

# 红外线照射对萎缩性胃炎大鼠胃黏膜表皮生长因子及其受体表达的影响

邵雪辉 王建国 韩志宏 胡少龙 张晓丽 高秀芳 杨跃平

**【摘要】 目的** 研究红外线照射对实验性慢性萎缩性胃炎模型大鼠胃黏膜细胞表皮生长因子(EGF)及其受体 EGFR 表达的影响,并探讨其作用机制。**方法** 采用随机数字表法将清洁级健康成年雄性 Wistar 大鼠 40 只分成正常对照组、模型对照组及红外线组,采用多因素综合法将模型对照组及红外线组大鼠制成慢性萎缩性胃炎动物模型,制模方法包括将 30%酒精和 2%水杨酸钠制成混合溶液,连续灌胃 8 周,每日 1 次,每次 2 ml,同时结合劳累(跑步)、饥饿失常(禁食)等多因素干预。待制模完成后,红外线组大鼠则给予红外线照射,每日照射 1 次,每次 10 min。于红外线连续照射 20 d 后将各组大鼠处死,采用免疫组织化学法检测各组大鼠胃黏膜 EGF 及 EGFR 表达情况。**结果** 正常对照组胃黏膜中 EGF、EGFR 表达[其阳性染色评分分别为(2.10±0.65)分、(4.20±2.24)分]较弱,模型对照组 EGF、EGFR 表达[其阳性染色评分分别为(4.91±2.58)分、(6.75±2.63)分]较正常对照组明显增强( $P<0.05$ );红外线组 EGF、EGFR 表达[其阳性染色评分分别为(2.75±1.01)分、(4.75±1.66)分]较模型对照组明显减弱( $P<0.05$ ),与正常对照组间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** 红外线照射能抑制慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜中 EGF、EGFR 过度表达,在胃黏膜病变愈合过程中能发挥保护胃黏膜、促进组织修复等作用。

**【关键词】** 红外线; 慢性萎缩性胃炎; 表皮生长因子; 表皮生长因子受体; 大鼠  
**基金项目:**河北省科技支撑项目(14277778D)

**The effect of infrared radiation on the expression of epidermal growth factor and its receptor in atrophic gastritis** Shao Xuehui\*, Wang Jianguo, Han Zhihong, Hu Shaolong, Zhang Xiaoli, Gao Xiufang, Yang Yueping.  
\* Department of Medical Physics, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China

Corresponding author: Yang Yueping, Email: yypyy@eyou.com

**【Abstract】 Objective** To study the effect of infrared irradiation on the expression of epidermal growth factor (EGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in the gastric mucosa of rats with chronic atrophic gastritis (CAG), and to explore its mechanism. **Methods** Forty healthy adult and clean Wistar male rats were randomized into a normal control group (N group), a model control group (M group) and an infrared group (I group) using a random number table. CAG was induced in the rats of the M and I groups by intra-gastric infusion of 2 ml of a mixture of 30% alcohol and 2% sodium salicylate once every day for 8 weeks. This was combined with compulsory running and irregular fasting as pathogenic factors. After the CAG model had been established, the rats in the I group were given infrared irradiation for 10 min once every day for 20 days. Then all of the rats were sacrificed and the expression of EGF and EGFR was observed using immunohistochemistry. **Results** The positive staining scores for EGF and EGFR of the M group were 4.91±2.58 and 6.75±2.63, significantly higher than those of the N group (2.10±0.65 and 4.20±2.24 respectively). Those of the I group were 2.75±1.01 and 4.75±1.66, significantly lower than those of the M group, though not significantly different from the N group's averages. **Conclusion** Infrared irradiation can inhibit over-expression of EGF and EGFR in the gastric mucosa of rats with chronic atrophic gastritis. This should protect the gastric mucosa and promote tissue repair and healing.

**【Key words】** Infrared irradiation; Chronic atrophic gastritis; Epidermal growth factor; Epidermal growth factor receptor

**Fund program:** Hebei Science and Technology Support Program (grant 14277778D)

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是一种由多病因综合作用而诱发的慢性胃黏膜炎症病变,具有反复发作、进展缓慢、难以治愈等特点,约 5%~10%患者可能进一步发生癌变。目前临床针对 CAG 的治疗方法较多,但疗效均不够确切,因此亟待改进治疗手段。表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)及其受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)是参与胃黏膜自身修复及防御的重要因子,它们对胃黏膜细胞生长、增殖及分化均具有重要作用。本研究通过制作 CAG 大鼠模型,并对其进行红外线(infrared)干预,检测正常大鼠、CAG 模型大鼠经红外线照射前、后其胃黏膜组织中 EGF 及 EGFR 表达变化情况,探讨红外线对慢性胃炎大鼠胃黏膜细胞的影响,为进一步指导红外线临床应用提供理论基础。

## 材料与方 法

### 一、主要实验材料及仪器

本研究实验动物为健康雄性 Wistar 大鼠,由北京首都医科大学实验动物部提供,动物合格证号为 SCXK(京)2010-0006;主要实验试剂包括水杨酸钠 AR 分析纯(上海国药集团,批号:20140612)、EGF、EGFR 兔抗鼠抗体、SP 试剂盒、DAB 显色剂等(均购自武汉博士德生物工程有限公司);主要实验仪器为重庆产 L-I-3 型红外线治疗器、日本 Olympus BH-2 型自动照相显微镜、德国 Leica RM2235 型石蜡组织切片机等。

### 二、分组及处理

共选取清洁级健康 8 周龄成年雄性 Wistar 大鼠 40 只,每笼 5 只,体质量 180~230 g。上述大鼠经常规标准颗粒饲料饲养 1 周后,采用随机数字表法将其分成正常对照组(10 只)及灌胃组(30 只),其中正常对照组大鼠不给予任何特殊处理,普通饲料饲养,其余大鼠则制成 CAG 动物模型。制模方法参见文献[1],将 2%水杨酸钠和 30%酒精制成混合溶液实施灌胃,每日 1 次,每次 2 ml,并辅以劳累(在转轮中跑动,每日 1 次,每次持续 10 min)、饥饿失常(单日禁食,双日足量喂食)等多因素干预持续 8 周。造模过程中因灌胃操作不当,有 4 只大鼠死亡。待造模操作结束后,从 CAG 模型动物中随机取 2 只大鼠处死,取胃作病理组织学检查以判断制模是否成功,如发现大鼠胃黏膜出现黏膜层变薄、腺体萎缩、数量减少、炎性细胞浸润、肠上皮化生等典型 CAG 表现,则认为制模成功。从第 10 周开始,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组,每组 12 只。红外线组大鼠给予红外线照射,选用 L-I-3

型红外线治疗仪(电源电压 220 V,功率 200 W),该仪器发出的红外线波长为 2~25  $\mu\text{m}$ ,于红外线照射前将大鼠胃部皮毛剃除,然后垂直照射大鼠胃部体表投影区,灯距约 50 cm,每日照射 1 次,每次照射 10 min,连续照射 20 d。

### 三、标本制作

各组大鼠在实验进行 12 周后禁食、不禁水持续 24 h,然后用乙醚麻醉后断头处死并立即剖腹,暴露全胃,分别在距贲门和幽门 1.5 cm 处离断胃体并取出全胃,沿胃大弯切开胃腔,去除胃内容物,然后平行于胃小弯取前后胃窦部及部分胃体胃壁约  $3 \times 10 \text{ mm}^2$ 组织,采用 4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,连续切片,进行病理组织学检测和免疫组织化学染色。

### 四、免疫组织化学染色

采用链酶亲和素-生物素-过氧化物酶复合物(streptavidin biotin-peroxidase complex method, SABC)法检测大鼠胃黏膜中 EGF、EGFR 蛋白表达状况,免疫组织化学染色步骤参照试剂盒说明书,以已知阳性切片作为阳性对照,以磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)代替第一和第二抗体作为阴性对照。

EGF 及 EGFR 阳性判定标准如下:以视野中出现黄色颗粒为阳性染色,根据细胞染色强度及阳性细胞百分比进行半定量分级评分<sup>[2-3]</sup>。先根据阳性染色细胞百分率 A 计分:如阳性细胞百分率 <5% 为 0 分,5%~25% 为 1 分,26%~50% 为 2 分,51%~75% 为 3 分,高于 75% 为 4 分;再根据显色深浅 B 计分:无着色或与背景一致的无染色或染色浅黄为 0 分,黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分,然后将 A、B 乘积数据纳入统计分析。

### 五、统计学分析

本研究所得计量数据以  $(\bar{x} \pm s)$  表示,采用 SPSS 16.0 版统计学软件包进行数据处理,多样本均数比较采用方差分析,组间多重比较采用最小显著差异法,  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 结 果

通过免疫组化染色发现,EGF 阳性细胞呈棕黄色,主要位于黏液细胞及部分壁细胞胞浆中,个别腺腔中也有阳性表达。进一步观察发现,正常对照组大鼠胃黏膜中 EGF 表达较少(图 1);模型对照组大鼠 EGF 则表达较多(图 2),与正常对照组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );红外线组其 EGF 表达明显减少(图 3),与模型对照组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),与正常对照组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。EGFR 阳性染色主要位于胞浆及胞膜上,有个别棕黄色颗粒

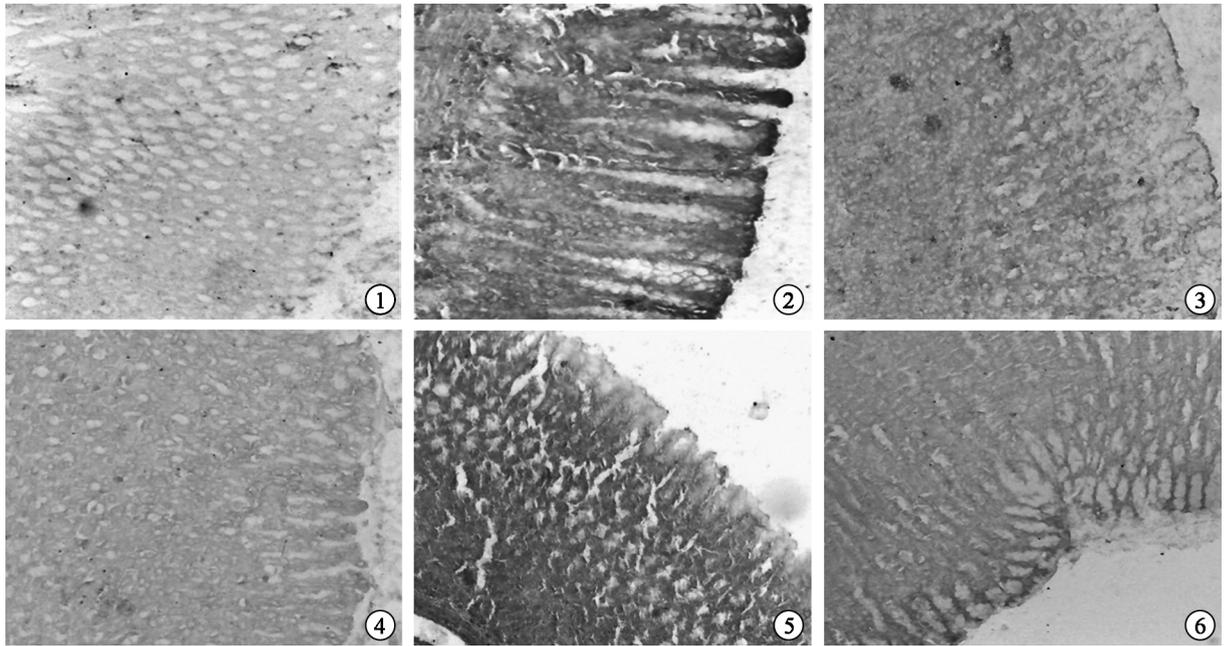


图 1 正常对照组胃黏膜 EGF 表达(免疫组化染色,×200) 图 2 模型对照组胃黏膜 EGF 表达(免疫组化染色,×200) 图 3 红外线组胃黏膜 EGF 表达(免疫组化染色,×200) 图 4 正常对照组胃黏膜 EGFR 表达(免疫组化染色,×200) 图 5 模型对照组胃黏膜 EGFR 表达(免疫组化染色,×200) 图 6 红外线组胃黏膜 EGFR 表达(免疫组化染色,×200)

位于胞核中。进一步观察发现,正常对照组大鼠胃黏膜中 EGFR 表达较少(图 4),模型对照组大鼠 EGFR 表达(图 5)较正常对照组明显增多( $P<0.05$ );红外线组大鼠胃黏膜中 EGFR 表达(图 6)则较模型对照组明显减少( $P<0.05$ ),与正常对照组间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。各组大鼠胃黏膜中 EGF 及 EGFR 阳性表达情况详见表 1。

表 1 各组大鼠胃黏膜中 EGF、EGFR 阳性表达情况比较 (分,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	只数	EGF 阳性表达评分	EGFR 阳性表达评分
正常对照组	10	2.10±0.65 <sup>a</sup>	4.20±2.24 <sup>a</sup>
模型对照组	12	4.91±2.58	6.75±2.63
红外线组	12	2.75±1.01 <sup>a</sup>	4.75±1.66 <sup>a</sup>

注:与模型对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$

### 讨 论

红外线是波长为 760 nm ~ 1 mm 的电磁波,介于微波与可见光之间。当红外线照射机体时的频率与细胞内、外水分子运动频率一致时能引起共振效应,其能量被组织吸收并产生热效应,使皮下深层组织温度升高、分子动能增加、水分子活化、生化反应加速,从而产生一系列生物学效应,如扩张血管、改善局部血液循环、增强机体免疫力、抗炎、解痉止痛等<sup>[4-7]</sup>。目前临床多采用红外线辅助治疗各种慢性炎症性疾病,并被证实具有一定疗效<sup>[8-10]</sup>。本课题组前期研究采用 2% 水杨酸钠和 30% 酒精制成混合溶液对大鼠进行灌胃,同时辅

以劳累、饥饱无度等手段制作大鼠 CAG 模型,并采用红外线照射 CAG 模型大鼠胃部位体表投影区,发现照射后其胃黏膜较模型对照组明显变厚,炎性细胞数量减少,充血水肿减轻,胃酸分泌、壁细胞形态及数目均趋于正常,提示红外线干预对 CAG 模型大鼠具有治疗作用<sup>[11]</sup>。

EGF 是一种上皮生长因子,主要由胰腺、颌下腺及十二指肠勃氏腺等分泌,是胃黏膜损伤修复过程中最重要的肽类物质之一,与 EGFR 上调密切相关,参与机体胃酸分泌及细胞增殖、分化,具有抑制胃酸分泌、促进上皮增殖、保护细胞等作用<sup>[12-13]</sup>。EGFR 是表达在正常上皮、间质组织中的一类蛋白受体,广泛分布于各类上皮细胞细胞膜中,与 EGF 具有高度亲和性。当 EGFR 与其配体 EGF 结合后,可激活酪氨酸激酶,调节细胞分裂、分化和增殖,不仅能够抑制胃酸分泌,而且还能增加胃黏膜血流量,在胃黏膜保护及细胞修复中发挥重要作用,被认为是调节损伤愈合的中介因子<sup>[12,14]</sup>。同时有研究指出,适量水平的 EGFR 有利于组织修复及细胞再生,但 EGFR 过度表达则与细胞癌变具有一定联系<sup>[14]</sup>,因此要科学控制其含量水平,尽可能使其在促进黏膜组织修复同时,又不会因细胞增殖过度而失去控制。

CAG 是由多种因素诱发的胃黏膜慢性炎性病变,与胃癌发生关系密切,积极治疗 CAG 对预防胃癌发生具有重要作用。近年来多数学者认为 CAG 的形成及恢复过程是在环境、神经、内分泌、免疫调节等多方面、

多因素综合作用下完成的<sup>[12]</sup>,胃黏膜修复及防御在 CAG 发生、发展及愈合中的作用非常重要。本研究结果显示,正常大鼠胃黏膜中 EGF 及其受体 EGFR 表达较少,通过干预将大鼠制成 CAG 动物模型后,发现其胃黏膜中 EGF 及其受体 EGFR 均呈现高水平表达( $P < 0.05$ ),与临床上 CAG 患者检查结果类似<sup>[15]</sup>,提示 EGF 和 EGFR 均可能参与了 CAG 的发生、进展过程。目前研究认为,高含量 EGF 及 EGFR 可能会诱导萎缩性胃炎癌变,因此在防治 CAG 过程中,应对 EGF 及 EGFR 进行一定程度的阻断干预。本实验采用红外线对 CAG 大鼠模型进行照射干预,发现红外线照射能显著降低实验性 CAG 大鼠胃黏膜中 EGF 及 EGFR 表达,从而能在一定程度上预防胃黏膜细胞因反复炎性刺激而增殖失控,至于其确切作用机制还有待后续研究进一步探讨。

综上所述,本研究结果显示,红外线照射 CAG 模型大鼠具有调控免疫、减轻炎性反应等功能,能显著下调 CAG 大鼠胃黏膜中 EGF 及 EGFR 表达,从而保护胃黏膜、促进组织细胞修复,值得临床进一步开展相关研究。

### 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[J]. 张家口医学院学报, 2002, 19(2): 11-13. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1396.2002.02.005.
- [2] 许良中,杨文涛.免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. 中国癌症杂志, 1996, 6(4): 229. DOI: 10.1109/TVLSI.2008.2000259.
- [3] 朱莹莹,史淋峰,倪文澎,等.仁术健胃颗粒干预脾气虚证 CAG 大鼠对 COX-2 和 EGFR 表达的实验研究[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(2): 236-238. DOI: 10.13193/j.archctm.2013.02.14.zhuxx.042.
- [4] 张秋霞,杨茜,武传颖,等.双料喉风散喷剂联合远红外线照射治疗

- 反复发作的女性外阴溃疡的临床效果观察[J]. 山东医药, 2015, 55(44): 85-86. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2015.44.034.
- [5] 李国君,黄治官,张晓辉,等.远红外线干预对大鼠创面愈合期 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1 的影响[J]. 辽宁医学院学报, 2012, 33(4): 292-294. DOI: 10.3969/j.issn.1674-0424.2012.04.002.
- [6] 李娟.红外线照射联合硫酸镁湿热敷消除产后痔疮水肿疼痛的护理效果[J]. 临床合理用药, 2015, 8(2): 164-165. DOI: 10.15887/j.cnki.13-1389/r.2015.06.108.
- [7] 吕晓宁,李鸣皋.远红外线生物学效应及其在组织修复中的临床应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(46): 9147-9150. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8225.2009.46.032.
- [8] 万骐,高扬.环刺髌骨周围配合红外线治疗膝关节骨关节炎临床观察[J]. 湖北中医杂志, 2015, 37(3): 62-63.
- [9] 温俊,郑春兰,李顺英.红外线在医学中的应用[J]. 国外医学·放射医学核医学分册, 2004, 28(5): 237-240. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2004.05.014.
- [10] 尹长春,汪敏.孟鲁司特结合温针及红外线照射治疗上呼吸道感染后顽固性咳嗽的临床研究[J]. 激光杂志, 2015, 36(10): 165-167. DOI: 10.14016/j.cnki.jgzz.2015.10.165.
- [11] 邵雪辉,王建国,杨跃平,等.红外线对慢性萎缩性胃炎大鼠治疗作用的研究[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(4): 775-778. DOI: 10.3321/j.issn:1673-8225.2008.04.044.
- [12] 朱永苹,杨秀静,林寿宁.慢性萎缩性胃炎与表皮生长因子及其受体相关性的中医药研究概况[J]. 医学综述, 2013, 19(22): 4068-4070. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2013.22.013.
- [13] 杨金娜,李欣欣,马晓慧,等.慢性胃炎模型建立方法及其检测指标概述[J]. 医学综述, 2014, 20(15): 2788-2790. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2014.15.038.
- [14] 雷丽,麻春杰,杨喜平.胃和冲剂 II 号对慢性萎缩性胃炎大鼠 EGF 和 EGFR 表达的影响[J]. 世界中医药, 2014, 9(1): 81-83. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2014.01.029.
- [15] 颜莉,应丽园,葛银燕.摩罗丹对慢性萎缩性胃炎患者表皮生长因子的影响以及临床疗效分析[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2015, 23(1): 21-24. DOI: 10.3969/j.issn.1671-038X.2015.01.07.

(修回日期:2015-11-23)

(本文编辑:易浩)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 本刊对论文中实验动物描述的要求

根据国家科学技术部 1988 年颁布的《实验动物管理条例》和卫生部 1998 年颁布的《医学实验动物管理实施细则》,《中华物理医学与康复杂志》对论文中有关实验动物的描述,要求写清楚以下事项:①品种、品系及亚系的确切名称;②遗传背景或其来源;③微生物检测状况;④性别、年龄、体重;⑤质量等级及合格证书编号;⑥饲养环境和实验环境;⑦健康状况;⑧对实验动物的处理方式。

医学实验动物分为四级:一级为普通级;二级为清洁级;三级为无特定病原体(SPF)级;四级为无菌级。卫生部课题及研究生毕业论文等科研实验必须应用二级以上的实验动物。