

猴头菌片对大鼠急性酒精性胃黏膜损伤的保护作用及其机制

王茜¹, 谢家骏^{1*}, 张英华², 黄怡文¹, 杨艺帆¹, 陈锰¹, 胡凤丽¹, 成苗²,
张静²

(1. 上海中医药大学药物安全评价研究中心, 上海 201203; 2. 上海雷允上药业有限公司, 上海 201401)

摘要: 目的 探索猴头菌片对胃黏膜损伤的保护作用, 并探索其可能的机制。方法 使用猴头菌片 0.25、0.5、1.0 g/kg 剂量灌胃大鼠, 每日 1 次, 连续 7 d; 末次给药后 1 h, 灌胃无水乙醇 5 mL/kg, 1 h 后观察胃黏膜损伤程度及病理改变, 吸取胃液检测 pH 和胃蛋白酶活性, 刮取胃黏膜检测氨基己糖、前列腺素 E₂ (PGE₂) 和白细胞介素 1 β (IL-1 β) 含量。结果 猴头菌片可明显降低胃黏膜的损伤程度, 减轻胃黏膜的充血、出血、水肿和坏死, 对抗胃蛋白酶活性的降低, 抑制胃黏膜层氨基己糖含量的下降, 而对 PGE₂、IL-1 β 含量和胃液 pH 值的升高无明显影响。结论 猴头菌片对胃黏膜损伤具有明显的保护作用, 其机制与抑制胃黏膜层氨基己糖含量下降有关。

关键词: 猴头菌片; 乙醇; 胃黏膜损伤; 氨基己糖; 胃蛋白酶; pH

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2017)12-2454-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.12.003

The protective effects of *Hericium* Tablets on acute alcoholic gastric mucosal injury in rats and its mechanism

WANG Qian¹, XIE Jia-jun^{1*}, ZHANG Ying-hua², HUANG Yi-wen¹, YANG Yi-fan¹,
CHEN Meng¹, HU Feng-li¹, CHENG Miao², ZHANG Jing²

(1. Research Center for Drug Safety Evaluation, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203; 2. Shanghai Lei's Pharmaceutical Co. Ltd., Shanghai 201401, China)

ABSTRACT: AIM To explore the protective effects of *Hericium* Tablets on the injury of gastric mucosa and to investigate its possible mechanism. **METHODS** The rats were orally given doses of *Hericium* Tablets (0.25, 0.5, 1.0 g/kg) once a day for seven days. One hour after the last doses, the rats were orally given a dose of anhydrous ethanol (5 mL/kg). In one hour, the degree of gastric mucosal injury and pathological changes were observed. Gastric juice pH and pepsin activity were detected by absorbing the gastric juice. The contents of amino hexose, PGE₂ and IL-1 β were detected by scraping gastric mucosa. **RESULTS** *Hericium* Tablets can obviously alleviate the damage degree of gastric mucosa, reduce the gastric mucosal hyperemia, bleeding, edema and necrosis, as well as against the decrease of pepsin activity in gastric juice, and the decrease of the content of amino hexose in gastric mucosal layer was inhibited, but there was no significant effect on the contents of PGE₂ and IL-1 β and the increasement of pH value of gastric juice. **CONCLUSION** The effects of *Hericium* Tablets on gastric mucosal injury are obvious, and its mechanism is related to the decrease of the contents of gastric mucosa.

KEY WORDS: *Hericium* Tablets; alcohol; gastric mucosal injury; aminohexose; pepsin; pH

收稿日期: 2017-09-07

作者简介: 王茜 (1993—), 女, 硕士生, 从事中药毒理学研究与安全性评价。Tel: (021) 51323053, E-mail: 18009338615@163.com

* 通信作者: 谢家骏 (1959—), 男, 研究员, 硕士生导师, 从事中药药理毒理学研究与中药新药开发。Tel: (021) 51322395, E-mail: xiej001@163.com

胃溃疡是指胃黏膜层胃酸过量和胃蛋白酶自身消化而形成的一种消化道疾病^[1]，近年来，随着人们生活节奏的加快和饮食结构的变化以及药物的不当使用，胃溃疡的发病率日益升高。据流行病学调查，胃溃疡发病率在西方国家为2.4%^[2]，在我国部分地区高达6.07%^[3]，复发率为60%~80%^[4]。目前，虽市场上已有不少抗胃溃疡的化学药物可供使用，但不少药物因其疗效因素或伴随的不良反应导致患者依从性下降而使用受限^[5-6]。基于此，寻找一种疗效明显、毒副作用小的抗胃溃疡药物尤为重要。中药治疗胃溃疡已有数千年的历史，具有治愈率高、复发率低、不良反应小等特点。临床研究表明，中药在抗胃溃疡研究方面具有独特的优势和二次开发价值^[7]。

猴头菌片是一种可用于治疗胃溃疡的传统中药制剂，是由齿菌科真菌猴头菌 *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. 的固体培养物^[8]经提取浓缩后制成的片剂，收载于部颁标准中药成方制剂第十七册 WS3-B-3341-98，其主要成分猴头菌丝体，富含多糖、腺苷、氨基酸等有效成分^[9]，具有养胃和中的功效，除胃溃疡外，还可用于十二指肠溃疡、慢性胃炎、萎缩性胃炎等的治疗。虽然已进行的大量临床试验数据证实其对胃炎和胃溃疡有显著疗效^[10]，但有关其非临床主要药效学作用及其机制研究却鲜有报道或不够全面^[11]，故本实验主要从其对大鼠乙醇性胃黏膜损伤的保护作用入手，考察其作用特点，探讨其可能的作用机制，为该产品的临床合理应用提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物 SD大鼠：清洁级，雄性，体质量180~200 g，由上海斯莱克实验动物责任有限公司提供，实验动物生产许可证号：SCXK（沪）2012-0002。实验动物在上海中医药大学实验动物中心 SPF级饲养室饲养，室内温度22~24℃，湿度45%~70%，实验动物使用许可证号：SYXK（沪）2014-0008。

1.2 受试物与阳性药 猴头菌片（猴头菌丝体）：棕褐色流浸膏，比重1.32（质量体积比），1 g流浸膏相当于5 g生药，1 g流浸膏含67.5 mg多糖，由上海雷允上药业有限公司技术中心制备和提供，批号161201。称取流浸膏适量，以纯水作为溶剂，配制成10%、5%、2.5%的药液。盐酸雷尼替丁：以1%羧甲基纤维素钠（CMC-Na）作为助悬剂，将胶囊中的内容物配制成0.5 g/100 mL的药液。

1.3 主要试剂及试剂盒 无水乙醇（AR，批号20160907），浓盐酸（AR，批号20161218），乙酰丙酮（AR，批号20170111），D（+）-葡萄糖胺盐酸盐（批号24IVJ-TX，TCI），对-二甲氨基苯甲醛（AR，批号20161118），均购自国药集团化学试剂有限公司；牛血红蛋白（批号M1210A），牛血清白蛋白组分五（批号M0104A），购自美仑生物；考马斯亮蓝（批号20160715，沃凯）；前列腺素E₂（PGE₂）ELISA试剂盒（批号0490389，cayman产品）；白细胞介素1β（IL-1β）ELISA试剂盒（批号170411，BioTNT产品）。

1.4 药品及主要试剂配制 标准牛血清蛋白溶液（1.0 mg/mL），精确称取牛血清蛋白10 mg定容至10 mL。考马斯亮蓝 G250 蛋白染色试剂：称取考马斯亮蓝 G250 染色剂100 mg溶解于95%的乙醇中，加100 mL的85%磷酸中，加去离子水定容至1 L。试剂的终浓度为0.01% 考马斯亮蓝 G250，4.7%乙醇，8.5%磷酸。对-二甲氨基苯甲醛试剂显色剂：对-二甲氨基苯甲醛4 g溶解于30 mL浓盐酸中，加入95%乙醇至100 mL。

1.5 主要仪器 DK-8A 电热恒温水槽（上海精宏实验设备有限公司）；5804R 冷冻离心机（Eppendorf）；Tissuelyser-192 全自动样品快速研磨仪（上海净信科技）；Agilent8453 紫外分光光度计（Agilent Technologies）；Rectangular Quartz Cell 10 mm 比色皿（Agilent Technologies）；CANON 相机（EOS450D）；酶标仪 318C（上海沛欧分析仪器有限公司）；BX43 生物显微镜（OLUMPUS）。

2 方法

2.1 分组与剂量设置 将SD大鼠96只随机分为模型对照组、空白对照组、阳性药组（盐酸雷尼替丁，0.05 g/kg）、猴头菌片低剂量组（0.25 g/kg）、猴头菌片中剂量组（0.5 g/kg）、猴头菌片高剂量组（1.0 g/kg）共6组，除模型对照组和空白对照组每组动物24只外，其余各组动物12只。

2.2 实验步骤 每组动物分别灌胃给予相应药物，给药容量均为10 mL/kg，连续给药7 d，给药第5天后禁食不禁水48 h，第7天末次给药后禁食禁水1 h，灌胃无水乙醇5 mL/kg，1 h后腹腔注射25%乌来糖4 mL/kg，麻醉后摘取全胃，于胃大弯处剪开，用生理盐水冲净，1/2置体视显微镜下观察腺胃部胃黏膜的损伤程度，评分并计算损伤指数，然后放入福尔马林溶液浸泡固定，用于组织病理学检查。1/2在其内侧刮取全部新鲜腺胃部胃黏膜组织，

低温冷冻后称重，组织按质量体积比加生理盐水5倍稀释，冰浴中匀浆，4℃恒温条件下，3 000 r/min离心10 min，取上清液，-80℃保存备用。

2.3 胃溃疡指数测量 体视显微镜下观察腺胃部胃黏膜的损伤程度，采用ipwin32软件测量胃体的胃溃疡长度总和，评分并计算胃黏膜损伤指数。具体评分标准如下：完整的胃黏膜为0分；点状出血（直径≤1 mm）计1分；点状糜烂计1分；条索状损伤长度>1 mm测量其长度，每1 mm计1分，若其宽度大于1 mm者加倍计分，计分总数为该大鼠的胃黏膜损伤指数，并按下列公式计算各给药组的胃黏膜损伤抑制率。损伤抑制率 = (给药组损伤

指数 - 模型对照组损伤指数) / 模型对照组损伤指数 × 100%。

2.4 胃黏膜组织形态学检查 将经福尔马林溶液浸泡固定的胃组织进行常规脱水、石蜡包埋、HE染色制片，然后放置在光学显微镜下观察胃黏膜层细胞坏死脱落、水肿、充血、出血等情况，按“胃黏膜镜检评分标准”（表1）对受试动物进行分级，并赋予相应的分值。以病理指数为指标，按照胃黏膜层细胞坏死脱落、水肿、充血、出血情况，对各组受试动物进行统计，并进行组间比较。病理指数即为各组动物分值的平均值。

表1 胃黏膜镜检评分标准

Tab. 1 Microscopic examination of the gastric mucosa scoring criteria

项目	分级	组织形态学变化情况	分值/分
黏膜层细胞坏死脱落	-	黏膜层细胞形态正常，排列整齐	0
	+	局部黏膜上皮坏死脱落	1
	++	黏膜上皮坏死脱落，部分细胞形态不完整	2
	+++	黏膜层细胞弥漫性坏死脱落，细胞形态不完整	3
黏膜层水肿	-	黏膜层细胞形态正常，排列整齐	0
	+	黏膜层结构略显松散，细胞形态略狭长	1
	++	黏膜层结构松散，细胞形态肿大或狭长	2
	+++	黏膜层结构松散，细胞形态肿大或狭长，伴大量炎细胞浸润	3
黏膜层充血	-	黏膜层血管形态正常，偶见红细胞	0
	+	局部黏膜血管轻度扩张，血管内少量红细胞可见	1
	++	多处黏膜血管扩张，血管内大量红细胞可见	2
	+++	黏膜血管弥漫性严重扩张，血管内大量红细胞可见	3
黏膜层出血	-	黏膜层血管外不可见红细胞	0
	+	黏膜层血管外局部红细胞可见	1
	++	黏膜层血管外弥漫性红细胞可见	2
	+++	黏膜层血管外大量红细胞可见，伴大量炎细胞浸润	3

2.5 胃液指标检测

2.5.1 胃液 pH 值 选用精确 pH 试纸，用滴管吸取少量胃液，点滴于试纸的中部，观察变化稳定后的颜色，与标准比色卡对比，判定胃液 pH 值。

2.5.2 胃液胃蛋白酶活性 参照经典的胃蛋白酶活性测定法^[12]。先将待测的胃液用 0.04 mol/L 的盐酸溶液稀释 50 倍，测定管：37℃ 稀释胃液 0.5 mL、37℃ 血红蛋白的基质液 2.0 mL，混匀后置 37℃ 水溶液中 10 min，5%（质量体积比）三氯醋酸 5.0 mL 振荡混匀，室温放置 30 min；对照管：取稀释胃液 0.5 mL，置 37℃ 水溶液中 10 min，5%（质量体积比）三氯醋酸 5.0 mL，振荡混匀后室温放置 30 min，将测定管和对照管离心沉淀，各取上清液 1.0 mL，加 0.5 mol/L 的 Na₂CO₃ 5.0 mL，酚

试剂 0.5 mL，迅速混匀，室温下放置 60 min。用紫外分光光度计在 640 nm 波长比色，蒸馏水校正“0”，读取光密度，查 L-酪氨酸标准曲线，按下列公式计算胃蛋白酶活性。胃蛋白酶活性 [μg 酪氨酸 / (mL · min)] = (测定管查标准曲线读数 - 对照管查标准曲线读数) × 75；胃蛋白酶活性抑制率 = (给药组胃蛋白酶活性 - 对照组胃蛋白酶活性) / 对照组胃蛋白酶活性。

2.6 胃黏膜指标检测

2.6.1 氨基己糖^[13] 用牛血清白蛋白和考马斯亮蓝试剂制作标准曲线，室温放置 15 min，于 595 nm 波长处比色测定。

2.6.2 胃黏膜标本蛋白的测定 样品加纯水 10 倍稀释后，加样 50 μL，纯水 50 μL，考马斯亮蓝试

剂 5 mL, 每组重复 3 次, 比色记录各样本吸光度, 常法计算蛋白质量浓度 (mg/mL)。各组胃黏膜匀浆上清在原基础上 10 倍稀释, 称取氨基己糖 10 mg, 溶于 100 mL 纯水中配制成 100 mg/L 的盐酸氨基葡萄糖标准液, 再依次倍比稀释 6 个质量浓度; 空白对照用纯水。取各组待测样品、标准品及纯水各 500 μ L, 分别加入测定管、标准管、空白管中, 各管加 8 mol/L HCl 500 μ L 混匀, 只将测定管煮沸 120 min; 待冷却至室温后, 各加 8.3 mol/L NaOH 500 μ L、乙酰丙酮溶液 500 μ L, 混匀, 煮沸 15 min; 流水冷却后加入显色剂 200 μ L, 混匀, 37 $^{\circ}$ C 水浴 10 min, 波长 530 nm 下读取吸光度值。最终胃黏膜中氨基己糖含有量按下列公式计算。氨基己糖含有量(mg/mg) = 匀浆上清液氨基己糖 (mg/mL)/蛋白质量浓度 (mg/mL)。氨基己糖含有量 = (给药组氨基己糖含有量 - 模型对照组氨基己糖含有量)/模型对照组氨基己糖含有量 \times 100%

2.6.3 PGE₂ 测定 取胃黏膜匀浆上清, 严格按照 Prostaglandin E₂ ELISA Kit-Monoclonal 96T (cayman) 说明书规定检测 PGE₂ 含有量。

2.6.4 IL-1 β 测定 取胃黏膜匀浆上清, 严格按照 Rat IL-1 β ELISA 96T 试剂盒 (BIOTNT) 说明书规定检测 IL-1 β 含有量。

2.7 统计处理 应用 SPSS 21.0 统计软件, 计量资料采用“均数 \pm 标准差”($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分

析, 组间两两比较方差齐性时用 LSD 方法分析, 方差不齐时用 Dunnett's 方法分析。P < 0.05 表示差异有显著性意义。

3 结果

3.1 猴头菌片对模型大鼠胃黏膜损伤指数的影响 连续给药 7 d, 猴头菌片中、高剂量组对乙醇诱导的大鼠胃黏膜损伤均显示出一定的保护作用, 损伤抑制率分别为 20.6%、41.5%, 其中, 与模型对照组比较, 猴头菌丝体高剂量组胃黏膜损伤指数下降显著 (P < 0.05), 结果见表 2。

表 2 猴头菌片对模型大鼠胃黏膜损伤指数的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Tab. 2 Effects of *Hericium* Tablets on the gastric mucosal injury index of model rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	动物数/ 只	损伤指数	损伤抑制率/%
模型对照组	-	24	48.3 \pm 29.1	-
阳性药组	0.05	12	41.6 \pm 25.4	13.8
猴头菌片低剂量组	0.25	12	59.3 \pm 37.1	-22.8
猴头菌片中剂量组	0.5	12	38.3 \pm 28.6	20.6
猴头菌片高剂量组	1.0	12	28.3 \pm 18.5*	41.5

注: 与模型对照组比较, * P < 0.05, ** P < 0.01

3.2 猴头菌片对模型大鼠胃黏膜组织形态学变化的影响 镜检结果显示, 连续给药 7 d, 模型对照组和各受试物给药组均有动物胃黏膜出现程度不一的病理改变, 主要表现为黏膜层充血、出血、水肿、细胞坏死脱落等, 病变发生以浅表部位为主, 部分深至黏膜腺体部。见表 3~6、图 1。

表 3 猴头菌片对模型大鼠胃黏膜层细胞坏死脱落变化的影响

Tab. 3 Effect of *Hericium* Tablets on the necrosis of gastric mucosal layer in model rats gastric mucosa

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物数/ 只	黏膜层细胞坏死脱落				病理指数
			-	+	++	+++	
模型对照组	-	12	25.0	8.3	41.7	25.0	1.58
阳性药组	0.05	6	50.0	50.0	0	0	0.50
猴头菌片低剂量组	0.25	6	66.7	0	33.3	0	0.67
猴头菌片中剂量组	0.5	6	66.7	16.7	16.7	0	0.50
猴头菌片高剂量组	1.0	6	83.3	16.7	0	0	0.17

表 4 猴头菌片对模型大鼠胃黏膜层水肿变化的影响

Tab. 4 Effect of *Hericium* Tablets on the changes of edema in model rats gastric mucosa

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	动物数/ 只	黏膜层水肿				病理指数
			-	+	++	+++	
模型对照组	-	12	25.0	41.7	33.3	0	1.08
阳性药组	0.05	6	50.0	50.0	0	0	0.50
猴头菌片低剂量组	0.25	6	66.7	0	33.3	0	0.67
猴头菌片中剂量组	0.5	6	66.7	16.7	16.7	0	0.50
猴头菌片高剂量组	1.0	6	83.3	16.7	0	0	0.17

表5 猴头菌片对模型大鼠胃黏膜层充血变化的影响

Tab. 5 Effect of *Hericium* Tablets on the hyperemia of gastric mucosal layer in model rats

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物数/只	黏膜层充血				病理指数
			-	+	++	+++	
模型对照组	-	12	66.7	0	33.3	0	0.67
阳性药组	0.05	6	50.0	50.0	0	0	0.50
猴头菌片低剂量组	0.25	6	66.7	0	33.3	0	0.67
猴头菌片中剂量组	0.5	6	66.7	16.7	16.7	33.3	0.50
猴头菌片高剂量组	1.0	6	83.3	16.7	0	0	0.17

表6 猴头菌片对模型大鼠胃黏膜层出血变化的影响

Tab. 6 Effects of *Hericium* Tablets on the hemorrhage of gastric mucosal layer in model rats

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物数/只	黏膜层出血				病理指数
			-	+	++	+++	
模型对照组	-	12	66.7	0	33.3	0	0.67
阳性药组	0.05	6	50.0	50.0	0	0	0.50
猴头菌片低剂量组	0.25	6	66.7	0	33.3	0	0.67
猴头菌片中剂量组	0.5	6	66.7	16.7	16.7	0	0.50
猴头菌片高剂量组	1.0	6	83.3	16.7	0	0	0.17

空白对照(背景资料):正常胃黏膜(图1A~B)。黏膜层细胞弥漫性坏死脱落情况:模型对照组部分动物可见黏膜层细胞弥漫性坏死脱落,细胞形态不完整(图1C);雷尼替丁组、猴头菌片组部分动物可见黏膜上皮坏死脱落,部分细胞形态不完整或局部黏膜上皮坏死脱落(图1D~E)。黏膜层水肿情况:模型对照组大部分动物可见黏膜层结构松散,细胞形态肿大或狭长(图1F);雷尼替丁组、猴头菌片组部分动物可见黏膜层结构略显松散,细胞形态略肿大(图1G~H)。黏膜层充血情况:模型对照组部分动物可见多处黏膜血管扩张,血管内可见大量红细胞(图1I);雷尼替丁组、猴头菌片组中部分动物可见局部黏膜血管轻度扩张,血管内可见少量红细胞(图1J~K)。黏膜层出血情况:模型对照组部分动物黏膜层血管外可见大量红细胞(图1L);雷尼替丁组、猴头菌片组部分动

物黏膜层血管外局部可见红细胞(图1M~N)。

3.3 胃液pH值和指标胃蛋白酶活性检测 空白对照组大鼠胃液pH为2.4±0.9,胃蛋白酶活性为(1.138±0.481) μg 酪氨酸/(mL·min),乙醇灌胃后,模型对照组大鼠胃液pH值和胃蛋白酶活性为(5.1±0.7)、(0.478±0.232) μg/(mL·min),分别上升52.9%和下降138.0%,差异均具有统计学意义(P<0.01)。连续给药7d,猴头菌片猴头菌片高剂量组对乙醇诱导的大鼠胃液pH上升呈一定的抑制作用,但无统计学意义(P>0.05);猴头菌片低、中、高剂量组对乙醇诱导的大鼠胃液胃蛋白酶活性降低均呈一定的对抗作用,幅度分别为13.9%、27.6%、93.9%,其中猴头菌片高剂量组与模型对照组比较,差异有统计学意义(P<0.01)。见表7。

表7 猴头菌片对模型大鼠胃液pH值和胃蛋白酶活性的影响(̄x±s)

Tab. 7 Effects of *Hericium* Tablets on the pH values of gastric juice and pepsin activity in model rats (̄x±s)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	pH		胃蛋白酶活性	
		-	%	μg·(mL·min) ⁻¹	%
空白对照组	-	2.4±0.9**	-52.9	1.138±0.480**	138.0
模型对照组	-	5.1±0.7	-	0.478±0.232	-
阳性药组	0.05	4.8±0.6	-5.9	0.318±0.149*	-33.4
猴头菌片低剂量组	0.25	5.1±0.6	0.0	0.544±0.238	13.9
猴头菌片中剂量组	0.5	5.0±0.5	-2.0	0.610±0.290	27.6
猴头菌片高剂量组	1.0	4.7±0.6	-7.8	0.927±0.340**	93.9

注:与模型对照组比较,*P<0.05,**P<0.01

3.4 胃黏膜氨基己糖、PGE₂和IL-1β水平检测 空白对照组大鼠胃黏膜氨基己糖、PGE₂、IL-1β含有量分别为(0.169±0.040) mg/mg、(8.66±

7.29) ng/mg和(7.38±2.67) ng/mg,乙醇灌胃后,模型对照组大鼠胃黏膜氨基己糖含有量降低至(0.045±0.029) mg/mg,降幅达275.56%,

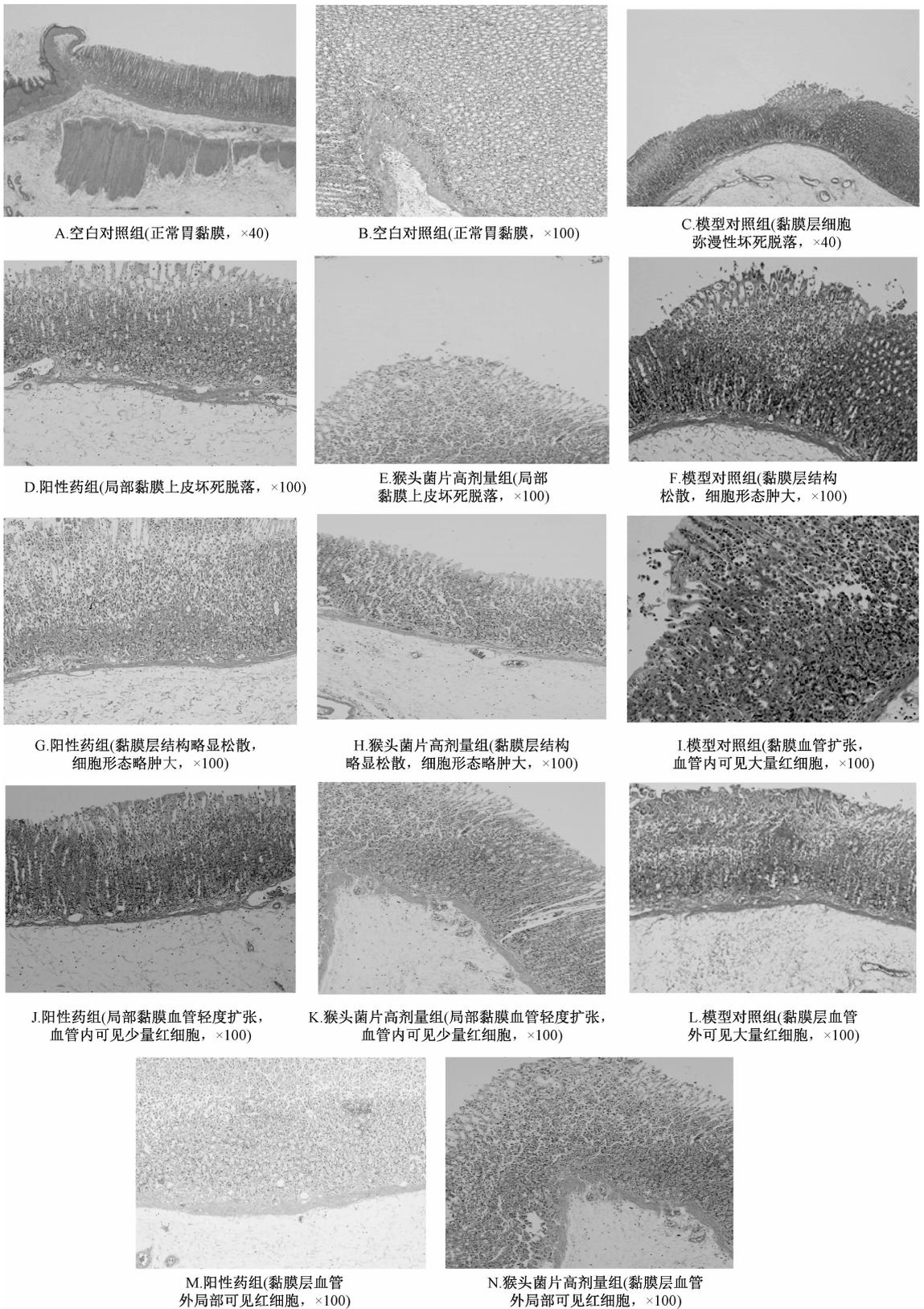


图1 猴头菌片对模型大鼠胃黏膜组织形态学变化的影响 (HE)

Fig. 1 Effect of *Hericium* Tablets on morphological changes of gastric mucosa in model rats (HE)

差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 PGE_2 、 $\text{IL-1}\beta$ 含有量为 (7.29 ± 2.69) pg/mg 和 $(7.79 \pm$

$5.56)$ ng/mg , 与空白对照组比, 差异无统计学意义。连续给药 7 d, 猴头菌片高剂量组对乙醇诱

导的大鼠胃黏膜氨基己糖含有量降低呈明显的对抗作用, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 而猴头菌

片各剂量组 PGE₂ 和 IL-1 β 与模型对照组比较, 均未见有明显的趋势性变化 ($P > 0.05$)。见表 8。

表 8 猴头菌片对模型大鼠胃黏膜氨基己糖、PGE₂、IL-1 β 含有量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 8 Effect of *Hericium* Tablets on the contents of gastric mucosal aminohexose, PGE₂ and IL-1 β in model rats

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	氨基己糖/		PGE ₂		IL-1 β	
		(mg·mg ⁻¹)	%	ng/mg	%	ng·mg ⁻¹	%
空白对照组	-	0.169 ± 0.040 *	275.6	8.66 ± 7.29	18.9	7.38 ± 2.67	-5.3
模型对照组	-	0.045 ± 0.029	-	7.29 ± 2.69	-	7.79 ± 5.56	-
阳性药组	0.05	0.095 ± 0.101	109.5	4.50 ± 1.45 *	-38.3	7.47 ± 4.64	-4.1
猴头菌片低剂量组	0.25	0.051 ± 0.040	11.9	6.26 ± 1.56	-14.1	10.51 ± 6.17	34.9
猴头菌片中剂量组	0.5	0.031 ± 0.013	-32.2	8.59 ± 5.59	17.9	5.14 ± 3.74	-34
猴头菌片高剂量组	1.0	0.090 ± 0.046 **	99.3	5.53 ± 1.68	-24.1	8.13 ± 4.77	4.4

注:与模型对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

4 讨论

本研究选用无水乙醇灌胃的方法, 建立乙醇致急性胃黏膜损伤的动物模型。该模型形成的溃疡特征是沿着腺胃部血管走向条索状分布, 表面覆盖凝血, 其形成机制为灌入的乙醇直接破坏胃表面的保护屏障, 导致胃壁血液循环障碍, 黏膜层充血、出血、水肿、细胞坏死脱落。该模型的病理特点为溃疡的外形、组织学特点、愈合和复发过程与人胃黏膜损伤相近似, 且其制作简便, 成模速度快, 胃黏膜损伤明显, 实验重复性好^[14]。

选用急性胃黏膜损伤模型研究药物对胃溃疡的保护作用, 胃黏膜自身防御机制对外来刺激的应激能力和对抗强度是评价的主要内容。胃黏膜自身防御机制的构成主要与胃黏液中糖蛋白如含有量、胃黏膜微循环状况、胃黏膜保护因子水平等有关。其中, 氨基己糖是胃黏液中糖蛋白的主要成分, 良好的疏水性使其在胃黏膜防御中起到了重要的作用, 在一定的条件下, 根据氨基己糖含有量的多少可直接判断胃黏膜的损伤状况或受试药物的干预效果。因此, 测定氨基己糖含有量及其变化状况对评价胃黏膜防御机制有重要价值^[15]。前列腺素 E₂ (PGE₂) 是胃黏液中的重要活性物质, 属花生四烯酸环氧合酶代谢产物, 可促进胃黏液和碳酸氢盐分泌, 促进胃黏膜细胞更新, 改善胃黏膜血液循环, 刺激胃黏膜表面活性磷脂的释放, 且具有增强适应性细胞保护作用, 是目前公认的胃黏膜保护因子^[16]。因此, 检测胃黏液中 PGE₂ 含有量变化可以辅助判定胃黏膜损伤与修复的平衡状况。胃液中的胃蛋白酶、盐酸分别由胃黏膜中主细胞、壁细胞所分泌, 其在胃液或胃黏液中含有量变化可间接表征胃黏膜的受损状态。白介素 1 β (IL-1 β) 是淋巴细胞刺激因子, 主要由活化的单核-巨噬细胞产生, 属致炎活性物质, 其含有量变化可反映胃黏膜受损

后的组织炎症通路激活状况, 评价预后。

本试验以不同剂量猴头菌片给大鼠灌胃连续 7 d, 观察末次给药后用无水乙醇造成的大鼠胃黏膜损伤, 以胃黏膜损伤指数、胃液 pH 值和胃蛋白酶活性、胃黏膜氨基己糖、PGE₂、IL-1 β 含有量为检测指标, 结合胃黏膜组织病理镜检, 考察无水乙醇诱导的胃黏膜损伤机制, 评价猴头菌片对酒精性胃溃疡的保护作用, 探讨受试物对抗胃黏膜损伤的保护途径。实验结果显示, 由无水乙醇诱导的胃溃疡模型大鼠, 其胃腺和胃黏液层遭到了严重的破坏。镜检可见黏膜层充血、出血、水肿、细胞坏死脱落等, 病变发生以浅表部位为主, 部分深至黏膜腺体部, 胃黏膜损伤指数达 48.3, 胃液检查显示 pH 值大幅升高 ($P < 0.01$), 胃蛋白酶活性明显降低 ($P < 0.01$), 胃黏膜检测发现氨基己糖含有量显著下降 ($P < 0.05$)。与模型对照组比, 猴头菌片预防给药 7 d, 由乙醇诱发的胃黏膜损伤指数显著下降, 黏膜层充血、水肿、细胞坏死脱落等明显改善, 胃液 pH 值有所下降, 胃液胃蛋白酶活力大幅增强, 胃黏膜氨基己糖含有量显著提高。除胃液 pH 值外, 猴头菌片高剂量组上述各项指标改善均具有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果表明, 猴头菌片对无水乙醇诱发的胃黏膜损伤具有明显的保护作用, 是一种良好的胃黏膜保护剂^[9], 其机制与其能显著对抗无水乙醇对胃黏膜氨基己糖的破坏、保护胃黏膜结构完整和功能正常有关。猴头菌片的有效剂量为 1.0 g/kg, 相当于生药 5 g/kg, 为人临床等效剂量的 4 倍。

猴头菌片的主要成分猴头菇多糖是由蛋白、糖和硫酸基三大部分组成的硫酸酯多糖^[17]。有研究显示^[18-20], 猴头菇多糖对急、慢性溃疡形成均有明显的抑制作用, 可增加胃黏膜血流量, 增加胃黏膜中 PGE₂ 和表皮生长因子 (EGF) 含有量, 促进

胃黏膜中碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 的分泌, 增强转化生长因子 (TGF- α) mRNA 的表达, 有增强胃黏膜的防御机制, 有利于溃疡的愈合, 提高胃黏膜的修复和再生能力。猴头菌片对胃黏膜损伤的保护作用无疑与其富含猴头菇多糖密切相关。

参考文献:

[1] 孙玉鹤, 张春风. 胃溃疡研究进展[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(11): 46-49.

[2] Croenen M J, Kuipers E J, Hansen B E, *et al.* Incidence of duodenal ulcers and gastric ulcers in a Western population; back to where it started[J]. *Can J Gastroenterol*, 2009, 23(9): 604-608.

[3] Li Z, Zou D, Ma X, *et al.* Epidemiology of peptic ulcer disease: endoscopic results of the systematic investigation of gastrointestinal disease in China[J]. *Am J Gastroenterol*, 2010, 105(12): 2570-2577.

[4] 江绍基, 陆汉明. 临床胃肠病学[M]. 上海: 上海科技出版社, 1981(12): 252-259.

[5] 陈 斌, 金晓玲. 雷尼替丁的不良反应[J]. 海峡药学, 2007, 19(1): 97-99.

[6] 曾丽宁. 奥美拉唑致不良反应研究进展. 医学理论与实践[J]. 2015, 28(10): 1305-1306, 1351.

[7] 姜正华, 李劲平. 中药治疗胃溃疡研究进展[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(12): 50-53.

[8] 庄意丽, 顾慧芬. 猴头菌片高产菌株的优选[J]. 中国现代中药, 2012, 14(8): 38-40.

[9] 唐海明, 王德勤, 张慧晔. RP-HPLC 法同时测定猴头菌片中 5 种核苷[J]. 中成药, 2017, 39(5): 964-967.

[10] 潘超雄, 陈立军, 许燕云. 猴头菌片治疗慢性胃炎及消化性溃疡的临床疗效观察[J]. 海南医学院学报, 2004, 10(4): 260-261.

[11] 耿宝琴, 雍定国. 猴头菌片对大鼠实验性胃溃疡的影响[J]. 浙江医科大学学报, 1982, 11(4): 171-174.

[12] 程延安. 针灸对慢性萎缩性胃炎大鼠胃液总酸度及胃蛋白酶活性影响的研究[J]. 中国中医药科技, 2002, 9(6): 323-324.

[13] 肖卫平. 维胃方对胃溃疡大鼠胃黏膜氨基己糖含量影响的实验研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2009.

[14] 周光兴, 高 诚, 徐 平, 等. 人类疾病动物模型复制方法学[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2008(1): 68.

[15] 刘海军, 许国铭, 李兆申. 测定氨基己糖和磷脂含量对胃粘膜防御机制的评价[J]. 解放军医学杂志, 1996, 21(6): 450-451.

[16] 李兆基, 湛先保. 胃黏膜损伤与保护[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004(4): 501.

[17] 杨勇杰, 姜瑞芝, 陈英红, 等. 猴头多糖 HEP-2 化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(3): 194-197.

[18] 黄 萍, 罗 珍, 郭重仪, 等. 猴头菇多糖胃黏膜保护作用研究[J]. 中药材, 2011, 34(10): 1588-1590.

[19] 杨 焱, 严慧芳, 陆宏琪, 等. 猴头菌提取物对大鼠胃黏膜损伤保护作用的研究[J]. 食用菌学报, 1999, 6(1): 14-17.

[20] 邵梦茹. 猴头菇多糖对胃肠黏膜保护作用的实验研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.