

微米大黄炭白芨胶对胃黏膜损伤的保护作用及机制

刘嵩, 时昭红, 马威, 郭洁, 刘敏, 杨家耀

■背景资料

目前对于如何保护损伤后胃黏膜的研究已经从器官水平深入到细胞与分子水平。对胃黏膜损伤的治疗, 传统的治疗方法与内镜下局部给药治疗都有一定的局限性。在中医研究下发现, 联用微米大黄炭与白芨治疗胃黏膜损伤具有更好的效果。

刘嵩, 时昭红, 郭洁, 杨家耀, 武汉市中西医结合医院消化内科 湖北省武汉市 430022

马威, 武汉市中西医结合医院实验中心 湖北省武汉市 430022

刘敏, 湖北中医药大学中西医结合消化科 湖北省武汉市 430065

刘嵩, 硕士, 主要从事胃肠消化方面的研究。

基金项目: 国家中医药管理局《杜建民全国名老中医药专家传承工作室》基金资助项目; 武汉市卫生计生委基金资助项目, No. WZ15Z04。

作者贡献分布: 刘嵩负责数据整理与文章撰写并参与实验; 时昭红、马威、郭洁及刘敏负责实验实施; 马威提供实验试剂; 杨家耀负责试验验收; 时昭红负责文章修改与审核。

通讯作者: 杨家耀, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市硚口区中山大道215号, 武汉市中西医结合医院消化内科。
yangjiayao@medmail.com.cn
电话: 027-85332307

收稿日期: 2016-11-19
修回日期: 2016-12-17
接受日期: 2016-12-26
在线出版日期: 2017-04-08

Micron rhubarb charcoal plus Bletilla striata gelatin protects against gastric mucosal injury in rats

Song Liu, Zhao-Hong Shi, Wei Ma, Jie Guo, Min Liu, Jia-Yao Yang

Song Liu, Zhao-Hong Shi, Jie Guo, Jia-Yao Yang, Department of Gastroenterology, Integrated Chinese and Western Medicine Hospital of Wuhan, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Wei Ma, Experimental Center, Integrated Chinese and Western Medicine Hospital of Wuhan, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Min Liu, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, Hubei Province, China

Supported by: "Du Jianmin National Famous Old Chinese Medicine Expert Inheritance Studio" Fund, State Administration of Traditional Chinese Medicine; Foundation of Health and Family Planning Commission of Wuhan, No. WZ15Z04.

Correspondence to: Jia-Yao Yang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Integrated Chinese and Western Medicine Hospital of Wuhan, 215 Zhongshan Avenue, Qiaokou District, Wuhan 430022, Hubei Province, China. yangjiayao@medmail.com.cn

Received: 2016-11-19
Revised: 2016-12-11
Accepted: 2016-12-26
Published online: 2017-04-08

Abstract

AIM

To investigate whether micron rhubarb charcoal plus Bletilla striata gelatin can protect against gastric mucosal injury by regulating the expression of focal adhesion kinase (FAK), vinculin, and kindlin-2.

METHODS

Eighty SD rats were randomly divided into four groups: control group, model group, micron rhubarb charcoal group, micron rhubarb charcoal plus Bletilla striata gelatin group. After treatment for 14 days, the area of mucosal lesions was detected. Radioimmunoassay was used to detect the contents of prostaglandin E₂ (PGE₂) and gastrin (GAS) in serum, and interleukin-8 (IL-8) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the gastric mucosa. RT-PCR and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression of FAK, vinculin and

■同行评议者

刘展, 主任医师, 湖南师范大学第一附属医院(湖南省人民医院)消化科; 郑盛, 副教授, 副主任医师, 云南省第三人民医院消化内科

kindlin-2.

RESULTS

Compared with the control group, the injury area in the gastric mucosa was significantly increased ($P < 0.01$), the content of GAS in serum and the levels of TNF- α and IL-8 in the gastric mucosa ($P < 0.01$) were significantly increased, the content of PGE₂ in serum and the mRNA and protein expression of FAK, vinculin, and kindlin-2 were significantly decreased in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, the area of gastric mucosal lesions was significantly decreased ($P < 0.01$), the content of GAS in serum and the levels of TNF- α and IL-8 in the gastric mucosa were significantly decreased ($P < 0.01$), the content of PGE₂ in serum and the mRNA and protein expression of FAK, vinculin, and kindlin-2 were significantly increased in the two treatment groups ($P < 0.01$). The changes in the above indexes were more significant in the micron rhubarb charcoal plus Bletilla striata gelatin group than in the micron rhubarb charcoal group.

CONCLUSION

Micron rhubarb charcoal plus Bletilla striata gelatin can significantly improve gastric mucosal injury in rats, and the protective effect may be related to un-regulating the expression of FAK, vinculin, and kindlin-2.

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Micron rhubarb charcoal and Bletilla striata gelatin; Gastric mucosal injury; Adhesion connection; Gastric mucosal barrier

Liu S, Shi ZH, Ma W, Guo J, Liu M, Yang JY. Micron rhubarb charcoal plus Bletilla striata gelatin protects against gastric mucosal injury in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2017; 25(10): 874-880 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i10/874.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v25.i10.874>

摘要

目的

研究微米大黄炭白芨胶调控局部黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)、Vinculin、kindlin-2对胃黏膜损伤的保护作用。

方法

选用80只SD大鼠, 随机分为4组处理: 对照组、模型组、微米大黄炭组、微米大黄炭

白芨胶组。造模后第14天, 检测各组大鼠黏膜损伤面积; 放射免疫法检测各组大鼠血清中前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)、胃泌素(gastrin, GAS)含量及胃黏膜组织白介素-8(interleukin-8, IL-8)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)含量; 提取胃组织总RNA和总蛋白, RT-PCR及Western blot检测FAK、Vinculin、kindlin-2的mRNA及蛋白表达。

结果

与对照组相比, 模型组大鼠的胃黏膜损伤面积显著增大($P < 0.01$), 血清中PGE₂含量显著降低($P < 0.01$), GAS含量显著升高($P < 0.01$), 胃黏膜组织中TNF- α 、IL-8的含量显著升高($P < 0.01$), FAK、Vinculin、kindlin-2的mRNA及蛋白表达均显著下降($P < 0.01$); 与模型组相比, 微米大黄炭组与微米大黄炭白芨胶组大鼠胃黏膜损伤面积显著减少($P < 0.01$), 血清中PGE₂含量显著升高($P < 0.01$), GAS含量显著降低($P < 0.01$), 胃黏膜组织中TNF- α 、IL-8的含量显著降低($P < 0.01$), FAK、Vinculin、kindlin-2的mRNA及蛋白表达均显著升高($P < 0.01$), 微米大黄炭白芨胶组各检测指标变化均优于微米大黄炭组。

结论

微米大黄炭白芨胶能显著改善模型大鼠胃黏膜损伤状况, 对损伤胃黏膜的保护作用可能与FAK、Vinculin、kindlin-2的表达增强有关。

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 微米大黄炭白芨胶; 胃黏膜损伤; 黏附连接; 胃黏膜屏障

核心提要: 本文从动物、细胞、分子水平对中药有效成分的疗效进行了探讨, 成功构建急性胃黏膜损伤大鼠模型, 发现联用微米大黄炭与白芨治疗胃黏膜损伤具有更好的效果。

刘嵩, 时昭红, 马威, 郭洁, 刘敏, 杨家耀. 微米大黄炭白芨胶对胃黏膜损伤的保护作用及机制. 世界华人消化杂志 2017; 25(10): 874-880 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i10/874.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v25.i10.874>

0 引言

胃黏膜的完整性是保护胃组织抵抗胃酸、各

创新盘点

本文成功构建急性胃黏膜损伤大鼠模型, 发现微米大黄炭白芨胶能显著减轻大鼠胃黏膜损伤面积, 显著降低胃泌素及炎症因子白介素-8、肿瘤坏死因子- α 分泌, 增强前列腺素E₂分泌, 并能增强黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)、Vinculin、kindlin-2的表达, 可以通过重建胃黏膜屏障减轻胃黏膜损伤。

■名词解释

黏着斑激酶(FAK): 是整合蛋白介导的信号转导中的重要成员, 有酪氨酸蛋白激酶活性, 并可自身磷酸化; 具有类似FAK作用的FAK家族新成员不断发现. 新近发现FAK可抑制细胞凋亡, FAK本身是胱冬肽酶的底物. 作为信号分子的FAK, 还与细胞内其他信号转导通路存在串话, 直接参与了细胞多种功能的调节.

种蛋白酶、胆汁酸、乙醇等的前提. 当胃黏膜受到损伤时, 胃黏膜上皮的细胞会快速的修复缺损, 保持胃黏膜细胞层的完整性; 胃黏膜的保护和修复与胃黏膜细胞的增殖、凋亡和迁移直接相关^[1]. 目前对于如何保护损伤后的胃黏膜的研究已经从器官水平深入到细胞与分子水平.

胃黏膜损伤如果并发出血, 治疗时首先需要止血, 传统的治疗方法是静脉注射药物^[2], 但是该法见效慢, 而且治疗效果不肯定. 目前内镜下局部给药是治疗胃溃疡出血的新兴治疗方法^[3,4], 但是该法对设备的要求较高, 治疗具有一定的局限性, 治疗药物在出血部位不能有效的黏连在一起, 止血效果不是很好. 中医研究发现, 大黄与白芨均具有一定的止血效果^[5,6], 大黄炒炭后对于化瘀止血效果更佳, 白芨煎煮后呈胶状, 除了具有止血功效外, 还具有黏附性^[7], 因此联用微米大黄炭与白芨治疗胃黏膜损伤具有更好的效果. 研究^[8,9]发现, 胃黏膜上皮细胞及细胞间的紧密连接复合体对于胃黏膜上皮屏障的形成具有重要的意义. 连接复合体形成过程中, 除了紧密连接外, 黏附连接对复合体的形成可能也具有一定的作用. 关于微米大黄炭白芨胶对胃黏膜损伤的保护与黏附连接之间的关系还不清楚. Vinculin是一种骨架蛋白, 主要分布于细胞与细胞及细胞与细胞外基质连接处^[10]. 研究^[11,12]发现Vinculin蛋白参与调控黏着斑的许多生物学功能, 如细胞黏附、伸展、迁移等. 黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)的N端与多种受体酪氨酸激酶结合, C端与黏着斑构成中多种蛋白结合, 从而调节细胞与外基质间的黏附连接^[13,14]. kindlin是一种新发现的黏着斑蛋白, 主要通过整合素胞内段结合调控细胞与细胞外基质黏附及细胞与细胞间连接^[15], kindlin-2的主要功能是形成和维持细胞与细胞间的连接.

本研究构建了乙醇引起的急性胃黏膜损伤模型, 探讨了微米大黄炭白芨胶对模型大鼠胃黏膜损伤的保护作用, 并探究微米大黄炭白芨胶作用与黏附连接之间的关系, 以期临床治疗胃黏膜损伤提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 SD大鼠由华中科技大学附属同济医院动物中心提供, 实验动物生产许可证

号: SCXK(湘)2011-0003, 实验动物合格证号: No. 43004700007902. 微米大黄炭、微米大黄炭白芨胶由武汉市中西医结合医院制剂室制备; FAK单抗、Vinculin单抗、kindlin-2单抗、 β -actin单抗及过氧化物酶标记的二抗购自英国Abcam; PrimerScript反转录试剂盒购自大连宝生物工程有限公司; 前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)放射免疫分析试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司; 胃泌素(gastrin, GAS)、白介素-8(interleukin-8, IL-8)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)含量放射免疫分析试剂盒购自上海研生物科技有限公司; 游标卡尺购自上海赛拓五金工具有限公司; 酶标仪购自美国Thermo.

1.2 方法

1.2.1 大鼠分组及处理: 选SPF级、体质量约为200 g的SD大鼠80只, 根据完全随机法选60只用于制备胃黏膜损伤模型. 大鼠分为4组处理: 对照组, 正常饮食, 生理盐水灌胃(4 mL/只), 灌胃1次/d; 模型组, 正常饮食, 生理盐水灌胃(4 mL/只), 灌胃1次/d; 微米大黄炭组, 正常饮食, 给予微米大黄炭(8 g/kg·d), 灌胃1次/d; 微米大黄炭白芨胶组, 正常饮食, 给予微米大黄炭白芨胶(12 g/kg·d), 灌胃1次/d. 饲养条件相同.

1.2.2 大鼠模型制备: 各组大鼠均于第13天灌胃后, 禁食不禁水. 第14天给药后1 h, 正常对照组给予1 mL/只生理盐水灌胃; 其余组大鼠均给予5 mL/kg无水乙醇灌胃. 通过观察胃黏膜组织形态判定造模成功与否.

1.2.3 大鼠黏膜损伤检测: 每组随机挑选6只大鼠处死后, 将大鼠仰卧固定于鼠板上, 对腹部进行常规消毒, 沿剑突向下至腹部剪开, 完整切下大鼠的胃组织, 向胃内注射1 mL 40 g/L甲醛, 并置于40 g/L甲醛中浸泡10-15 min以固定组织. 取出胃组织, 沿胃大弯剪开, 使用生理盐水冲洗后, 观察黏膜损伤情况, 并使用游标卡尺测量黏膜损伤的最大长径L及最大宽径W, 按照面积 = $1/(4 \times L \times W \times \pi)$ 计算黏膜损伤面积.

1.2.4 放射免疫法检测血清PGE₂、GAS含量: 每组随机选择6只大鼠麻醉后取心脏采集血液, 离心后上清转移至新的离心管中, 按照放射免疫试剂盒说明进行操作, 检测血清中PGE₂、GAS的含量.

1.2.5 放射免疫法检测胃黏膜组织IL-8、TNF- α 含量: 每组随机选择6只大鼠处死后取

胃组织, 分别刮取各组胃黏膜至离心管中, 称质量后向离心管中加入冰冷的生理盐水制备10%的匀浆液, 按照相应的放射免疫试剂盒说明进行操作, 检测胃黏膜中IL-8、TNF- α 含量。

1.2.6 RT-PCR检测FAK、Vinculin、kindlin-2 mRNA表达: 每组随机挑选6只大鼠, 剪取胃窦部组织, 液氮研磨后加入1 mL TRIzol, 冰上静置30 min, 加入200 μ L氯仿震荡15 s充分混匀, 冰上静置3 min, 离心取上清液至新离心管中, 加入等体积异丙醇, 震荡30 s后置于-20 $^{\circ}$ C放置30 min, 离心取沉淀, 加入1 mL无水乙醇漂洗2次, 待沉淀晾干后加入20 μ L无酶水溶解, 琼脂糖凝胶电泳检测所提取RNA的纯度, 微量核酸仪检测RNA浓度。利用Primer Script反转录试剂盒将RNA反转录成cDNA, 设计引物按照荧光定量试剂盒说明配置反应体系, 样品置于定量PCR仪检测, 并分析mRNA的相对表达水平。

1.2.7 Western blot检测FAK、Vinculin、kindlin-2蛋白表达: 每组随机选6只大鼠, 剪取胃窦部组织, 液氮研磨后, 加入裂解液、蛋白酶抑制剂及PMSF于冰上放置1 h, 离心取上清液, BCA法检测上清中蛋白浓度, 分别取50 μ g制备蛋白样品。配置蛋白胶, 蛋白胶凝固后上样, 电压调至80 V进行电泳30 min, 随后将电压调至120 V继续电泳, 直至溴酚蓝跑出蛋白胶。转膜后使用5%脱脂奶粉室温孵育3 h, 分别加入FAK单抗、Vinculin单抗、kindlin-2单抗、 β -actin单抗作为一抗(1:500), 4 $^{\circ}$ C孵育过夜, TBST清洗后加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:1000)室温孵育1 h, TBST清洗, 加入ECL发光剂进行显影5 min后利用自动凝胶成像系统采集图像, 对蛋白表达进行灰度分析时, 以相对灰度值即目的蛋白灰度值除以 β -actin的灰度值作为结果进行统计。

统计学处理 本研究数据均使用SPSS21.0软件进行处理, 使用GraphPad Prism 5统计软件绘图。组间差异采用单因素方差法进行分析, 所有的数据均以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 来表示, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠胃黏膜损伤检测 每组随机选取6只大鼠, 处死后取出胃组织, 检测胃黏膜损伤面积, 并进行统计, 结果如图1所示, 对照组大鼠经灌胃处理后, 胃黏膜有轻度损伤; 与对照

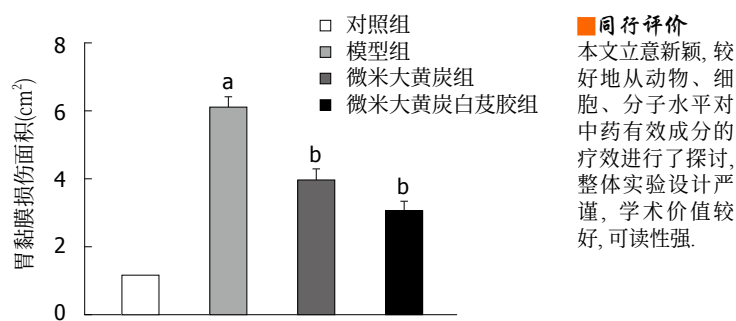


图1 各组大鼠胃黏膜损伤面积统计。* $P < 0.05$ vs 对照组, ^b $P < 0.01$ vs 模型组。

组相比, 模型组大鼠胃黏膜损伤面积显著增多($P < 0.01$), 说明成功建立了胃黏膜损伤模型; 与模型组相比, 微米大黄炭组与微米大黄炭白芨胶组大鼠胃黏膜损伤面积显著减少($P < 0.01$), 微米大黄炭白芨胶组胃黏膜损伤面积更少。

2.2 放射免疫法检测血清PGE₂、GAS含量 每组各选取6只大鼠, 心脏取血后分离上清, 利用放射免疫法检测血清中PGE₂及GAS的含量, 统计结果如图2所示, 与对照组相比, 模型组大鼠血清中PGE₂含量显著降低, GAS含量显著升高, 均具有显著性差异($P < 0.01$); 微米大黄炭组和微米大黄炭白芨胶组大鼠血清中PGE₂含量较模型组显著升高, GAS含量较模型组显著降低, 均具有显著性差异($P < 0.01$), 微米大黄炭白芨胶组血清中PGE₂及GAS含量变化更为显著。

2.3 放射免疫法检测胃黏膜IL-8、TNF- α 含量 每组各选取6只大鼠, 处死后取胃组织, 取胃黏膜称重后制备匀浆, 放射免疫法检测胃黏膜组织中炎症因子IL-8、TNF- α 的含量, 统计结果如图3所示, 与对照组相比, 模型组中TNF- α 、IL-8的含量显著升高($P < 0.01$); 微米大黄炭组和微米大黄炭白芨胶组大鼠胃黏膜组织中TNF- α 、IL-8的含量较模型组显著降低, 差异显著($P < 0.01$), 微米大黄炭白芨胶组TNF- α 、IL-8的含量下降的更显著。

2.4 RT-PCR检测FAK、Vinculin、kindlin-2 mRNA表达 每组随机选取6只大鼠, 提取胃窦部组织总RNA, RT-PCR检测黏附相关基因FAK、Vinculin、kindlin-2的表达, 对照组mRNA表达设为1, 统计结果如图4所示, 与对照组相比, 模型组三者mRNA表达均显著降低($P < 0.01$); 与模型组相比, 微米大黄炭组和微米大黄炭白芨胶组三者mRNA表达显著升高($P < 0.01$), 微米大黄炭白芨胶组三者的表达高

同行评价
本文立意新颖, 较好地从事物、细胞、分子水平对中药有效成分的疗效进行了探讨, 整体实验设计严谨, 学术价值较好, 可读性强。

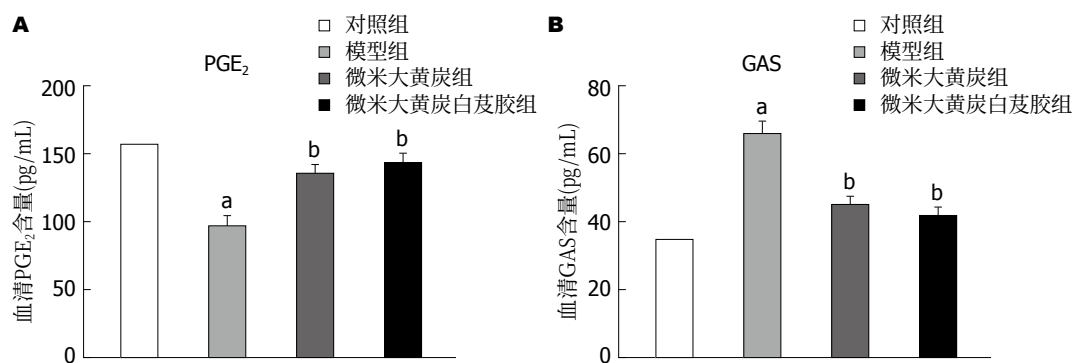


图 2 各组大鼠血清PGE₂及GAS含量检测. A: 大鼠血清PGE₂含量统计; B: 大鼠血清GAS含量统计. ^a $P < 0.05$ vs 对照组, ^b $P < 0.01$ vs 模型组. PGE₂: 前列腺素E₂; GAS: 胃泌素.

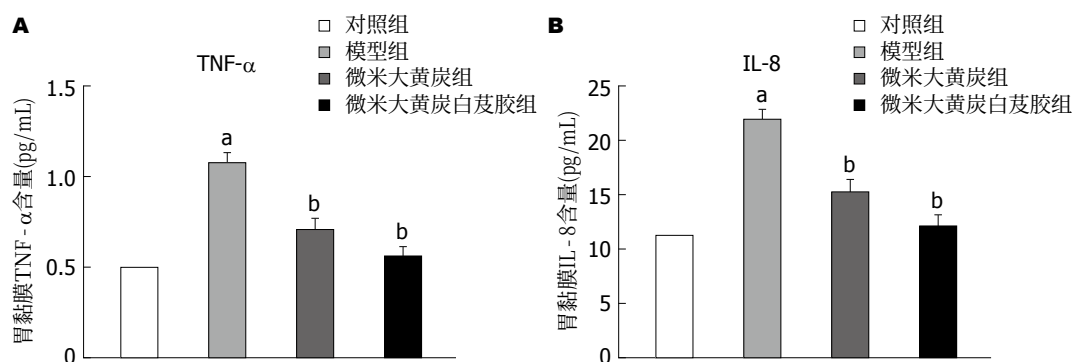


图 3 各组大鼠胃黏膜组织TNF-α及IL-8含量检测. A: 大鼠胃黏膜组织TNF-α含量统计; B: 大鼠胃黏膜组织IL-8含量统计. ^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.01$ vs 模型组. TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; IL-8: 白介素-8.

于微米大黄炭组($P < 0.05$).

2.5 Western blot检测FAK、Vinculin、kindlin-2蛋白表达 每组随机选取6只大鼠, 提取胃窦部组织总蛋白, Western blot检测黏附相关蛋白FAK、Vinculin、kindlin-2的表达, 并进行统计, 结果如图4所示, 与对照组相比, 模型组3种蛋白表达均显著降低($P < 0.01$); 与模型组相比, 微米大黄炭组和微米大黄炭白芨胶组3种蛋白表达显著升高($P < 0.01$), 微米大黄炭白芨胶组三者的表达高于微米大黄炭组($P < 0.05$).

3 讨论

正常状态下胃黏膜的自我保护与外界损伤处于平衡状态, 当乙醇等有害物质对胃黏膜的损害作用超出这一平衡时, 即会诱发胃黏膜损伤的发生. 本研究向大鼠灌服无水乙醇, 检测胃黏膜损伤面积发现, 模型组大鼠胃黏膜损伤面积显著高于对照组, 说明成功构建了胃黏膜损伤大鼠模型.

目前急性胃黏膜损伤涉及到的分子比较多, 主要包括表皮生长因子、血管内皮生长

因子、TGF-α、NO、GAS和PGE₂等^[16]. 其中表皮生长因子可以抑制胃酸的分泌; 血管内皮生长因子具有维持黏膜完整的作用; TGF-α可增加胃黏膜血流; NO通过维持胃黏膜血流而发挥黏膜保护作用; 前列腺素能提高胃黏膜的抗损伤能力, 还有抑制胃酸分泌和清除氧自由基的功能^[17]. GAS具有促进胃酸分泌的作用^[18,19], 胃酸过多分泌会进一步刺激损伤部位, 加剧胃黏膜损伤. PGE₂是一种细胞保护因子, 能抑制胃酸的分泌, 具有保护胃黏膜的作用^[20]. IL-8通过趋化中性粒细胞在炎症部位聚集, 促进溶酶体酶的释放, 加快粒细胞的呼吸代谢, 加剧炎症的发生^[21-23]. TNF-α能诱使白细胞穿出细胞壁, 释放过氧化酶, 加剧胃黏膜损伤, 减慢血流量, 造成胃黏膜防御下降^[24,25]. 分别检测各组大鼠血清中PGE₂、GAS及胃黏膜组织中IL-8、TNF-α的含量, 结果显示, 与对照组相比, 模型组大鼠PGE₂含量显著降低, GAS、IL-8、TNF-α含量均显著升高; 与模型组相比, 微米大黄炭组和微米大黄炭白芨胶组大鼠PGE₂含量显著升高, GAS、IL-8、TNF-α

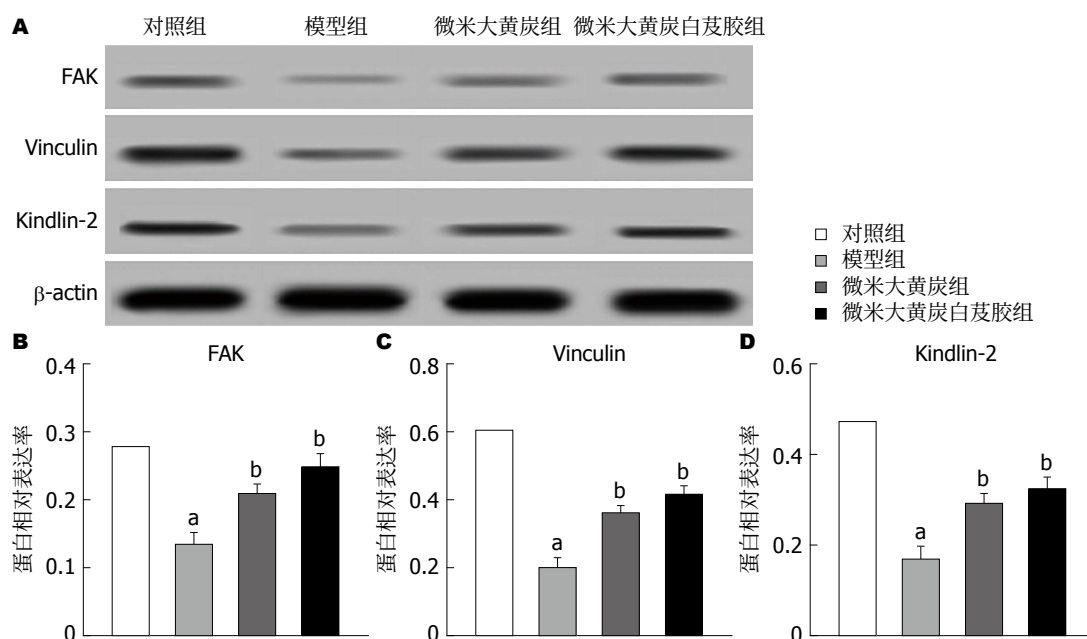


图 4 各组大鼠胃组织FAK、Vinculin、Kindlin-2蛋白表达检测. A: FAK mRNA表达统计; B: FAK蛋白表达统计; C: Vinculin蛋白表达统计; D: Kindlin-2蛋白表达统计. ^a $P < 0.05$ vs 对照组; ^b $P < 0.01$ vs 模型组. FAK: 黏着斑激酶.

含量显著降低, 但微米大黄炭白芨胶组各种因子含量变化更为显著. 说明微米大黄炭白芨胶能更好的促进PGE₂分泌, 降低GAS及炎症因子IL-8、TNF- α 的分泌.

治疗胃溃疡最重要的是重构胃黏膜屏障, 胃黏膜防御屏障主要由胃黏膜上皮细胞及连接复合体构成^[26]. 连接复合体存在于上皮细胞间, 由紧密连接及黏附连接构成^[27]. 研究发现, 连接复合物的解离或缺失会导致上皮细胞屏障功能损伤. 黏着斑是连接复合体重要的骨架结构, 其形成受黏附相关蛋白的调控^[28-30]. RT-PCR及Western blot检测各组大鼠FAK、Vinculin及kindlin-2的表达, 结果显示, 与对照组相比, 模型组3种蛋白表达均显著降低; 与模型组相比, 微米大黄炭组和微米大黄炭白芨胶组3种蛋白表达显著升高, 微米大黄炭白芨胶组三者的表达高于微米大黄炭组. 说明微米大黄炭白芨胶能显著促进黏附连接的重建.

总之, 微米大黄炭白芨胶能显著减少胃黏膜损伤面积, 增强细胞保护因子PGE₂的分泌, 减弱GAS及炎症因子IL-8、TNF- α 的分泌, 上调黏附相关蛋白的FAK、Vinculin及kindlin-2的表达重建胃黏膜屏障. 以上研究可能为临床上胃黏膜损伤的治疗提供理论基础.

4 参考文献

1 张宏伟, 高辉, 石莎. 急性胃黏膜损伤保护性因子的

- 研究进展. 山东医药 2015; 55: 107-108
- Sostres C, Carrera-Lasfuentes P, Benito R, Roncales P, Arruebo M, Arroyo MT, Bujanda L, García-Rodríguez LA, Lanas A. Peptic Ulcer Bleeding Risk. The Role of Helicobacter Pylori Infection in NSAID/Low-Dose Aspirin Users. *Am J Gastroenterol* 2015; 110: 684-689 [PMID: 25895518 DOI: 10.1038/ajg.2015.98]
- 王晓云. 胃溃疡出血患者内镜治疗的临床护理要点分析. 中国伤残医学 2016; 24: 157-158
- Fujishiro M, Ikeda Y. Re-bleeding After Endoscopic Hemostasis for Peptic Ulcer Bleeding: Is eNough SAID or Are Other Factors Important? *Dig Dis Sci* 2016; 61: 1424-1425 [PMID: 26971087 DOI: 10.1007/s10620-016-4098-1]
- 周家仍, 徐莉, 罗旋. 胃镜引导下联合注射肾上腺素与喷洒超微大黄粉治疗非静脉曲张性上消化道出血的疗效分析. 中国内镜杂志 2015; 21: 1069-1072
- 张国华, 王晓瑜. 血竭、三七、白芨灌肠治疗远端型溃疡性结肠炎的临床疗效观察. 中国中西医结合消化杂志 2015; 23: 140-142
- Mitchell LA, Ward C, Kwon M, Mitchell PO, Quintero DA, Nusrat A, Parkos CA, Koval M. Junctional adhesion molecule A promotes epithelial tight junction assembly to augment lung barrier function. *Am J Pathol* 2015; 185: 372-386 [PMID: 25438062 DOI: 10.1016/j.ajpath.2014.10.010]
- Cichon C, Sabharwal H, Rüter C, Schmidt MA. MicroRNAs regulate tight junction proteins and modulate epithelial/endothelial barrier functions. *Tissue Barriers* 2014; 2: e944446 [PMID: 25610754 DOI: 10.4161/21688362.2014.944446]
- 王晓, 崔平, 吴冉, 王蓓, 仇树林. 白芨胶载外源性重组人表皮生长因子促进伤口愈合机制. 中国组织工程研究 2016; 20: 2964-2971
- 胡玉霞, 余世春, 王圣男, 方侃. 凉血止血中药的研究进展. 现代中药研究与实践 2014; 28: 66-69
- 刘浩. 微米大黄炭联合抗Hp三联疗法治疗Hp阳性活动期胃溃疡的临床研究. 武汉: 湖北中医药大学,

- 2015
- 12 Boyce M, Downen S, Turnbull G, van den Berg F, Zhao CM, Chen D, Black J. Effect of netazepide, a gastrin/CCK2 receptor antagonist, on gastric acid secretion and rabeprazole-induced hypergastrinaemia in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol* 2015; 79: 744-755 [PMID: 25335860 DOI: 10.1111/bcp.12534]
- 13 张洪艳, 顾鑫. 米氮平对慢性胃炎大鼠胃肠动力、胃泌素及胃黏膜影响. *中国临床药理学杂志* 2015; 31: 1632-1634
- 14 于文涛, 方朝义, 李强, 王少贤. 胃炎饮对胃溃疡大鼠胃黏膜前列腺素E2表达的影响. *中国老年学杂志* 2015; 35: 6043-6044
- 15 Lu Z, Orozco A, Mao W, Wang Y, Sutton MN, Yang H, Levine DA, Bast Jr RC. Abstract 1151: IL-8, VEGF and IGF-1 play the important role in ARHI mediated-tumor dormancy in ovarian cancer. *Cancer Research* 2016; 76: 1151 [DOI: 10.1158/1538-7445.AM2016-1151]
- 16 Visciano C, Liotti F, Prevete N, Cali' G, Franco R, Collina F, de Paulis A, Marone G, Santoro M, Melillo RM. Mast cells induce epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell features in human thyroid cancer cells through an IL-8-Akt-Slug pathway. *Oncogene* 2015; 34: 5175-5186 [PMID: 25619830 DOI: 10.1038/onc.2014.441]
- 17 Santacruz C, Linares M, Garfias Y, Loustaunau LM, Pavon L, Perez-Tapia SM, Jimenez-Martinez MC. Expression of IL-8, IL-6 and IL-1 β in tears as a main characteristic of the immune response in human microbial keratitis. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 4850-4864 [PMID: 25741769 DOI: 10.3390/ijms16034850]
- 18 Barrow AD, Palarasah Y, Bugatti M, Holehouse AS, Byers DE, Holtzman MJ, Vermi W, Skjoldt K, Crouch E, Colonna M. OSCAR is a receptor for surfactant protein D that activates TNF- α release from human CCR2+ inflammatory monocytes. *J Immunol* 2015; 194: 3317-3326 [PMID: 25716998 DOI: 10.4049/jimmunol.1402289]
- 19 Katanov C, Lerrer S, Liubomirski Y, Leider-Trejo L, Meshel T, Bar J, Feniger-Barish R, Kamer I, Soria-Artzi G, Kahani H, Banerjee D, Ben-Baruch A. Regulation of the inflammatory profile of stromal cells in human breast cancer: prominent roles for TNF- α and the NF- κ B pathway. *Stem Cell Res Ther* 2015; 6: 87 [PMID: 25928089 DOI: 10.1186/s13287-015-0080-7]
- 20 Caron TJ, Scott KE, Fox JG, Hagen SJ. Tight junction disruption: *Helicobacter pylori* and dysregulation of the gastric mucosal barrier. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 11411-11427 [PMID: 26523106 DOI: 10.3748/wjg.v21.i40.11411]
- 21 杨淑青, 胡红莲, 欧阳效晴, 谢天宇, 高民. 紧密连接与酸中毒后瘤胃上皮屏障功能的研究进展. *中国兽医杂志* 2014; 50: 59-61
- 22 Xue X, Chen Q, Zhao G, Zhao JY, Duan Z, Zheng PS. The Overexpression of TGF- β and CCN2 in Intrauterine Adhesions Involves the NF- κ B Signaling Pathway. *PLoS One* 2015; 10: e0146159 [PMID: 26719893 DOI: 10.1371/journal.pone.0146159]
- 23 Hirata H, Tatsumi H, Lim CT, Sokabe M. Force-dependent vinculin binding to talin in live cells: a crucial step in anchoring the actin cytoskeleton to focal adhesions. *Am J Physiol Cell Physiol* 2014; 306: C607-C620 [PMID: 24452377 DOI: 10.1152/ajpcell.00122.2013]
- 24 Giannone G. Super-resolution links vinculin localization to function in focal adhesions. *Nat Cell Biol* 2015; 17: 845-847 [PMID: 26123111 DOI: 10.1038/ncb3196]
- 25 Atherton P, Stutchbury B, Jethwa D, Ballestrin C. Mechanosensitive components of integrin adhesions: Role of vinculin. *Exp Cell Res* 2016; 343: 21-27 [PMID: 26607713 DOI: 10.1016/j.yexcr.2015.11.017]
- 26 Jannie KM, Ellerbroek SM, Zhou DW, Chen S, Crompton DJ, García AJ, DeMali KA. Vinculin-dependent actin bundling regulates cell migration and traction forces. *Biochem J* 2015; 465: 383-393 [PMID: 25358683 DOI: 10.1042/BJ20140872]
- 27 Hernández-Corbacho MJ, Canals D, Adada MM, Liu M, Senkal CE, Yi JK, Mao C, Luberto C, Hannun YA, Obeid LM. Tumor Necrosis Factor- α (TNF α)-induced Ceramide Generation via Ceramide Synthases Regulates Loss of Focal Adhesion Kinase (FAK) and Programmed Cell Death. *J Biol Chem* 2015; 290: 25356-25373 [PMID: 26318452 DOI: 10.1074/jbc.M115.658658]
- 28 Chichger H, Braza J, Duong H, Harrington EO. SH2 domain-containing protein tyrosine phosphatase 2 and focal adhesion kinase protein interactions regulate pulmonary endothelium barrier function. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2015; 52: 695-707 [PMID: 25317600 DOI: 10.1165/rcmb.2013-0489OC]
- 29 杨玫, 陈曦, 张宏权. 整合素相互作用蛋白Kindlin家族的生物学功能研究进展. *解剖学报* 2014; 45: 865-869
- 30 Guo B, Gao J, Zhan J, Zhang H. Kindlin-2 interacts with and stabilizes EGFR and is required for EGF-induced breast cancer cell migration. *Cancer Lett* 2015; 361: 271-281 [PMID: 25790908 DOI: 10.1016/j.canlet.2015.03.011]

编辑: 闫晋利 电编: 胡珊





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

