

中图分类号: R932; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2025)11-0031-07
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.11.008



清热化湿通络方对慢性萎缩性胃炎癌前病变模型大鼠的保护作用及其作用机制*

汤立华¹, 张亚秋², 毕海娇¹, 张超³, 侯雅娟⁴

(1. 唐山南湖医院, 河北 唐山 063000; 2. 河北省中医院, 河北 石家庄 050013; 3. 河北省丰南区中医医院, 河北 唐山 063000; 4. 河北省迁安市老干部局医院, 河北 唐山 063000)

摘要:目的 探讨清热化湿通络方对慢性萎缩性胃炎(CAG)癌前病变模型大鼠的保护作用及其作用机制。方法 随机选取8只大鼠正常喂养, 设为空白对照组(A组); 其余46只大鼠通过N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)复合法复制CAG癌前病变大鼠模型, 并将40只建模成功的大鼠随机分为模型对照组(B组), 阳性药组(C组, 400 mg/kg 胃复春胶囊), 清热化湿通络方低、中、高剂量组(D₁组、D₂组、D₃组, 100, 200, 400 mg/kg), 各8只。C组、D₁组、D₂组、D₃组大鼠分别灌胃相应药物, A组、B组大鼠均灌胃10 mL 0.1% 氯化钠溶液, 均连续给药12周。采用苏木精-伊红染色法分析病理组织损伤, 并评估组织学损伤指数(HDI); 采用全自动生化分析仪检测胃功能相关指标水平; 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测炎症因子水平; 采用免疫印迹(Western blot)法检测信号通路相关蛋白表达水平。结果 与B组比较, C组、D₂组、D₃组大鼠胃组织萎缩形态和胃黏膜病理损伤均改善; 血清胃蛋白酶原I(PG I)、胃蛋白酶原II(PG II)和胃泌素(GAS)水平均显著升高($P < 0.05$); HDI评分及胃黏膜组织中白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素1 β (IL-1 β)、前列腺素E₂(PGE₂)水平和磷酸化p65(p-p65)/p65、磷酸化Kappa B抑制蛋白(p-IkB)/IkB、磷酸化磷脂酰肌醇-3-激酶(p-PI3K)/PI3K、磷酸化丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(p-Akt)/Akt蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$)。结论 清热化湿通络方能减轻CAG癌前病变模型大鼠的胃黏膜损伤和炎症反应, 改善胃功能, 可能是通过抑制PI3K/Akt/核因子 κ B(NF- κ B)信号通路的活化而实现。

关键词: 清热化湿通络方; 慢性萎缩性胃炎; 癌前病变; 炎症反应; 磷脂酰肌醇-3-激酶/丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶/核因子 κ B信号通路

Protective Effect and Mechanism of Qingre Huashi Tongluo Formula on Chronic Atrophic Gastritis Precancerous Lesion Model Rats

TANG Lihua¹, ZHANG Yaqiu², BI Haijiao¹, ZHANG Chao³, HOU Yajuan⁴

(1. Tangshan Nanhu Hospital, Tangshan, Hebei, China 063000; 2. Hebei Provincial Traditional Chinese Medicine Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China 050013; 3. Fengnan District Traditional Chinese Medicine Hospital, Tangshan, Hebei, China 063000; 4. Qian'an Elderly Cadres Bureau Hospital, Tangshan, Hebei, China 063000)

Abstract: Objective To investigate the protective effect and mechanism of Qingre Huashi Tongluo Formula on chronic atrophic gastritis (CAG) precancerous lesion model rats. **Methods** Eight rats were randomly selected for normal feeding and set as the blank control group (group A). The other 46 rats were used to replicate the CAG precancerous lesion rat model by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) complex method, and the 40 successfully modeled rats were randomly divided into the model control group (group B), the positive drug group (group C, 400 mg/kg Weifuchun Capsules), and low-, medium-, and high-dose groups of Qingre Huashi Tongluo Formula (groups D₁, D₂, D₃, 100, 200, 400 mg/kg), with eight rats in each group. Rats in groups C, D₁, D₂, and D₃ were orally administered with corresponding drugs, while rats in groups A and B were orally administered with 10 mL of 0.1% sodium chloride solution for 12 weeks. Hematoxylin-eosin staining method was used to analyze pathological tissue damage and evaluate the histological damage index (HDI). The fully automated biochemical analyzer was used to detect the levels of gastric function-related indicators. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of inflammatory factors. Western blot was used to detect the expression levels of signaling pathway-related proteins. **Results** Compared with those in group B, the atrophy morphology of gastric tissue and pathological damage of gastric mucosa in groups C, D₂, and D₃ improved; the levels of serum pepsinogen I (PG I), pepsinogen II (PG II), and gastrin (GAS) in groups C, D₂, and D₃ significantly increased ($P < 0.05$); the HDI score and levels of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), prostaglandin E₂ (PGE₂), and the expression levels of phosphorylated p-65 (p-p65)/p65, phosphorylated Kappa B inhibitory protein (p-IkB)/IkB, phosphorylated phosphatidylinositol 3-kinase (p-PI3K)/PI3K, and phosphorylated serine-threonine protein kinase (p-Akt)/Akt proteins in gastric mucosal tissue in groups C, D₂, and

*基金项目: 河北省中医药管理局中医药类科学研究课题计划项目[2024237]。

第一作者: 汤立华, 女, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向为中医内科学, (电子邮箱) teysles6761@21cn.com。

D₃ significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Qingre Huashi Tongluo Formula can alleviate gastric mucosal damage and inflammatory response in CAG precancerous lesion model rats, improve gastric function, and may be achieved by inhibiting the activation of the PI3K / Akt / nuclear factor (NF - κ B) signaling pathway.

Key words: Qingre Huashi Tongluo Formula; chronic atrophic gastritis; precancerous lesions; inflammatory reaction; PI3K / Akt / NF - κ B signaling pathway

胃癌是全球第五大常见癌症,也是癌症死亡的第三大原因。超过 70% 的胃癌病例发生在发展中国家,约 50% 的胃癌病例发生在东亚国家,尤其是中国^[1]。慢性萎缩性胃炎(CAG)伴癌前病变(肠上皮化生和异型增生)在胃癌的病理进展中至关重要,但目前仍缺乏标准疗法^[2]。因此,开发治疗 CAG 癌前病变的新药具有积极的临床意义。中药及其制剂具有多成分、多靶点、多途径的特点。在中医病因学基础理论的指导下,清热、化瘀、燥湿是 CAG 的核心治疗原则^[3]。清热化湿通络方由薏苡仁、瓜蒌、黄连、半夏、陈皮、茯苓、白花蛇舌草、半枝莲等中药组方,可用于治疗急性溃疡性结肠炎、CAG、胃癌等症^[4-6]。方中,薏苡仁、黄连、甘草是治疗湿热综合征的典型中药^[4],所含小檗碱、黄芩苷、槲皮素、黄连素等成分具有抗炎、抗氧化、抗癌等功效^[7]。故本研究中探讨了清热化湿通络方对 CAG 癌前病变模型大鼠的保护作用,并从抗炎方面探讨其作用机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与动物

仪器:O - Neofuge 23R 型台式高速冷冻离心机(上海力康国际贸易有限公司);WD8660 型低温保存箱(上海舍岩仪器有限公司);1260S 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);BX53 型显微镜(日本 Olympus 公司);AU5800 型全自动生化分析仪(美国 Beckman Coulter 公司)。

试剂:清热化湿通络方,由麸炒薏苡仁 30 g、瓜蒌 15 g、黄连 6 g、陈皮 12 g、麸炒枳实 12 g、麸炒苍术 9 g、炒白芍 15 g、法半夏 9 g、茯苓 12 g、石菖蒲 20 g、车前草 12 g、甘草 6 g、砂仁 6 g、郁金 12 g、三七粉 3 g、白花蛇舌草 15 g、半枝莲 15 g、全蝎 3 g 组方,其中药材信息见表 1;N - 甲基 - N' - 硝基 - N - 亚硝基胍(MNNG,维克奇生物科技有限公司,批号为 WKQ - 0013078);胃复春胶囊(杭州胡庆堂药业有限公司,国药准字 Z20090697,批号为 2011153,规格为每粒 0.35 g);盐酸雷尼替丁胶囊(宜昌人福药业有限责任公司,国药准字 H42021983,批号为 D21B314,规格为每粒 150 mg);戊巴比妥钠(北京普天同创生物科技有限公司,批号为 VTKZ - 18CE);苏木精 - 伊红(HE)染色试剂盒(上海碧云天生物技术股份有限公司,批号为 C0105M);肿瘤坏死因子 - α (TNF - α)、白细胞介素 6(IL - 6)、白细胞介素 1 β (IL - 1 β)、前列腺素 E₂(PGE₂)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,批号分别为 ml002095, ml064292,

ml106733, ml003036);苯基甲基磺酰氟(批号为 93482),裂解缓冲液(批号为 R0278),均购自美国 Sigma 公司;二辛可酸(BCA)试剂盒(美国 Thermo Fisher 公司,批号为 23227);兔源 p65、磷酸化 p65(p - p65)、丝氨酸 - 苏氨酸蛋白激酶(Akt)、磷酸化 Akt(p - Akt)、甘油醛 - 3 - 磷酸脱氢酶(GAPDH)一抗及辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊兔抗免疫球蛋白 G(IgG)抗体(英国 Abcam 公司,批号分别为 ab32536, ab76302, ab302958, ab181602, ab205718);兔源 Kappa B 抑制蛋白(I κ B)、磷酸化 I κ B(p - I κ B)、磷脂酰肌醇 - 3 - 激酶(PI3K)、磷酸化 PI3K(p - PI3K)一抗(美国 Cell Signaling Technology 公司,批号分别为 9242S, 2859T, 9655T, 17366T);增强型化学发光(ECL)检测试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司,批号为 HR0340)。

表 1 中药材信息

Tab. 1 Information of Chinese medicinal materials

中药材	批号	批准文号/生产许可证号	生产厂家
麸炒薏苡仁	240301	川 20160077	四川原上草中药饮片有限公司
瓜蒌	C2802403001	冀 20170001	河北荷花池药业有限公司
黄连	2403077	川 20160235	四川国强中药饮片有限公司
陈皮	240402	川 20160423	四川省卓宇制药有限公司
麸炒枳实	240102	川 20190508	森科药业(成都)有限公司
麸炒苍术	240302	川 20160423	四川省卓宇制药有限公司
炒白芍	240403	川 20190499	四川和顺康药业有限公司
法半夏	240201	川 20160423	四川省卓宇制药有限公司
茯苓	240302	川 20160423	四川省卓宇制药有限公司
石菖蒲	240102	川 20160420	四川光然中药材饮片有限公司
车前草	230901	川 20160181	四川圣上大健康药业有限公司
甘草	240101	川 20160423	四川省卓宇制药有限公司
砂仁	240401	川 20160423	四川省卓宇制药有限公司
郁金	240401	川 20160423	四川省卓宇制药有限公司
三七粉	23120101	川 20190503	成都市明德药业有限公司
白花蛇舌草	240302	川 20160423	四川省卓宇制药有限公司
半枝莲	231101	川 20190508	森科药业(成都)有限公司
全蝎	240401	川 20160423	四川省卓宇制药有限公司

动物:清洁级健康雄性 Wistar 大鼠 54 只,8 周龄,体质量 160 ~ 180 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号 SCXK(京)2021 - 0006,饲养于华北理工大学,动物使用许可证号 SYXK(冀)2020 - 007。实验前至少适应性喂养 1 周,喂养环境为温度(25 $\pm$ 2)℃,相对湿度(60 $\pm$ 2)%,12 h / 12 h 明暗交替,自由进食、饮

水。本实验经河北省中医院动物伦理委员会审核批准。

1.2 方法

清热化湿通络方制备:将除砂仁外的其余中药材置砂锅中,大火煮沸后改文火煎煮40 min,砂仁于煎煮10 min后加入,倒出煎液,再加入200 mL水,大火煮沸后,改文火煎煮30 min,倒出煎液,与第1次倒出的煎液混合,用8层纱布滤过,于水浴锅中浓缩成质量浓度为1.6 g/mL的灌胃液。置4℃冰箱中保存,备用。经高效液相色谱仪分析发现,清热化湿通络方主要含表小檗碱、芍药苷、槲皮素、甘草酸、小檗红碱、车叶草苷酸、8-氧化小檗碱7种成分。

建模、分组与给药:适应性喂养1周后,随机选取8只大鼠设为空白对照组(A组),正常进食和饮水,其余46只大鼠通过MNNG复合法复制CAG癌前病变大鼠模型^[8]。大鼠在避光环境下自由饮用MNNG溶液(质量浓度为0.04 g/mL),以模拟硝酸盐在体内转化为亚硝酸盐等物质的过程;同时灌胃0.03 g/kg盐酸雷尼替丁,每天1次,以造成胃内低酸环境,诱导肠上皮化生的发生;给予饥饱失常饮食(饮食2 d+禁食1 d),每3 d为1个周期。20周后随机选取6只大鼠行病理组织学观察,均出现CAG伴肠上皮化生或异型增生,则提示造模成功^[9]。将40只CAG癌前病变模型大鼠随机分为模型对照组(B组),阳性药对照组(C组),清热化湿通络方低、中、高剂量组(D₁组、D₂组、D₃组),各8只。C组大鼠灌胃400 mg/kg胃复春胶囊,D₁组、D₂组、D₃组大鼠分别灌胃100,200,400 mg/kg清热化湿通络方,A组、B组大鼠均灌胃10 mL 0.9%氯化钠溶液,每天1次,连续给药12周。

标本采集:12周后停药,大鼠在实验结束前禁食24 h。通过腹膜注射过量戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉大鼠,从腹主动脉采集血样,注入凝血管,离心(转速为3 000 r/min)15 min,收集血清,储存于-80℃。随后在麻醉状态下脱颈处死大鼠,干腹暴露胃部,沿胃窦近幽门口至胃大弯方向取下胃组织,观察其颜色和外观形态,之后收集大鼠胃黏膜,一部分固定于福尔马林中用于组织学分析,其余部分储存于-80℃,用于制备组织匀浆。

组织病理学观察:用10%福尔马林固定胃黏膜并包埋于石蜡中,用二甲苯溶液脱蜡为4 μm的组织切片,用乙醇梯度水合,随后分别用苏木精、伊红溶液染色,用95%乙醇洗涤1 min,用二甲苯洗涤3次,用中性胶密封,切片,显微镜下观察组织病理学。并进行组织学损伤指数(HDI)评估^[7],HDI评分=炎性浸润评分+糜烂评分。炎性浸润评分中,0分为无炎症,1分为黏膜炎性浸润,2分为黏膜和黏膜下层浸润,3分为全层浸润;糜烂评分中,0分为无糜烂,1分为黏膜糜烂,2分为黏膜和黏膜下层糜烂,3分为全层糜烂。

胃功能相关指标测定:采用全自动生化分析仪检

测大鼠血清胃功能指标胃蛋白酶原I(PG I)、胃蛋白酶原II(PG II)、胃泌素(GAS)水平。

炎性因子水平测定:将胃组织匀浆后,离心(温度为4℃,转速为3 000 r/min)10 min,取上清液,置-80℃保存,采用ELISA法检测上清液中TNF-α,IL-6,IL-1β,PGE₂水平。所有操作均严格按试剂盒说明书进行。

免疫印迹(Western blot)分析:用补充有1 mmol/L苯基甲基磺酰氟的放射免疫沉淀测定裂解缓冲液从胃黏膜中分离蛋白质,孵育30 min,在4℃下以12 000 g离心15 min,取上清液,用BCA测定试剂盒定量蛋白质,随后用10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶分离蛋白质样品(30 μg),转移至聚偏二氟乙烯膜中,然后用5%脱脂牛奶封闭,4℃下与一抗孵育过夜,之后将膜与二抗一起孵育,用ECL检测试剂盒可视化蛋白质条带,用Image Lab 3.0软件进行定量。

1.3 统计学处理

采用SPSS 23.0统计学软件分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对胃组织形态的影响

与A组比较,B组大鼠胃组织颜色变苍白,胃褶皱变浅;与B组比较,C组、D₂组、D₃组大鼠的胃组织萎缩形态改善;与D₁组比较,D₂组、D₃组大鼠的胃组织萎缩形态有所改善。详见图1。

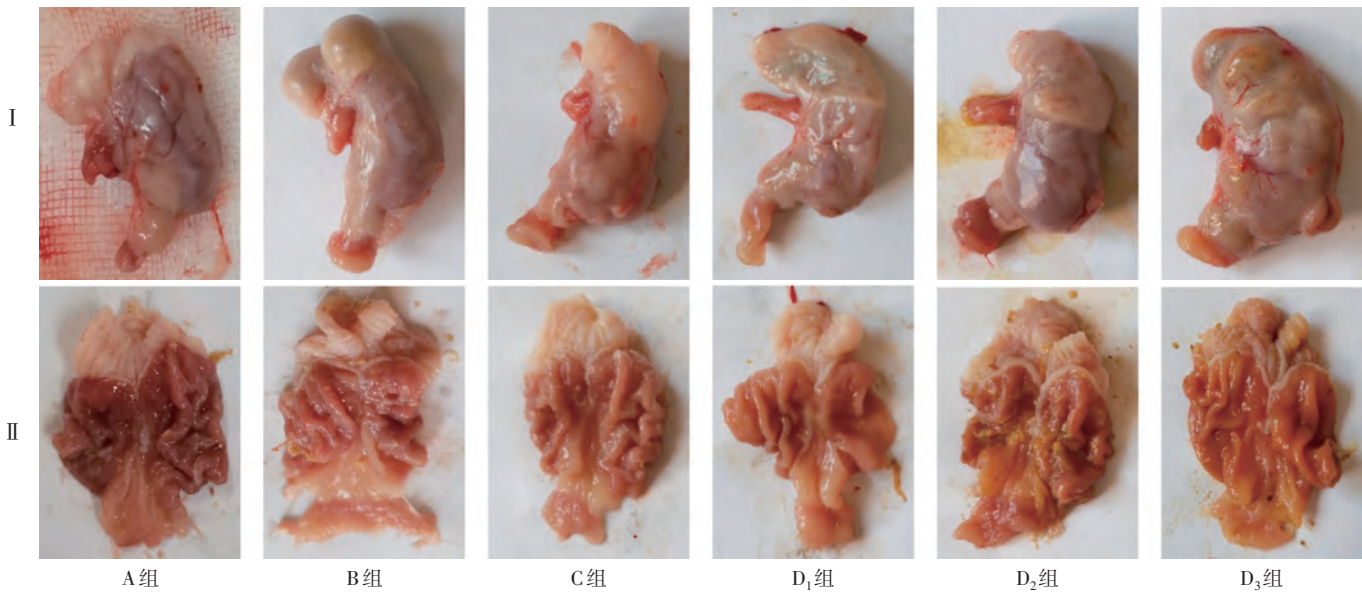
2.2 对胃黏膜病理损伤的影响

HE染色显示,A组大鼠胃黏膜结构完整,上皮细胞排列整齐,腺泡饱满;与A组比较,B组大鼠胃黏膜结构紊乱,腺泡减少且排列稀疏,伴大量炎性细胞浸润及肠上皮化生;与B组比较,C组、D₂组、D₃组大鼠的胃黏膜病理损伤改善;与D₁组比较,D₂组、D₃组大鼠的胃黏膜病理损伤有所改善。详见图2。

病理组织损伤评分显示,与A组比较,B组大鼠HDI评分显著升高($P < 0.05$);与B组比较,C组、D₂组、D₃组大鼠HDI评分均显著降低($P < 0.05$);与D₁组比较,D₂组和D₃组大鼠HDI评分均显著降低($P < 0.05$);与D₂组比较,D₃组大鼠HDI评分均显著降低($P < 0.05$)。详见表2。

2.3 对胃功能相关指标的影响

与A组比较,B组大鼠血清PG I,PG II,GAS水平均显著降低($P < 0.05$);与B组比较,C组、D₁组、D₂组大鼠血清PG I,PG II,GAS水平均显著升高($P < 0.05$);与D₁组比较,D₂组大鼠血清PG I,PG II,GAS水平均显著升高($P < 0.05$);与D₂组比较,D₃组大鼠血清PG I,PG II,GAS水平均显著升高($P < 0.05$)。详见表2。



I. 解剖前胃组织 II. 解剖后胃组织

图 1 各组大鼠胃组织形态

I. Gastric tissue before dissection II. Gastric tissue after dissection

Fig. 1 Morphology of rats' gastric tissue in each group

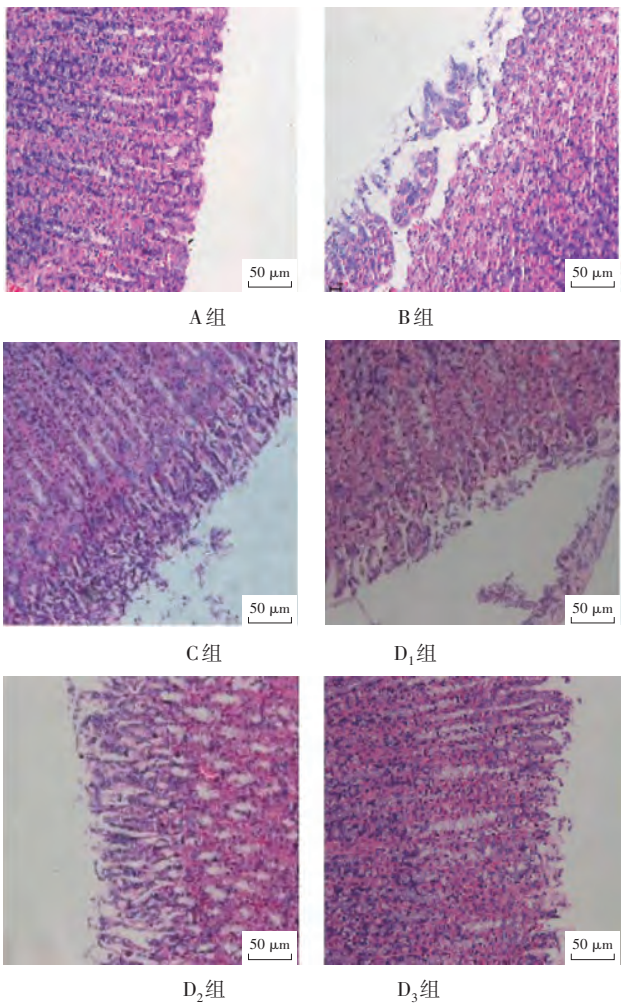


图 2 各组大鼠胃黏膜组织的 HE 染色图 (× 200)

Fig. 2 HE staining images of rats' gastric mucosal tissues in each group (× 200)

表 2 各组大鼠胃黏膜组织 HDI 评分与胃功能相关指标比较
($\bar{X} \pm s, n = 8$)

Tab. 2 Comparison of HDI scores and gastric function - related indexes in gastric mucosal tissue of rats in each group ($\bar{X} \pm s, n = 8$)

组别	剂量(mg/kg)	HDI 评分(分)	PG I (μg/L)	PG II (μg/L)	GAS(ng/L)
A 组		0.88 ± 0.33	78.36 ± 5.36	2.23 ± 0.66	85.35 ± 6.58
B 组		5.38 ± 0.70 ^{**}	34.35 ± 3.27 ^{**}	1.40 ± 0.13 ^{**}	40.67 ± 3.98 ^{**}
C 组	400	2.88 ± 0.78 [#]	57.74 ± 4.33 [#]	1.83 ± 0.28 [#]	65.23 ± 5.25 [#]
D ₁ 组	100	4.38 ± 0.48 [#]	45.66 ± 4.17 [#]	1.61 ± 0.16 [†]	51.17 ± 3.68 [#]
D ₂ 组	200	3.88 ± 0.33 ^{#△△}	60.32 ± 5.32 ^{#△△}	1.78 ± 0.21 [#]	63.34 ± 4.71 ^{#△△}
D ₃ 组	400	2.00 ± 0.50 ^{#△△▲▲}	71.78 ± 5.57 ^{#△△▲▲}	2.02 ± 0.23 ^{#△△▲}	78.85 ± 4.82 ^{#△△▲▲}

注:与 A 组比较, ^{**} $P < 0.01$; 与 B 组比较, [#] $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$; 与 D₁ 组比较, ^{△△} $P < 0.01$; 与 D₂ 组比较, ^{▲▲} $P < 0.01$ 。表 3 至表 5 同。

Note: Compared with those in group A, ^{**} $P < 0.01$; Compared with those in group B, [#] $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$; Compared with those in group D₁, ^{△△} $P < 0.01$; Compared with those in group D₂, ^{▲▲} $P < 0.01$ (for Tab. 2 - 5).

2.4 对胃黏膜组织炎症因子水平的影响

与 A 组比较, B 组大鼠胃黏膜组织中 IL - 6, TNF - α, IL - 1β, PGE₂ 水平均显著升高 ($P < 0.05$); 与 B 组比较, C 组、D₁ 组、D₂ 组大鼠胃黏膜组织中 IL - 6, TNF - α, IL - 1β, PGE₂ 水平均显著降低 ($P < 0.05$); 与 D₁ 组比较, D₂ 组、D₃ 组大鼠胃黏膜组织中 IL - 6, TNF - α, IL - 1β, PGE₂ 水平均显著降低 ($P < 0.05$); 与 D₂ 组比较, D₃ 组大鼠胃黏膜组织中 IL - 6, TNF - α, IL - 1β, PGE₂ 水平均显著降低 ($P < 0.05$)。详见表 3。

表 3 各组大鼠胃黏膜组织炎症因子水平比较($\bar{X} \pm s$, pg / mL, $n = 8$)

Tab. 3 Comparison of inflammatory factor levels in rats' gastric mucosal tissue in each group ($\bar{X} \pm s$, pg / mL, $n = 8$)					
组别	剂量(mg / kg)	IL-6(pg / mg)	TNF- α (pg / mg)	IL-1 β (pg / mg)	PGE ₂ (pg / mg)
A组		21.36 $\pm$ 2.21	22.47 $\pm$ 3.24	25.63 $\pm$ 3.55	58.36 $\pm$ 6.76
B组		255.38 $\pm$ 15.65**	96.76 $\pm$ 8.73**	133.87 $\pm$ 11.24**	169.32 $\pm$ 13.45**
C组	400	48.95 $\pm$ 4.57##	51.03 $\pm$ 6.63##	44.21 $\pm$ 5.67##	74.11 $\pm$ 8.67##
D ₁ 组	100	211.74 $\pm$ 20.36##	84.27 $\pm$ 6.78##	112.54 $\pm$ 10.98##	143.62 $\pm$ 12.26##
D ₂ 组	200	127.38 $\pm$ 11.27### $\Delta\Delta$	65.69 $\pm$ 4.34### $\Delta\Delta$	63.37 $\pm$ 7.78### $\Delta\Delta$	100.06 $\pm$ 11.23### $\Delta\Delta$
D ₃ 组	400	30.57 $\pm$ 4.89### $\Delta\Delta\Delta\Delta$	34.32 $\pm$ 4.67### $\Delta\Delta\Delta\Delta$	29.77 $\pm$ 5.49### $\Delta\Delta\Delta\Delta$	62.28 $\pm$ 7.86### $\Delta\Delta\Delta\Delta$

2.5 对胃黏膜组织中核因子 κ B(NF- κ B)蛋白表达的影响

与 A 组比较, B 组大鼠胃黏膜组织中 p-p65 / p65 和 p-I κ B / I κ B 蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$); 与 B 组比较, C 组、D₂ 组、D₃ 组大鼠胃黏膜组织中 p-p65 / p65 和 p-I κ B / I κ B 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$); 与 D₁ 组比较, D₂ 组、D₃ 组大鼠胃黏膜组织中 p-p65 / p65 和 p-I κ B / I κ B 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$); 与 D₂ 组比较, D₃ 组大鼠胃黏膜组织中 p-p65 / p65 和 p-I κ B / I κ B 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$)。详见图 3 和表 4。

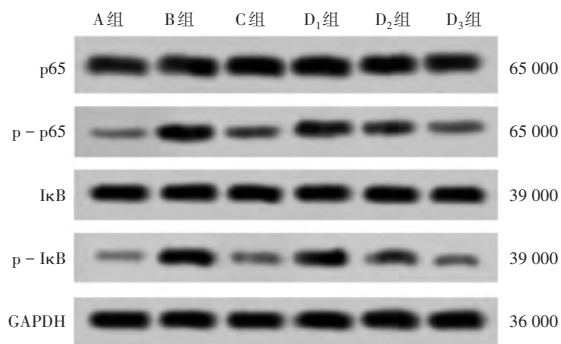


图 3 各组大鼠胃黏膜组织中 NF- κ B 蛋白表达的免疫印迹分析
Fig. 3 Western Blot analysis of NF- κ B protein expression in rats' gastric mucosal tissue in each group

表 4 各组大鼠胃黏膜组织 NF- κ B 蛋白表达水平比较($\bar{X} \pm s$, $n = 8$)

Tab. 4 Comparison of NF- κ B protein expression levels in rats' gastric mucosal tissue in each group ($\bar{X} \pm s$, $n = 8$)			
组别	剂量(mg / kg)	p-p65 / p65	p-I κ B / I κ B
A 组		0.15 $\pm$ 0.02	0.13 $\pm$ 0.01
B 组		0.91 $\pm$ 0.05**	0.94 $\pm$ 0.04**
C 组	400	0.27 $\pm$ 0.03##	0.23 $\pm$ 0.02##
D ₁ 组	100	0.78 $\pm$ 0.07##	0.81 $\pm$ 0.07##
D ₂ 组	200	0.56 $\pm$ 0.06### $\Delta\Delta$	0.42 $\pm$ 0.03### $\Delta\Delta$
D ₃ 组	400	0.21 $\pm$ 0.02### $\Delta\Delta\Delta\Delta$	0.21 $\pm$ 0.03### $\Delta\Delta\Delta\Delta$

2.6 对 PI3K / Akt 通路相关蛋白表达水平的影响

与 A 组比较, B 组大鼠胃黏膜组织中 p-PI3K /

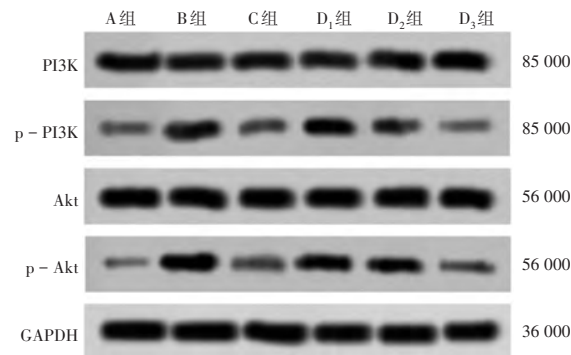


图 4 各组大鼠胃黏膜组织中 PI3K / Akt 通路相关蛋白表达的免疫印迹分析

Fig. 4 Western Blot analysis of PI3K / AKT pathway-related proteins expression in rats' gastric mucosal tissue in each group

表 5 各组大鼠胃黏膜组织中 PI3K / Akt 通路相关蛋白水平比较($\bar{X} \pm s$, $n = 8$)

Tab. 5 Comparison of PI3K / AKT pathway-related proteins expression levels in rats' gastric mucosal tissue in each group ($\bar{X} \pm s$, $n = 8$)			
组别	剂量(mg / kg)	p-PI3K / PI3K	p-Akt / Akt
A 组		0.24 $\pm$ 0.03	0.16 $\pm$ 0.01
B 组		0.93 $\pm$ 0.05**	0.96 $\pm$ 0.03**
C 组	400	0.34 $\pm$ 0.04##	0.34 $\pm$ 0.04##
D ₁ 组	100	0.86 $\pm$ 0.07#	0.92 $\pm$ 0.08
D ₂ 组	200	0.42 $\pm$ 0.04### $\Delta\Delta$	0.64 $\pm$ 0.07### $\Delta\Delta$
D ₃ 组	400	0.27 $\pm$ 0.04### $\Delta\Delta\Delta\Delta$	0.28 $\pm$ 0.03### $\Delta\Delta\Delta\Delta$

PI3K 和 p-Akt / Akt 蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$); 与 B 组比较, C 组、D₂ 组、D₃ 组大鼠胃黏膜组织中 p-PI3K / PI3K 和 p-Akt / akt 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$); 与 D₁ 组比较, D₂ 组、D₃ 组大鼠胃黏膜组织中 p-PI3K / PI3K 和 p-Akt / Akt 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$); 与 D₂ 组比较, D₃ 组大鼠胃黏膜组织中 p-PI3K / PI3K 和 p-Akt / Akt 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$)。详见图 4 和表 5。

3 讨论

CAG 为常见慢性消化系统疾病,被认为是胃癌的癌前病变,其临床症状包括腹痛、腹部不适、食欲不振、体质量减轻和继发性贫血^[10]。CAG 的病理特征为胃黏膜慢性炎症,胃腺细胞减少或丢失,常伴肠上皮化生和发育不良,最终导致胃癌。据报道,通过逆转癌前病变可避免胃癌,故应充分重视癌前病变的 CAG^[9]。CAG 的发病机制尚不清楚,但普遍认为是理化因素、微生物感染等因素对胃黏膜的反复损伤所致。MNNG 是一种活性 N-亚硝基化合物,可模拟硝酸盐(如腌制或烟熏食物)的不当摄入,导致癌前病变,如 CAG 甚至胃癌,目前已被广泛用于建立 CAG 的动物模型^[11]。本研究中采用 MNNG 复合诱导 CAG 癌前病变大鼠模型发现,大鼠表现出胃萎缩、肠上皮化生症状,故基于此 CAG 癌前病变

大鼠模型探讨清热化湿通络方的作用机制。

根据腹胀、腹痛等症状,CAG在中医中属“痞满”“胃脘痛”“嘈杂”等范围。《黄帝内经》《伤寒论》《景岳全书》等古籍中认为,CAG的基本病机为湿热蕴肠、气滞络瘀,以清热化湿、调气通络为主要治法。清热化湿通络方由19种中药材组方,具有健脾、清痰、调气功效,可用于治疗胃炎、十二指肠炎、炎症性肠病等多种消化系统疾病。既往研究发现,清热化湿通络法可降低溃疡性结肠炎患者血清促炎细胞因子IL-6和TNF- α 的水平,并促进肠黏膜组织修复^[4]。本研究中发现,清热化湿通络方能减轻MNNG诱导的胃黏膜损伤和肠上皮化生,减轻炎性细胞浸润,改善大鼠胃功能,且可显著降低CAG癌前病变大鼠胃黏膜组织中IL-6,TNF- α ,IL-1 β ,PGE₂的水平。表明清热化湿通络方可作为治疗CAG的有效抗炎剂,保护胃黏膜,有助于减轻癌前病变状态。

NF- κ B能被内源性和外源性刺激激活,通过炎症、细胞凋亡、应激等各种反应参与包括CAG、胃癌在内的多种人类疾病的发生和发展^[12]。在静息状态下,NF- κ B p65与细胞质中的抑制蛋白I κ B结合。当细胞受到刺激时,I κ B降解,p65被释放并转移至细胞核中,与DNA上的特定位点结合,促进炎症因子的释放和基因表达。据报道,幽门螺杆菌与转化的胃上皮细胞直接接触后,可使NF- κ B快速激活,导致TNF- α ,IL-1 β ,IL-6等促炎细胞因子大量积累,加速CAG进程^[13]。PI3K信号参与调控多种病理、生理过程,包括细胞增殖、分化、凋亡和葡萄糖转运。PI3K被激活后,胞浆膜上会产生第2个信使磷脂酰肌醇三磷酸(PIP3),该信使与信号蛋白Akt和磷酸肌醇依赖性激酶1(PDK1)结合,后者在细胞中含有PH结构域,导致Akt激活。Akt是PI3K的主要下游效应子,被激活的Akt会进一步磷酸化或抑制其下游靶蛋白(如NF- κ B),从而调节凋亡、炎症、氧化应激、化疗耐药等^[14]。PI3K/Akt信号轴在CAG和胃癌患者中被激活,且幽门螺杆菌可通过PI3K/Akt途径负调控sival蛋白,并破坏胃上皮细胞,促进CAG和胃癌的发生和发展^[15-16]。研究发现,抑制PI3K/Akt信号通路活化能改善MNNG诱导的CAG大鼠的癌前病变^[17]。本研究中发现,清热化湿通络方能抑制CAG模型大鼠胃黏膜组织中NF- κ B p65,PI3K,Akt的磷酸化。表明清热化湿通络方可能通过抑制PI3K/Akt/NF- κ B信号通路活化,从而在CAG癌前病变大鼠中发挥抗炎效应。

研究发现,黄连的主要活性成分小檗碱能改善MNNG诱导的CAG,这可能与其对PI3K/Akt信号通路的调控有关^[18];白芍的主要活性成分白芍总苷可通过抑制NF- κ B信号通路活化,而减轻CAG模型大鼠胃黏膜炎性损伤和细胞凋亡^[19];白花蛇舌草的活性成分獐皮素可通过减轻胃部炎症、增强胃的分泌功能,而改善

幽门螺杆菌感染诱导的CAG^[20];车前草和白花蛇舌草的有效成分车叶草苷酸能通过抑制NF- κ B信号通路活化,而发挥抗炎和抗氧化应激效应^[21];甘草的有效成分甘草酸可通过降低血清TNF- α 水平,从而减轻胃黏膜的炎性反应^[22]。因此,清热化湿通络方的抗CAG癌前病变作用可能是由于多种增强活性成分的协同作用,但其确切活性成分及其作用机制仍有待进一步探讨。

综上所述,清热化湿通络方能减轻CAG癌前病变模型大鼠的胃黏膜损伤和炎性反应,改善胃功能,这可能是通过抑制PI3K/Akt/NF- κ B信号通路的活化而实现。

参考文献

- [1] 李景丽,申慧琴. 程序性死亡受体-1/程序性死亡受体配体-1抑制剂在胃癌免疫治疗中的研究进展[J]. 中国全科医学,2023,26(S1):128-132.
- [2] 石振旺,方东,鲍德明,等. 新型胃癌筛查评分系统和OLGA分级在慢性萎缩性胃炎癌变风险分层中的一致性评价[J]. 中国老年学杂志,2023,43(15):3649-3652.
- [3] 杨柳,李泽,高云霄,等. 胃癌与慢性萎缩性胃炎的差异基因与中药治疗的生信分析及系统评价[J]. 中成药,2022,44(5):1649-1655.
- [4] 魏永辉,单海燕,戚丹凤,等. 清热化湿调气通络法治急性溃疡性结肠炎的临床研究[J]. 中国中医急症,2020,29(5):817-819.
- [5] 麦联任,曾微微,张清,等. 清热化湿通阳汤辅助治疗慢性萎缩性胃炎脾胃湿热证的疗效及对生化指标的影响[J]. 四川中医,2023,41(5):124-127.
- [6] 尹硕鑫,敖先伟,李博,等. 清热化湿方通过上调miRNA-155抑制Wnt/ β -catenin信号通路治疗胃癌的作用机制研究[J]. 中国药房,2023,34(19):2339-2343.
- [7] 黄李冰雪,张涛,钟婵,等. 基于网络药理学的清热化湿方治疗胃癌的药理机制研究[J]. 中药材,2019,42(10):2375-2384.
- [8] 左娇娇,舒劲,宋瑞平,等. N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍复合法构建胃癌前病变气虚血瘀证大鼠模型[J]. 中国中医药信息杂志,2023,30(2):81-86.
- [9] 王献超,孔德胜,刘旭照,等. 刺五加注射液对慢性萎缩性胃炎癌前病变模型大鼠的作用及机制研究[J]. 药物评价研究,2023,46(2):355-363.
- [10] 王龙华,李萍,张福文,等. 中医药治疗慢性萎缩性胃炎的研究进展[J]. 世界中西医结合杂志,2023,18(6):1261-1265.
- [11] 房志科,黄海阳,温玉平,等. 基于Shh途径分析山药提取物对老龄慢性萎缩性胃炎大鼠的干预作用[J]. 中国老年学杂志,2024,44(1):152-156.
- [12] MA XH,KONG LJ,ZHU W,et al. Curcumin undermines SDF-1/CXCR4/NF- κ B signaling pathway to suppress the progression of chronic atrophic gastritis (CAG) and gastric cancer[J]. Evid Based Complement Alternat Med,2022,2022:3219001.
- [13] JIANG JY,LIU DJ,LIU MX. The protective effect of NF- κ B signaling pathway inhibitor PDTC on mice with chronic atrophic gastritis [J]. Scand J Gastroenterol, 2021, 56 (10):