

广西巴马火麻仁及其成分亚麻酸对幽门螺杆菌的抑制作用研究^①

周岐江¹, 王露瑶¹, 黄衍强^{2②}, 葛斌¹, 舒清峰¹, 陈端凯¹, 单云龙¹

(1. 右江民族医学院, 广西 百色 533000;

2. 南京医科大学研究生院, 江苏 南京 210029)

摘要: **目的** 探讨广西巴马火麻仁及其主要成分亚麻酸对幽门螺杆菌的抑制作用, 解释广西巴马人群幽门螺杆菌感染率高、发病率低的原因, 为防治幽门螺杆菌感染提供实验参考。 **方法** 通过琼脂稀释法和液体稀释法检测广西巴马火麻仁和亚麻酸对敏感性和耐药性幽门螺杆菌的最低抑菌浓度和杀菌浓度, 用黄连素作阳性对照, PBS液作阴性对照。 **结果** 广西巴马火麻仁和亚麻酸对敏感性和耐药性幽门螺杆菌的最低抑菌浓度分别为 8~16 mg/ml、0.128 mg/ml, 最低杀菌浓度分别为 128 mg/ml、0.256 mg/ml; 黄连素的最低抑菌浓度为 8~16 mg/ml, 最低杀菌浓度为 64 mg/ml。 **结论** 广西巴马火麻仁对幽门螺杆菌有一定的抑制作用, 亚麻酸具有明显的抑制作用。

关键词: 巴马; 火麻仁; 亚麻酸; 幽门螺杆菌; 抑制作用

中图分类号: R285 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2017)06-0429-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2017.06.001

The inhibitory effects of Guangxi Bama hemp seed and its component of linolenic acid on *Helicobacter pylori*

Zhou Qijiang¹, Wang Luyao¹, Huang Yanqiang², Ge Bin¹, Shu Qingfeng¹,
Chen Duankai¹, Shan Yunlong¹

(1. Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;

2. Graduate School of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu, China)

Abstract: **Objective** To investigate the inhibitory effects of Guangxi Bama hemp seed and its major component of linolenic acid on *Helicobacter pylori*, to explain the reasons why Guangxi Bama people had high *Helicobacter pylori* infection rate but low incidence rate of *Helicobacter pylori*-related diseases, and to provide experimental references for the prevention and treatment of *Helicobacter pylori* infection. **Methods** The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of Guangxi Bama hemp seed and its major component of linolenic acid for drug-sensitive and drug-resistant *Helicobacter pylori* were measured by agar dilution method and liquid dilution method, with berberine as positive control, and PBS as negative control. **Results** The MIC of Guangxi Bama hemp seed and linolenic acid for drug-sensitive and drug-resistant *Helicobacter pylori* was 8~16 mg/ml, 0.128mg/ml, and the MBC was 128 mg/ml, 0.256 mg/ml, respectively. The MIC of berberine for *Helicobacter pylori* was 8~16 mg/ml, and the MBC was 64 mg/ml. **Conclusion** Guangxi Bama hemp seed has an inhibitory effect on *Helicobacter pylori*, and the inhibitory effect of linolenic acid was more obvious.

Key words: Bama; hemp seed; linolenic acid; *Helicobacter pylori*; inhibition effect

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, 简称 Hp)与人体胃、十二指肠疾病密切相关,是慢性活动性胃炎、十

二指肠球部溃疡的重要致病因素,与胃淋巴瘤的发生、发展有一定的关系,是胃癌演变的始动因子^[1-2]。目前

① 基金项目:2014 年国家自然科学基金项目(31460023)

② 通信作者, E-mail:hyq77615@163.com

Hp 在全世界感染率超过 50%，一些不发达地区 Hp 感染率可超过 80%^[3]，滇黔桂公务员阳性率最高为 57.9%^[4]。各地区流行的菌株毒力不同，人群感染 Hp 发病率也存在很大的差异。广西壮族自治区巴马瑶族自治县是世界五大长寿之乡中百岁老人分布率最高的地区，被誉为“世界长寿之乡·中国人瑞圣地”^[5]，该县 90 岁以上老年人感染 Hp 的阳性率高达 66.7%，但是这些人群得消化系统疾病却很少^[6]，是什么原因引起该地区人群 Hp 高感染、低发病，至今尚未有人解释清楚。于是课题组从该地区人群经常食用的火麻仁展开探索，研究火麻仁及其成分亚麻酸对 Hp 的抑制作用，以期解释其感染率高、发病率低的原因提供实验和理论参考，具体研究如下：

1 材料和方法

1.1 材料 在巴马县人民医院胃镜室取患有胃炎、消化性溃疡的患者胃黏膜分离培养 Hp，并经尿素酶试验、氧化酶试验、过氧化氢酶试验和革兰氏染色确认分离培养物为 Hp，随机抽取 5 株耐药菌株和 5 株敏感菌株，标准菌株 26695 由原中国幽门螺杆菌保藏中心提供。火麻仁购自广西巴马百岁源养生健康食品有限公司，亚麻酸购自萨恩化学技术(上海)有限公司(EJ170020)，黄连素购自陕西泰克生物技术有限公司(批号:20161105)。

1.2 方法

1.2.1 琼脂稀释法检测火麻仁等抑菌效力 ①含药琼脂平板制备:将已倍比稀释的不同浓度的火麻仁、亚麻酸、黄连素分别加入 24 孔板，哥伦比亚培养基在 50℃~55℃ 恒温器中保持液态，按比例加入培养基，使培养基分别和火麻仁、黄连素混合后，两种培养液含药量均分别是 64 mg/ml、32 mg/ml、16 mg/ml、8 mg/ml、4 mg/ml、2 mg/ml、1 mg/ml，和亚麻酸混合后含药量分别是 0.512 mg/ml、0.256 mg/ml、0.128 mg/ml、0.064 mg/ml、0.032 mg/ml、0.016 mg/ml、0.008 mg/ml，药物和培养基总量为 1 ml。②接种物制备与接种:制备浓度相当于 0.5 麦氏标准比浊管的菌悬液，再 1:10 稀释，取 1 μl 接种于孔琼脂表面，菌数约为 10⁴ CFU。接种好后孵育 3 d，观察结果。③结果判断:以抑制细菌生长的最低药物浓度为最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。在孔琼脂表面上可见轻微细菌生长，与生长对照比较抑制 90% 以上细菌生长的最低药物浓度作为终点浓度。

1.2.2 液体稀释法检测火麻仁等杀菌效果 ①含药液体培养基制备:将不同浓度的火麻仁、亚麻酸、黄连素分别加入脑心浸液培养基，使培养基分别和火麻仁、黄连素混合后含药量均分别是 512 mg/ml、256 mg/ml、128 mg/ml、64 mg/ml、32 mg/ml，和亚麻酸混合

后含药量分别是 2.048 mg/ml、1.024 mg/ml、0.512 mg/ml、0.256 mg/ml、0.128 mg/ml。②接种菌液制备:将浓度相当于 0.5 麦氏标准比浊管的菌悬液，调整浓度，使脑心浸液培养基中菌数约为 10⁶ CFU/ml，接种好后培养 12 h。③稀释涂布和结果判断:将药物作用后的菌液按照不同的倍数稀释，取 100 μl 涂布在哥伦比亚培养基平板，孵育 4 d 计算菌落数，以菌落数与 PBS 液组对比减少 99.9% 为杀菌浓度。

2 结果

2.1 火麻仁和亚麻酸对 Hp 抑制作用 火麻仁对 11 个 Hp 菌株的 MIC 范围为 8~16 mg/ml，与黄连素效果相当，亚麻酸抑菌效果明显。见表 1。

表 1 火麻仁等对 Hp 菌株的 MIC 结果 (mg/ml)

菌株	火麻仁	亚麻酸	黄连素	PBS
敏感菌株 1	8	0.128	8	—
敏感菌株 2	8	0.128	16	—
敏感菌株 3	16	0.128	8	—
敏感菌株 4	16	0.128	8	—
敏感菌株 5	8	0.128	8	—
耐药菌株 6	8	0.128	8	—
耐药菌株 7	16	0.128	8	—
耐药菌株 8	16	0.128	16	—
耐药菌株 9	8	0.128	8	—
耐药菌株 10	16	0.128	8	—
26695 菌株	8	0.128	8	—

注:“—”表示无作用

2.2 火麻仁和亚麻酸对 Hp 杀菌作用 火麻仁对 11 个 Hp 菌株的最低杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)为 128 mg/ml，与黄连素对比效果略差，亚麻酸杀菌效果明显。见表 2。

表 2 火麻仁等对 Hp 菌株的 MBC 结果 (mg/ml)

菌株	火麻仁	亚麻酸	黄连素	PBS
敏感菌株 1	128	0.256	64	—
敏感菌株 2	128	0.256	64	—
敏感菌株 3	128	0.256	64	—
敏感菌株 4	128	0.256	64	—
敏感菌株 5	128	0.256	64	—
耐药菌株 6	128	0.256	64	—
耐药菌株 7	128	0.256	64	—
耐药菌株 8	128	0.256	64	—
耐药菌株 9	128	0.256	64	—
耐药菌株 10	128	0.256	64	—
26695 菌株	128	0.256	64	—

注:“—”表示无作用

3 讨论

幽门螺杆菌是消化性疾病的重要致病因素,是致癌因子,不同地区幽门螺杆菌基因具有多态性,其感染率和发病率有很大的差异^[7-9]。在非洲、印度等地区, Hp 感染率很高,胃癌发病率却很低,被称为“非洲之谜”。1998年11月广西医科大学的唐国都教授等对巴马县农村壮族老人进行了 Hp 感染的流行病学调查,在有90岁以上长寿老人居住较密集的4个自然村用分层抽样的方法抽取壮族老人171人进行检查,结果显示90岁以上老年人感染 Hp 的阳性率高达66.7%,但是这些人群得消化系统疾病却很少,胃癌的发病率为0^[6]。广西巴马火麻仁,是长寿三宝中的第一宝,被医学界确认为主要的长寿绿色食品之一,据日本生物考察团研究表明,火麻仁富含不饱和脂肪酸、蛋白质、卵磷脂、油酸、亚麻酸、亚纳酸等,其脂肪酸中含亚油酸和亚麻酸共达76.4%^[10-11]。

本课题组对巴马县不同人群的饮食习惯等进行调研,发现大部分人有食用火麻仁的习惯;并通过唾液检测了部分人群幽门螺杆菌感染情况,发现有食用火麻仁习惯的人群幽门螺杆菌检出率和分离培养阳性率较低(该内容在课题组另外的论文中有报道)。因此课题组猜测火麻仁对幽门螺杆菌具有一定的抑制作用,并且是通过其主要成分亚麻酸发挥抑菌作用。课题组通过本实验证明了该猜想,说明巴马民众在食用火麻仁或火麻仁的加工食品过程中,火麻仁的主要成分亚麻酸对幽门螺杆菌产生了抑制甚至杀灭作用,从而降低或清除体内的幽门螺杆菌,使幽门螺杆菌没有达到致病的量,因而发生相关的消化性疾病比较少。但是本实验只是从火麻仁及其成分亚麻酸抑制幽门螺杆菌生长层面阐述了巴马地区人群幽门螺杆菌高感染、低发病的原因,尚不够全面,是否与其它的食物有关,或是与火麻仁衰减幽门螺杆菌毒力从而降低致病性有关等,还未有报道,因此要全面阐释其原因,尚要开展更多的实验研究。

参考文献:

- [1] Ranjbar R, Behzadi P, Farshad S. Advances in diagnosis and treatment of Helicobacter pylori infection[J]. Acta Microbiol Immunol Hung, 2017, 64(3): 273-292.
- [2] 李凡, 徐志凯. 医学微生物学[M]. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [3] Di Giulio M, Di Campi E, Di Bartolomeo S, et al. In vitro antimicrobial susceptibility of Helicobacter pylori to nine antibiotics currently used in Central Italy[J]. Scand J Gastroenterol, 2016, 51(3): 263-269.
- [4] 曹聪, 周喜汉, 胡高裕, 等. 滇黔桂交界地区幽门螺杆菌感染现状分析[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(11): 1864-1867.
- [5] 秦俊法. 中国的百岁老人研究 Ⅲ. 100岁老人聚居区——中国长寿之乡的成因和评定[J]. 广东微量元素科学, 2007, 14(11): 23-39.
- [6] 唐国都, 唐星火, 陈振依, 等. 广西巴马长寿地区壮族老人幽门螺杆菌感染状况[J]. 广西医科大学学报, 1999, 16(6): 881-882.
- [7] Bridge DR, Merrell DS. Polymorphism in the Helicobacter pylori CagA and VacA toxins and disease[J]. Gut Microbes, 2013, 4(2): 101-117.
- [8] Wei GC, Chen J, Liu AY, et al. Prevalence of Helicobacter pylori vacA, cagA and iceA genotypes and correlation with clinical outcome[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2012, 4(6): 1039-1044.
- [9] Menheniott TR, O'Connor L, Chionh YT, et al. Loss of gastrophilin-2 drives premalignant gastric inflammation and tumor progression[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2016, 126(4): 1383-1400.
- [10] 肖娟娟, 叶隍, 马大文. 巴马火麻的特征与用途[J]. 绿色科技, 2012(3): 145-146.
- [11] 覃世辉, 陈小梦, 覃勇荣, 等. 巴马民间火麻汤中的油脂含量测定与制作工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(3): 78-80.

收稿日期: 2017-12-14