

doi:10.3969/j.issn.1671-038X.2014.10.02

灭幽汤对幽门螺杆菌相关性胃炎脾胃湿热证小鼠 NF- κ B65、HSP70 的影响

郭璇¹, 王小娟², 喻斌², 郭建生¹, 罗燕¹, 胡淑娟¹, 杜中华¹, 夏蓉¹, 尹姣¹

(¹湖南中医药大学, 湖南长沙 410208;

²湖南中医药大学第一附属医院 消化内科, 湖南长沙 410007)

摘要: [目的] 研究灭幽汤对幽门螺杆菌(helicobacter pylori, Hp)相关性胃炎脾胃湿热证小鼠核因子- κ B65(NF- κ B65)及热休克蛋白 70(HSP70)的相关性, 探讨 Hp 相关性胃炎脾胃湿热证的发病机制及灭幽汤治疗慢性胃炎的作用机制。 [方法] 将 70 只 BALB/c 小鼠随机分为对照组、模型组、高浓度灭幽汤组(高灭组)、低浓度灭幽汤组(低灭组)、胃三联组(替硝唑+克拉霉素+枸橼酸铋钾颗粒), 每组 14 只; 采用复合因素(肥甘食物+湿热环境+幽门螺杆菌)建立 BALB/c 小鼠 Hp 相关性胃炎脾胃湿热证模型; 造模成功并连续给药 14 d 后, 分别采用免疫组织化学、Western Blot 检测 NF- κ B65 蛋白、HSP70 蛋白, qRT-PCR 检测 NF- κ B65 mRNA、HSP70 mRNA 的表达情况。 [结果] HSP70 蛋白及其 mRNA 的表达: 与对照组比较, 模型组 HSP70 蛋白及其 mRNA 表达均显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 高灭组、低灭组、胃三联组小鼠 HSP70 蛋白及其 mRNA 表达均增加 ($P < 0.01$); 高灭组 HSP70 及其 mRNA 表达高于低灭组 ($P < 0.05$); 胃三联组、高灭组 HSP70 蛋白及其 mRNA 表达均增加, 但 2 组间比较差异无统计学意义。 NF- κ B65 蛋白及其 mRNA 的表达: 与对照组比较, 模型组 NF- κ B65 蛋白及其 mRNA 表达增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 高灭组、胃三联组小鼠 NF- κ B65 蛋白及其 mRNA 表达均明显降低 ($P < 0.01$); 高灭组 NF- κ B65 蛋白及其 mRNA 表达低于低灭组 ($P < 0.05$); 高灭组、胃三联组 NF- κ B65 蛋白及其 mRNA 均降低, 但 2 组间比较差异无统计学意义。 [结论] 灭幽汤可能通过上调 HSP70、下调 NF- κ B65 表达而发挥治疗 Hp 相关性胃炎脾胃湿热证的作用。

关键词: 灭幽汤; Hp 相关性胃炎脾胃湿热证; 热休克蛋白 70; 核因子- κ B65

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1671-038X(2014)10-0568-06

Effect of Mieyou Soup on NF- κ B65 and HSP70 in the H. Pylori-associated gastritis mice of Pi-Wei hygropyrexia syndrome(PWHS)

GUO Xuan¹, WANG Xiao-juan², YU Bin², GUO Jian-sheng¹, LUO Yan¹, HU Shu-juan¹,
DU Zhong-hua¹, XIA Rong¹, YIN Jiao¹

(¹Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; ²the First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

Corresponding author: GUO Jian-sheng, E-mail: 360319179@qq.com

Abstract: [Objective] To study the expressions of NF-kappaB65 (NF- κ B65) and heat shock protein70 (HSP 70) in the H. Pylori-associated gastritis mice of Pi-Wei hygropyrexia syndrome (PWHS), and to investigate the mechanism of Mieyou Soup in the treatment of chronic gastritis. [Methods] BALB/c mice were randomly divided into five groups: control group, model group, low concentration of Mieyou soup group, high concentration of Mieyou soup group, gastric triad group (Tinidazole, Clarithromycin and Bismuth potassium citrate granules), with 14 rats in each group. Pi-Wei hygropyrexia syndrome mouse model of H. Pylori-associated gastritis was established by composite factor (fatness food + hygropyrexia environment

收稿日期: 2014-06-27

基金项目: 湖南省自然科学基金项目 (No: 12JJ2046); 湖南省科技厅资助科研项目 (No: 2011SK3096); 湖南省科普计划项目 (No: 2013KP0111); 湖南省中医药科研计划项目 (No: 2014165)

作者简介: 郭璇, 女, 硕士研究生, 讲师, 从事中医内科方面研究

通讯作者: 郭建生, E-mail: 360319179@qq.com

+ *Helicobacter pylori*) After the success of modeling, corresponding treatment was given to mice in each group for 14 days. Immunohistochemistry was used to detect the expression of NF- κ B65 protein, western blot to detect the expression of HSP70 protein, and qRT-PCR to detect the expression of NF- κ B65 mRNA and HSP70 mRNA. [Results] Compared with control group, the expression of HSP70 protein and HSP70 mRNA in BALB/c mice model group was significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the HSP70 protein and HSP70 mRNA in high and low concentrations of Mieyou soup group as well as the gastric triad group were increased, and the differences were statistically significant ($P < 0.01$). The expression of HSP70 protein and HSP70 mRNA in high-concentration Mieyou soup group was higher than low-concentrations group ($P < 0.05$). The expression of HSP70 protein and HSP70 mRNA in gastric triad group and high-concentration Mieyou soup group were increased, but the difference was insignificant ($P > 0.05$). Compared with control group, the expression of NF- κ B65 protein and NF- κ B65 mRNA in the model group was significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the NF- κ B65 protein and NF- κ B65 mRNA in high-concentration Mieyou soup group and gastric triad group were decreased, and the differences were statistically significant ($P < 0.01$). The expression of NF- κ B65 protein and NF- κ B65 mRNA in high-concentration Mieyou soup was lower than those of low-concentration Mieyou soup group ($P < 0.05$). The expression of NF- κ B65 protein and NF- κ B65 mRNA in gastric triad group and high-concentration Mieyou soup were decreased, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). [Conclusion] Mieyou Soup may play a role in the treatment of H. Pylori-associated gastritis mice of Pi-Wei hygropyrexia syndrome by raising the expression of HSP70, reducing the expression of NF- κ B65 protein expression.

Key words: Mieyou Soup; H. Pylori-associated gastritis mice of Pi-Wei hygropyrexia syndrome; HSP70; NF- κ B65

幽门螺杆菌(Hp)是一种定植于胃黏膜的螺旋形革兰氏阴性细菌,在人类胃黏膜组织中定植率达50%,它可产生空泡毒素和细胞毒素相关基因蛋白,直接损伤胃上皮细胞,增加炎性细胞因子的产生,影响上皮细胞的增殖和凋亡,是导致慢性胃炎最主要的原因,也是消化性溃疡和胃恶性肿瘤的危险因素^[1-2]。近年来,随着Hp感染率的不断增长,西药治疗Hp相关性胃炎耐药性的增加,中医药为治疗Hp相关性胃炎开辟了一条新途径。灭幽汤是王小娟教授多年临床研发的经验方,不仅在临床上取得了良好疗效,本课题组前期也做了丰富的实验研究。中医治疗疾病需病证结合,故我们在前期研究基础上,采用复合因素造模,建立了Hp与脾胃湿热证的复合模型,这对深入系统地研究Hp与脾胃湿热证是否有协同作用具有重要意义。本实验通过观察用药前后NF- κ B65、HSP70的变化,探究灭幽汤治疗Hp相关性胃炎脾胃湿热证的相关机理,以期为临床合理应用方药治疗Hp相关性胃炎脾胃湿热证提供实验依据。

1 材料与方药

1.1 实验动物、Hp菌种、饲料

SPF级BALB/c小鼠70只,雌雄各半,8周龄,体重15~25g(购自常州卡文斯实验动物有限公司,

质量合格证号:0017145,许可证号:SCXK(苏)2011-0003)。Hp菌种:悉尼标准菌株(Sydney strain 1, SSD),SSI含有细胞毒素相关基因(cagA)蛋白和空泡细胞毒素(vacA),浓度为Hp菌液 1×10^9 cfu/ml,由湖南中医药大学基础医学院病原免疫学教研室提供。饲料:普通饲料由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,高脂饲料(普通饲料+8%蜂蜜+12%猪油)由湖南斯莱克景达实验动物有限公司代加工。

1.2 治疗药物

灭幽汤(黄芩、蒲公英、三七、白及、青皮、陈皮、乌贼骨)的药材均购于湖南省药材公司饮片加工厂,经湖南中医药研究院鉴定,符合药典标准。药物浸泡30min后,加水没过药面5cm,武火煎至沸腾后改文火,继续煎煮20min,取汁另置;继续加水,煎煮沸腾后,文火续煎20min,取汁。两次药汁合并后浓缩至2g/ml,并用离心机去除药汁中残渣,4℃保存。枸橼酸铋钾由丽珠医药出厂,生产批号:1212248。替硝唑由山东鲁抗医药集团赛特有限责任公司出厂,国药准字:H20033090,生产批号:121004。克拉霉素由杭州中美华东制药有限公司出厂,国药准字:H10970216,生产批号:121101。

1.3 主要试剂及仪器

胶体金法幽门螺杆菌检测试剂盒,由艾康生物

技术(杭州)有限公司生产,批号:20123139。HSP70 抗体购自 Proteintech 公司,一抗编号:SA00001-1,二抗编号:SA00001-2;NF- κ B65 抗体,武汉博士德(BA0610),二抗试剂盒购自北京中衫金桥(SP-9002)。台式冷冻离心机购自 eppendorf 公司, JY3002 型电子天平购自上海精密科学仪器有限公司, HHS-2 电子恒温不锈钢水浴锅购自上海南阳仪器有限公司, LEICADM LB₂ 型双目显微镜购自德国 LEICA 公司, Haier 医用微波炉由 Haier 集团生产, MIAS 医学图象分析系统北航公司产, S2-93 自动双重纯水蒸馏器购自上海亚荣生化仪器厂, Shandong325 型石蜡切片机英国 Shandon 公司产, DNP-9162 型电热恒温培养箱购自上海精宏实验设备有限公司, Motic B₅ 显微摄像系统购自麦克奥迪实业集团公司。

1.4 分组与造模

将 70 只 BALB/c 小鼠按体重随机分为对照组、模型组、低浓度灭幽汤组(低灭组)、高浓度灭幽汤组(高灭组)、胃三联组(替硝唑+克拉霉素+枸橼酸铋钾颗粒),每组 14 只,雌雄各半。对照组予以普通饲料饲养,模型组、低灭组、高灭组、胃三联组予以高脂饲料饲养 10 d 后放入人工湿热箱(温度 $32^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, 湿度 $95\% \pm 1\%$)内,继续高脂饲料喂养,于第 16 天以浓度为 1×10^9 cfu/ml 幽门螺杆菌混悬液 0.3 ml/只灌胃。灌胃前 24 h 禁食不禁水,灌胃前 4 h 禁水,灌胃后 4 h 给食水。隔日感染 1 次,连续感染 3 次,感染后定植 2 周。2 周后各组随机抽取 2 只小鼠做病理切片观察炎症情况,模型组、低灭组、高灭组、胃三联组各另取 2 只小鼠以胶体金法检测血浆 Hp 抗体,做电镜下观察 Hp 定植情况。

1.5 给药及样本处理

低灭组、高灭组、胃三联组在模型造模成功后开始给药,按照小鼠与人体表面积计算比值换算公式,计算小鼠用药剂量,低灭组用药剂量为 6.2 g/kg,高灭组为 12.4 g/kg,胃三联组小鼠为 279.8 mg/kg。每天灌胃 1 次,其他组分别灌等量的蒸馏水。给药 2 周后处死所有小鼠,将 BALB/c 小鼠仰卧位固定于鼠板,迅速取出胃标本。沿胃大弯剖开,用冰生理盐水冲洗干净,分别放入到盛有 10% 甲醛溶液、4% 多聚甲醛、无菌 DEPC 水的容器中,待做病理检测、免疫组织化学、qRT-PCR。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 NF- κ B65 蛋白表达 采用免疫组织化学法检测。石蜡切片脱蜡至水,蒸馏水冲洗,PBS 浸泡 5 min。0.01 枸橼酸钠缓冲液(pH6.0)中微波炉加热修复抗原。3% H₂O₂ 室温孵育 10 min, PBS 冲

洗, 5 min \times 3 次。10% 正常山羊血清封闭, 室温孵育 10 min。倾去血清, 滴加浓度(1:100)NF- κ B65 的一抗, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 h。PBS 冲洗, 5 min \times 3 次。滴加 NF- κ B65 二抗(1% BSA-PBS 稀释), 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min。PBS 冲洗, 5 min \times 3 次。滴加辣根酶标记链霉卵白素(PBS 稀释), 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min。PBS 冲洗, 5 min \times 3 次。加入 DAB 显色剂显色。自来水充分冲洗, 复染, 封片。使用 CMIAS 真彩色病理图像分析系统对样本图像进行分析。每个样本随机选取 3 个高倍视野, 计算黄褐色阳性表达的面密度(阳性表达总面积/统计区域总面积)表示, 以此表示 NF- κ B65 蛋白的表达, 进行半定量分析。

1.6.2 HSP70 蛋白表达 采用 Western Blot 法检测。按照 BCA 蛋白定量试剂盒进行 HSP70 的免疫组化检测。配制适量 BCA 工作液, 完全溶解蛋白标准品, 浓度为 2 mg/ml, 加用于稀释标准品的溶液到 20 μl 。各孔加入 200 μl BCA 工作液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 放置 30 min。测定波长, 计算蛋白浓度。配 10%~12% 分离胶, 加入 TEMED 后立即摇匀后灌胶并用异丙醇封胶。3 min 后倒去胶上层异丙醇并用吸水纸将其吸干。进行电泳并转膜, 转膜完毕后, TBS-T 冲洗 1 次 \times 5 min。检测蛋白转膜的效率, 用 TBS-T 洗净后, 用 TBST 配制 5% 脱脂奶粉封闭 1 h 再与 HSP70 一抗结合, 洗膜后与二抗结合 60 min, 漂洗。ECL 法检测 NC 膜, 以图像分析处理系统进行图像分析。

1.6.3 NF- κ B65 mRNA、HSP70 mRNA 的表达 采用 qRT-PCR 提取胃黏膜组织总 RNA。逆转录 cDNA 总体积 20 μl : 以组织中 mRNA 为模板进行逆转录反应, 逆转录 cDNA; 反应条件: 70 $^{\circ}\text{C}$ 加热 5 min, 37 $^{\circ}\text{C}$ 加热 5 min, 42 $^{\circ}\text{C}$ 加热 1.5 h, 72 $^{\circ}\text{C}$ 反应 10 min。NF- κ B65 引物序列为: F: 5'-CATGTCT-CACTCCACAGCT-3', R: 5'-CCGGAGAGAC-CATTGGGA-3'; HSP70 引物序列为: F: 5'-ACT-GATGCAGAAAGACGATC-3', R: 5'-TCT-TCTAAGCGAGGAAGATCCT-3'; qRT-PCR 反应体系总体积 30 μl , 反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min, 然后 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s, 54 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 共 40 个循环。反应结束后通过电脑自动分析和计算得到各样本的 mRNA 表达量。

1.7 统计学处理

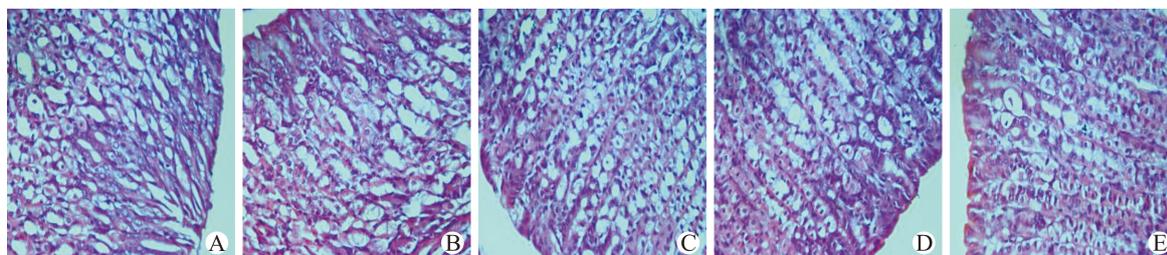
用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理与分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。数据符合正态性和方差齐性的资料, 运用 One-way Analysis Of Variance (One-way ANOVA) 进行各组间方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠胃组织病理改变

光镜下,正常组小鼠胃黏膜上皮细胞排列整齐,细胞呈单柱状,固有层内有密集排列的腺体,个别小鼠胃黏膜底部可见少量散在的淋巴细胞。模型组小鼠胃窦部的炎症程度重,胃黏膜上皮排列紊乱,固有

层内可见大量淋巴滤泡、嗜酸性粒细胞及中性粒细胞浸润,炎性细胞甚至到达黏膜下层。灭低组炎症程度明显减轻,黏膜层少量炎性细胞浸润,固有层仅有水肿,少量淋巴细胞。灭高组治疗组和胃三联治疗组胃黏膜上皮细胞排列整齐,炎症几乎全部消失。见图 1。



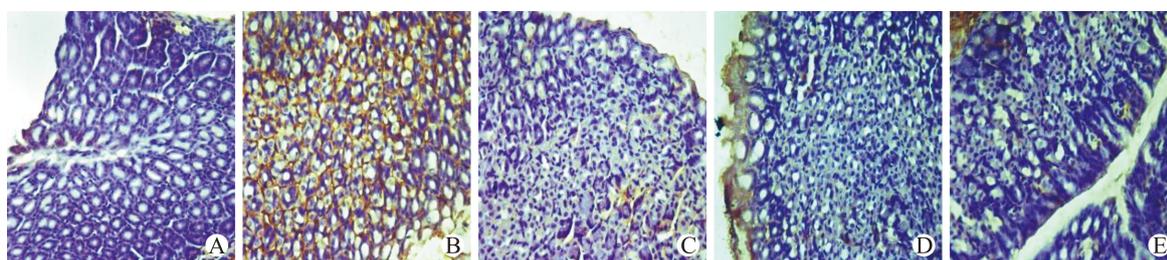
A: 对照组; B: 模型组; C: 低灭组; D: 高灭组; E: 胃三联组。

图 1 小鼠胃黏膜组织病理改变(苏木精-伊红染色, $\times 400$)

2.2 各组小鼠胃黏膜 NF- κ B65 免疫组织化学结果

免疫组化图片中黄褐色区域为阳性表达。光镜下观察,对照组小鼠胃黏膜组织 NF- κ B65 有极少量表达;模型组小鼠胃黏膜组织 NF- κ B65 有大量阳性

表达;低灭组小鼠胃黏膜组织较模型组明显减少,少于模型组;高灭组和胃三联组小鼠胃黏膜组织有少量 NF- κ B65 阳性表达,少于低灭组、模型组。见图 2。



A: 对照组; B: 模型组; C: 低灭组; D: 高灭组; E: 胃三联组。

图 2 各组胃黏膜组织 NF- κ B65 蛋白表达免疫组织化学图(苏木精-伊红染色, $\times 400$)

2.3 各组小鼠胃黏膜 NF- κ B65 蛋白、HSP70 蛋白表达变化的比较

HSP70 蛋白的表达:与对照组比较,模型组 HSP70 蛋白表达显著增加($P < 0.01$);与模型组比较,高灭组、低灭组、胃三联组小鼠 HSP70 蛋白表达增加($P < 0.01$);高灭组 HSP70 蛋白表达高于低灭组($P < 0.05$);胃三联组、高灭组 HSP70 蛋白表达均增加,但 2 组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

NF- κ B65 蛋白的表达:与对照组比较,模型组 NF- κ B65 蛋白表达增加($P < 0.01$);与模型组比较,高灭组、胃三联组小鼠 NF- κ B65 蛋白表达均明显降低($P < 0.01$),高灭组 NF- κ B65 蛋白低于低灭组($P < 0.05$);高灭组、胃三联组 NF- κ B65 蛋白均降低,但 2 组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组小鼠胃黏膜组织 NF- κ B65 蛋白、HSP70 蛋白表达的比较 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	NF- κ B65/ ($\times 10^{-3} \mu\text{m}^2$)	HSP70/ ($\times 10^{-2} \mu\text{m}^2$)
对照组	8	31.014 \pm 11.574	19.79 \pm 5.62
模型组	8	76.260 \pm 8.465 ¹⁾	35.46 \pm 5.64 ¹⁾
低灭组	8	49.384 \pm 9.731 ¹⁾²⁾	54.08 \pm 10.12 ¹⁾²⁾
高灭组	8	39.024 \pm 8.039 ¹⁾²⁾	64.51 \pm 10.42 ¹⁾²⁾
胃三联组	8	45.813 \pm 9.705 ¹⁾²⁾	58.00 \pm 10.27 ¹⁾²⁾

与对照组比较,¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较,²⁾ $P < 0.01$ 。

2.4 各组小鼠胃黏膜 NF- κ B65 mRNA、HSP70 mRNA 表达的比较

HSP70 mRNA 的表达:与对照组比较,模型组 HSP70 mRNA 表达显著增加($P < 0.01$);与模型组

比较,高灭组、低灭组、胃三联组小鼠 HSP70 mRNA 表达增加($P<0.01$);高灭组 HSP70 mRNA 表达高于低灭组($P<0.05$);胃三联组、高灭组 HSP70 mRNA 表达均增加,但 2 组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

NF- κ B65 mRNA 的表达:与对照组比较,模型组 NF- κ B65 mRNA 表达增加($P<0.01$);与模型组比较,高灭组、胃三联组小鼠 NF- κ B65 mRNA 表达均明显降低($P<0.01$);高灭组 NF- κ B65 mRNA 低于低灭组($P<0.05$);高灭组、胃三联组 NF- κ B65 mRNA 均降低,但 2 组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 各组小鼠胃黏膜组织 NF- κ B65 mRNA、HSP70 mRNA 表达的比较 $\bar{x}\pm s$

组别	例数	NF- κ B65 mRNA ($\times 10^{-5}$)	HSP70 mRNA ($\times 10^{-4}$)
对照组	8	17.738 \pm 3.928	8.283 \pm 1.387
模型组	8	218.682 \pm 40.006 ¹⁾	17.547 \pm 2.324 ¹⁾
低灭组	8	83.656 \pm 16.756 ¹⁾²⁾	38.956 \pm 2.936 ¹⁾²⁾
高灭组	8	53.502 \pm 22.167 ¹⁾²⁾	42.053 \pm 3.409 ¹⁾²⁾
胃三联组	8	54.068 \pm 24.498 ¹⁾²⁾	40.663 \pm 3.482 ¹⁾²⁾

与对照组比较,¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较,²⁾ $P<0.01$ 。

3 讨论

本研究从病因模拟建立幽门螺杆菌(Hp)相关性胃炎脾胃湿热证模型,本次造模研究从小鼠饮食、饮水、大小便及精神状态结果分析,本实验造模方法成功使模型组小鼠表现出食少纳呆、少饮、大便溏、肢体困重等脾胃湿热证症状,与 2002 年国家药品监督管理局《中药新药临床研究指导原则》中脾胃湿热证辨证依据相符。光镜下模型组小鼠胃黏膜多为充血肿胀,表面欠光整,腺体排列较紊乱,可见较多的嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞浸润,未见糜烂,模型组符合慢性非萎缩性胃炎表现。综上所述,湿热环境、肥甘饮食及 Hp 定值综合病因制造的脾胃湿热证动物模型典型,在症状表现、病理检查及验方反证上均贴近临床,造模方法可行。

慢性浅表性胃炎是临床常见病,在临床上分为慢性浅表性、萎缩性、特殊类型胃炎三类, Hp 是引起该疾病的主要致病菌,脾胃湿热证是脾胃病中的一个常见证型,主要是由于外感湿热、饮食不节、情志不调等因素引起。近年来诸多研究表明 Hp 感染与脾胃湿热证密切相关^[3-4];湿热环境利于 Hp 生长繁殖,在诸多证型中,脾胃湿热证更易导致体内环境

改变,损伤胃黏膜屏障,给幽门螺杆菌入侵创造条件,脾胃湿热证的 Hp 感染率高,而 Hp 在致病过程中常表现出类似于湿热病邪隐匿性、渐进性、反复性、迁延性等特点。

NF- κ B 是一类蛋白质核转录因子,它不仅参与机体免疫及炎症反应,而且在细胞增殖和凋亡中起重要作用^[5];有研究表明, Hp 通过改变细胞基因的表达过程,逃避宿主的防御机制,增加炎症和免疫反应,在胃上皮细胞上激活转录因子 NF- κ B 信号通路,导致慢性胃炎的发生^[6]。HSP70 是热休克蛋白家族中最丰富的,它是一种高度保守的应激蛋白,具有保护细胞免受外界刺激损伤,促进受损细胞修复、抗炎、抗凋亡的内源性物质,对环境压力的耐受性和适应性起重要作用^[7]。研究表明^[8-9] HSP70 在减少 Hp 定植,保护胃肠道黏膜,减轻胃黏膜炎症和维持黏膜完整,促进各种因素导致的胃肠道黏膜细胞损伤的修复中发挥举足轻重的作用。胡玲等^[10]研究分别将 NF- κ B、HSP70 看作“邪气”与“正气”两个方面,认为 NF- κ B、HSP70 的表达变化体现了脾胃湿热证邪正相争的亢奋状态。

本研究中发现,模型组 NF- κ B65、HSP70 的表达显著高于对照组;而经灭幽汤干预治疗后高灭组、胃三联组 NF- κ B65 表达显著降低, HSP70 表达显著增加。我们认为,从中医学角度来看, NF- κ B65、HSP70 用药前后的变化充分体现了疾病过程中正邪相争的过程,模型组中二者均升高, NF- κ B65 的升高可认为是湿热与 Hp 等邪气亢盛, HSP70 的升高可认为是邪气内侵时正气奋起抗邪;而经过灭幽汤干预抗邪外出、正气恢复,故 NF- κ B65 降低, HSP70 持续升高。从现代医学角度,我们认为湿热与 Hp 具有协同致病性,而在整个疾病的发生过程可能是由于 NF- κ B65、HSP70 的变化引起的。 Hp 与湿热因素通过刺激 NF- κ B65 产生炎症反应,导致慢性胃炎的发生;同时 Hp 也激活了 HSP70 的表达,在炎症的极期, HSP70 发挥了抗炎、保护胃黏膜组织的作用,减少了湿热因素与 Hp 对胃黏膜的刺激,后期继续升高可能与其促进受损细胞修复密切相关。灭幽汤可能正是通过降低 NF- κ B65 减轻炎症反应,上调 HSP70 抗炎、修复受损的胃黏膜组织,治疗 Hp 相关性胃炎脾胃湿热证的作用。

参考文献

[1] LAMB A, CHEN L F. Role of the Helicobacter pylori-induced inflammatory response in the development of gastric cancer[J]. J Cell Biochem. 2013, 114(3):491-497.
 [2] 施花锦,王小娟,伍参荣,等.灭幽汤对幽门螺杆菌感

- 染性胃炎小鼠胃黏膜组织 IKK β 表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2010, 30(11):85-87.
- [3] 谢春娥, 薛晓轩, 刘晶, 等. 胃痛辨证分型及舌象与幽门螺杆菌感染的关系分析[J]. 中华中医药杂志, 2013, 8(28):2287-2289.
- [4] 吴炜景, 李立平, 林延超, 等. 广东地区围兜溃疡患者幽门螺杆菌 CagA 基因型与中医证型相关性分析[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(6):1803-1807.
- [5] MAUBACH G, SOKOLOVA O, WOLFIEN M, et al. Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II contributes to inhibitor of nuclear factor-kappa B kinase complex activation in Helicobacter pylori infection[J]. 2013, 133(6):1507-1512.
- [6] LEOTOING L, CHEREAU F, BARON S, et al. A20-binding inhibitor of nuclear factor-kappa B (NF-kappaB)-2 (ABIN-2) is an activator of inhibitor of NF-kappaB (IkappaB) kinase alpha (IKKalpha)-mediated NF-kappaB transcriptional activity[J]. J Biol Chem, 2011, 286(37):32277-32288.
- [7] BANERJEE D, UPADHYAY R C, CHAUDHARY U B, et al. Seasonal variation in expression pattern of genes under HSP70: Seasonal variation in expression pattern of genes under HSP70 family in heat-and cold-adapted goats (Capra hircus) [J]. Cell Stress Chaperones, 2014, 19(3):401-408.
- [8] 曾志刚, 张红艳. 热休克蛋白 70 对严重烧伤等应激状态下胃肠黏膜的保护机制[J]. 广东医学, 2013, 34(10):1626-1628.
- [9] BAIRD C H, NIEDERLECHNER S, BECK R, et al. L-Threonine induces heat shock protein expression and decreases apoptosis in heat-stressed intestinal epithelial cells[J]. Nutrition, 2013, 29(11-12):1404-1411.
- [10] 胡玲, 郑晓凤, 鄢雪辉, 等. 不同证型慢性胃炎患者外周淋巴细胞 HSP70、NF- κ B 的表达研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(9):1188-1191.

网上投稿注意事项

本刊采用远程投稿处理系统,请登录“www.whuhzss.com”投稿。注册用户名上传文章后,投稿系统一旦收到稿件,即自动发回“收稿回执”并通知编号。作者可根据此编号上网查询稿件处理情况。凡寄给个人的稿件,本刊一律不予受理。凡通过 E-mail 投寄的稿件均不算正式投稿。

请另寄纸质稿件存档。纸质稿件一份为计算机打印稿,要求字迹清楚,附单页标注第一作者联系电话(手机)及 E-mail 信箱。英文摘要及参考文献应隔行打印。特殊文种、上下角标符号、字母大小写及需排斜体等应予注明。照片图要求有良好的清晰度和对比度,不可用复印件,黑白图、彩色图(要求刊印彩色图者需另附彩色图印刷工本费)均可;图中需标注的符号(包括箭头)请用另纸标上,不要直接写在图片上,每幅图片的背面应贴上标签,注明图号、作者姓名及图的上下方位,图片不可折损。线条图应墨绘在白纸上,以计算机制图者应提供激光打印图样。病理照片要求注明染色方法和放大倍数。图中各种标志均应打印。每幅图、表各占 1 页,并连带图、表说明集中附于文后,分别按其在正文中出现的先后顺序连续编码。

来稿均须附单位推荐信及 50 元审稿费。推荐信应注明稿件无一稿多投、不涉及保密、署名无争议等内容。作者中如有外籍作者或论文系作者在国外进修、学习、工作后撰写,还应附有国外所属工作单位同意在本刊发表的函件。

本刊再次强调:在审阅中的稿件,作者如欲改投他刊,请立刻与本刊联系说明原因,如发现一稿多投的情况,视为学术不端,我们将严肃处理,通报所有相关杂志和该作者单位,并予以披露。本刊一般不退原稿,请作者自留底稿。

如有疑问,请拨打编辑部电话咨询,咨询电话:(027)85726342-8034。