

香砂益胃汤对慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜损伤的改善作用及机制[△]

夏鹏飞*,金迪,梁金,余意,杜进军,金战勇,方俊,杨霞,刘惠武[武汉市中医医院脾胃肝胆病科(消化内科),武汉 430050]

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)11-1311-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.11.04



摘要 目的 探讨香砂益胃汤对慢性萎缩性胃炎(CAG)大鼠胃黏膜损伤的改善作用及机制。方法 将大鼠随机分为正常对照组,模型组,香砂益胃汤低、中、高剂量组(6、12、18 g/kg,以生药量计),香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组[香砂益胃汤 18 g/kg+转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)/磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)通路激活剂 740 Y-P 10 mg/kg],每组18只。各组大鼠灌胃/注射相应药物,每天1次,连续4周。检测大鼠胃黏膜血流量、血清中胃激素[胃动素(MTL)、胃泌素(GAS)、胃蛋白酶(PP)]和炎症因子[肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 1β (IL- 1β)、IL-6]水平;观察大鼠胃黏膜组织病理形态;检测大鼠胃黏膜细胞凋亡率;检测大鼠胃黏膜组织中TGF- β_1 /PI3K/Akt信号通路相关蛋白和凋亡相关蛋白[B细胞淋巴瘤2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)]的表达水平。**结果** 与正常对照组比较,模型组大鼠胃黏膜组织结构异常,胃黏膜上皮细胞脱落,炎症细胞浸润明显;胃黏膜血流量,血清中MTL、GAS、PP水平,胃黏膜组织中Bcl-2蛋白表达水平均显著降低($P<0.05$);血清中TNF- α 、IL- 1β 、IL-6水平,细胞凋亡率,胃黏膜组织中Bax、TGF- β_1 蛋白表达水平和PI3K、Akt蛋白磷酸化水平均显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,香砂益胃汤各剂量组大鼠胃黏膜组织病理损伤减轻,炎症细胞浸润减少,上述定量指标均显著改善($P<0.05$)。与香砂益胃汤高剂量组比较,香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组大鼠胃黏膜病理损伤明显加重,上述定量指标均显著逆转($P<0.05$)。**结论** 香砂益胃汤可减轻CAG大鼠胃黏膜损伤,其作用机制与抑制TGF- β_1 /PI3K/Akt信号通路相关。

关键词 香砂益胃汤;慢性萎缩性胃炎;胃黏膜损伤;TGF- β_1 /PI3K/Akt信号通路;机制

Improvement effects and mechanism of Xiangsha yiwei tang on gastric mucosal injury in rats with chronic atrophic gastritis

XIA Pengfei, JIN Di, LIANG Jin, YU Yi, DU Jinjun, JIN Zhanyong, FANG Jun, YANG Xia, LIU Huiwu[Dept. of Spleen, Stomach, Hepatobiliary Diseases (Dept. of Gastroenterology), Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430050, China]

ABSTRACT OBJECTIVE To investigate the improvement effects and mechanism of Xiangsha yiwei tang on gastric mucosal injury in rats with chronic atrophic gastritis (CAG). **METHODS** Rats were randomly assigned into normal control group, model group, Xiangsha yiwei tang low-, medium- and high-dose groups (6, 12, 18 g/kg, calculated by crude drug), and high-dose group of Xiangsha yiwei tang+740 Y-P [Xiangsha yiwei tang 18 g/kg+transforming growth factor β_1 /phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B(TGF- β_1 /PI3K/Akt) pathway activator group 740 Y-P 10 mg/kg], with 18 rats in each group. Rats in each group were administered the corresponding drugs via oral gavage or injection, once daily, for 4 consecutive weeks. Gastric mucosal blood flow, the levels of serum gastrointestinal hormones [including motilin (MTL), gastrin (GAS), and pepsinogen (PP)], as well as inflammatory cytokines [including tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin- 1β (IL- 1β), IL-6] in rats were measured. Pathological damage to gastric mucosal tissue was observed in rats; the apoptotic rate of gastric mucosal cells was detected. The expressions of TGF- β_1 /PI3K/Akt signaling pathway-related proteins and apoptosis-related proteins [including B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) and Bcl-2-associated X protein (Bax)] in the gastric mucosal tissues of rats were assessed. **RESULTS** Compared with normal control group, model group had abnormal gastric mucosal tissue structure, with shedding of gastric mucosal epithelial cells, and prominent infiltration of inflammatory cells. Gastric mucosal blood flow, the serum levels of MTL, GAS, PP, and Bcl-2 protein expression were lowered significantly, while serum levels of TNF- α , IL- 1β and IL-6, apoptosis rate, protein expressions of

Bax and TGF- β_1 , the phosphorylations of PI3K and Akt were increased significantly ($P<0.05$). Compared with model group, Xiangsha yiwei decoction groups exhibited attenuated histopathological injuries in gastric mucosal tissues, reduced inflammatory cell infiltration, and significant improvements in

[△]基金项目 武汉市中医药科研项目(No.WZ24B90)
*第一作者 副主任医师。研究方向:中医脾胃病。电话:027-84516759。E-mail:jmdep4@163.com
#通信作者 主任医师。研究方向:中医肝胆病、脾胃病。E-mail:whlh@126.com

the aforementioned quantitative parameters ($P<0.05$). Compared with high-dose group of Xiangsha yiwei tang, high-dose group of Xiangsha yiwei decoction combined with 740 Y-P exhibited significantly aggravated histopathological injuries in gastric mucosal tissues, and the aforementioned quantitative parameters were markedly reversed ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Xiangsha yiwei tang can alleviate gastric mucosal damage in CAG rats, and its mechanism of action is related to the inhibition of TGF- β_1 /PI3K/Akt signaling pathway.

KEYWORDS Xiangsha yiwei tang; chronic atrophic gastritis; gastric mucosal injury; TGF- β_1 /PI3K/Akt signaling pathway; mechanism

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)属于临床常见的消化系统炎症性疾病,主要受遗传、环境、饮食习惯、幽门螺杆菌感染等因素的影响,导致胃部出现炎症、胃黏膜变薄、胃腺体萎缩等病理特征,促使患者表现出上腹部疼痛、恶心反胃、食欲减退等症状,且由于CAG极易反复、迁延难愈,其被认为是胃癌癌前病变的征兆^[1]。随着人口老龄化加剧、生活方式改变的影响,CAG的患病率不断上升,目前临床主要采用抗生素、维生素、抗幽门螺杆菌药等进行治疗,但上述药物存在副作用,且不能从根本上逆转胃黏膜萎缩^[2-3]。

中医药在治疗CAG的同时可以调理患者身体,且具有毒性小、不良反应少的优点,成为当前学界的研究热点之一^[4]。香砂益胃汤是由我院国家级名老中医结合多年临床经验,在张仲景的麦门冬汤、吴鞠通的益胃汤、叶天士的叶氏养胃汤等基础之上总结而成,治疗阴虚型胃痛疗效明显。研究指出,转化生长因子 β_1 (transforming growth factor β_1 , TGF- β_1)/磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)信号通路在炎症性相关疾病的发展进程中具有重要作用,抑制该信号通路可抑制炎症反应,可改善N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(N-methyl-N'-nitroso-N-nitrosoguanidine, MNNG)诱导的CAG大鼠的胃黏膜损伤^[5]。香砂益胃汤是否可通过调控TGF- β_1 /PI3K/Akt信号通路发挥改善CAG的作用,尚不明确。基于此,本研究拟建立CAG大鼠模型,从TGF- β_1 /PI3K/Akt信号通路角度出发,探究香砂益胃汤对CAG大鼠胃黏膜损伤的改善作用,以期对CAG的中医药治疗奠定基础。

1 材料

1.1 主要仪器

RM2135型病理切片机购自德国Leica公司;BX51型显微镜购自日本Olympus公司;SuPerMax3000FL型多功能酶标仪购自上海闪谱生物科技有限公司;Chemi-DocXRS⁺型凝胶成像系统购自美国Thermo Fisher Scientific公司。

1.2 药品与试剂

香砂益胃汤处方由北沙参15 g、麦冬15 g、白芍15 g、山药15 g、玄参12 g、玉竹10 g、广木香9 g、生地9 g、

天花粉9 g、石斛9 g、砂仁6 g、炙甘草6 g组成,各药材饮片(批号分别为202412002、202411027、202411025、202411012、202412002、2424100101、202411005、2024-11025、202409023、202412002、202411011、202411015)均购自湖北天济药业有限公司,经我院药剂科刘建东副主任药师鉴定均为真品。

TGF- β_1 /PI3K/Akt信号通路激活剂740 Y-P对照品(批号Y648850,纯度99%)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;MNNG(批号WKQ-0013078,纯度 $\geq 96\%$)购自四川省维克奇生物科技有限公司;雷尼替丁对照品(批号Y18580,纯度 $\geq 98\%$)购自北京百奥莱博科技有限公司;苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(批号60524ES60)购自翌圣生物科技(上海)股份有限公司;胃动素(motilin, MTL)、胃泌素(gastrin, GAS)、胃蛋白酶(pepsin, PP)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号分别为KM092776、KM095306、KMERa010257)均购自温州科森生物科技有限公司;肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6 ELISA试剂盒(批号分别为ER006、ER008-16、ER003-96)均购自上海吉泰依科赛生物科技有限公司;兔源B细胞淋巴瘤2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2-associated X protein, Bax)抗体(批号分别为2876、2772)均购自美国CST公司;兔源TGF- β_1 、Akt抗体(批号分别为YM-Y0086R、YK0404)均购自上海远慕生物科技有限公司;兔源磷酸化PI3K(phosphorylated PI3K, p-PI3K)抗体(批号17366)购自美国Cell Signaling Technology公司;兔源PI3K、磷酸化Akt(phosphorylated Akt, p-Akt)抗体(批号分别为ab302958、ab8805)购自英国Abcam公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔二抗(批号LF102)购自上海雅酶生物医药科技有限公司;兔源 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(批号K10085)购自北京百奥莱博科技有限公司。

1.3 实验动物

本研究所用动物为SPF级SD雄性大鼠,7~8周龄,体重(200 \pm 20) g,均购自湖北贝恩特生物科技有限公司,动物生产许可证号为SCXK(鄂)2021-0027。所有动物均饲养于温度(25 \pm 2) $^{\circ}$ C、相对湿度55%~65%、12 h

光照/12 h 黑暗交替的动物房内,正常摄食饮水。本研究已通过湖北贝恩特生物科技有限公司动物中心动物伦理委员会审批(批号为BNT-202403028)。

2 方法

2.1 药液制备

按香砂益胃汤处方称取相应饮片,加入8倍量水浸泡30~60 min,然后用大火煮开,以中低火保持沸腾20~30 min;再加适量水浸过药面,用大火煮开,以中低火保持沸腾15~25 min;过滤药液,然后浓缩成质量为3.6 g/mL的药液(以生药量计),待用。

2.2 分组、造模与给药

所有大鼠适应性喂养1周后,随机分为正常对照组($n=18$)和造模组($n=93$)。造模组大鼠自由饮用0.04 g/mL MNNG 溶液,每天灌胃0.03 g/kg 雷尼替丁1次,并结合饥饱失常饮食(饱2 d、饥1 d,循环),连续20周,以复制CAG模型^[6]。任选3只造模大鼠取胃黏膜组织进行病理观察,若胃黏膜腺体萎缩、数量减少且出现炎症细胞浸润,则表示造模成功^[7]。将造模成功的大鼠随机分为模型组,香砂益胃汤低、中、高剂量组(6、12、18 g/kg,剂量根据本课题组前期实验结果设置,以生药量计),香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组(高剂量香砂益胃汤18 g/kg+740 Y-P 10 mg/kg^[8]),每组18只。香砂益胃汤低、中、高剂量组大鼠分别灌胃相应药液并尾静脉注射10 mL/kg的生理盐水;香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组大鼠灌胃18 g/kg的香砂益胃汤并尾静脉注射10 mg/kg的740 Y-P;正常对照组与模型组大鼠灌胃等体积水并尾静脉注射等体积生理盐水;每天1次,连续4周。

2.3 胃黏膜血流量检测

给药结束后,各组任选6只大鼠,禁食不禁水24 h,麻醉大鼠;沿右腹股沟行切口分离股静脉与股动脉,然后经十二指肠将软管插入胃内,收集0.5 mL胃液,再沿右股静脉注射2 mL中性红溶液,注射完用微量注射泵恒速输注4 mL中性红溶液,使中性红浓度维持在4 mg/(kg·h);持续收集胃液2 h(15 min/次),结束后再取血4 mL,测定胃液和血液样本中的中性红浓度,再计算胃黏膜血流量(胃液中性红浓度/血液中性红浓度×单位时间内胃液分泌量)^[9]。

2.4 血清中胃激素及炎症因子水平检测

给药结束后,各组任选另6只大鼠,以戊巴比妥钠麻醉,取腹主动脉血;血样以3 000 r/min离心5 min,取血清;按ELISA试剂盒说明书方法操作,采用酶标仪检测大鼠血清中胃激素(MTL、GAS、PP)及炎症因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)水平。

2.5 胃黏膜组织病理形态观察

“2.4”项下实验结束后,颈椎脱臼处死大鼠,剖取胃

黏膜组织,以甲醛固定后,浸蜡包埋制备胃黏膜组织石蜡切片,常规处理后取部分切片进行HE染色,采用显微镜观察胃黏膜组织病理损伤。

2.6 胃黏膜细胞凋亡检测

取“2.5”项下各组大鼠剩余胃黏膜组织石蜡切片,脱蜡至水后参照试剂盒说明书方法进行TUNEL染色及DAPI染色,采用显微镜观察胃黏膜组织细胞的凋亡情况(其中凋亡细胞呈绿色,细胞核呈蓝色),并计算细胞凋亡率(凋亡率=凋亡细胞数/总细胞数×100%)。

2.7 胃黏膜组织中TGF- β_1 /PI3K/Akt信号通路相关蛋白和凋亡相关蛋白表达检测

取各组剩余6只大鼠,颈椎脱臼处死后取胃黏膜组织,然后用蛋白裂解液充分裂解,提取总蛋白并定量。蛋白经变性处理后进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜后以血清封闭,加入TGF- β_1 、p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、Bax、Bcl-2、 β -actin一抗(稀释度分别为1:500、1:1 000、1:1 000、1:2 000、1:500、1:1 000、1:1 000、1:2 000)孵育过夜;加入相应二抗(稀释度1:10 000)室温反应,然后经ECL显色处理后,采用凝胶成像系统成像,采用Image软件分析蛋白灰度值,以目的蛋白与内参蛋白(β -actin)的灰度值比值表示目的蛋白的表达水平,以p-PI3K与PI3K、p-Akt与Akt蛋白的表达水平比值表示PI3K、Akt蛋白的磷酸化水平。

2.8 统计学方法

采用SPSS 25.0软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用SNK- q 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 香砂益胃汤对CAG大鼠胃黏膜血流量的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠胃黏膜血流量显著降低($P<0.05$);与模型组比较,香砂益胃汤各剂量大鼠胃黏膜血流量均显著升高,且呈剂量依赖性($P<0.05$);与香砂益胃汤高剂量组比较,香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组大鼠胃黏膜血流量显著降低($P<0.05$)。结果见表1。

表1 各组大鼠胃黏膜血流量和血清中MTL、GAS、PP水平比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	胃黏膜血流量/ [mg/(kg·h)]	MTL/(pg/mL)	GAS/(pg/mL)	PP/(U/mL)
正常对照组	29.71±3.06	412.63±41.79	148.62±15.17	19.86±1.81
模型组	8.55±0.94 ^a	239.78±24.21 ^a	62.17±6.58 ^a	7.05±0.86 ^a
香砂益胃汤低剂量组	14.14±1.50 ^b	290.54±30.54 ^b	83.96±8.74 ^b	10.32±1.09 ^b
香砂益胃汤中剂量组	20.06±2.16 ^c	342.22±35.06 ^{bc}	108.34±11.75 ^{bc}	14.13±1.45 ^{bc}
香砂益胃汤高剂量组	27.83±2.89 ^{cd}	398.43±40.83 ^{cd}	137.51±14.21 ^{cd}	19.52±2.02 ^{cd}
香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组	16.72±1.75 ^e	312.57±31.95 ^e	88.23±8.97 ^e	12.35±1.28 ^e

a:与正常对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与香砂益胃汤低剂量组比较, $P<0.05$;d:与香砂益胃汤中剂量组比较, $P<0.05$;e:与香砂益胃汤高剂量组比较, $P<0.05$ 。

3.2 香砂益胃汤对CAG大鼠血清中胃激素水平的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠血清中MTL、GAS、PP水平均显著降低($P<0.05$);与模型组比较,香砂益胃汤各剂量组大鼠血清中MTL、GAS、PP水平均显著升高,且呈剂量依赖性($P<0.05$);与香砂益胃汤高剂量组比较,香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组大鼠血清中MTL、GAS、PP水平均显著降低($P<0.05$)。结果见表1。

3.3 香砂益胃汤对CAG大鼠炎症因子水平的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,香砂益胃汤各剂量组大鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平均显著降低,且呈剂量依赖性($P<0.05$);与香砂益胃汤高剂量组比较,香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组大鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平均显著升高($P<0.05$)。结果见表2。

表2 各组大鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平比较($\bar{x} \pm s, n=6, \text{pg/mL}$)

组别	TNF- α	IL-1 β	IL-6
正常对照组	14.26 \pm 1.46	21.53 \pm 2.19	7.38 \pm 0.79
模型组	77.84 \pm 7.85 ^a	95.46 \pm 9.67 ^a	52.49 \pm 5.38 ^a
香砂益胃汤低剂量组	56.73 \pm 5.82 ^b	70.34 \pm 7.12 ^b	38.71 \pm 3.93 ^b
香砂益胃汤中剂量组	36.35 \pm 3.71 ^{bc}	50.09 \pm 5.17 ^{bc}	23.92 \pm 2.45 ^{bc}
香砂益胃汤高剂量组	16.84 \pm 1.75 ^{bcd}	27.48 \pm 2.86 ^{cd}	8.13 \pm 0.92 ^{cd}
香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组	52.44 \pm 5.48 ^e	68.25 \pm 6.94 ^e	35.62 \pm 3.67 ^e

a:与正常对照组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与香砂益胃汤低剂量组比较, $P<0.05$;d:与香砂益胃汤中剂量组比较, $P<0.05$;e:与香砂益胃汤高剂量组比较, $P<0.05$ 。

3.4 香砂益胃汤对CAG大鼠胃黏膜组织病理损伤的影响

正常对照组大鼠胃黏膜组织结构正常,上皮细胞排列整齐,固有层腺体丰富,无明显病理学改变;模型组大鼠胃黏膜组织结构异常,胃黏膜上皮细胞脱落、厚度降低,细胞排列疏松紊乱,固有层腺体萎缩、数量减少,炎症细胞浸润明显,主细胞发生空泡样变化;与模型组比较,香砂益胃汤各剂量组大鼠胃黏膜组织病理损伤减轻,胃黏膜上皮增厚,腺体形态正常,炎症细胞浸润减少;与香砂益胃汤高剂量组比较,香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组大鼠胃黏膜组织的病理损伤明显加重。结果见图1。

3.5 香砂益胃汤对CAG大鼠胃黏膜细胞凋亡和凋亡相关蛋白表达的影响

与正常对照组比较,模型组胃黏膜细胞凋亡率和胃黏膜组织中Bax表达水平均显著升高,Bcl-2表达水平显著降低($P<0.05$);与模型组比较,香砂益胃汤各剂量组胃黏膜细胞凋亡率和胃黏膜组织中Bax表达水平均显著降低,Bcl-2表达水平均显著升高,且呈剂量依赖性($P<0.05$);与香砂益胃汤高剂量组比较,香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组胃黏膜细胞凋亡率和胃黏膜组织中Bax表达水平均显著升高,Bcl-2表达水平显著降低($P<0.05$)。结果见图2、图3、表3。

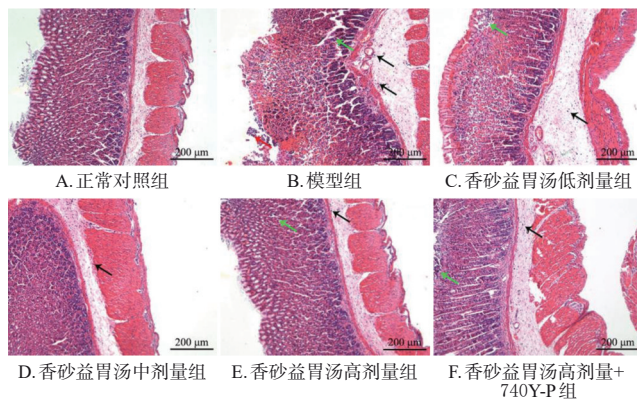


图1 各组大鼠胃黏膜组织病理损伤显微图(HE染色)

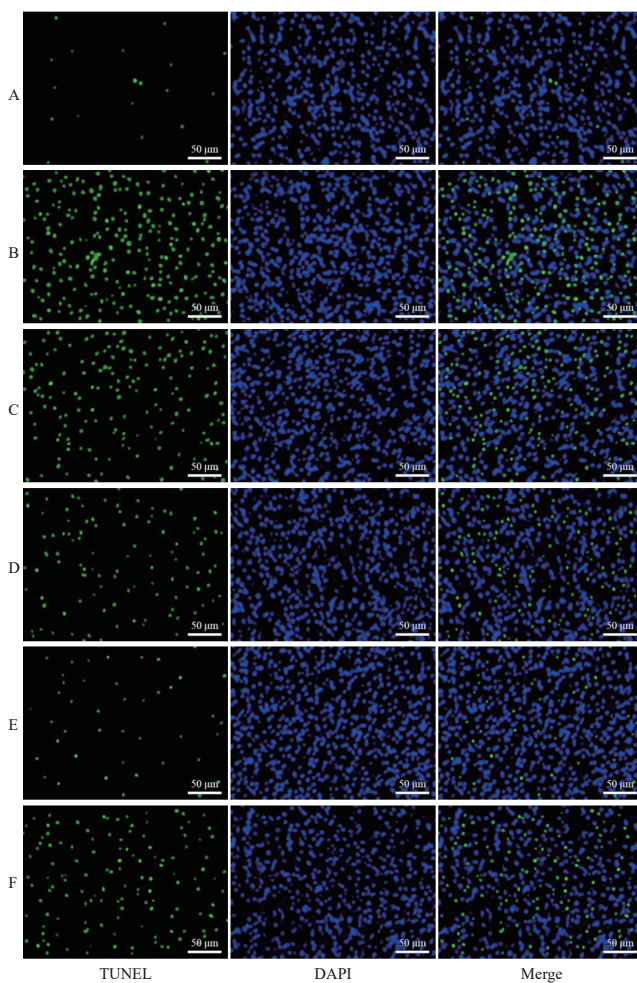


图2 各组大鼠胃黏膜细胞凋亡显微图

图3 各组大鼠胃黏膜组织中Bax、Bcl-2表达的电泳图

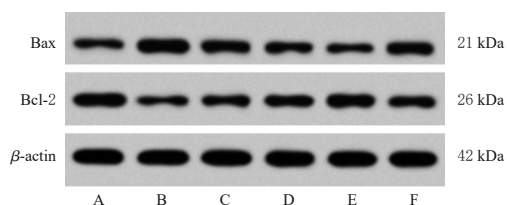


图3 各组大鼠胃黏膜组织中Bax、Bcl-2表达的电泳图

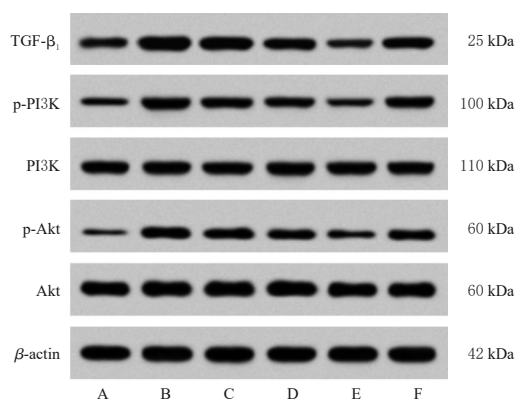
表3 各组大鼠胃黏膜细胞凋亡率及凋亡相关蛋白表达比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	细胞凋亡率/%	Bax/ β -actin	Bcl-2/ β -actin
正常对照组	5.11 ± 0.58	0.30 ± 0.04	0.85 ± 0.09
模型组	38.67 ± 3.94 ^a	0.91 ± 0.10 ^a	0.21 ± 0.03 ^a
香砂益胃汤低剂量组	27.51 ± 2.83 ^b	0.72 ± 0.08 ^b	0.39 ± 0.04 ^b
香砂益胃汤中剂量组	17.34 ± 1.79 ^{bc}	0.53 ± 0.06 ^{bc}	0.58 ± 0.06 ^{bc}
香砂益胃汤高剂量组	8.26 ± 0.88 ^{bcd}	0.33 ± 0.04 ^{bcd}	0.79 ± 0.08 ^{bcd}
香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组	25.48 ± 2.61 ^c	0.68 ± 0.07 ^c	0.45 ± 0.05 ^c

a: 与正常对照组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$; c: 与香砂益胃汤低剂量组比较, $P < 0.05$; d: 与香砂益胃汤中剂量组比较, $P < 0.05$; e: 与香砂益胃汤高剂量组比较, $P < 0.05$ 。

3.6 香砂益胃汤对CAG大鼠胃黏膜组织中TGF- β_1 /PI3K/Akt信号通路相关蛋白表达的影响

与正常对照组比较, 模型组大鼠胃黏膜组织中TGF- β_1 蛋白表达水平和PI3K、Akt蛋白磷酸化水平均显著升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 香砂益胃汤各剂量组胃黏膜组织中TGF- β_1 蛋白表达水平和PI3K、Akt蛋白磷酸化水平均显著降低, 且呈剂量依赖性($P < 0.05$); 与香砂益胃汤高剂量组比较, 香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组胃黏膜组织中TGF- β_1 蛋白表达水平和PI3K、Akt蛋白磷酸化水平均显著升高($P < 0.05$)。结果见图4、表4。



A: 正常对照组; B: 模型组; C: 香砂益胃汤低剂量组; D: 香砂益胃汤中剂量组; E: 香砂益胃汤高剂量组; F: 香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组。

图4 各组大鼠胃黏膜组织中TGF- β_1 、p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt蛋白表达的电泳图

表4 各组大鼠胃黏膜组织中TGF- β_1 /PI3K/Akt信号通路相关蛋白表达比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	TGF- β_1 / β -actin	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt
正常对照组	0.52 ± 0.06	0.30 ± 0.04	0.18 ± 0.02
模型组	1.20 ± 0.13 ^a	0.92 ± 0.05 ^a	0.88 ± 0.10 ^a
香砂益胃汤低剂量组	0.99 ± 0.10 ^b	0.76 ± 0.08 ^b	0.69 ± 0.07 ^b
香砂益胃汤中剂量组	0.78 ± 0.08 ^{bc}	0.56 ± 0.06 ^{bc}	0.46 ± 0.05 ^{bc}
香砂益胃汤高剂量组	0.56 ± 0.06 ^{bcd}	0.35 ± 0.04 ^{bcd}	0.22 ± 0.03 ^{bcd}
香砂益胃汤高剂量+740 Y-P组	0.91 ± 0.10 ^c	0.74 ± 0.08 ^c	0.65 ± 0.07 ^c

a: 与正常对照组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$; c: 与香砂益胃汤低剂量组比较, $P < 0.05$; d: 与香砂益胃汤中剂量组比较, $P < 0.05$; e: 与香砂益胃汤高剂量组比较, $P < 0.05$ 。

4 讨论

CAG在中医范畴属于“胃脘痛”“痞满”“吞酸”等范畴, 病位在胃, 主要是脾胃素虚、饮食不节、情志不畅等导致胃病迁延难愈, 胃阴耗损严重致使胃阴不足, 进而引起胃络失养、运化不力, 导致气滞、血瘀、热毒等郁阻, 最终发展成胃脘痛^[10]。胃为阳土, 喜润恶燥, 治疗应以健胃益脾、滋阴益胃、清热散结为主。香砂益胃汤是由北沙参、麦冬、白芍、山药、玄参、玉竹、广木香、生地、天花粉、石斛、砂仁、炙甘草12种中药煎制而成, 其中北沙参益胃生津, 麦冬养阴生津、增强免疫, 山药补益脾胃, 玉竹养阴清热, 广木香、砂仁止痛顺气, 天花粉散结消痈、清热润肺, 甘草顺气健脾、泻火解毒、缓急止痛; 诸药合用, 共奏和胃健脾、补气行气之效^[11]。本研究结果显示, 香砂益胃汤可升高CAG大鼠胃黏膜血流量, 减轻胃黏膜组织病理损伤, 说明香砂益胃汤可改善CAG大鼠胃黏膜损伤。

炎症反应是CAG发生的主要诱因, 在其发展成胃癌的进程中发挥了重要作用^[11]。研究指出, 当机体受到应激刺激后, TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等炎症因子大量聚集引发炎症反应, 致使氧自由基大量产生, 进入胃黏膜的主要分泌细胞(胃壁细胞或主细胞)中, 进而引发过氧化反应, 损坏线粒体结构和功能, 破坏胃黏膜上皮细胞正常生理结构, 促进细胞凋亡, 损伤胃黏膜, 促进胃黏膜发生萎缩甚至肠上皮化生、异形增生等, 最终加剧CAG癌化进程^[12]。其中, TNF- α 主要由单核巨噬细胞分泌, 可诱导单核细胞、中性粒细胞等在炎症部位大量聚集, 进一步释放TNF- α 、IL-6等炎症因子, 加重炎症反应^[13]。IL-1 β 可参与调节胃黏膜细胞功能, 抑制胃酸分泌, 其过表达可促使壁细胞萎缩, 进而促进胃黏膜萎缩坏死^[14]。另外, 胃黏膜细胞凋亡也是引发CAG的主要病理机制, 其中Bax与Bcl-2是参与细胞线粒体凋亡的重要蛋白, 两者相互拮抗, 共同调控胃黏膜上皮细胞凋亡^[15]。研究显示, 降低血清中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平, 抑制Bax表达, 促进Bcl-2表达, 可抑制炎症反应, 减少胃黏膜上皮细胞凋亡, 维持胃黏膜屏障的完整性, 进而逆转胃黏膜肠上皮化生, 阻断CAG的进展^[16]。本研究结果显示, 香砂益胃汤可降低CAG大鼠血清中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平及胃黏膜组织中Bax表达水平, 提高胃黏膜组织中Bcl-2表达水平, 说明香砂益胃汤可通过抑制炎症反应及胃黏膜上皮细胞凋亡, 发挥保护CAG大鼠胃黏膜的作用。

胃激素水平与CAG的发生发展密切相关, 其中GAS、MTL可促进胃黏膜细胞的增殖, 增加胃酸和胃蛋白酶原分泌, 而提高胃液酸度可抑制胃癌前病变; 胃蛋白酶活性可反映胃黏膜完整性及腺体功能, 故GAS、MTL水平常用于反映胃黏膜功能受损情况; 另外PP可促进食物消化^[17]。本研究结果显示, 香砂益胃汤可升高CAG大鼠血清中GAS、MTL、PP水平, 说明香砂益胃汤

可通过调控胃激素水平改善CAG大鼠胃功能。

TGF- β_1 /PI3K/Akt信号通路是参与CAG发病进程的重要通路,当CAG发生时,TGF- β_1 被激活,从而激活PI3K使其磷酸化,然后激活并磷酸化Akt,进而调节下游分子表达,参与调控增殖、分化、凋亡等多种生物学过程^[18]。研究显示,抑制TGF- β_1 /PI3K/Akt信号通路可降低炎症因子TNF- α 、IL-6和IL-1 β 的表达,改善CAG大鼠胃组织损伤^[19]。另外,抑制TGF- β_1 信号通路可减轻MNNG诱导的CAG^[20]。抑制PI3K/Akt信号通路可降低CAG大鼠血清中IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平,减轻炎症反应,进而改善大鼠胃黏膜损伤^[21]。本研究结果显示,香砂益胃汤可下调TGF- β_1 蛋白表达水平和PI3K、Akt蛋白磷酸化水平,推测其可能通过抑制TGF- β_1 /PI3K/Akt信号通路减轻CAG大鼠胃黏膜损伤。为此本研究对香砂益胃汤高剂量处理的大鼠加用740 Y-P处理,结果发现,上述指标均显著逆转,表明香砂益胃汤可通过抑制TGF- β_1 /PI3K/Akt信号通路减轻CAG大鼠胃黏膜损伤。

综上所述,香砂益胃汤可减轻CAG大鼠胃黏膜损伤,其作用机制与抑制TGF- β_1 /PI3K/Akt信号通路相关。

参考文献

- [1] YIN Y, LIANG H L, WEI N, et al. Prevalence of chronic atrophic gastritis worldwide from 2010 to 2020: an updated systematic review and meta-analysis[J]. *Ann Palliat Med*, 2022, 11(12):3697-3703.
- [2] ZHANG Z F, ZHANG X G. Chronic atrophic gastritis in different ages in South China: a 10-year retrospective analysis[J]. *BMC Gastroenterol*, 2023, 23(1):37.
- [3] WENG J, WU X F, SHAO P, et al. Medicine for chronic atrophic gastritis: a systematic review, meta- and network pharmacology analysis[J]. *Ann Med*, 2023, 55(2):2299352.
- [4] WANG L, LIAN Y J, DONG J S, et al. Traditional Chinese medicine for chronic atrophic gastritis: efficacy, mechanisms and targets[J]. *World J Gastroenterol*, 2025, 31(9):102053.
- [5] TONG Y L, WANG R L, LIU X, et al. Zuojin pill ameliorates chronic atrophic gastritis induced by MNNG through TGF- β_1 /PI3K/Akt axis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 271:113893.
- [6] 白雪峰,谭娟,高枫.理中汤对慢性萎缩性胃炎模型大鼠胃黏膜保护作用及对ADAM17、EGFR蛋白的影响[J].*中医药导报*,2021,27(10):32-36,41.
- [7] 林玲,韩涛,陆璐,等.慢性萎缩性胃炎及胃癌前病变动物模型的总结应用与评述[J].*中国实验方剂学杂志*,2019,25(2):220-227.
- [8] 王红妹,刘建,李小飞,等.三七白及散调节PI3K/AKT信号通路对血瘀型胃溃疡大鼠胃黏膜损伤的影响[J].世

界中西医结合杂志,2024,19(9):1766-1772.

- [9] 刘远婷,李慧,丁甜甜,等.加味沙参麦冬汤调节EGFR/MAPK信号通路对慢性萎缩性胃炎大鼠的保护作用研究[J].*吉林中医药*,2022,42(7):812-816.
- [10] 刁云皓,刘平,陈婷,等.基于数据挖掘的中药治疗慢性萎缩性胃炎用药规律研究[J].*国际中医中药杂志*,2024,46(10):1349-1355.
- [11] 顾洁,储开枫.麦冬汤加减对胃阴不足型慢性萎缩性胃炎患者EGF、CDX2表达的影响研究[J].*现代消化及介入诊疗*,2021,26(11):1404-1408.
- [12] LOPES C, ALMEIDA T C, PIMENTEL-NUNES P, et al. Linking dysbiosis to precancerous stomach through inflammation: deeper than and beyond imaging[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1134785.
- [13] 董瑛,陈芳,徐芳.瑞巴派特对慢性萎缩性胃炎患者胃蛋白酶和胃泌素及炎症因子水平的影响[J].*中国医药*,2020,15(2):259-262.
- [14] RECH T F, MAZZOLENI L E, MAZZOLENI F, et al. Analysis of the influence of interleukin-1 β gene polymorphism on gastric inflammatory response and precancerous lesions development in patients with functional dyspepsia[J]. *Immunol Invest*, 2020, 49(5):585-596.
- [15] 田家豪,石棕棕,费素娟.小檗碱通过抑制凋亡和炎症减轻大鼠慢性萎缩性胃炎病变的效果[J].*世界中医药*,2023,18(2):200-205.
- [16] HAN L P, LI T, WANG Y Y, et al. Weierning, a Chinese patent medicine, improves chronic atrophic gastritis with intestinal *Metaplasia*[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 309:116345.
- [17] YAN Z P, XU T T, XU Y X, et al. Jianpiyiqi formula ameliorates chronic atrophic gastritis in rats by modulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(2):878.
- [18] 王杰,杜朋丽,董佳琪,等.黄连碱对慢性萎缩性胃炎大鼠PI3K/Akt/mTOR信号通路的影响[J].*中国实验方剂学杂志*,2024,30(18):117-124.
- [19] TONG Y L, LIU L P, WANG R L, et al. Berberine attenuates chronic atrophic gastritis induced by MNNG and its potential mechanism[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:644638.
- [20] YUAN Z, WANG Y S, WANG X R, et al. The fruit of *Rosa odorata* sweet var. *Gigantea* (Coll. et Hemsl.) Rehd. et Wils attenuates chronic atrophic gastritis induced by MNNG and its potential mechanism[J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 337(Pt 2):118876.
- [21] 王杰,高云霄,马虹宇,等.基于网络药理学和实验验证探讨香连化浊方对慢性萎缩性胃炎的作用机制[J].*中国实验方剂学杂志*,2022,28(18):161-168.

(收稿日期:2024-12-09 修回日期:2025-04-17)

(编辑:唐晓莲)