

怀山药多糖对大鼠胃溃疡的疗效及胃黏膜碱性成纤维细胞生长因子受体表达的影响

罗鼎天, 陆其明, 杨志宏, 阮水良, 季霞, 王波

罗鼎天, 陆其明, 杨志宏, 阮水良, 季霞, 王波, 嘉兴市第二医院消化科 浙江省嘉兴市 314000

罗鼎天, 主治医师, 主要从事中西医结合消化内科临床与实验研究。

浙江省嘉兴市科技计划基金资助项目, No. 2010AY1035
作者贡献分布: 本课题设计由罗鼎天、陆其明及王波完成; 研究过程由罗鼎天与阮水良完成; 协调联系由杨志宏完成; 试剂由季霞提供; 数据分析与论文写作由罗鼎天、陆其明及阮水良完成。
通讯作者: 罗鼎天, 主治医师, 314000, 浙江省嘉兴市南湖区建设街道环城北路1518号, 嘉兴市第二医院消化科。

peter198211@163.com

电话: 0573-82152719

收稿日期: 2014-07-19 修回日期: 2014-08-22

接受日期: 2014-09-03 在线出版日期: 2014-10-18

Dioscorea opposita polysaccharide for treatment of gastric ulcer in rats: Therapeutic effect and influence on expression of bFGFR in gastric mucosa

Ding-Tian Luo, Qi-Ming Lu, Zhi-Hong Yang, Shui-Liang Ruan, Xia Ji, Bo Wang

Ding-Tian Luo, Qi-Ming Lu, Zhi-Hong Yang, Shui-Liang Ruan, Xia Ji, Bo Wang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Jiaxing, Jiaxing 314000, Zhejiang Province, China

Supported by: Jiaxing Science and Technology Fund, No. 2010AY1035

Correspondence to: Ding-Tian Luo, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Jiaxing, 1518 Huancheng North Road, Construction Street, South Lake District, Jiaxing 314000, Zhejiang Province, China. peter198211@163.com

Received: 2014-07-19 Revised: 2014-08-22

Accepted: 2014-09-03 Published online: 2014-10-18

Abstract

AIM: To observe the therapeutic effect of *Dioscorea opposita* polysaccharide on gastric ulcer induced with glacial acetic acid in rats as well as its effect on expression of basic fibroblast growth factor receptor (bFGFR) in the gastric mucosa.

METHODS: Fifty rats were randomly divided into five groups: a control group, a model group, a *Dioscorea opposita* polysaccharide group, a teprenone

group and a *Dioscorea opposita* polysaccharide plus teprenone group. The healing of gastric ulcer was compared between different groups, and the expression of bFGFR in the gastric mucosa was also compared.

RESULTS: The ulcer index in the *Dioscorea opposita* polysaccharide group was significantly reduced compared with the model group ($P < 0.01$). A significant difference was noted in the expression level of bFGFR between the *Dioscorea opposita* polysaccharide group and normal group ($P < 0.01$), while the difference was not statistically significant between the *Dioscorea opposita* polysaccharide group and teprenone group.

CONCLUSION: *Dioscorea opposita* polysaccharide has protective effects on the gastric mucosa, and the underlying mechanism may be related to promoting synthesis of bFGFR.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Dioscorea opposita* polysaccharide; Gastric ulcer; bFGFR; Rat

Luo DT, Lu QM, Yang ZH, Ruan SL, Ji X, Wang B. *Dioscorea opposita* polysaccharide for treatment of gastric ulcer in rats: Therapeutic effect and influence on expression of bFGFR in gastric mucosa. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(29): 4451-4455 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4451.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i29.4451>

摘要

目的: 观察怀山药多糖对胃溃疡大鼠的治疗作用, 研究怀山药多糖对胃溃疡大鼠胃黏膜碱性成纤维细胞生长因子受体(basic fibroblast growth factor receptor, bFGFR)表达的影响。

方法: 将50只大鼠随机分为5组, 分别为空白组(A组)、模型组(B组)、怀山药多糖组(C组)、替普瑞酮组(D组)及怀山药多糖+替普瑞

背景资料

怀山药是薯蓣的块茎, 四大怀药之一。祖国医学认为怀山药平补肺、脾、肾三脏及胃腑。怀山药中的多糖是主要的活性成分。现代医学研究认为其具有调节免疫、抗衰老、抗肿瘤、降血糖等作用。本文旨在研究怀山药多糖的胃黏膜保护作用, 初步探讨其作用机制。

同行评议者
潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

研究前沿

胃溃疡是消化科临床常见病,易复发且具有一定的癌变率,如何提高溃疡愈合质量是近20年来本领域的热点问题。祖国医学认为怀山药具有补益胃腑的作用,多糖作为其主要活性成分,极具研究价值。实验证实其具有上调胃黏膜碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)的受体表达的作用。怀山药多糖在抗肿瘤领域具有进一步研究的价值。

酮组(E组)。观察并比较各组胃溃疡的愈合情况,取胃组织切片后用免疫组织化学法观察并比较胃黏膜bFGFR表达水平。

结果:(1)怀山药多糖组的溃疡指数显著低于模型组($P<0.01$);(2)怀山药多糖组胃黏膜bFGFR表达水平显著高于空白组($P<0.01$),与替普瑞酮组无统计学差异。

结论:怀山药多糖具有良好的胃黏膜保护作用,其机制可能与上调胃溃疡大鼠胃黏膜bFGFR表达水平有关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:怀山药多糖;胃溃疡;碱性成纤维细胞生长因子受体;大鼠

核心提示:怀山药多糖能有效促进实验大鼠胃溃疡的愈合,具有良好的胃黏膜保护作用,并且这种作用的起效机制可能与怀山药多糖显著上调了胃溃疡大鼠胃黏膜碱性成纤维细胞生长因子受体表达水平有关。

罗鼎天, 陆其明, 杨志宏, 阮水良, 季霞, 王波. 怀山药多糖对大鼠胃溃疡的疗效及胃黏膜碱性成纤维细胞生长因子受体表达的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(29): 4451-4455 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4451.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i29.4451>

0 引言

怀山药是薯蓣科植物薯蓣(*Dioscorea opposita*, Thunb)的块茎,是著名的四大怀药之一。祖国医学认为怀山药平补肺、脾、肾三脏及胃腑。怀山药中的多糖是主要的活性成分^[1],现代医学研究认为其具有调节免疫^[2]、抗衰老^[3]、抗肿瘤^[4]、降血糖^[5]等作用。本文旨在研究怀山药多糖(polysaccharide)的胃黏膜保护作用及其对胃溃疡大鼠胃黏膜碱性成纤维细胞生长因子受体(basic fibroblast growth factor receptor, bFGFR)水平的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 选择体质量180-220 g清洁级♂SD大鼠50只。由浙江中医药大学动物实验中心提供[动物合格证号: SCXK(沪)2008-0016]。怀山药多糖购自河南中冠健业生物科技有限公司,纯度60.3%,溶解于双蒸水中调节浓度至0.5 g/mL;替普瑞酮胶囊(施维舒胶囊)购自卫材(苏州)制药有

限公司,50 mg/粒,溶解于双蒸水中调节浓度至0.005 g/mL。bFGFR免疫组织化学试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 方法

1.2.1 实验分组及处理:所有大鼠随机分为5个组,每组10只。A组为空白组, B组为模型组, C组为怀山药多糖组, D组为替普瑞酮组, E组为怀山药多糖+替普瑞酮组。灌胃2次/d, 第1次: A组和B组给予生理盐水, C组和E组给予怀山药多糖溶液, D组给予替普瑞酮溶液; 第2次: A、B、C、D组给予生理盐水, E组给予替普瑞酮溶液。每次灌胃量按1 mL/100 g计算。

1.2.2 实验步骤: (1)外科冰乙酸注射法^[6]造胃溃疡模型。具体操作过程:大鼠饮食不限,适应性饲养3 d后,施行造模手术(空白组亦行手术操作):以3%戊巴比妥钠,按40 mg/kg,腹腔内给药麻醉后,剑突下0.5 cm纵向切开腹壁约2.0 cm,以无齿镊拨动鼠肠找到鼠胃。以微量注射器在胃前壁胃窦部浆膜下注入60%冰乙酸0.05 mL(空白组注射等量生理盐水),将胃送回。以0号丝线将腹膜和腹壁各层组织一起间断缝合,以0号丝线间断缝合皮肤。3 d后形成典型胃溃疡模型; (2)正常饮食7 d,灌胃2次/d,第7日灌胃后禁食不禁水24 h; (3)将大鼠腹腔麻醉后开腹,取出游离胃,沿胃大弯剪开,用0.9%生理盐水冲去胃内容物后展平,记录肉眼可见胃黏膜改变,并计算溃疡指数及抑制率。[溃疡指数 = 溃疡最大长径×垂直于最大长径的最大宽径; 溃疡抑制率(%) = (1-实验各组溃疡指数均值/模型组溃疡指数均值)×100%]; (4)沿溃疡灶长轴剪取1.5 cm×1.0 cm大小的组织块,置于40 g/L的甲醛中固定24 h,石蜡包埋后行5 μm切片,储存备用; (5)取切片行HE染色,光镜下观察胃黏膜的组织学改变; (6)取切片行免疫组织化学,光镜下观察胃黏膜bFGFR表达,利用计算机图像分析技术,计算图像总光密度及阳性指数(平均光密度)。

1.2.3 评价指标: (1)观察指标:胃黏膜组织学改变,胃黏膜bFGFR表达; (2)分析指标:溃疡指数及抑制率, bFGFR总光密度(LA)及平均光密度(LA/AREA)。

统计学处理 计量资料以mean±SD表示,运用SPSS13.0软件进行独立样本t检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃黏膜组织学改变及bFGFR表达 A组大鼠:

相关报道

贺建华、罗和生等人研究发现,在胃溃疡的愈合过程中, bFGF的表达有从弱到强的演变过程。bFGF是影响溃疡愈合质量的重要因素之一,其表达水平在胃溃疡愈合过程中的动态变化证实了两者具有密切相关性。

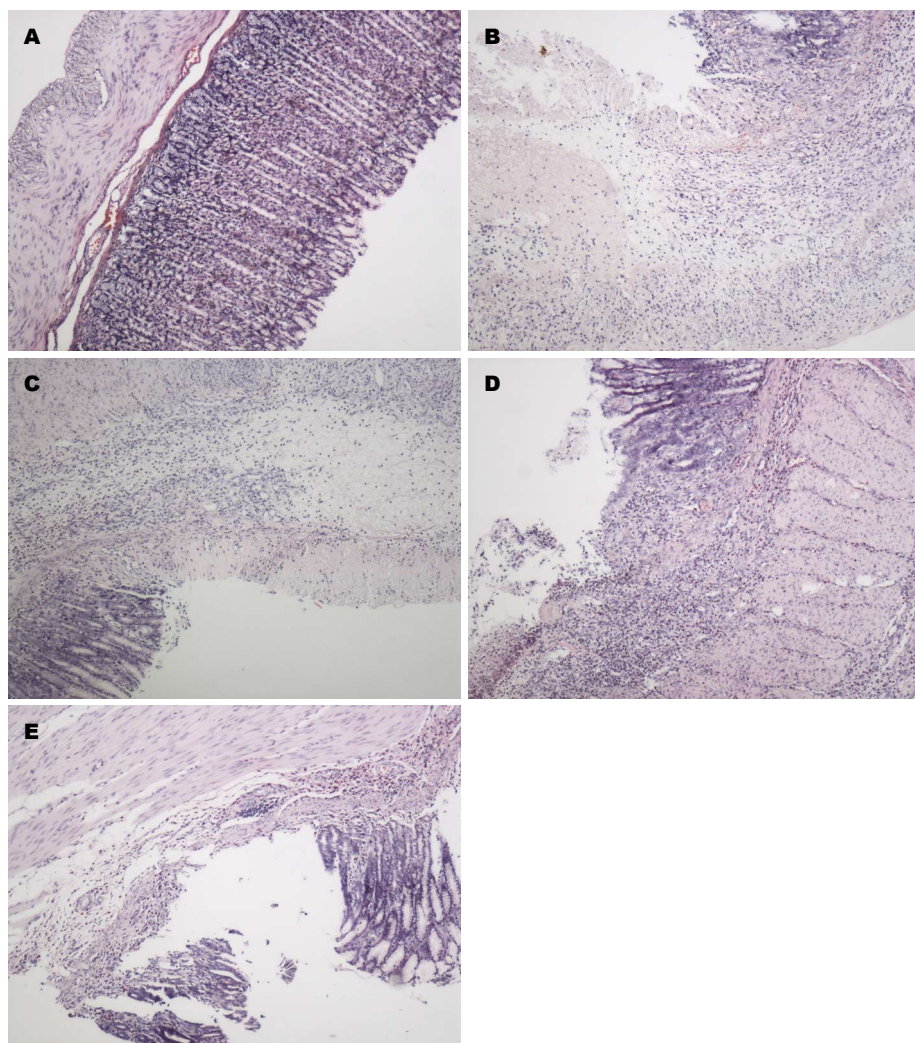


图 1 各组HE染色结果($\times 100$). A: 空白组; B: 模型组; C: 怀山药多糖组; D: 替普瑞酮组; E: 怀山药多糖+替普瑞酮组.

胃壁各层结构完整, 层次清楚, 黏膜上皮层完整, 腺体排列规则, 未见水肿及炎症细胞浸润. bFGFR表达呈弱阳性或无表达; B组大鼠: 胃壁结构完整性遭到明显破坏, 病灶破坏深度突破黏膜肌层, 达固有肌层, 黏膜层变性、脱落, 腺体结构破坏严重, 各层胃壁均可见大量嗜酸性粒细胞和淋巴细胞浸润. bFGFR表达呈阳性, 主要位于腺体及一些炎性细胞; C组大鼠: 胃壁结构完整性遭到较重破坏, 病灶破坏深度突破黏膜肌层, 达黏膜下层, 黏膜层广泛变性, 腺体结构破坏较严重, 黏膜下层水肿明显, 各层胃壁均可见多量嗜酸性粒细胞和淋巴细胞浸润. bFGFR表达呈阳性, 主要位于腺体及一些炎性细胞; D组大鼠: 胃壁结构完整性遭到较明显破坏, 病灶破坏深度突破黏膜肌层, 达黏膜下层, 黏膜层变性、脱落, 腺体结构破坏显著, 各层胃壁均可见大量嗜酸性粒细胞和淋巴细胞浸润. bFGFR表达呈阳性, 主要位于腺体及一些炎性细胞; E组

大鼠: 胃壁结构完整性遭到明显破坏, 病灶破坏深度突破黏膜肌层, 达固有肌层, 黏膜层变性、脱落, 腺体结构破坏显著, 残存黏膜层及黏膜下层可见大量嗜酸性粒细胞和淋巴细胞浸润. bFGFR表达呈阳性, 主要位于腺体及一些炎性细胞(图1, 2).

2.2 各组大鼠溃疡指数及抑制率 A组大鼠溃疡指数为零, B组数值明显升高, 两者比较有统计学差异($P<0.01$); C组、D组、E组与B组比较, 溃疡指数均显著降低($P<0.01$)(表1).

2.3 各组大鼠胃黏膜bFGFR表达水平 A组大鼠胃黏膜bFGFR呈低水平表达, 平均光密度值接近零; B组、C组、D组、E组胃黏膜bFGFR表达水平(平均光密度值)较A组显著上调($P<0.01$)(表2).

3 讨论

胃溃疡是临床常见疾病, 具有1%-3%的癌变率^[7]. Tarnawski等^[8]于1991年提出溃疡愈合质量(qual-

创新盘点
现代医学对怀山药的研究主要集中在调节免疫、抗衰老、抗肿瘤、降血糖几个方面. 近5年来, 怀山药在胃黏膜保护方面的相关研究可见零星报道, 作为其主要活性成分的怀山药多糖的胃黏膜保护作用 and 机制研究则未见诸报道.

应用要点
本研究显示: 怀山药多糖具有良好的胃黏膜保护作用, 其作用机制可能与上调胃黏膜碱性成纤维细胞生长因子受体(basic fibroblast growth factor receptor, bFGFR)表达水平相关. 对怀山药多糖的进一步研究具有广阔前景, 可以指导怀山药多糖相关食品和药品的研制开发.

名词解释

bFGF: 是一种促细胞分裂的肝素结合蛋白, 具有促进结缔组织和新生微血管再生的作用, 成为影响溃疡愈合质量的重要因素之一。bFGF生物学作用的发挥则需要结合细胞膜上的bFGFR得以实现。

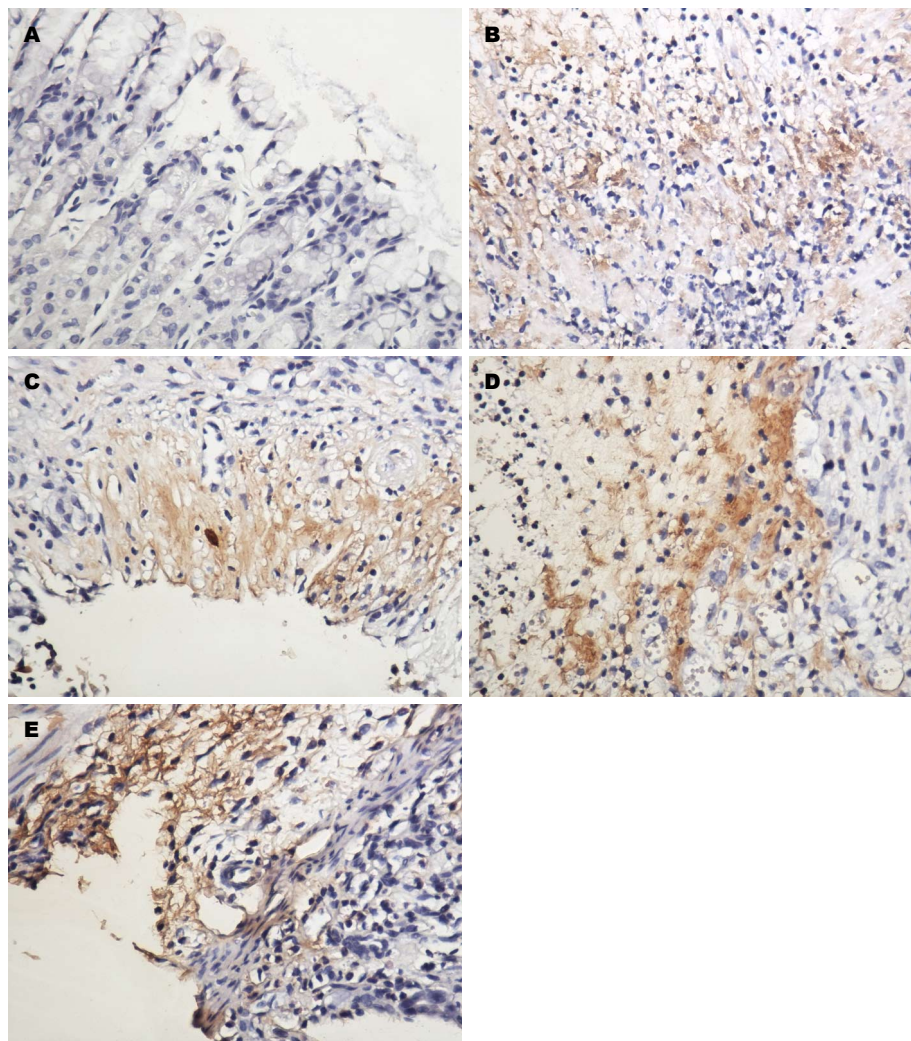


图 2 各组bFGFR表达情况($\times 400$). A: 空白组; B: 模型组; C: 怀山药多糖组; D: 替普瑞酮组; E: 怀山药多糖+替普瑞酮组. bFGFR: 碱性成纤维细胞生长因子受体.

表 1 各组大鼠溃疡指数及抑制率 (mean \pm SD)

分组	<i>n</i>	溃疡指数	抑制率(%)
A组	10	0.0000 \pm 0.00000	0.00
B组	9	41.9011 \pm 18.80593 ^b	0.00
C组	9	16.7333 \pm 6.45916 ^d	60.14
D组	9	17.3722 \pm 6.85006 ^d	58.54
E组	8	16.5575 \pm 5.77144 ^d	60.48

^b $P < 0.01$ vs A组; ^d $P < 0.01$ vs B组. A组: 空白组; B组: 模型组; C组: 怀山药多糖组; D组: 替普瑞酮组; E组: 怀山药多糖+替普瑞酮组.

表 2 各组大鼠胃黏膜bFGFR平均光密度 (mean \pm SD)

分组	<i>n</i>	药物浓度(g/mL)	平均光密度
A组	10		0.0480 \pm 0.06304
B组	9		0.1408 \pm 0.00863 ^b
C组	9	0.500	0.1535 \pm 0.03414 ^b
D组	9	0.005	0.1587 \pm 0.02418 ^b
E组	8		0.1353 \pm 0.01783 ^b

^b $P < 0.01$ vs A组. A组: 空白组; B组: 模型组; C组: 怀山药多糖组; D组: 替普瑞酮组; E组: 怀山药多糖+替普瑞酮组. bFGFR: 碱性成纤维细胞生长因子受体.

ity of ulcer healing, QOUH)的概念. 碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)是一种促细胞分裂的肝素结合蛋白, 在不同种间bFGF结构具有高度守恒性, 可诱导多种细胞的增殖与分化, 具有广泛的生物学作用和重要的临

床应用价值. 近年来, 重组bFGF已被应用于临床治疗创伤、皮肤病变及神经系统等疾病, 此外, 在心血管、糖尿病等领域也具有广阔的研究前景. 在消化系统领域, bFGF具有促进结缔组织和新生微血管再生的作用^[9,10], 成为影响溃疡愈合

质量的重要因素之一。Satoh等^[11]研究发现在小鼠胃溃疡愈合过程中内源性bFGF起很重要的作用。贺建华等^[12]研究发现, 在胃溃疡的愈合过程中, bFGF的表达有从弱到强的演变过程。bFGF生物学作用的发挥则需要结合细胞膜上的bFGFR得以实现。替普瑞酮为萜烯类衍生物, 对各种实验性溃疡及胃黏膜病变有较强的抗溃疡和改善胃黏膜病变作用^[13,14], 其主要功能包括增加黏液和磷脂合成, 促进表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)及bFGF等生长因子表达, 增加胃黏膜血流等^[15]。实验发现怀山药多糖组大鼠溃疡指数显著低于模型组, 提示怀山药多糖具有良好的胃黏膜保护作用。怀山药多糖组大鼠胃黏膜bFGFR表达水平显著高于空白组, 与替普瑞酮组比较无统计学差异, 考虑与怀山药多糖上调胃黏膜bFGFR表达水平作用相关。

总之, 本研究结果显示, 怀山药多糖能有效促进实验大鼠胃溃疡的愈合, 具有良好的胃黏膜保护作用, 并且这种作用的起效机制可能与怀山药多糖显著上调了胃溃疡大鼠胃黏膜bFGFR表达水平有关。

4 参考文献

- 1 徐琴, 徐增莱, 沈振国, 史云云. 淮山药多糖的研究. 中药材 2006; 29: 909-912
- 2 苗明三. 怀山药多糖对小鼠免疫功能的增强作用. 中药药理与临床 1997; 13: 25-26
- 3 詹彤, 陶靖. 水溶性山药多糖对小鼠的抗衰老作用. 药理学进展 1999; 23: 356-360
- 4 胡国强, 杨保华, 张忠泉. 山药多糖对大鼠血糖及胰岛素释放的影响. 山东中医杂志 2004; 23: 230-231
- 5 赵国华, 李志孝, 陈宗道. 山药多糖RDPS.I的结构分析及抗肿瘤活性. 药学学报 2003; 38: 37-41
- 6 王英. 冰乙酸性大鼠胃溃疡模型制作方法比较. 实用诊断与治疗杂志 2007; 21: 505-506
- 7 陈灏珠. 实用内科学. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1872
- 8 Tarnawski A, Stachura J, Krause WJ, Douglass TG, Gergely H. Quality of gastric ulcer healing: a new, emerging concept. *J Clin Gastroenterol* 1991; 13 Suppl 1: S42-S47 [PMID: 1719066 DOI: 10.1097/0004836-199112001-00007]
- 9 Jones MK, Tomikawa M, Mohajer B, Tarnawski AS. Gastrointestinal mucosal regeneration: role of growth factors. *Front Biosci* 1999; 4: D303-D309 [PMID: 10077540]
- 10 Akiba Y, Nakamura M, Oda M, Kimura H, Miura S, Tsuchiya M, Ishii H. Basic fibroblast growth factor increases constitutive nitric oxide synthase during healing of rat gastric ulcers. *J Clin Gastroenterol* 1997; 25 Suppl 1: S122-S128 [PMID: 9479638 DOI: 10.1097/0004836-199700001-00021]
- 11 Satoh H, Shino A, Sato F, Asano S, Murakami I, Inatomi N, Nagaya H, Kato K, Szabo S, Folkman J. Role of endogenous basic fibroblast growth factor in the healing of gastric ulcers in rats. *Jpn J Pharmacol* 1997; 73: 59-71 [PMID: 9032135 DOI: 10.1254/jip.73.59]
- 12 贺建华, 罗和生. 碱性成纤维细胞生长因子在胃溃疡愈合中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2003; 11: 61-64
- 13 Ohta Y, Kobayashi T, Inui K, Yoshino J, Kitagawa A, Nakazawa S. Preventive effect of teprenone on acute gastric mucosal lesion progression in compound 48/80-treated rats. *Eur J Pharmacol* 2004; 487: 223-232 [PMID: 15033395]
- 14 Takano T, Tsutsumi S, Tomisato W, Hoshino T, Tsuchiya T, Mizushima T. Geranylgeranylacetone protects guinea pig gastric mucosal cells from gastric stressor-induced apoptosis. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 1546-1553 [PMID: 12141815]
- 15 方莉, 吕宾, 孟丽娜, 张烁, 吴炜烽. 不同药物干预防治大鼠NSAID相关小肠损伤的观察. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3244-3248

同行评价
本研究立意依据充分, 研究设置合理, 观点明确, 对临床胃溃疡诊治有参考意义。

编辑 韦元涛 电编 都珍珍

