

## 附子理中汤加味治疗慢性萎缩性胃炎 肠上皮化生的临床疗效及机制\*

刘先勇<sup>1</sup>, 刘雪梅<sup>2</sup>, 杨振斌<sup>3</sup>

(1. 南京医科大学附属江宁医院, 江苏 南京 211100; 2. 信阳职业技术学院附属医院, 河南 信阳 464000;  
3. 扬州市中医院, 江苏 扬州 225002)

**摘要:** **目的** 研究附子理中汤加味治疗脾胃虚寒型慢性萎缩性胃炎肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)的临床疗效及机制。**方法** 116 例 IM 患者被随机分为 2 组, 对照组与研究组各 58 例, 对照组口服叶酸片(每天 5mg, 1 日 3 次)和胃复春片(每天 1.436g, 1 日 3 次); 研究组口服附子理中汤加味, 1 日 2 次, 连续治疗 6 个月。定标活检治疗后病变胃黏膜, 直观模拟评分法对病理标本 IM 进行评分; 免疫组化法检测病理标本中音猬因子 sonic hedgehog(Shh)表达, 比较两组治疗前后 IM 的不同, Shh 表达的差异。**结果** 对照组治疗后胃黏膜 IM 显著低于治疗前( $P<0.05$ ), 而 Shh 表达显著高于治疗前( $P<0.05$ )。研究组治疗后胃黏膜 IM 显著低于治疗前( $P<0.005$ ), 而 Shh 表达显著高于治疗前( $P<0.005$ )。2 组治疗后胃黏膜 IM, Shh 表达, 组间比较差异无显著性( $P>0.05$ )。**结论** 附子理中汤加味可一定程度上逆转 IM, 其机制可能与调节病变胃黏膜中 Shh 表达有关。

**关键词:** 附子理中汤加味; 胃复春; 肠上皮化生; 音猬因子; 慢性萎缩性胃炎

**中图分类号:** R259 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)04-0054-04

**DOI:** 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.04.013

IM 为胃黏膜上皮转变为含有潘氏细胞或杯状细胞的小肠或大肠黏膜上皮组织, 常合并于慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)。目前临床上仍缺乏较为有效的治疗 IM 的药物。Hedgehog(Hh)为一种形态发生素, Shh 为其蛋白配体之一。有研究表明<sup>[1]</sup>Shh 与胃黏膜 IM 密切相关。笔者使用附子理中汤加味治疗胃黏膜 IM 取得了较好疗效。本研究运用附子理中汤加味治疗脾胃虚寒型慢性萎缩性胃炎 IM, 比较治疗前后胃黏膜病理标本中 IM 变化及 Shh 表达情况, 旨在客观的评价附子理中汤加味治疗胃黏膜 IM 临床疗效及可能的分子生物学机制。现报道如下。

### 1 临床资料与方法

#### 1.1 研究对象

来自浙江金华市中医医院及本院 2013 年 10 月-2016 年 3 月住院和门诊患者, 共 116 例。其中, 男 63 例, 女 53 例; 年龄为 35~65 岁, 平均(50.50±6.53)岁; 病程 6 个月~26 年, 平均(9.60±3.30)年。全

部慢性萎缩性胃炎患者中医辨证为脾胃虚寒证型<sup>[2]</sup>, 胃镜下活检、病理组织学证实有胃黏膜 IM 者; 自愿参加本研究, 并且签署相关知情同意书; 无严重慢性疾病; 无胃镜检查禁忌症; 排除妊娠期或哺乳期妇女。随机分为 2 组, 对照组与研究组各 58 例。2 组性别、年龄、病程等一般资料经统计学分析均具有可比性( $P>0.05$ )。

#### 1.2 研究方法

##### 1.2.1 治疗方法

对照组口服叶酸片(天津力生制药股份有限公司, 国药准字: H12020215)每天 5mg, 1 日 3 次; 胃复春片(胡庆余堂药业有限公司, 国药准字: Z20040003)每次 1.436g, 1 日 3 次; 研究组口服附子理中汤加味: 炮附子 15~51g(先煎), 干姜 9g, 红参 9g, 炒白术 15g, 炙甘草 3g, 木香 15g, 白芍 15g, 三七粉 3g(冲服), 黄连 6g; 每日 1 剂, 水煎服, 早、晚餐后分别口服, 疗程为 6 个月。治疗期间停药影响本试验的药物。

\* 基金项目: 南京医科大学附属江宁医院院级课题基金(201511)

收稿日期: 2016-06-10

作者简介: 刘先勇(1973-), 男, 河南商城人, 副主任医师, 研究方向: 中西医结合防治胃癌前病变, E-mail: jianghuai1973@163.com

### 1.2.2 定标活检

使用由刘建敏等<sup>[3]</sup>发明的定标活检法,分别在胃窦、胃角、胃体及其它病变处至少活检 1~2 块,服药 6 个月后,在原定标液标记处活检,保证两次取材的同一性。

### 1.2.3 胃粘膜标本病理诊断

10%甲醛溶液固定待检胃粘膜病理标本,乙醇梯度脱水后石蜡包埋,切片厚约 4 $\mu$ m。HE 染色后光学显微镜下观察做出病理诊断。病理判断标准参照共识意见<sup>[4]</sup>。

### 1.2.4 免疫组化方法

一抗:兔抗人抗体购自 Abcam 公司,按说明配比。使用免疫组化法 Envision 方法检测 Shh 表达,严格按照染色步骤进行染色操作。

### 1.3 结果判断

胃黏膜 IM 病理评分:参照共识意见直观模拟评分法<sup>[4]</sup>,分为-、+、++、+++4 个等级。2 组治疗前后均由同一位资深病理科专家负责诊断。

Shh 阳性结果的判断和分级:判断 Shh 阳性以细胞浆或细胞膜中呈现黄色或棕褐色颗粒作为标识。依据着色强度和细胞阳性百分比对结果行进半定量评判。参考常规免疫组化染色等级判定标准和 Alaklls<sup>[5]</sup>等评判方法,根据着色强度和细胞阳性百分比两项积分相乘所得分值,分为 4 个等级:阴性(-)、弱阳性(+)、阳性(++)、强阳性(+++); $\geq 2$  分视为阳性结果。由两位资深的免疫组化专家盲法评分,每张标本的最终评分为两人评分的均值。

### 1.4 统计学分析

运用 SPSS16.0 统计软件分析数据,2 组间疗效比较采用秩和检验, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 2 组治疗前后患者 IM 分级组间比较

本研究计划入组 116 例,治疗期间对照组脱落 10 例,研究组脱落 8 例。治疗组服药期间有 5 例患者出现轻度腹泻情况,经过对症处理,症状消失。治疗前,对照组与研究组 IM 具有可比性( $P>0.05$ )。对照组治疗前后,IM 比较差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),治疗后 IM 得到明显改善。研究组治疗前后 IM 比较有统计学差异( $P<0.005$ ),治疗后 IM 得到明显改善。治疗后,对照组与治疗组 IM 改善疗效接近( $P>0.05$ )。见表 1。

表 1 治疗前后患者 IM 分级组间比较

| 组别  |     | 例数 | - | +  | ++ | +++ | 统计量                     | P 值   |
|-----|-----|----|---|----|----|-----|-------------------------|-------|
| 研究组 | 治疗前 | 50 | 0 | 13 | 25 | 12  | -2.886 <sup>*</sup>     | 0.004 |
|     | 治疗后 | 50 | 2 | 26 | 15 | 7   | -0.908 <sup>#</sup>     | 0.364 |
| 对照组 | 治疗前 | 48 | 0 | 11 | 22 | 15  | -0.711 <sup>&amp;</sup> | 0.477 |
|     | 治疗后 | 48 | 1 | 22 | 16 | 9   | -2.454 <sup>@</sup>     | 0.014 |

注:\* 研究组治疗前后比较, $Z=-2.886, P=0.004$ ;# 对照组与研究组治疗后比较, $Z=-0.908, P=0.364$ ;& 对照组与研究组治疗前比较, $Z=-0.711, P=0.477$ ;@ 对照组治疗前后比较, $Z=-2.454, P=0.014$

### 2.2 2 组治疗前后病变胃标本中 Shh 表达情况

治疗前,对照组与研究组中 Shh 表达组间比较具有可比性( $P>0.05$ )。对照组治疗前后 Shh 表达组间比较差异有显著性( $P<0.05$ ),治疗后 Shh 表达显著高于治疗前。研究组治疗前后 Shh 表达组间比较差异有显著性 ( $P<0.005$ ),治疗后 Shh 表达显著增加。治疗后对照组与研究组 Shh 表达组间比较差异无显著性( $P>0.05$ );二者疗效接近。见表 2。

表 2 治疗前后病变胃标本中 Shh 表达比较

| 组别  |     | 例数 | -  | +  | ++ | +++ | 统计量                     | P值    |
|-----|-----|----|----|----|----|-----|-------------------------|-------|
| 研究组 | 治疗前 | 50 | 28 | 16 | 6  | 0   | -3.013 <sup>*</sup>     | 0.003 |
|     | 治疗后 | 50 | 13 | 25 | 9  | 3   | -0.377 <sup>#</sup>     | 0.706 |
| 对照组 | 治疗前 | 48 | 24 | 17 | 7  | 0   | -0.608 <sup>&amp;</sup> | 0.543 |
|     | 治疗后 | 48 | 14 | 23 | 10 | 1   | -2.027 <sup>@</sup>     | 0.043 |

注:\* 研究组治疗前后比较, $Z=-3.013, P=0.003$ ;# 对照组与研究组治疗后比较, $Z=-0.377, P=0.706$ ;& 对照组与研究组治疗前比较, $Z=-0.608, P=0.543$ ;@ 对照组治疗前后比较, $Z=-2.027, P=0.043$

## 3 讨论

IM 是机体对胃内环境改变的一种主动适应,与胃型上皮不同,化生上皮从形态、粘液特性及超微结构等方面均类似肠型上皮,主要由吸收细胞组成,其间夹杂有杯状细胞,底部可见潘氏细胞。胃起源于前肠尾部膨大部分。胚胎期小鼠前肠形成于胚胎期第 7 天(E7),后肠形成于大约 E7.75,随后前肠和后肠被中肠连接在一起,大约在 E12 前肠尾部逐步膨大形成纺锤形胃。从这一角度看,胃体腺 $\rightarrow$ IM 其发展方向是去分化的。

形态发生素 Shh 与胃壁细胞、主细胞分化、胃黏膜上皮细胞更新密切相关,为胃腺体分化的核心蛋白<sup>[6]</sup>,其表达与胃内酸性环境相关。慢性炎症导致慢性萎缩性胃炎机制之一,与炎症因子特别是白细

胞介- $\text{I}\beta$ (interleukin- $\text{I}\beta$ ,  $\text{IL-I}\beta$ )强烈的抑酸作用,升高了胃内 pH 值,限制了 Shh 的表达,影响了壁细胞、主细胞分化及胃黏膜上皮细胞更新,最终导致胃黏膜萎缩<sup>[1,7-8]</sup>。Shh 也与胃粘膜 IM 密切相关,Shh 基因在萎缩性胃炎及 IM 中表达下调<sup>[1,9]</sup>;Shh 基因敲除的小鼠,胃黏膜上皮被能分泌碱性磷酸酶的肠上皮所替代<sup>[1,10]</sup>。从形态学、粘液组织化学和酶学等的方面看,IM 与肠型胃癌的发生关系密切。近期瑞典科学家的一项研究显示<sup>[11]</sup>:CAG 伴 IM 人群 20 年胃癌风险大致为 1/39。

临床中,笔者发现 CAG 伴 IM 初期,脾胃虚寒患者较多,这可能与现代生活中人们过食冷饮,久居空调环境中,劳欲过度等损伤身体阳气相关,但温阳法治 CAG 伴 IM 的研究少有报道。究其原因 CAG 这一名称为现代医学发展的产物,由于 CAG 伴 IM 患者胃腺体萎缩,消化液分泌也随之相对减少,这与中医辨证分型中阴虚类似,造成诸多专家认为 CAG 患者胃阴亏虚居多。殊不知 CAG 伴 IM 初期,消化液分泌减少并不明显,且减少原因也常常为阳虚在先,阳损及阴的所致。温法为中医治法“八法”之一。附子理中汤是温里剂中最重要的代表方剂,由《伤寒论》中理中丸衍化而来。清·程应旆认为:“阳之动始于温,温气得而谷精运,谷气升而中气贍,故名理中。……参、术、炙草,所以固中州;干姜辛以守中……。是以谷入于阴,长气于阳,上输华盖,下摄州者,五脏六腑皆以受气矣。此理中之旨也。若水寒互胜,即当脾肾双温,附子之加,而命门益,土母温矣。”于该方中笔者另加入三七、木香、白芍、炙甘草、黄连,诸药合用共奏温阳散寒,益气健脾,行气止痛化瘀之功,有较好的促进胃黏膜病理状态恢复的作用。方中君药附子有回阳救逆、补阳助火的功效,为中药温阳药之最。其具有舒张血管、增加血氧含量等作用可能对慢性萎缩性胃炎胃黏膜血流灌注量不足<sup>[12]</sup>有较好的改善作用。但附子有毒,我们让患者煎煮 1.5h 以降低乌头碱的含量,能较好的预防其毒副作用。

研究组使用附子理中汤加味汤剂煎服;对照组使用胃复春(红参、香茶菜、枳壳)和 B 族维生素叶酸片。胃复春与叶酸为临床上常用的治疗 IM 的药物,胃复春有健脾行气,化瘀解毒之功;叶酸有助于细胞 DNA 合成及甲基化,二药合用,可改善肠上皮化生<sup>[13]</sup>。研究结果表明附子理中汤加味及胃复春联

合叶酸均可一定程度逆转胃黏膜 IM,伴随 IM 减轻,Shh 表达增加,二者疗效相近。

研究表明,在肠腺体中,Shh 低水平表达<sup>[14]</sup>;而胃腺体中,Shh 高水平表达。Shh 促进胃腺体分化一个重要机制是通过激活 Barxl、叉头框蛋白 F1(fork-head box F2, FoxF1) 和 FoxL1 等抑制 Wnt 信号通路<sup>[6,15-16]</sup>来实现的;它还可能通过激活 Noggin 表达<sup>[17]</sup>,限制了骨形态发生蛋白 4(bone morphogenetic protein 4, Bmp4)的表达,导致后肠标识基因尾型同源框转录因子 2 (caudal type homeobox 2, Cdx2)表达受到抑制<sup>[18-19]</sup>,从而导致肠腺体分化受到抑制。据此,笔者推测胃黏膜 IM 中,Shh 表达受到抑制。该试验不仅一定程度上证明了伴随 IM 发生,胃黏膜中 Shh 减少,且发现附子理中汤加味一定程度逆转 IM 与上调胃黏膜中 Shh 相关。本研究结果表明提高病变胃黏膜中 Shh 表达可以有效的逆转胃黏膜肠上皮化生,为中草药防治胃癌前病变提供了新的思路。

#### 参考文献:

- [1] 刘先勇,王建宁. Hedgehog 与胃腺体分化及 Correa 级联学说关系的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2015, 37(11): 1572-1580.
- [2] 张伯臾. 中医内科学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985, 136-137.
- [3] Sun L, Si J, Chen S, Liu W, et al. The establishment and clinical appliance of technique of mucosa marking targeting biopsy[J]. Hepatogastroenterology, 2009, 56(89): 59-62.
- [4] 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见(2012 年, 上海)[J]. 中华消化杂志, 2013, 33(1): 5-16.
- [5] Alaklls H, Grass G, Hennekon JK, et al. Clinic pathological significance of MMP-2 and its specmc inhibitor TIMP-2 in gastric cancer [J]. Histol Histopathol, 2008, 23(8): 917-923.
- [6] Zorn AM, Wells JM. Vertebrate endoderm development and organ formation [J]. Annu Rev Cell Dev Bio, 2009, 25: 221-251.
- [7] Furuta T, El-Omar EM, Xiao F, et al. Interleukin 1beta polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan[J]. Gastroenterology, 2002; 123(1): 92-105.
- [8] Waghray M, Zavros Y, Saqui-Salces M, et al. Interleukin-1beta promotes gastric atrophy through suppression of Sonic Hedgehog[J]. Gastroenterology, 2010, 138(2): 562-572.
- [9] Shiotani A, Iishi H, Uedo N, et al. Evidence that loss of

- sonic hedgehog is an indicator of *Helicobacter pylori*-induced atrophic gastritis progressing to gastric cancer[J]. *Am J Gastroenterol*, 2005, 100(3):581-587.
- [10] Ramalho-Santos M, Melton DA, McMahon AP. Hedgehog signals regulate multiple aspects of gastrointestinal development[J]. *Development*, 2000, 127(12):2763-2772.
- [11] Song H, Ekheden IG, Zheng Z, et al. Incidence of gastric cancer among patients with gastric precancerous lesions: observational cohort study in a low risk Western population. *BMJ*. 2015, 351:h3867.
- [12] 何婷, 蔡宗宗, 朱姣, 等. 温阳法治疗慢性萎缩性胃炎思路与应用探析 [J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42 (6):1205-1206.
- [13] 曹艳菊, 屈昌民, 吴继华, 等. 叶酸联合胃复春治疗萎缩性胃炎癌前病变的疗效[J]. 世界华人消化杂志, 2013, 21(30):3261-3264.
- [14] Saqui-Salces M, Merchant JL. Hedgehog signaling and gastrointestinal cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1803(7):786-795.
- [15] Merchant JL. Hedgehog signalling in gut development, physiology and cancer [J]. *J Physiol*, 2012, 590 (3):421-432.
- [16] Mills JC, Shivdasani RA. Gastric Epithelial Stem Cells[J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(2):412-424.
- [17] Woo WM, Zhen HH, Oro AE. Shh maintains dermal papilla identity and hair morphogenesis via a Noggin-Shh regulatory loop[J]. *Genes Dev*, 2012, 26(11):1235-1246.
- [18] Hayes C, Gillian M, Morriss-Kay. Retinoic acid specifically downregulates *Fgf4* and inhibits posterior cell proliferation in the developing mouse autopod [J]. *J Anat*, 2001, 198:561-568.
- [19] Gopal A, Iyer SC, Gopal U, et al. *Shigella dysenteriae* Modulates BMP Pathway to Induce Mucin Gene Expression In Vivo and In Vitro [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e111408.

(编辑:徐建平)

### Clinical Curative Effects on Modified Fuzi Lizhong Decotion on Chronic Atrophic Gastritis with Intestinal Metaplasia and Its Mechanism

LIU Xianyong<sup>1</sup>, LIU Xuemei<sup>2</sup>, YANG Zhenbin<sup>3</sup>

- (1. Jiangning Afilated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 211100, China;
2. The Afilated Hospital of Xinyang Vocational and Technical College, Xinyang 464000 China;
3. Yangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yangzhou 225002, China)

**ABSTRACT:** **Objective** To study the clinical curative effects of modified Fuzi Lizhong decotion in treating of chronic atrophic gastritis with IM with Spleen-Stomach Deficiency-cold type and its mechanism. **Methods** 116 cases of patients with IM were randomly divided into two groups, control group and study group with 58 cases in each group. The control group used folic acid tablets (5mg/time, 3times/day), Weifuchun (1.436g/time, 3times/day). The study group orally modified Fuzi Lizhong decotion, 2times/day, continuous treatment for 6 months. After treatment, the lesions of gastric mucosa underwent the pieketage biopsy, using a visual analogue score on the gastric mucosal pathological specimens with IM, the expression of Shh in the specimens was detected by immunohistochemical method, compared with the differences of IM and Shh in the specimens. **Results** In the control group after treatment, the gastric mucosal IM was significantly lower than that before treatment ( $P < 0.05$ ), while the expression of Shh was significantly higher than that before treatment ( $P < 0.05$ ). In the study group after treatment, the gastric mucosal IM was significantly lower than that before treatment ( $P < 0.005$ ), while the expression of Shh was significantly higher than that before treatment ( $P < 0.005$ ). There weren't significant differences of the gastric mucosal IM and the expression of Shh between the two groups after treatment ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Modified Fuzi Lizhong decotion can reverse intestinal metaplasia in certain degree, the mechanism may be related to the regulation of Shh expression in gastric mucosal lesions.

**KEY WORDS:** modified Fuzi Lizhong decotion; Weifuchun; intestinal metaplasia (IM); sonic hedgehog (Shh); chronic atrophic gastritis (CAG)