

- 药指南,2011,9:221.
- [9] 李祥,汤艳,吴雨岭,等. 十溴联苯醚致大鼠学习记忆及海马神经元氧化损伤和凋亡研究. 中国职业医学,2011,38:463-466.
- [10] Dai RL,Zhu SY,Xia YP,et al. Sonic hedgehog protects cortical neurons against oxidative stress. Neurochem Res,2011,36:67-75.
- [11] Domoki F,Kis B,Gáspár T,et al. Rosuvastatin induces delayed preconditioning against L-glutamate excitotoxicity in cultured cortical neurons. Neurochem Int,2010,56:404-409.
- [12] Ali SS,Hardt JJ,Dugan LL. SOD activity of carboxyfullerenes predicts their neuroprotective efficacy:a structure-activity study. Nanomedicine, 2008,4:283-294.
- [13] 吴书昱,王淑君,刘俏,等. 杨梅叶总黄酮对培养大鼠皮质神经元缺糖缺氧损伤的影响. 沈阳药科大学学报,2010,27:829-833.
- [14] 孙树清,吴中学,张友平,等. 脑损伤后脑组织自由基变化的实验研究. 首都医科大学学报,2002,23:236-833.
- (修回日期:2013-03-26)
(本文编辑:易 浩)

红外线照射对萎缩性胃炎大鼠胃酸分泌及 P16 表达的影响

王建国 邵雪辉 张晓丽 杨跃平

【摘要】 目的 观察红外线照射对慢性萎缩性胃炎(CAG)大鼠胃酸分泌及胃黏膜细胞 P16 表达的影响,并探讨红外线照射治疗 CAG 的可能机制。**方法** 采用随机数字表法将 40 只成年雄性 Wistar 大鼠分为正常组、模型对照组及红外线照射组。将模型对照组、红外线照射组大鼠制成 CAG 动物模型,红外线照射组大鼠于制模成功后给予红外线照射,每日照射 1 次。待红外线照射 20 d 后观察各组大鼠胃酸分泌及胃黏膜 P16 表达情况。**结果** 模型对照组大鼠胃酸酸度[pH 值(5.86 ± 1.45)]较正常组[pH 值(3.72 ± 1.02)]显著降低($P < 0.05$),红外线照射组胃酸酸度[pH 值(3.99 ± 0.93)]较模型对照组明显增高($P < 0.05$)。正常组胃黏膜细胞 P16 阳性率(75.0%)、红外线照射组 P16 阳性率(66.7%)均显著高于模型对照组水平(25.0%)($P < 0.05$)。**结论** 红外线照射能促进 CAG 模型大鼠胃酸分泌及胃黏膜 P16 表达,对促进胃黏膜功能恢复、预防胃癌发生等均具有重要意义。

【关键词】 红外线; 慢性萎缩性胃炎; 胃酸; P16

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis,CAG)是临床常见、多发病,其发病原因复杂,至今尚无统一治疗方案可循,临床疗效有待提高。近年来物理疗法(特别是红外线、激光针、磁疗等无痛、无创理疗手段)在临床中的应用日趋广泛,红外线治疗因具有操作简便、刺激性小、疗效明确、患者依从性好等优点而倍受临床关注。本课题组通过建立 CAG 大鼠模型并对其进行红外线照射,观察干预前、后大鼠胃酸分泌及胃黏膜 P16 表达变化,为 CAG 的物理治疗提供参考资料。现报道如下。

材料与方法

一、实验动物及分组

共选取清洁级 8 周龄 Wistar 雄性大鼠 40 只,体质量约(250 ± 50)g,每笼 5 只,经常规标准颗粒饲料饲养 1 周后,根据质量配对原则随机取 8 只大鼠归入正常组,余 32 只大鼠则进行 CAG 造模,参考文献[1]介绍的方法,采用 2% 水杨酸钠和 30% 酒精混合溶液对大鼠实施灌胃,并结合劳累、饥饿失常等多种干预手段建立 CAG 大鼠模型。在造模过程中有 3 只大鼠因灌

胃方式不当而死亡。在造模结束前,随机取 5 只造模大鼠进行胃黏膜病理组织学检查,待确认造模成功后,采用随机数字表法将 CAG 模型大鼠分成模型对照组及红外线照射组,每组 12 只大鼠。

二、红外线照射疗法

红外线照射组大鼠于制模后给予红外线照射,采用 L-I-6A 型红外线灯,发出的红外线波长为 2~25 μm ,功率为 200 W,将红外线灯头垂直照射大鼠胃部投影区,灯距 50 cm,每次照射持续 30 min,每日治疗 1 次,连续照射 20 d。模型对照组及正常组大鼠均未给予特殊处理。所有大鼠在实验期间均自由饮水、摄食,给予正常周期日光照射。

三、标本取材与处理

各组大鼠于制模结束 20 d 时禁食、不禁水持续 24 h,于次日经乙醚麻醉后立即剖腹,结扎贲门后摘出全胃,洗去表面血污并用滤纸吸干,沿胃大弯剪开胃腔,用 5 ml 蒸馏水冲洗胃腔并收集稀释胃液,采用 PHS-3C 型数字式酸度计测定其 pH 值;然后沿胃小弯侧全层切取一段长 1 cm、宽 5 mm 的胃窦及部分胃体组织,置于 10% 中性甲醛中固定 24 h,经石蜡包埋后行连续切片(片厚 5 μm)。第 1 张切片用于苏木精-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色,第 2 张切片采用 0.01% 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution,PBS)代替一抗作为阴性对照,第三张切片采用抗 P16 抗体标记样本中 P16 蛋白,免疫组化染色选用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶法(streptavidin-peroxidase

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2013.06.021

基金项目:河北省卫生厅医学科学重点研究课题(20100478),河北北方学院课题(Q2010005)

作者单位:075000 张家口,张家口学院(王建国);河北北方学院医学物理教研室(邵雪辉),电镜室(张晓丽),信息系(杨跃平)

method, SP)。

四、免疫组化染色检查

将各组大鼠切片常规脱蜡至水,经 3% H_2O_2 室温孵育 5 min,以尽量消除内源性过氧化物酶活性;采用微波炉修复抗原,经 5% ~ 10% 正常山羊血清封闭后滴加 P16 一抗,置于 4 °C 冰箱内过夜;滴加生物素标记的二抗工作液 (IgG),在 37 °C 环境下孵育 15 min,再滴加 SP 复合物并孵育 15 min;经二氨基联苯胺显色、酒精脱水、二甲苯透明、中性树脂封片后置于显微镜下观察。如细胞内有黄色或棕黄色颗粒为 P16 阳性细胞,各组大鼠 P16 检查结果根据染色强度及阳性细胞百分率共分为 4 个等级,如阳性细胞数为 0 记为阴性 (-),阳性细胞率 < 25% 且染色呈浅黄色记为 (+),阳性细胞率介于 25% ~ 50%,染色呈黄色记为 (++) ,阳性细胞率 > 50% 且染色呈棕黄色记为 (+++)。

五、统计学处理

本研究所得计量数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 SPSS 13.0 版统计学软件包进行数据分析,计量资料比较采用单因素方差分析,计数资料比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

本研究各组大鼠胃酸测定结果显示,正常组大鼠胃酸 pH 值 (3.72 ± 1.02) 最低,与模型对照组 [pH 值为 (5.86 ± 1.45)] 间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);红外线照射组胃酸 pH 值 (3.99 ± 0.93) 亦显著低于模型对照组 ($P < 0.05$),与正常组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$),上述结果表明红外线照射能促进 CAG 模型大鼠胃酸分泌。

通过免疫组化检查发现,各组大鼠切片均可见 P16 棕黄色阳性颗粒表达,主要位于细胞核及细胞浆内。进一步分析发现,以正常组、红外线照射组胃黏膜细胞 P16 阳性率较高,与模型对照组间差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$),具体结果见表 1。

表 1 红外线照射对 CAG 大鼠胃黏膜 P16 表达的影响

组别	只数	P16 检查结果(只)				P16 阳性率 (%)
		-	+	++	+++	
正常组	8	2	1	3	2	75.0 ^a
模型对照组	12	9	2	1	0	25.0
红外线照射组	12	4	2	3	3	66.7 ^a

注:与模型对照组比较,^a $P < 0.05$

讨 论

CAG 与胃癌(尤其是肠型胃癌)的发生具有密切联系,目前临床针对 CAG 的治疗方案较多,但疗效均不够理想,因此寻找一种有效的 CAG 治疗手段对预防胃癌发生具有重要意义。本课题组以水杨酸钠和酒精的混合溶液灌胃,并结合劳累、饥饿失常等干预手段,能促使大鼠胃黏膜出现 CAG 病变,成功复制

出 CAG 模型^[1],CAG 模型大鼠通常表现为胃酸分泌减少、胃黏膜变薄及腺体萎缩等异常。

本研究 CAG 模型大鼠经红外线照射后,发现其胃部投影区温度明显升高,通过检测胃酸水平,发现其胃酸浓度较模型对照组显著上升,提示红外线照射能促进 CAG 模型大鼠胃酸分泌,相关治疗机制可能包括:当红外线作用于机体时,其热量被皮肤及皮下组织吸收后能产生一系列生物学效应,促使皮下深层组织温度升高、微血管扩张,加速血液循环及新陈代谢水平^[2]。另有研究发现,红外线照射还能刺激大鼠免疫系统,有助于减轻局部炎症反应^[3],从而促使受损胃黏膜功能恢复及胃酸分泌量增加。

近年来有学者指出,基因启动子区域异常甲基化被认为是抑癌基因转录抑制的重要机制之一,同时也是肿瘤形成的重要原因。其中 P16 是重要的细胞周期负调控基因,也是重要的抑癌基因^[4],由 P16 基因编码的蛋白即为 P16 蛋白,它是细胞周期素依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)的主要抑制剂,可阻止细胞从 G1 期进入 S 期,抑制 DNA 合成及细胞增殖;一旦 P16 基因失活而不能正常表达时,容易导致细胞增殖失控而诱发肿瘤。有研究发现 P16 蛋白在正常胃黏膜上皮组织中呈高水平表达,在胃黏膜非典型增生时 P16 蛋白表达水平则显著降低,而在胃癌组织中略有回升,提示抑癌基因蛋白 P16 表达减弱可能是癌细胞过度增殖的重要原因之一^[4,5]。本研究结果发现,P16 蛋白在正常大鼠胃黏膜中呈高水平表达,模型对照组胃黏膜 P16 表达则显著较低,而红外线照射组 P16 表达较模型对照组明显增高,表明红外线照射能提高 CAG 大鼠胃黏膜中 P16 表达水平,有助于抑制胃黏膜组织过度增殖、逆转肠化及异型增生,对预防胃癌发生具有重要意义。

综上所述,本研究结果表明,CAG 模型大鼠胃酸浓度及胃黏膜 P16 表达水平均较正常大鼠显著降低,提示其胃黏膜细胞可能处于高增殖状态并伴有功能异常;红外线照射能促进 CAG 大鼠胃酸分泌,提高胃黏膜 P16 表达,有助于调控细胞增殖、阻止其向癌变方向发展,关于红外线照射的确切治疗机制还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 邵雪辉,王建国. 大鼠实验性慢性萎缩性胃炎的建立. 张家口医学院学报, 2002, 19: 11-13.
- [2] 郑志杰,赖新生. 红外线治疗溃疡的研究现状与分析. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12: 113-115.
- [3] 刘主才,周建良. 红外线治疗对清创术后伤口愈合的疗效观察. 中国误诊学杂志, 2009, 10: 2305-2306.
- [4] 孙桂彬,杨景国,李永华,等. PTEN、P16 和 CyclinD1 在胃癌及癌前病变中表达的研究. 现代中西医结合杂志, 2012, 15: 1614-1616.
- [5] 党冬梅,杨建军,王颖萍,等. P16, p53 和 Mad2 在胃癌中的表达及临床病理学意义. 第四军医大学学报, 2009, 30: 2785-2787.

(修回日期:2013-03-26)

(本文编辑:易 浩)