

本文引用:黄铭涵,李思汉,田琳,林平,郑榕,施婧瑶,林秀明.基于Sonic Hedgehog通路探讨复方胃炎合剂干预慢性萎缩性胃炎癌前病变的机制[J].湖南中医药大学学报,2021,41(2):230-235.

# 基于 Sonic Hedgehog 通路探讨复方胃炎合剂干预慢性萎缩性胃炎癌前病变的机制

黄铭涵<sup>1</sup>,李思汉<sup>2</sup>,田琳<sup>1</sup>,林平<sup>1</sup>,郑榕<sup>1</sup>,施婧瑶<sup>3\*</sup>,林秀明<sup>1\*</sup>

(1.福建中医药大学附属第二人民医院,福建福州350003;2.广州中医药大学基础医学院,广东广州510006;

3.福建中医药大学附属人民医院,福建福州350004)

**〔摘要〕**目的 观察复方胃炎合剂对慢性萎缩性胃炎癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)脾虚痰湿热瘀证大鼠 Sonic Hedgehog (Shh)通路相关基因表达的影响,并探讨其抑制 PLGC 进展的机制。方法 SPF 级雄性 Wistar 大鼠随机分为空白组、空白+中药组、模型组、维酶素组、中药低剂量组、中药中剂量组和中药高剂量组,每组 8 只。造模组采用复合造模法构建 PLGC 脾虚痰湿热瘀证大鼠模型,造模成功后,各组予以相应干预,干预 30 d 后进行标本采集,采用 HE 染色检测大鼠胃黏膜病变情况,RT-qPCR 检测胃组织 Shh 通路相关基因 SHH、PTCH1、SMO、Gli1、Gli2、Gli3 mRNA 的表达。结果 HE 染色提示空白组和空白+中药组大鼠胃组织病理组织学正常,模型组大鼠胃黏膜萎缩,并可见肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)和上皮内瘤变(intraepithelial neoplasia, IN);维酶素组和中药各剂量组病理组织学可见不同程度改善,以中药中、高剂量组改善最为明显。与空白组比较,模型组大鼠 SHH、SMO、PTCH、Gli1 mRNA 表达量下降,Gli2、Gli3 mRNA 表达量上升,差异均有统计学意义( $P<0.05$ , $P<0.01$ )。与模型组比较,各治疗组大鼠胃组织 SHH、SMO、PTCH、Gli1 mRNA 表达量均上升,Gli2、Gli3 mRNA 表达量均降低,其中空白+中药组、维酶素组、中药中剂量组、中药高剂量组 SHH、SMO、PTCH mRNA 表达差异有统计学意义( $P<0.05$ , $P<0.01$ ),中药高剂量组大鼠胃组织 Gli1 mRNA 表达差异有统计学意义( $P<0.05$ ),空白+中药组、维酶素组、中药中剂量组、中药高剂量组大鼠胃组织 Gli2 mRNA 表达差异有统计学意义( $P<0.01$ ),中药各剂量组 Gli3 mRNA 表达差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 复方胃炎合剂可通过激活 Shh 通路改善胃黏膜病变,从而抑制 PLGC 的进展。

**〔关键词〕**慢性萎缩性胃炎癌前病变;复方胃炎合剂;Sonic Hedgehog 通路;机制研究;大鼠

**〔中图分类号〕**R259

**〔文献标志码〕**A

**〔文章编号〕**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.02.013

## Based on Sonic Hedgehog Pathway to Explore the Mechanism of Compound Gastritis Mixture on Precancerous Lesions of Gastric Cancer

HUANG Minghan<sup>1</sup>, LI Sihan<sup>2</sup>, TIAN Lin<sup>1</sup>, LIN Ping<sup>1</sup>, ZHENG Rong<sup>1</sup>, SHI Jingyao<sup>3\*</sup>, LIN Xiuming<sup>1\*</sup>

(1. The Second People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350003, China;

2. School of Basic Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510006, China;

3. People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350004, China)

**〔Abstract〕 Objective** To observe the effect of compound gastritis mixture on the related genes expression of Sonic Hedgehog (Shh) pathway in rats with spleen deficiency, dampness-heat and blood stasis syndrome of precancerous lesions of gastric cancer

**〔收稿日期〕**2020-11-16

**〔基金项目〕**福建省自然科学基金项目(2017J01305);福建省中医药科研课题(2017FJZYJC206);福建省创新课题(2018-CX-47);福建省卫健委中青年骨干人才培养项目(2019-ZQN-79);福建省卫健委青年课题(2018-1-79);福建中医药大学中医脾胃学科开放课题(X2019014-学科)。

**〔作者简介〕**黄铭涵,男,副教授,副主任医师,硕士研究生导师,研究方向:中医脾胃病的临床及基础研究。

**〔通讯作者〕**\*施婧瑶,女,主治医师,E-mail:14474063@qq.com;林秀明,男,主治医师,E-mail:doclinxm@163.com。

(PLGC), and to explore its mechanism of inhibiting the progression of PLGC. **Methods** SPF male Wistar rats were randomly divided into the blank group, the blank + traditional Chinese medicine (TCM) group, the model group, the vitacoenzyme group, the low-dosage TCM group, the medium-dosage TCM group, and the high-dosage TCM group, with 8 rats in each group. The rat model of spleen deficiency, dampness-heat, and blood stasis syndrome of PLGC was established by compound modeling method. After the model was successfully established, each group was given 30 days of related interventions. Then, stomach specimens were collected and the pathological changes of gastric mucosa were detected by HE staining, and the related genes expression of Shh pathway of SHH, PTCH, SMO, Gli1, Gli2 and Gli3 mRNA in gastric tissue was detected by RT-qPCR. **Results** HE staining showed that the histopathology of gastric tissue in the blank group and the blank + TCM group was normal, however, atrophy, intestinal metaplasia (IM) and intraepithelial neoplasia (IN) could be seen in the gastric mucosa of rats in the model group; the histopathology of the vitacoenzyme group and each dose of TCM group were improved in varying degrees, especially in the medium-dosage TCM group and the high-dosage TCM group. Compared with the blank group, the expressions of SHH, SMO, PTCH and Gli1 mRNA in the model group decreased, while the expressions of Gli2 and Gli3 mRNA increased, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). Compared with the model group, the expressions of SHH, SMO, PTCH and Gli1 mRNA in gastric tissue of rats in each treatment group increased, while the expressions of Gli2 and Gli3 mRNA decreased, among them, there were significant differences in the expressions of SHH, SMO and PTCH mRNA in the blank + TCM group, the vitacoenzyme group, the medium-dosage TCM group, and the high-dosage TCM group ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), there were significant difference in the expression of Gli1 mRNA in gastric tissue of rats in the high-dosage TCM group ( $P<0.05$ ), the expression of Gli2 mRNA in gastric tissue of rats in the blank + TCM group, the vitacoenzyme group, the medium-dosage TCM group, and the high-dosage TCM group was decreased significantly ( $P<0.01$ ), while the expression of Gli3 mRNA in each dosage TCM group was not statistically significant ( $P>0.05$ ). **Conclusion** Compound gastritis mixture can improve the pathological change of gastric mucosa by reactivating Shh pathway, thus inhibiting the progression of PLGC.

[**Keywords**] precancerous lesions of gastric cancer; compound gastritis mixture; Sonic Hedgehog pathway; mechanism research; rat

胃癌是一种严重威胁人类健康的恶性肿瘤,其发病率和死亡率居我国消化系统恶性肿瘤之首,胃镜检出率为7.5%~13.8%<sup>[1]</sup>。慢性萎缩性胃炎癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)是指在慢性萎缩性胃炎基础上胃黏膜的异常改变,主要包括胃黏膜不完全型肠上皮化生和中、重度不典型增生<sup>[2]</sup>。目前,多数研究者认同的演变模式为:慢性胃炎→胃黏膜萎缩→肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)→上皮内瘤变(intraepithelial neoplasia, IN)→胃癌<sup>[2]</sup>。因此,阻断或逆转 PLGC 进展是降低胃癌发生率的有效措施。复方胃炎合剂是在国医大师杨春波教授创制的“胃炎 1 号”<sup>[3]</sup>“胃炎合剂”<sup>[4]</sup>基础上,结合中医证素研究<sup>[5]</sup>优化而成,临床治疗 PLGC 疗效显著<sup>[6]</sup>。相关研究<sup>[7-8]</sup>证实,Sonic Hedgehog (Shh)信号通路分子的异常表达与 PLGC 的发生、进展关系密切。因此,本文以 Shh 信号通路为切入点,研究复方胃炎合剂阻断或逆转 PLGC 进程的作用机制,以期为复方胃炎合剂的临床应用提供依据。

## 1 实验材料

### 1.1 动物

选择健康 Wistar 大鼠 59 只,雄性,体质量为(110±10) g,SPF 级,购于上海莱斯克实验动物有限公司[动物许可证号 SCXK(沪)2017-0005],饲养于福建中医药大学 SPF 级动物实验中心,分笼饲养,环境温度 21~25 ℃,空气湿度 50%~60%。所有实验均按照福建中医药大学附属第二人民医院伦理委员会和国际动物福利标准的指导方针进行<sup>[9]</sup>。

### 1.2 药物

复方胃炎合剂汤药由福建中医药大学附属第二人民医院药剂室制备。复方胃炎合剂由 14 味药物组成:炙黄芪 150 g,党参 100 g,茯苓 150 g,炒白术 100 g,枳壳 60 g,白芍 100 g,砂仁 45 g,法半夏 100 g,佩兰 100 g,黄连 30 g,地龙干 150 g,莪术 60 g,陈皮 60 g,甘草 30 g。将药物浸泡于 8 倍量水中 0.5 h,随后煎煮 3 次,时间分别为 1.5、1.0、0.5 h,合并煎液并过滤。在 60~70 ℃下减压浓缩滤液至

500 mL, 含生药 2.47 g/mL, 灭菌分装, 冷藏至 4 °C 备用。维酶素片(规格 0.2 g/片, 北海阳光药业有限公司, 批号:190105); 盐酸雷尼替丁胶囊(规格 0.15 g/粒, 赛诺菲杭州制药有限公司, 批号:4061)。

### 1.3 主要试剂

1-甲基-3-硝基-1-亚硝基胍(货号 M0527)购自北京百灵威科技有限公司; TRNzol 总 RNA 提取试剂盒(货号 DP424)购自北京天根生化科技有限公司; 去基因组逆转录试剂盒(货号 RR047B)、荧光定量混合液(货号 RR82LR)、DNA 梯度标志物(货号 3427Q)均购自日本宝日生物技术(北京)有限公司; 引物购自美国 Invitrogen 公司, 引物序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列

基因	引物	序列	产物长度/bp
SHH	正向	5'-TCCGATGTGTTCCGTTACC-3'	100
	反向	5'-AACCTTGCCTGCTGTTGC-3'	
SMO	正向	5'-ACCAAGGCCACCCTGCTCAT-3'	131
	反向	5'-TGCAGCAGTTCACGCCGCTT-3'	
PTCH	正向	5'-TCCCAAGCAAATGTATGAA-3'	177
	反向	5'-AGGCTCGTGGTGGTGAAG-3'	
Gli1	正向	5'-CAGCTCAAAGCTCAGCTCCT-3'	114
	反向	5'-CTTGGGGCTCTGATATGGAA-3'	
Gli2	正向	5'-TTCATGGGGAATGTGTGGCA-3'	130
	反向	5'-CGAGCCCAGATGACGATGTT-3'	
Gli3	正向	5'-TGGGATTCAAGGTCCTCAAGC-3'	147
	反向	5'-ATGTACCCTGCCCATTTG-3'	

### 1.4 主要仪器

低温冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司, 型号 5424R); 涡旋振荡仪(海门市其林贝尔仪器制造有限公司, 型号 QL-902); 分光光度计(美国 Thermo scientific 公司, 型号 NANODROP 2000); 荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司, 型号 ABI7500); 紫外分光光度计(美国 NanoDrop 公司, 型号 ND-2000); 凝胶成像系统(上海天能科技有限公司, 型号 Tanon 1600)。

## 2 实验方法

### 2.1 模型构建

2.1.1 疾病模型构建 造模组参考文献[10-12]加以改进进行造模:(1)以 120 μg/mL 1-甲基-3-硝基-1-亚硝基胍溶液作为饮用水自由饮用;(2)雷尼

替丁 0.03 g/(kg·d) 灌胃;(3)45%乙醇空腹灌胃, 每周 2 次, 2 mL/次;(4)每周禁食 1 次, 每次 24 h。以上述方法连续造模 24 周。造模结束后, 随机抽取 3 只大鼠麻醉, 取胃, 行病理检查, 如病理由高年资病理科医师审阅复核, 提示胃组织黏膜萎缩, 同时见 IM 和 IN, 则判断 PLGC 模型构建成功<sup>[11]</sup>。

2.1.2 证候模型构建 PLGC 造模成功后, 课题组参考文献[13-14]加以改进。造模组大鼠单日禁食、自由饮水, 双日足量高脂高糖饮食、20%蜂蜜水自由饮用, 隔日上午灌服油脂 10 g/(kg·d), 下午灌服 56°白酒 10 mL/kg; 第 15 天开始放入人工气候箱中, 温度 30~34 °C, 相对湿度 95%, 连续 5 d。经以上造模干预, 造模组大鼠背毛蓬松、色偏黄、无明显光泽, 喜扎堆, 唇周色暗, 小便量多色黄, 大便便溏或黏稠发暗、馊臭明显, 舌质稍紫, 尾色瘀青, 符合脾虚痰湿热瘀证的模型特点。

### 2.2 分组及干预

Wistar 大鼠采用随机数字法分为 2 组。空白对照组 16 只, 随机分为空白组、空白+中药组, 每组 8 只, 给予 SPF 级动物标准饮食喂养。造模组 43 只, 按“2.1”方法构建模型后选取 40 只大鼠, 随机分为模型组、维酶素组、中药低剂量组、中药中剂量组、中药高剂量组, 每组 8 只。参考成人平均体质量 60 kg, 根据临床用药剂量与动物用量的剂量换算, 中药低剂量组、中药中剂量组、中药高剂量组、空白+中药组大鼠, 每日以复方胃炎合剂原液灌胃, 量分别为 2.5、5、10、10 mL/(kg·d), 根据大鼠体质量用生理盐水稀释药液至每次 5 mL/只。维酶素组大鼠予以维酶素混悬液灌服, 根据大鼠体质量, 按 0.2 g/(kg·d) 灌胃, 每次 5 mL/只。空白组、模型组给予生理盐水灌胃, 每次 5 mL/只。药物干预共 30 d。

### 2.3 标本采集

药物干预结束后, 大鼠予禁食 12 h, 随后放入大小适中、放有乙醚棉球的透明玻璃罩中进行麻醉。麻醉成功后沿腹部正中线剖开腹腔, 分离胃, 沿胃大弯剖开, 放入生理盐水漂洗, 取幽门与前胃和腺胃交界线连线的 2/5 部分, 放入冻存管后立即置于液氮中速冻, 随后 -80 °C 冻存备用; 将胃窦部放入 10%福

尔马林液中固定备用。

## 2.4 指标检测

**2.4.1 HE染色观察病理组织学改变** 胃窦部经石蜡包埋后,用切片机连续切片5张,进行HE染色,光学显微镜下观察各组大鼠胃黏膜病理组织学情况。

**2.4.2 RT-qPCR检测相关mRNA表达** 采用TRNzol总RNA提取试剂盒进行样本RNA提取,使用紫外分光光度计,采用紫外吸收法进行RNA浓度和纯度测定,再采用去基因组逆转录试剂盒进行cDNA反转录,实验操作严格按产品说明书进行,PCR反应条件为:95℃预变性2min后进入40个循环扩增阶段,循环条件为:95℃变性30s,56℃退火40s,72℃延伸45s;最后于72℃延伸5min。

## 2.5 统计学方法

所有数据用SPSS 20.0统计软件进行处理,数据用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。对相关数据进行正态及方差齐性检验,如符合正态分布、方差齐性,采用单因素方差分析方法,并采用LSD检验进行组间两两比较;若不符合正态分布,则采用Kruskal-Wallis H检验进行分析。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 各组大鼠胃组织病理学情况比较

空白组和空白+中药组大鼠胃组织形态结构无异常,可见结构完整、排列整齐的胃黏膜细胞和腺体;模型组大鼠胃黏膜层变薄,且腺泡减少,腺管不完整,伴有明显炎症细胞浸润,可见IM和IN;维酶

素组和中药各剂量组大鼠胃黏膜组织厚度均不同程度增加,腺泡均增加,可见黏膜下层和肌层增厚。维酶素组和中药低剂量组细胞大小较为均一,但细胞排列仍不甚规则;中药中、高剂量组大鼠胃黏膜细胞腺管结构相对完整,细胞核形状、大小较为均匀,排列较为整齐,未见明显炎症细胞浸润。见图1。

### 3.2 各组大鼠胃组织SHH、SMO、PTCH mRNA表达水平比较

与空白组比较,模型组SMO、SHH、PTCH mRNA的表达水平均显著降低( $P<0.01$ )。与模型组相比,各治疗组SMO、SHH、PTCH mRNA表达水平均有所升高,其中维酶素组、中药中剂量组、中药高剂量组差异具有统计学意义( $P<0.05$ , $P<0.01$ )。与维酶素组比较,中药各剂量组SHH mRNA表达水平差异无统计学意义( $P>0.05$ );中药低、中剂量组SMO mRNA表达水平差异无统计学意义( $P>0.05$ ),中药高剂量组显著上升( $P<0.05$ );中药低剂量组PTCH mRNA表达水平下降( $P<0.05$ ),但中药中、高剂量组表达水平差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表2。

### 3.3 各组大鼠胃组织Gli1、Gli2、Gli3 mRNA表达水平比较

与空白组比较,模型组Gli1 mRNA表达水平显著降低( $P<0.05$ ),Gli2、Gli3 mRNA表达水平显著升高( $P<0.05$ , $P<0.01$ )。与模型组比较,维酶素组、中药低、中剂量组Gli1 mRNA表达水平有所升高,但差异无统计学意义( $P>0.05$ ),中药高剂量组Gli1 mRNA表达水平显著升高( $P<0.05$ ),中药低剂量组Gli2 mRNA表达水平无显著变化( $P>0.05$ ),维酶素组、中药中、

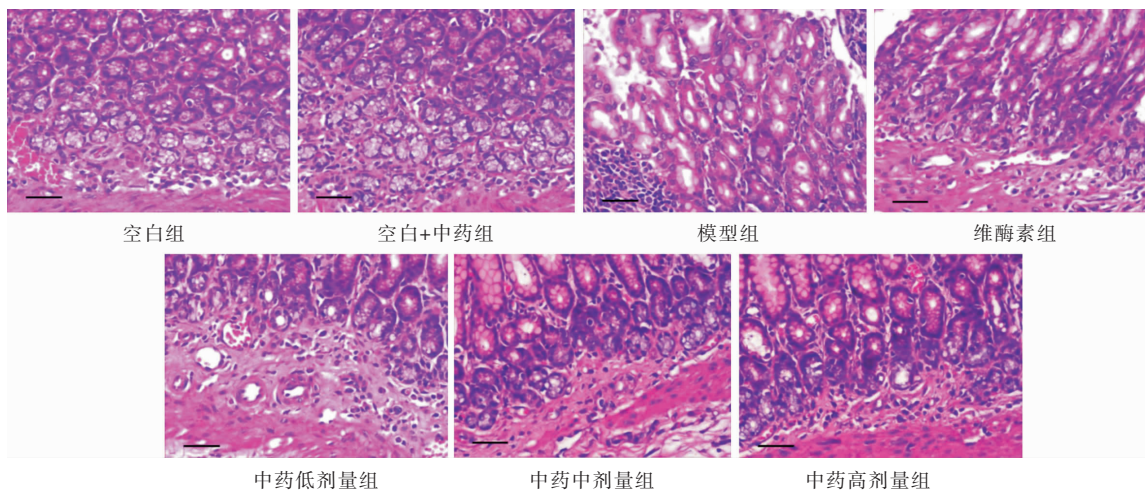


图1 各组大鼠胃组织病理学情况(HE,x200)

表 2 各组大鼠胃组织 SHH、SMO、PTCH mRNA 表达水平比较

组别	SHH	SMO	PTCH
空白组	1.010±0.162	1.048±0.136	1.034±0.146
空白+中药组	1.064±0.181 <sup>△△#</sup>	1.075±0.164 <sup>△△#</sup>	1.081±0.132 <sup>△△#</sup>
模型组	0.612±0.084**	0.642±0.061**	0.647±0.081**
维酶素组	0.733±0.071 <sup>△**</sup>	0.834±0.092 <sup>**△△</sup>	0.900±0.103 <sup>**△△</sup>
中药低剂量组	0.645±0.063**	0.728±0.110**	0.762±0.102 <sup>**#</sup>
中药中剂量组	0.742±0.077 <sup>△**</sup>	0.891±0.073 <sup>**△△</sup>	0.871±0.091 <sup>**△△</sup>
中药高剂量组	0.788±0.089 <sup>△△#</sup>	0.956±0.131 <sup>△△#</sup>	0.954±0.159 <sup>△△</sup>

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ ,<sup>△△</sup> $P<0.01$ ;与维酶素组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ,<sup>##</sup> $P<0.01$

高剂量组 Gli2 mRNA 表达水平显著降低( $P<0.01$ );维酶素组和中药各剂量组 Gli3 mRNA 表达水平均有所降低,但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。与维酶素组比较,中药低剂量组 Gli2 mRNA 表达水平升高( $P<0.05$ )。见表 3。

表 3 各组大鼠胃组织 Gli1、Gli2、Gli3 mRNA 表达水平比较

组别	Gli1	Gli2	Gli3
空白组	0.923±0.14	0.899±0.19	0.969±0.169
空白+中药组	0.929±0.109 <sup>△△</sup>	0.879±0.199 <sup>△△</sup>	1.022±0.22
模型组	0.751±0.08*	1.196±0.1**	1.204±0.179*
维酶素组	0.804±0.16	0.866±0.221 <sup>△△</sup>	1.123±0.151
中药低剂量组	0.779±0.09*	1.048±0.12 <sup>#</sup>	1.091±0.2
中药中剂量组	0.85±0.121	0.916±0.15 <sup>△△</sup>	1.17±0.191
中药高剂量组	0.898±0.129 <sup>△</sup>	0.953±0.14 <sup>△△</sup>	1.146±0.23

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ ,<sup>△△</sup> $P<0.01$ ;与维酶素组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$

## 4 讨论

在前期研究中<sup>[5,15-17]</sup>,课题组以证素辨证为手段,结合福建地域特点,认为 PLGC 以脾胃气虚为本,以痰、湿、热、瘀为标<sup>[9]</sup>。多因禀赋不足、饮食不节、情志失调、外邪犯胃等因素,致脾胃亏虚,湿、热邪气胶着于胃脘部,酿而生痰,日久入络,化生瘀毒,从而损伤黏膜组织,致胃黏膜 IM 及异型增生<sup>[16]</sup>。如《灵枢·百病始生》曰:“是故虚邪之中人也……留而不去,则传舍于络脉……留而不去,传舍于经……留着于脉,稽留而不去,息而成积。”因此,在 PLGC 病机演化的过程中,脾胃亏虚为发病基础,湿热邪气贯穿始终,痰瘀为病变关键病理因素。在总结“胃炎 1 号”<sup>[13]</sup>“胃炎合剂”<sup>[14]</sup>疗效基础上进一步优化,拟定“复方胃炎合剂”。方中黄芪、党参同用,健脾养胃、甘温益气;白术健脾燥湿,茯苓健脾渗湿,苓术相配,健脾益气、祛

湿之功益著;以上诸药合用,治虚以补后天之本。配法半夏、佩兰、黄连、白豆蔻、陈皮清热祛痰,砂仁、枳壳行气调中、化湿消痞,白芍和营缓急止痛,莪术、地龙逐瘀舒络。诸药并用,共奏健脾清化舒络之功,旨在驱邪扶正、标本兼顾,复脾胃健运之职,以期使萎缩、肠化、异型增生得以渐次逆转。

既往研究<sup>[7-8,18]</sup>发现,胃黏膜上皮细胞 Shh 信号转导通路在 PLGC 的发病过程中扮演了重要的角色。Hedgehog 由 Nusslein-Volhard 和 Wieschaus 在研究果蝇的基因突变时发现,1992 年成功克隆出该基因<sup>[7]</sup>。在哺乳动物中 Hedgehog 家族包括 3 个同系物:Shh、Indian hedgehog (Ihh) 及 Desert hedgehog (Dhh)<sup>[19]</sup>。Shh 是 Hedgehog 家族中研究脊椎动物最好的配体,大部分有关 Hedgehog 信号通路的研究都是通过 Shh 实现的。Shh 的信号通路受体由 PTCH 家族受体和 SMO 两种膜蛋白及下游转录因子 Gli 构成,转导主要是受相关细胞膜蛋白 PTCH 和 SMO 影响,受体 PTCH 由抑癌基因 Patched 编码,而癌基因 Smoothed 则编码着 SMO 受体<sup>[18]</sup>。Shh 在胞浆内经过一系列反应后形成具有信号转导功能的成熟肽,然后分泌到细胞外,并作为配体与其受体 PTCH 结合,解除其对中间信号分子 SMO 的抑制作用,活跃的 SMO 将 Shh 信号向细胞内传递,从而激活下游转录因子 Gli。脊椎动物 Gli 家族包括 Gli1、Gli2 及 Gli3 3 种蛋白,被激活后由细胞浆转位至细胞核内,发挥转录因子作用<sup>[19]</sup>。

Shh 与胃底腺功能的维持关系紧密,但高水平的 Shh 活化也意味着恶变的风险增加,可能会使细胞增殖不受控制。Berman 等<sup>[20]</sup>发现,胃癌细胞系中存在高水平的 Shh 通路自发活化。Shh 表达上调可引起 Shh 信号通路中 PTCH 至 Gli1 途径的异常激活,并最终导致胃癌的发生。Lee 等<sup>[21]</sup>的研究显示,萎缩、IM 和胃腺瘤中 Shh 都存在过度表达,在 Hp 感染相关的假幽门腺化生组织中,Shh 也出现高表达,并以旁分泌的形式激活 Gli 在基质中的表达。此外,体内外实验<sup>[22]</sup>都已显示,Shh 通路的拮抗剂环杷明(cyclopamine)特异性结合其中间信号分子 SMO 后,通过阻断 Shh 的细胞反应,能够抑制胃癌细胞株的

生长,这也从侧面反映出 Shh 信号通路在胃癌的发生、发展中所起的推进作用。

在本研究中,采用病证结合的造模方法进行证候动物模型的构架,通过胃组织 HE 染色结果及大鼠一般情况观察可知本方法能较好地构建大鼠 PLGC 脾虚痰湿热瘀证模型。结合既往相关动物模型构建的研究结果可知,以该方案进行 PLGC 动物模型构建,实验结果较为稳定<sup>[14,23]</sup>。在后续药物干预治疗中,维酶素组和中药各剂量组大鼠的胃黏膜病理均较模型组改善,病理结果显示中药中、高剂量组疗效最佳,可知复方胃炎合剂对于 PLGC 的疗效确切。对 Shh 信号通路的研究中发现,模型组大鼠存在 Shh 信号通路的表达异常,信号通路处于抑制状态,与既往的研究<sup>[24-25]</sup>结果基本一致。加入复方胃炎合剂进行干预后,PLGC 脾虚痰湿热瘀证大鼠 Shh 信号通路关键因子 SHH、SMO、PTCH、Gli1 mRNA 表达上调,同时 Gli2 mRNA 表达出现相应下调,表明复方胃炎合剂可通过重新激活抑制状态的 Shh 信号通路,改善 PLGC 大鼠的胃黏膜病理改变,抑制 PLGC 进展。

## 参考文献

- [1] 房静远,杜奕奇,刘文忠,等.中国慢性胃炎共识意见(2017年,上海)[J].胃肠病学,2017,22(11):670-687.
- [2] 李兆申,吕 宾,吕农华,等.中国胃黏膜癌前状态及病变的处理策略专家共识(2020)[J].中华消化杂志,2020,40(11):731-741.
- [3] 王少明,林才经,杨春波,等.胃炎 1 号对胃粘膜癌前病变大鼠 P53 蛋白表达的影响[J].福建中医药,2006,37(6):50-51.
- [4] 潘秀珍,徐顺犹,伍旋华,等.中药胃炎合剂治疗慢性萎缩性胃炎疗效观察[J].中医杂志,1984,25(2):27-28.
- [5] 林 平,黄小燕,施婧瑶,等.慢性胃炎的证素特点[J].福建中医药大学学报,2013,23(2):7-9.
- [6] 黄铭涵,黄 健,李思汉,等.复方胃炎合剂逆转胃癌前病变的临床研究[J].中国中医药信息杂志,2016,23(4):20-23.
- [7] 黄 利,彭 琼,甘惠中.Hedgehog 信号通路与胃疾病研究进展[J].胃肠病学和肝病杂志,2012,21(2):193-196.
- [8] 席小龙,姜波健,俞继卫.肿瘤干细胞相关信号通路在胃癌发生发展中的研究进展[J].世界华人消化杂志,2014,22(4):494-500.
- [9] 郭 昊.医学研究实验动物伦理和福利状况调查:以药学和中药学期刊载文分析为例[J].医学与哲学,2020,41(4):24-27,34.
- [10] 李俊青.参七消痞颗粒对 MNNG 负荷多因素致大鼠慢性萎缩性胃炎的干预作用及机制探讨[D].北京:北京中医药大学,2013.
- [11] 周 晶,黄柳向,喻 斌,等.MNNG 诱导胃癌前病变模型的探讨[J].中国中西医结合消化杂志,2016,24(11):888-890.
- [12] 陈晓东,潘华峰,蔡甜甜,等.亚硝基胍复制胃癌前病变大鼠模型的研究概况[J].湖南中医药大学学报,2017,37(4):457-460.
- [13] 王 丽.CSG 脾虚与湿热模型大鼠胃粘膜组织微观变化的对比研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2011.
- [14] 徐 寅,张 彧,陈 末,等.灭幽汤对幽门螺杆菌相关性胃炎脾胃湿热证模型小鼠 FoxO3a、Bim 和 FasL 的影响[J].湖南中医药大学学报,2020,40(7):828-833.
- [15] 林 平,翁顺珠,郑进敏.运用证素及中医体质理论探讨脾胃湿热型慢性胃炎的中医病理特点[J].福建中医药,2015,46(1): 3-5.
- [16] 李思汉,李书楠,黄铭涵,等.胃癌前病变“痰”“湿”证素特征研究[J].中华中医药杂志,2019,34(3):970-973.
- [17] 李思汉.慢性萎缩性胃炎不同病理类型证素分布及与焦虑抑郁状态相关性研究[D].福州:福建中医药大学,2017.
- [18] 殷和文,龙颖颖,段凤英.Hedgehog 信号通路的研究进展[J].实用医学杂志,2014,30(2):318-320.
- [19] 齐晓龙,王玉炯,吴 更.Hedgehog 信号通路研究进展[J].中国细胞生物学学报,2013,35(8):1211-1220.
- [20] BERMAN D M, KARHADKAR S S, MAITRA A, et al. Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours[J]. Nature, 2003, 425(6960): 846-851.
- [21] LEE S Y, HAN H S, LEE K Y, et al. Sonic hedgehog expression in gastric cancer and gastric adenoma[J]. Oncology Reports, 2007, 17(5): 1051-1055.
- [22] YANAI K, NAGAI S, WADA J, et al.Hedgehog signaling pathway is a possible therapeutic target for gastric cancer[J]. Journal of Surgical Oncology, 2007, 95(1): 55-62.
- [23] 于春月,李依聪,苏泽琦,等.MNNG 负荷多因素致大鼠慢性萎缩性胃炎中医病证结合动物模型研究进展[J].中华中医药杂志,2020,35(1):292-296.
- [24] 赵唯含,高康丽,李宁飞,等.黄芪、三七及其配伍对慢性萎缩性胃炎大鼠胃组织 Hedgehog 信号通路的调节作用[J].中华中医药杂志,2016,31(5):1951-1955.
- [25] CAI D L, YU J S, QIU J, et al. Dynamic changes of Sonic Hedgehog signaling pathway in gastric mucosa of rats with MNNG-induced gastric precancerous lesions[J]. Journal of Cellular Physiology, 2019, 234(7): 10827-10834.

(本文编辑 匡静之 周 旦)