

冯霞,赵欣. 铁皮石斛水提物对 SD 大鼠胃损伤的预防效果[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):294-296.

# 铁皮石斛水提物对 SD 大鼠胃损伤的预防效果

冯霞,赵欣

(重庆第二师范学院生物与化学工程系,重庆 400067)

**摘要:**对市售的铁皮石斛进行 SD 大鼠胃损伤预防效果评价。通过体内动物模型分析,对胃损伤的预防效果进行研究。通过酶联免疫法测定各组大鼠血清中 IL-6 和 TNF- $\alpha$  细胞因子水平,解剖观察铁皮石斛灌胃浓度的大鼠胃损伤程度;观察大鼠胃液量和胃液 pH 值。试验结果,200 mg/kg 灌胃浓度的铁皮石斛组大鼠的 IL-6 和 TNF- $\alpha$  细胞因子水平低于低浓度组和对照组。200 mg/kg 灌胃的大鼠(76.6%胃损伤抑制率)具有最强的胃损伤抑制效果,200 mg/kg 铁皮石斛灌胃组大鼠的胃液分泌量低于低浓度组和对照组,pH 值高于低浓度组和对照组,高浓度灌胃浓度的铁皮石斛具有更强的胃损伤抑制效果。结果表明,适宜浓度的铁皮石斛具有良好的胃损伤预防效果。

**关键词:**铁皮石斛;SD 大鼠;细胞因子;胃损伤;胃液分泌量

**中图分类号:** R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)07-0294-02

铁皮石斛属兰科石斛属,为兰科多年生附生草本植物,是一种珍贵的野生药用植物,铁皮石斛分布区域广阔,在我国的安徽、浙江、云南、福建、贵州、广东、广西、湖南、江西、河南等省均有发现<sup>[1]</sup>。铁皮石斛的茎干在传统中国民间医药上有补阴和滋润肠胃的作用,也能促进体液的分泌,防止白内障的发生,缓解咽喉炎症和抗疲劳,降低血管阻塞,增强免疫力<sup>[2]</sup>。医药的研究主要集中在功能性作用,如铁皮石斛的抗甲亢和抗癌作用<sup>[3]</sup>。石斛含有水溶性多糖和多种氨基酸,可能有助于抑制肝癌和腹水癌的癌细胞生长<sup>[2]</sup>。关于铁皮石斛在保健方面的研究已经陆续展开,为验证铁皮石斛的抗胃损伤效果,本试验对云南出产的一种铁皮石斛进行大鼠体内抗胃损伤功能性初步研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

铁皮石斛:市售原产自云南的铁皮石斛,冷冻干燥后用沸水提取 3 次,蒸干后得到水提物,待用。

### 1.2 动物

7 周龄 SD 大鼠购于重庆医科大学实验动物中心,在温度为(23±1)℃、相对湿度(50±5)%的环境中饲养,大鼠自由摄取饮水和标准饮食。

### 1.3 大鼠诱导胃损伤

将试验大鼠分为 5 组,分别为正常组(按标准方法饲养大鼠,不进行任何试验处理)、对照组(按标准方法饲养大鼠,不进行样品处理,最后诱导胃损伤)、3 个试验组(用铁皮石斛水提物样品灌胃大鼠,最后诱导胃损伤),每组 10 只。在随后 2 周内将铁皮石斛水提物按 50、100、200 mg/kg 浓度对试验组 SD 大鼠每天实施灌胃 1 次。2 周后对除正常组外的各

组大鼠用 1 mL 乙醇溶液(乙醇溶于 150 mmol/L 盐酸配制成 60%的乙醇溶液)进行灌胃胃损伤诱导,1 h 后处死各组大鼠,取大鼠血浆、胃和胃液进行测定。

### 1.4 用酶联免疫法(ELISA 法)测定血清中的细胞因子 IL-6 和 TNF- $\alpha$

取 2 mL 动脉血,4℃下 3 000 r/min 离心 10 min,取上层血清。IL-6 和 TNF- $\alpha$  定量酶联检测试剂盒按 ELISA 方法操作后,用 Bio-Rad 550 酶标仪(美国)检测血清中上述 2 种细胞因子的水平。

### 1.5 胃损伤程度测定

将解剖后取出的大鼠胃用 10% 福尔马林溶液浸泡固定,拍照后用 ImageJ 软件分析胃损伤程度。

### 1.6 胃液量和胃液 pH 值的测定

取解剖后的大鼠胃液测定胃分泌量,用 ServenEasy pH 计(瑞士 Mettler-Toledo 公司生产)测定 pH 值。

## 2 结果与分析

### 2.1 大鼠血清中细胞因子 IL-6 和 TNF- $\alpha$ 的水平

通过酶联免疫法测定大鼠血清中 IL-6 的细胞因子水平,正常组、对照组及用 50、100、200 mg/kg 浓度铁皮石斛水提物灌胃各组的因子水平分别为 50.4、240.3、185.2、142.6、108.7 pg/mL。TNF- $\alpha$  的细胞因子水平与 IL-6 相似,各组大鼠的细胞因子水平平均为 108.2、775.3、532.6、378.2、55.1 pg/mL(图 1)。随着铁皮石斛水提物灌胃浓度的提高,IL-6 和 TNF- $\alpha$  细胞因子的水平随之下降,试验各组大鼠的细胞因子水平明显低于对照组。IL-6 和 TNF- $\alpha$  细胞因子水平的降低表示炎症程度降低<sup>[4]</sup>,表明铁皮石斛能降低胃损伤程度。

### 2.2 胃损伤水平

对各组大鼠进行胃损伤诱导后,对照组大鼠的胃损伤程度为 12.4 mm<sup>2</sup>。铁皮石斛水提物对大鼠进行灌胃后各组大鼠的胃损伤程度均有一定程度的下降。200 mg/kg 浓度灌胃的大鼠的胃损伤程度为 2.9 mm<sup>2</sup>,100、50 mg/kg 浓度铁皮石斛水提物灌胃时胃损伤程度分别为 5.3、6.7 mm<sup>2</sup>(表 1),铁

收稿日期:2013-04-25

作者简介:冯霞(1976—),女,江西宜春人,硕士,讲师,高级公共营养师,

研究方向为食品营养和功能性食品。E-mail: fengxiacqec@126.com。

通信作者:赵欣,博士,讲师,研究方向为食品营养和功能性食品。

Tel: (023)86361738;E-mail: foods@live.cn。

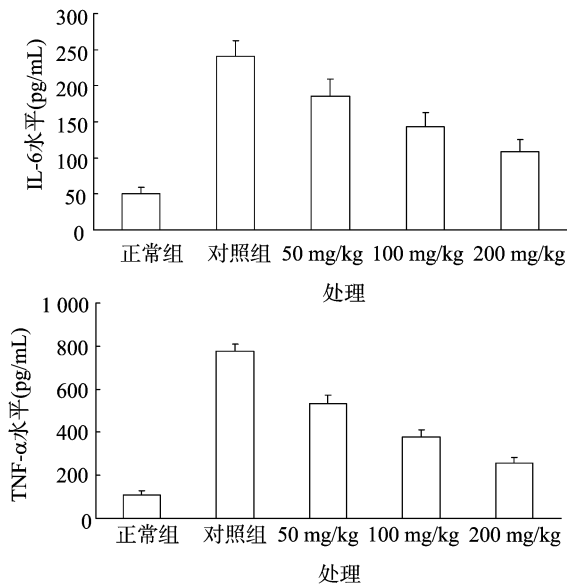


图1 各组大鼠血清的IL-6和TNF-α细胞因子水平

铁皮石斛水提物按浓度从高到底作用后胃损伤抑制率为76.6%、57.3%、46.0%。表明随着铁皮石斛水提物灌胃浓度的增大胃损伤程度逐渐下降,铁皮石斛对胃损伤具有一定的预防作用。

表1 不同处理大鼠的胃损伤程度和胃损伤抑制率

处理	剂量 (mg/kg)	胃损伤程度 (mm <sup>2</sup> )	胃损伤抑制率 (%)
正常		0.0 ± 0.0	100.0
对照		12.4 ± 2.1	0.0
铁皮石斛水提物	50	6.7 ± 0.8	46.0
	100	5.3 ± 1.2	57.3
	200	2.9 ± 0.6	76.6

2.3 大鼠胃液量和胃液 pH 值

胃损伤出现时,胃液分泌量会增加,同时胃液正常 pH 值也会降低<sup>[5]</sup>。本试验中正常组的胃液分泌量为 1.4 mL,对照组为 4.1 mL,铁皮石斛水提物 50、100、200 mg/kg 灌胃组为 2.7、2.2、1.8 mL。正常组、对照组和铁皮石斛水提物(50、100、200 mg/kg)组的 pH 值分别为 3.8、1.1、2.3、2.8、3.2(图 2)。可以看出随铁皮石斛浓度的提高,对胃损伤的预防效果得到增强。

3 讨论

铁皮石斛作为传统中药,其部分功能已经得到科学证实。本试验中随着铁皮石斛样品浓度的增大,大鼠的胃损伤程度随之降低,证明铁皮石斛在动物体内能有效抑制胃损伤。胃损伤最直接的表现为出现炎症,乙醇引起的急性胃损伤主要表现为胃黏膜炎症,造成胃黏膜上皮层发生改变、破坏上皮顶端胞浆膜,导致细胞脱落及胃多发糜烂、溃疡,如累及血管则可引起出血,是急性酗酒酒后易发的临床疾病<sup>[5]</sup>。IL-6 和 TNF-α 是炎性的细胞因子,IL-6 主要由 T、B 细胞和单核巨噬细胞分泌的细胞因子,在机体的炎症反应和免疫调节过程中有重要作用<sup>[6]</sup>。体内 IL-6 因子水平上升,可以导致多种炎症疾病。T 细胞为了抵抗细胞凋亡自身过多地积累甚至导

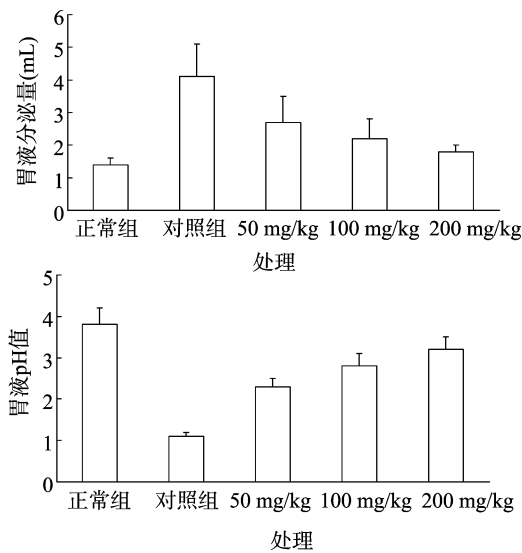


图2 不同处理大鼠的胃液分泌量和胃液 pH 值

致黏膜组织慢性炎症更加严重,这都与 IL-6 因子的信号转导相关联。IL-6 因子是多功能炎性细胞因子,是炎性介质网络的关键成分,在炎症作用中起重要作用,它的作用与组织中的含量有关,正常水平对机体有利,产生过多则会引起一系列炎症损害<sup>[7]</sup>。IL-6 因子可通过诱导磷脂酶-2 基因的表达刺激 TNF-α 因子的产生,TNF-α 因子主要由单核巨噬细胞产生的多效性的炎症性细胞因子,在 T 细胞依赖的肠道炎症中起着重要的促进和放大作用,在炎症的发生发展中,IL-6 因子与 TNF-α 因子共同起协同作用<sup>[8]</sup>。在临床上通过测定 IL-6 和 TNF-α 细胞因子水平可以判定各种炎症的程度,包括胃损伤引起的炎症<sup>[9-10]</sup>。胃液由胃黏膜表面上皮细胞和分散在胃底腺、颈部的少量颈黏液的细胞分泌,保护胃黏膜免受机械和化学损伤,当胃内出现损伤或者炎症时黏液增多,胃液主要成分含有盐酸等酸性物质,胃液增加后由于胃酸的增加,胃液的 pH 值也随之降低<sup>[11]</sup>。

本研究以云南铁皮石斛为基准进行动物体内抗胃损伤的比较试验,从血清细胞因子水平、胃损伤程度、胃液分泌量、pH 值证实铁皮石斛具有一定的胃损伤预防效果。铁皮石斛对人体的临床作用还有待深入研究。

参考文献:

[1] Zhao P, Wu F, Feng F S, et al. Protocorm-like body (PLB) formation and plant regeneration from the callus culture of *Dendrobium candidum* Wall ex Lindl [J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 2008, 44(3): 178-185.

[2] Bao L J, Wang J H, Luo J P, et al. Advances in research of *Dendrobium officinale* [J]. Chinese Tradit Herbal Drugs, 2004, 35: 109-111.

[3] 鲍丽娟, 王军辉, 罗建平. 4 种石斛水提物对人宫颈癌 HelaS3 细胞和肝癌 HepG2 细胞的抑制作用[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(36): 15968-15970.

[4] 张 信, 张国安. 胃炎患者胃窦 IL-6 活性和 TNF-α 含量的检测[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 1998, 7(1): 42-44.

[5] 任建林, 潘金水, 董 菁. 乙醇性胃病[J]. 世界华人消化杂志, 2005, 13(17): 2061-2063.

田 丽,陈道海,周梅清,等. 乌贼墨汁的原子力显微观察[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):296-298.

# 乌贼墨汁的原子力显微观察

田 丽, 陈道海, 周梅清, 谢春瑶, 邱小莹

(湛江师范学院生命科学与技术学院, 广东湛江 524048)

**摘要:**对中国枪乌贼和虎斑乌贼的墨汁进行原子力扫描观察,并对墨汁颗粒的颗粒度进行了分析。结果表明,乌贼墨汁颗粒呈圆形或长条形,不同种类乌贼的墨汁颗粒外貌不同,中国枪乌贼墨汁颗粒呈圆球形,墨汁颗粒大小均等,间或有少量大颗粒墨汁;虎斑乌贼墨汁颗粒呈圆形及长条形,颗粒大小不一。虎斑乌贼墨汁颗粒平均表面积为  $9\,478.12\text{ nm}^2$ ,较中国枪乌贼的墨汁颗粒(平均表面积为  $7\,062.91\text{ nm}^2$ )大。

**关键词:**中国枪乌贼;虎斑乌贼;墨汁;原子力显微镜

**中图分类号:** Q36;Q946 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)07-0296-03

乌贼属软体动物门头足纲<sup>[1]</sup>。头足类的墨囊中含有墨汁,遇敌时可喷出墨汁麻痹天敌的视觉和嗅觉。不同种类乌贼墨汁的成分含量不同,一般含颗粒  $200\text{ mg/mL}$ 。其主要成分为黑色素和富含岩藻糖的多糖-肽复合体<sup>[2]</sup>。乌贼墨汁作为药材使用已有很长的历史,在唐代就有药典记载乌贼墨汁有治疗锥心痛的作用<sup>[3]</sup>。20 世纪 90 年代以来,由于乌贼墨汁具有高效抗肿瘤活性以及在增强机体免疫力方面的突出作用,受到了广泛关注<sup>[4-5]</sup>,在医学领域和食品领域都得到广泛的研究<sup>[6-11]</sup>。

原子力显微镜是一种能够提供各种类型样品的表面状态信息的纳米级高分辨率扫描探针显微镜,通过原子力显微扫描能够得到样品表面的三维形貌图像,并可对所得的三维形貌图像进行粗糙度、厚度计算及步宽、方框图或颗粒度分析。

目前,原子力显微术越来越多地被运用于生物分子和生物组织的精细结构<sup>[12]</sup>研究中,在纳米生物结构(主要包括细胞、生物大分子等)的表征与测量方面取得了令人瞩目的进展<sup>[12-16]</sup>。

本研究以中国枪乌贼和虎斑乌贼为供试材料,对其墨汁结构进行了原子力显微观察,对墨汁颗粒进行颗粒度分析,以期对乌贼墨汁的进一步基础研究及应用提供参考。

## 1 材料与方法

收稿日期:2013-04-04

基金项目:国家星火计划(编号:2012GA780020);广东省教育部产学研合作专项(编号:2011B090400274);广东省湛江市科技计划(编号:2011D0244);湛江师范学院重点资助项目(编号:ZL1010)。

作者简介:田 丽(1981—),女,四川泸州人,硕士,实验师,主要从事动物生态方面研究。E-mail:ty200399@163.com。

[6]任建梅,胡 荫,包艳红,等. 锦鸡儿治疗大鼠佐剂性关节炎机制的实验研究[J]. 中华医学研究杂志,2004(9):1624-1627.

[7]林丽艳,张慧云,何韶衡. IL-6 及其受体与炎症性疾病关系的新进展[J]. 中国热带医学,2008,8(4):680-682.

[8]万国仕,赵振中,钱一龙,等. 血清 SOCS-3、IL-6、TNF- $\alpha$  在溃疡性结肠炎患者中的变化及其相互关系[J]. 世界华人消化杂志,2011,19(32):3370-3373.

### 1.1 供试材料

供试材料为中国枪乌贼及虎斑乌贼,皆购自市场,由渔民在湛江海域捕捞所获。

仪器包括原子力显微镜(上海卓伦微纳米设备有限公司生产),型号为 Micronano ZL AFM-II。扫描模式为轻敲模式。

### 1.2 试验方法

解剖乌贼,取出墨囊,将其墨汁以乙醇稀释。将乙醇与墨汁混合液均匀平铺于新剥离的云母表面,室温下在空气中自然干燥。将制备好的样品置于 AFM 载物台上,利用倒置显微镜观察墨汁颗粒的分布情况。选取样品表面较为平整、墨汁颗粒分散较好的区域,在操作软件中选择轻敲模式进行扫描。

## 2 结果与分析

### 2.1 乌贼墨汁原子力扫描结果

对乌贼墨汁进行原子力显微扫描,结果见图 1 至图 4,扫描范围为  $1\,000\text{ nm}$ 。中国枪乌贼墨汁颗粒呈圆球形,紧密排列,大部分墨汁颗粒大小均等,间或有少量大颗粒墨汁(图 1、图 2)。而虎斑乌贼墨汁颗粒呈圆形及长条形,颗粒大小不一(图 3、图 4)。

### 2.2 乌贼墨汁颗粒度分析

由图 5 可见,中国枪乌贼墨汁颗粒平均表面积为  $7\,062.91\text{ nm}^2$ ,其中最大颗粒表面积为  $66\,151.18\text{ nm}^2$ ,最小颗粒表面积为  $152.60\text{ nm}^2$ ;颗粒平均直径为  $94.83\text{ nm}$ ,其中最大颗粒直径为  $290.22\text{ nm}$ ,最小颗粒直径为  $13.94\text{ nm}$ 。

由图 6 可见,虎斑乌贼墨汁平均表面积为  $9\,478.12\text{ nm}^2$ ,其中最大颗粒表面积为  $50\,326.78\text{ nm}^2$ ,最小颗粒表面积为  $152.60\text{ nm}^2$ ;颗粒平均直径为  $109.85\text{ nm}$ ,其中最大颗粒直径为  $253.14\text{ nm}$ ,最小颗粒直径为  $13.94\text{ nm}$ 。

[9]Ku C S, Mun S P. Antioxidant activities of ethanol extracts from seeds in fresh Bokunja (*Rubus coreanus* Miq.) and wine processing waste [J]. Bioresource Technology, 2008, 99(10):4503-4509.

[10]范 恒,邱明义,梅家俊,等. 理肠四方对溃疡性结肠炎大鼠组织细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、IL-10 的影响[J]. 中医药学刊,2004,22(9):1624-1627.

[11]李龙华,张金良. 中医药保护胃黏膜损伤的研究进展[J]. 山西中医学院学报,2008,9(4):60-62.