁金二萜类化合物 C 对脂多糖所致人胃腺癌 SGC-7901 细胞 NF- $\kappa$ B 活化和炎症因子分泌的影响[J].中国临床药理学和治疗学,2012,17(6):616-620.
- [16] 马丙祥,董宠凯.丹参的药理研究作用新进展[J].中国药房,2014,25(7):663-665.
- [17] 杨翠荣.郁金药理及中医临床应用略述[J].光明中医,2014,29(8):1772-1773.
- [18] 张 利.白芍的药理作用及现代研究进展[J].中医临床研究,2014,29(6):25-26.

(本文编辑 杨 璞)