

细胞更新,利于上皮细胞黏膜屏障修复,发挥缓解 UC 的作用。

参考文献

- [1] LAHARIE D,BOURREILLE A,BRANCHE J,et al.Ciclosporin versus infliximab in patients with severe ulcerative colitis refractory to intravenous steroids: a parallel, open-label randomized controlled trial [J]. Lancet, 2012, 380 (9857):1909-1915.
- [2] LAKATOS L,KISS L S,DAVID G,et al.Incidence, disease phenotype at diagnosis, and early disease course in inflammatory bowel diseases in Western Hungary, 2002-2006[J].Inflamm Bowel Dis,2011,17(12):2558-2565.
- [3] 中国炎症性肠病协作组.3 100 例 UC 住院病例回顾分析[J].中华消化杂志,2006,26(6):368-373.
- [4] NETZEL-ARNETT S,BUZZA M S,SHEA-DONIGUE T,et al. Matriptase protects against experimental colitis and promotes intestinal barrier recovery[J].Inflamm Bowel Dis, 2012,18(7):1303-1314.
- [5] PORITZ L S,GARVER K I,GREEN C,et al.Loss of the tight junction protein ZO-1 in dextran sulfate sodium induced colitis[J].J Surg Res,2007,140(1):12-19.
- [6] 张涛,谢建群,施斌.清肠栓对结肠黏膜固有层淋巴细胞凋亡影响的实验研究[J].浙江中医杂志,2006,41(12):695-698.
- [7] 薛筠,谢建群.清肠栓对 UC 大鼠结肠上皮凋亡影响的流式细胞术研究[J].上海中医药大学学报,2005,19(3):41-44.
- [8] PORITZ L S,HARRIS L R 3rd,KELLY A A,et al.Increase in the tight junction protein claudin-1 in intestinal inflammation[J].Dig Dis Sci,2011,56(10):2802-2809.
- [9] KINUGASA T,AKAGI Y,YOSHIDA T,et al.Increased claudin-1 protein expression contributes to tumorigenesis in ulcerative colitis-associated colorectal cancer[J].Anticancer Res,2010,30(8):3181-3186.
- [10] MEES S T,MENNIGEN R,SPIEKER T,et al.Expression of tight and adherens junction proteins in ulcerative colitis associated colorectal carcinoma: upregulation of claudin-1, claudin-3, claudin-4, and beta-catenin[J].Int J Colorectal Dis,2009,24(4):3610-3618.

柚皮苷对胃溃疡模型大鼠血清及胃黏膜组织中 TFF2 含量的影响*

秦建设,郑波

(重庆三峡医药高等专科学校,重庆 404120)

摘要 **目的** 观察柚皮苷对醋酸所致胃溃疡大鼠血清及胃黏膜组织中三叶因子 2(TFF2)含量的影响,探讨柚皮苷对胃溃疡的治疗作用。**方法** 将 45 只 SD 大鼠随机分成正常对照组,模型对照组,柚皮苷大、小剂量组。除正常对照组外,其他组采用改良 Okabe 法制作醋酸型胃溃疡模型。造模后次日,模型对照组给予 0.9% 氯化钠溶液 $1\text{ mL} \cdot (100\text{ g})^{-1}$ 灌胃;柚皮苷小剂量组给予柚皮苷 $50\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃;柚皮苷大剂量组给予柚皮苷 $100\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃。均每天 1 次,连续给药 1 周后测量胃溃疡面积,酶联免疫吸附(ELISA)法检测血清与胃黏膜组织 TFF2 含量。**结果** 与模型对照组比较,柚皮苷小剂量组与大剂量组溃疡指数均明显降低($P < 0.01$),大鼠血清及胃黏膜 TFF2 含量明显升高($P < 0.05$),且大剂量组明显优于小剂量组($P < 0.01$)。**结论** 柚皮苷具有显著抗大鼠胃溃疡作用,其作用机制可能与提高血清及胃黏膜组织 TFF2 含量有关。

关键词 柚皮苷;溃疡,胃;三叶因子 2

中图分类号 R286;R965

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2016)11-1194-04

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2016.11.009

Effect of Naringin on Trefoil Factor 2 Content in Serum and Gastric Mucosal Tissue in Rats with Gastric Ulcer

QIN Jianshe,ZHENG Bo(*Chongqing Three Gorges Medical College,Chongqing 404120,China*)

ABSTRACT **Objective** To explore the effects of naringin on trefoil factor 2 (TFF2) content in serum and gastric mucosa tissue in gastric ulcer rats induced by acetic acid and its therapeutic effects on gastric ulcer. **Methods** Forty-five rats were randomly divided into normal control group,model control group and naringin high and low dose groups.The acetic acid gastric ulcer model was established by modified okabe method.On the next day,model control group was given 0.9% sodium chloride solution $1\text{ mL} \cdot (100\text{ g})^{-1}$,naringin low-dose group was given $50\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, and naringin high-dose group was given

100 mg · kg⁻¹, all by gastric perfusion once-daily for 7 days. Gastric ulcer area was measured, and the contents of TFF2 in serum and gastric mucosa tissue were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Compared with the model control group, the ulcer index in naringin treatment groups were significantly decreased ($P < 0.01$), and the contents of TFF2 in serum and gastric mucosa tissue were significantly increased ($P < 0.05$). The high dose group was obviously superior to the low dose group ($P < 0.01$). **Conclusion** Naringin has significant anti-gastric ulcer effects and the mechanism may be associated with the increased content of TFF2 in serum and gastric mucosa tissue.

KEY WORDS Naringin; Ulcer, gastric; Trefoil factor 2

柚皮苷(naringin)是一种双氢黄酮类化合物,为陈皮、枳实、青皮等中药的主要有效成分之一。现代研究表明,柚皮苷具有抗氧化、抗肿瘤、解痉镇痛、降血脂、调节血糖等生物活性和药理作用^[1-3]。大量药物成分分析研究显示,对胃溃疡有治疗作用的很多中成药,如健脾舒胃凝胶、胃苏颗粒、胃炎灵颗粒等中成药中均检测出含有大量柚皮苷成分^[4-6]。但有关柚皮苷对胃溃疡的直接治疗作用研究文献较少见。为探讨柚皮苷对胃溃疡的治疗作用,进一步明确其抗胃溃疡的作用机制,笔者在本实验中以三叶因子 2 (trefoil factor 2, TFF2) 为研究靶点,观察柚皮苷抗醋酸型胃溃疡的治疗效果及可能的作用途径。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF 级 4 个月龄雄性 SD 大鼠,体质量约 200 g,由第三军医大学大坪医院医学实验动物中心提供,生产许可证号:SCXK(渝)2012-0005,饲养室温度 25 ℃,相对湿度 60%,自由饮水进食。

1.2 试剂 柚皮苷(Sigma 公司,HPLC 法测得纯度 ≥ 95%,编号:101291319),TFF2 试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技有限公司,编号:AK0014FEB26008)。柚皮苷用羧甲基纤维素钠(CMC)制成 100%柚皮苷悬浊液。

1.3 仪器 Bio-Tek ELX800 全自动多功能酶标仪(美国宝特),H-1850R 湘仪高速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)。

1.4 模型的制备与给药 将大鼠采用随机数字表法分为正常对照组 9 只,模型对照组、柚皮苷小剂量组和柚皮苷大剂量组各 12 只。适应性饲养 1 周后禁食不禁水 24 h。改良 Okabe 法制作醋酸型胃溃疡模型^[7-8]。造模次日开始给药,模型对照组灌胃给予 0.9%氯化钠溶液,1 mL · (100 g)⁻¹;柚皮苷小剂量组灌胃给予柚皮苷 50 mg · kg⁻¹;柚皮苷大剂量组灌胃给予柚皮

苷 100 mg · kg⁻¹。每天 1 次,连续 1 周。其余正常饮食。

1.5 标本的采集与处理 给药 1 周后,所有大鼠禁食 24 h,10%水合氯醛腹腔注射麻醉,开腹采用腹主动脉取血方法收集血液标本,取血后室温静置 1 h,3 500 r · min⁻¹离心 10 min,吸出上层血清存放在 -85 ℃冰箱保存。沿胃大弯剪开,以 0.9%氯化钠溶液冲洗,观察胃溃疡状况,测量胃溃疡面积。在胃溃疡黏膜处取 0.5 mm × 0.5 mm 组织,4%多聚甲醛固定。余下胃黏膜用组织匀浆器匀浆后离心,吸出上层澄清液在 -85 ℃冰箱保存。

1.6 观测指标与方法

1.6.1 溃疡指数(UI) 游标卡尺测量溃疡最长径和最宽径,计算溃疡面积,作为 UI。溃疡面积计算方法: $S = 1/4 \times L \times D \times \pi$,公式中 L 指溃疡长径, D 指溃疡短径, π 取 3.14。

1.6.2 组织病理学 4%多聚甲醛固定的胃黏膜组织标本,24 h 后梯度脱水,石蜡包埋,冰冻切片,制成厚 5 μm 切片,苏木精-伊红(HE)染色,光镜观察。

1.6.3 TFF2 测定 采用酶联免疫吸附测定法(ELISA 法),按试剂盒说明书检测血清与胃黏膜组织液中 TFF2 含量。

1.7 统计学方法 采用 SPSS 17.0 版统计软件,以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间均数比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物生物学体征变化 造模后所有动物均单笼饲养。造模后第 1 天,3 组大鼠均出现不同程度蹒跚、嗜睡、皮毛突起、不进饮食等情况,第 2 天起大鼠逐渐开始活动,进食饮水。至取材前,各组大鼠活动、饮食、大小便情况逐步恢复正常,但活跃度、进食量、饮水量等,柚皮苷各剂量组明显较模型对照组好。因伤口感染,术后第 2 天模型对照组大鼠死亡 2 只,此后因灌胃操作及护理失误,导致模型对照组和柚皮苷小、大剂量组各死亡 1 只。

2.2 UI 变化与 TFF2 测定结果 模型对照组、柚皮苷小剂量组和大剂量组均可见明显溃疡面。模型对照组 UI 为 (4.84 ± 0.25) mm²;柚皮苷小剂量组与大剂量组

收稿日期 2015-09-12 修回日期 2015-10-22

基金项目 * 重庆市教育委员会科学技术研究资助项目 (KJ131805)

作者简介 秦建设(1978-),男,河南信阳人,副教授,硕士,研究方向:中医药治疗脾胃疾病研究。E-mail: iamqjshe@163.com。

溃疡指数分别为 (3.23 ± 0.34) , (2.11 ± 0.24) mm², 与模型对照组比较, 均明显降低 ($t = 11.81, P < 0.01$; $t = 24.84, P < 0.01$), 且柚皮苷大剂量组疗效优于柚皮苷小剂量组 ($t = 8.93, P < 0.01$)。4 组大鼠血清与胃黏膜组织液 TFF2 测定结果见表 1。

表 1 4 组大鼠血清及胃黏膜组织液 TFF2 变化
Tab.1 TFF2 variation in the serum and gastric mucosa tissue in four groups of rats

组别	大鼠/只	血清 TFF2	胃黏膜组织 TFF2
正常对照组	9	177.67±11.10	196.42±9.16
模型对照组	9	151.15±10.81 ^{*1}	167.40±13.86 ^{*1}
柚皮苷			
小剂量组	11	164.28±10.28 ^{*1*2}	179.05±11.28 ^{*1*2}
大剂量组	11	178.48±13.45 ^{*2*3}	196.62±10.95 ^{*2*3}

与正常对照组比较, ^{*1} $P < 0.05$; 与模型对照组比较, ^{*2} $P < 0.05$; 与柚皮苷小剂量组比较, ^{*3} $P < 0.01$
Compared with normal control group ^{*1} $P < 0.01$; compared with model control group ^{*2} $P < 0.01$; compared with low-dose naringin group, ^{*3} $P < 0.01$

2.3 组织病理改变 正常对照组胃黏膜上皮完整, 腺体结构整齐均一, 未见炎症细胞浸润(图 1A)。模型对照组胃黏膜变薄溃烂, 上皮缺失严重, 腺体排列拥挤紊乱, 大量炎症细胞浸润(图 1B)。柚皮苷小剂量组胃黏膜局部坏死脱落, 腺体排列紊乱, 可见明显炎症细胞浸润(图 1C)。柚皮苷大剂量组胃黏膜上皮基本完整, 局部轻度变性, 黏膜下血管扩张充血, 少量炎症细胞浸润(图 1D)。

3 讨论

胃溃疡后的修复与愈合也是一个十分复杂的过程, 黏膜愈合的质量直接影响到疾病转归。研究表明, 胃黏膜修复过程是多种细胞、生长因子及细胞外基质

相互作用的复杂过程。而胃黏膜防御屏障功能下降, 保护因子减少是形成胃溃疡的重要病理基础。TFF2 作为胃黏膜细胞分泌的重要保护因子, 在胃溃疡的产生与修复过程中具有重要作用。TFF2 是一种具有三叶草型结构域的小分子蛋白质, 其与 TFF1、TFF3 都是 TFF 家族中最重要的成员。研究表明, TFF 主要表达位点在胃肠道, 由胃肠道黏膜细胞分泌产生, TFF1、TFF2 主要分布在胃窦部, TFF3 主要分布在小肠和大肠^[9-10]。近年国内外研究显示, TFF2 表达部位和含量与胃溃疡关系非常密切, 其主要作用机制为: TFF2 促进胃黏液糖蛋白分泌, 并能与黏液糖蛋白结合生成具有保护作用的复合物, 进而避免胃黏膜上皮细胞遭受酸和酶的侵袭, 同时能与表皮生长因子、转化生长因子等相关胃黏膜保护因子相互协同, 共同促进黏膜上皮细胞向溃疡部位移行和修复^[11-13]。此外, 相关研究显示, 胃癌旁组织和胃癌组织中 TFF2 表达明显减弱, 提示胃癌发生与 TFF2 表达降低存在明显相关^[14-16]。

本实验结果表明, 柚皮苷具有促进胃溃疡愈合作用。柚皮苷能明显提升胃溃疡大鼠血清及胃黏膜 TFF2 含量, 且大剂量组含量比小剂量组对 TFF2 促进作用更明显, 说明柚皮苷对胃黏膜细胞 TFF2 含量提升作用可能在线性相关。UI 提示, 柚皮苷对胃溃疡修复与愈合具有明显促进作用, 这表明柚皮苷对胃溃疡保护作用与提升胃黏膜组织中 TFF2 含量具有高度相关性。综上所述, 柚皮苷治疗胃溃疡作用机制与提高胃黏膜组织中黏膜保护因子 TFF2 含量有关, 通过促进 TFF2 分泌, 加快胃黏膜增殖与修复, 从而达到保护胃黏膜、治疗胃溃疡作用。

2013 年, 柚皮苷被国家批准作为治疗支气管炎的一类新药进入临床试验。本实验研究显示, 柚皮苷具有治疗胃溃疡的药理作用, 这为进一步深入研究柚皮苷的药理作用提供了新的方法和思路, 同时也为治疗

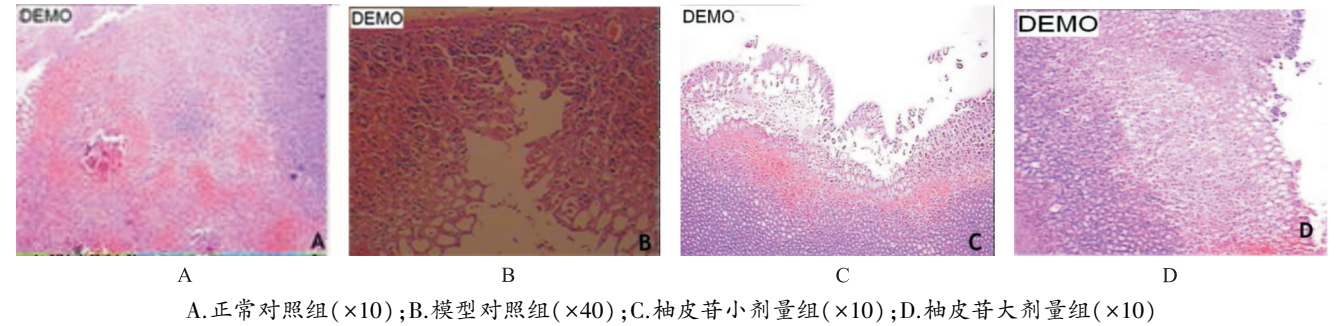


图 1 4 组大鼠胃黏膜病理组织特征(HE 染色)
A.normal control group($\times 10$); B.model control group($\times 40$); C.low-dose naringin group($\times 10$); D.high-dose naringin group($\times 10$)
Fig.1 Pathology of gastric mucosa in four groups of rats(HE staining)

胃溃疡提供了一种新的研究途径。

参考文献

- [1] 于广仁,蒋超,肖安风,等.柚皮苷及其酶解产物的生物活性研究[J].食品科技,2014,39(3):155-159.
- [2] 谢仁峰,文双娥,李洋,等.柚皮苷抗炎镇痛作用的实验研究[J].湖南师范大学学报(医学版),2011,8(4):5-8,12.
- [3] 杨宏亮,田珩,李沛波,等.柚皮苷及柚皮素的生物活性研究[J].中药材,2007,30(6):752-754.
- [4] 牛晓静,鲁静,段晓颖,等.HPLC 同时测定健脾舒胃凝胶中甘草苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草酸铵 5 种成分含量[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(2):77-79.
- [5] 杨佳静,薛佳,周华方,等.HPLC 法同时测定胃苏颗粒中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的含量[J].中国药房,2014,25(4):372-374.
- [6] 张咏梅,陈晓峰,姚莉萍.HPLC 法测定无糖型胃炎灵颗粒中柚皮苷的含量[J].安徽医药,2014,18(6):1045-1047.
- [7] OKABE S,AMAGASE K.An overview of acetic acid ulcer models-the history and state of the art of peptic ulcer research[J].Bio Pharm Bull,2005,28(8):1321-1341.
- [8] 才丽萍,蒋宁,曲怡,等.“毒热证”胃溃疡大鼠模型的制备与评价[J].中华中医药杂志,2011,26(3):416,501-504.
- [9] 张静,吴靖芳,任君旭,等.大鼠胃溃疡自愈期间三叶因子 2 的变化[J].第三军医大学学报,2011,33(13):1358-1361.
- [10] MAY F E,SEMPLE J I,NEWTON J L,et al.The human two domain trefoil protein, TFF2, is glycosylated *in vivo* in the stomach[J].Gut,2000,46(4):454-459.
- [11] YU Y,JIA T Z,CAI Q,et al.Comparison of the anti-ulcer activity between the crude and bran-processed *Atractylodes lancea* in the rat model of gastric ulcer induced by acetic acid[J].J Ethnopharmacol,2015,160(3):211-218.
- [12] 周学文,周天羽,才丽萍,等.三叶因子 2 在胃黏膜病变中的表达[J].中国中西医结合消化杂志,2010,18(2):95-98.
- [13] 秦建设.补中益气活血方对胃溃疡患者血清 TFF2 和 SOD 水平的影响[J].中成药,2015,37(4):735-738.
- [14] 尹香利,闫育平.三叶因子表达规律与胃组织癌化进程的关系[J].疑难病杂志,2013,12(9):694-696.
- [15] 石磊,赖铭裕,梁志海,等.TFF2 在胃癌、癌旁及正常胃黏膜组织中的表达及其与血管生成的关系[J].世界华人消化杂志,2011,19(3):246-250.
- [16] 荣芳,王勇,王满贵,等.TFF2 在胃癌中的表达及与幽门螺杆菌感染关系的研究[J].中国微生态学杂志,2011,23(4):293-297.

《医药导报》杂志关于作者署名的原则

直接参与研究选题、设计、研究、观察、资料分析与解释或撰写文稿关键内容,能对文稿内容负责,并同意文稿发表者,才可作为作者署名,不能把只参加过部分具体工作而不了解该课题全部内容和意义的人都署上姓名;作者应能掌握论文的全部内容及其意义,能对论文提出的质疑进行答辩,并能对论文中材料的真实性、分析推理的逻辑性及对理论和实际意义评价的合理性承担责任;且文章署名时,必须经过所有作者的同意及确认;作者姓名在文题下按序排列,排列顺序应在投稿时确定,在审稿和编排过程中不应再作变更。具体简述如下。

作者应是:①参与选题和设计或参与资料的分析和解释者;②起草或修改论文中关键性理论或其他主要内容者;③能对编辑部的修改意见进行核修,在学术界进行答辩,并最终同意该文发表者。①、③条均需具备,仅参与获得资金或收集资料者不能列为作者,仅对科研小组进行一般管理者也不宜列为作者,对文章中的各主要结论,必须至少有 1 位作者负责,集体署名的文章必须明确对该文负责的关键人物,其他对该研究有贡献者应列入志谢部分,如有外籍作者,应征得本人同意,并附外籍作者亲笔签名同意在本刊发表的函件。作者单位应该署至科室,邮政编码、单位所在城市名、单位全称置于作者下一行圆括号内(具体格式详见)《医药导报》2016 年第 1 期第 VII 页投稿须知。作者所投稿件决定刊用后,应请全体作者在本刊《论文著作权转让书》上逐一签名,将论文专有使用权授予《医药导报》编辑部。