

本文引用: 叶春荣, 姚文林, 胡露楠, 陈淑游, 张晓源, 万丹, 俞静. 基于 Nrf2/HO-1 信号通路调控巨噬细胞极性探讨复方胃炎合剂干预胃癌前病变的机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(1): 23-30.

基于 Nrf2/HO-1 信号通路调控巨噬细胞极性 探讨复方胃炎合剂干预胃癌前病变的机制

叶春荣^{1*}, 姚文林², 胡露楠², 陈淑游², 张晓源², 万丹¹, 俞静¹

1. 福建中医药大学附属第二人民医院, 福建 福州 350003; 2. 福建中医药大学, 福建 福州 350122

[摘要] **目的** 探讨复方胃炎合剂通过调控巨噬细胞极性治疗胃癌前病变的作用机制。**方法** 将 Wistar 大鼠分为空白组(6只)及造模组(33只)。造模组采用复合因素诱导法构建胃癌前病变大鼠模型,造模成功后分为模型组,复方胃炎合剂低、中、高剂量组[2.5、5、10 mL/(kg·d)复方胃炎合剂溶液灌胃],维酶素组[0.2 g/(kg·d)维酶素混悬液灌胃],每组6只。使用相应药物干预4周后,观察大鼠整体情况(尾巴、体形),记录体质量增长情况,HE染色观察胃黏膜组织结构变化,qPCR检测白细胞介素(IL)-12、IL-23、IL-4、精氨酸-1(Arg-1)mRNA相对表达量,Western blot检测核因子E2相关因子2(Nrf2)、血红素加氧酶-1(HO-1)、白细胞分化抗原(CD)16、CD206蛋白相对表达量。**结果** 与空白组比较,模型组大鼠尾巴细短、色泽较瘀暗,体形明显减小,体质量增长缓慢,胃黏膜组织细胞异型增生明显,Arg-1、IL-4 mRNA及CD16蛋白相对表达量升高($P<0.05$),IL-23、IL-12 mRNA及CD206、HO-1、Nrf2蛋白相对表达量降低($P<0.05$)。与模型组比较,复方胃炎合剂低、中、高剂量组大鼠整体情况改善,胃黏膜组织结构重塑,腺体萎缩显著改善,异型增生及肠上皮化生明显减少;复方胃炎合剂低、中、高剂量组和维酶素组 Arg-1 mRNA及CD16蛋白相对表达量降低($P<0.05$),HO-1蛋白相对表达量升高($P<0.05$);复方胃炎合剂中、高剂量组及维酶素组 IL-12 mRNA及Nrf2、CD206蛋白相对表达量升高($P<0.05$);复方胃炎合剂高剂量组和维酶素组 IL-4 mRNA相对表达量降低($P<0.05$);复方胃炎合剂高剂量组 IL-23 mRNA相对表达量升高($P<0.05$)。与维酶素组比较,复方胃炎合剂高剂量组 IL-12 mRNA相对表达量升高;复方胃炎合剂低、中、高剂量组 HO-1蛋白相对表达量降低($P<0.05$);复方胃炎合剂低、中剂量组 Nrf2和复方胃炎合剂低、中、高剂量组 CD206蛋白相对表达量降低($P<0.05$);复方胃炎合剂低、中剂量组 CD16蛋白相对表达量升高($P<0.05$)。**结论** 复方胃炎合剂可通过调控 Nrf2/HO-1 信号通路,抑制氧化应激,进而影响巨噬细胞极性,实现对胃黏膜肠上皮化生与异型增生的控制或逆转,从而发挥抗胃癌前病变的作用。

[关键词] 胃癌前病变;复方胃炎合剂;氧化应激;巨噬细胞极性;胃癌;Nrf2/HO-1 信号通路

[中图分类号]R285.5

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.01.004

Mechanistic investigation of compound gastritis mixture in precancerous lesions of gastric cancer via regulation of macrophage polarization mediated by the Nrf2/HO-1 signaling pathway

YE Chunrong^{1*}, YAO Wenlin², HU Lu'nan², CHEN Shuyou², ZHANG Xiaoyuan², WAN Dan¹, YU Jing¹

1. The Second People's Hospital of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350003, China; 2. Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China

[收稿日期]2025-08-05

[基金项目]福建省自然科学基金项目(2023J01811)。

[通信作者]*叶春荣,女,硕士,副主任医师,硕士研究生导师,E-mail:472007380@qq.com。

[Abstract] Objective To investigate the mechanism of action by which compound gastritis mixture (CGM) regulates macrophage polarization in the treatment of precancerous lesions of gastric cancer (PLGC). **Methods** Wistar rats were divided into blank group ($n=6$) and modeling group ($n=33$). The modeling group was used to establish a rat model of precancerous gastric lesions by compound factor induction. After successful modeling, the rats were further divided into a model group, CGM low-, medium-, and high-dose groups [2.5, 5, and 10 mL/(kg·d) CGM solution by gavage], and a vitacoenzyme group [0.2 g/(kg·d) vitacoenzyme suspension by gavage], with six rats in each group. After four weeks of intervention with the respective drugs, the general condition of the rats (tail, body shape) was observed, and body weight gain was recorded. Changes in gastric mucosal tissue structure were examined by hematoxylin-eosin (HE) staining. Relative messenger ribonucleic acid (mRNA) expression levels of interleukin (IL)-12, IL-23, IL-4, and arginase-1 (Arg-1) were measured by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). Relative protein expression levels of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), heme oxygenase-1 (HO-1), cluster of differentiation (CD)16, and CD206 were detected by Western blot. **Results** Compared with the blank group, rats in the model group exhibited short, thin tails with a dark purplish coloration, a markedly smaller body size, slow body-weight gain, and obvious dysplastic changes in gastric mucosal tissues. The relative mRNA expression levels of Arg-1 and IL-4 and the relative protein expression level of CD16 increased ($P<0.05$), whereas the relative mRNA expression levels of IL-23 and IL-12 and the relative protein expression levels of CD206, HO-1, and Nrf2 decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, the overall condition of rats improved in the CGM low-, medium-, and high-dose groups, the gastric mucosal structure was remodeled, glandular atrophy was significantly alleviated, and dysplasia and intestinal metaplasia markedly reduced; the relative mRNA expression level of Arg-1 and the relative protein expression level of CD16 decreased in the CGM low-, medium-, and high-dose groups and the vitacoenzyme group ($P<0.05$), while the relative protein expression level of HO-1 increased ($P<0.05$); the relative mRNA expression level of IL-12 and the relative protein expression levels of Nrf2 and CD206 increased in the CGM medium- and high-dose groups and the vitacoenzyme group ($P<0.05$); the relative mRNA expression level of IL-4 decreased in the CGM high-dose group and the vitacoenzyme group ($P<0.05$); the relative mRNA expression level of IL-23 increased in the CGM high-dose group ($P<0.05$). Compared with the vitacoenzyme group, the relative mRNA expression level of IL-12 increased in the CGM high-dose group; the relative protein expression level of HO-1 decreased in the CGM low-, medium-, and high-dose groups ($P<0.05$); the relative protein expression level of Nrf2 decreased in the CGM low- and medium-dose groups, and the relative protein expression level of CD206 decreased in the CGM low-, medium-, and high-dose groups ($P<0.05$); the relative protein expression level of CD16 increased in the CGM low- and medium-dose groups ($P<0.05$). **Conclusion** Compound gastritis mixture may regulate the Nrf2/HO-1 signaling pathway to inhibit oxidative stress, thereby affecting macrophage polarization and achieving control or reversal of intestinal metaplasia and dysplasia of the gastric mucosa, exerting a protective effect against PLGC.

[Keywords] precancerous lesions of gastric cancer; compound gastritis mixture; oxidative stress; macrophage polarization; gastric cancer; Nrf2/HO-1 signaling pathway

胃癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)系胃黏膜从正常状态向胃癌演变的过渡阶段,常与慢性萎缩性胃炎相伴发生。对该病变进行早期诊断与干预,是阻断胃癌发生的关键措施。当前西医治疗存在局限性,而中医凭借整体观念、辨证论治等特点,在本病治疗中展现出显著的综合优势。本研究以国医大师杨春波教授研发的复方胃炎合剂为研究对象,该方剂参考现代中医证候要素^[1],将“胃炎 1 号”^[2]与“胃炎合剂”^[3]相结合,临床实践证明,其对 PLGC 疗效显著^[4]。同时选择维酶素作为阳性对照药物,因其具有悠久的使用历史和大量临床实践,是较

早应用于慢性萎缩性胃炎及其癌前病变的药物之一,并且其核心成分是维生素 B₁₂ 和多种辅酶的混合物,作用机制明确,安全性高^[5]。现有研究表明,核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2)/血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1) 信号通路是 PLGC 重要的发病机制,激活 Nrf2/HO-1 通路可减轻胃黏膜氧化损伤和炎症反应,逆转部分癌前病变特征^[6-8]。而巨噬细胞是人体主要的固有免疫细胞之一,研究表明,巨噬细胞极性参与多种疾病,其极化失衡是 PLGC 向胃癌发展的重要因素^[9]。深入研究调控巨噬细胞极化的机制,可为干预 PLGC

和胃癌提供新的靶点。基于此,本研究旨在从分子层面探讨复方胃炎合剂通过 Nrf2/HO-1 信号通路调控巨噬细胞极性的作用,阐明该方剂在 PLGC 发展过程中的作用机制,以期为临床合理应用提供科学依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级健康雄性 Wistar 大鼠 39 只,体质量(110±10) g,购自上海莱斯克实验动物有限公司[动物许可证号:SCXK(沪)2024-0005]。大鼠饲养于福建中医药大学 SPF 级屏障环境动物实验中心,饲养环境严格调控,温度 21~25 °C,相对空气湿度 50%~60%。所有涉及动物的实验操作均严格遵循国际实验动物福利标准的规范^[10],实验方案通过福建中医药大学实验动物伦理委员会审批(批准号:FJTCM IACUC2024064)。

1.2 药物与主要试剂

复方胃炎合剂中药组成:炙黄芪 15 g,炒白术 9 g,白芍 9 g,党参 15 g,枳壳 9 g,黄连 3 g,豆蔻 6 g,砂仁 3 g,佩兰 9 g,茯苓 15 g,法半夏 9 g,地龙 6 g,陈皮 9 g,莪术 9 g,甘草 3 g。颗粒剂统一由福建中医药大学附属第二人民医院药剂室制备。维酶素片(国药准字:H41024769,规格:0.2 g/片,北海阳光药业有限公司,批号:241005);75%乙醇(规格 500 mL/瓶,福州善思生物科技有限公司,批号:20240412);盐酸雷尼替丁(规格:5 g/瓶,福州精锐生物技术有限公司,批号:S67665)。

苏木素、伊红染色试剂盒(无锡市江原实业技贸有限公司,批号:240120);N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MN-NG)(中国 Biosharp 公司,批号:BS311);三代逆转录预混液(含 dsDNase)、qPCR 预混液、琼脂糖、荧光核酸染料、DNA 分子量标准、5×三羟甲基氨基甲烷-硼酸盐-乙二胺四乙酸浓缩液(武汉莫纳生物技术有限公司,货号:MR05101M、MQ10701S、ME00101S、ME20201S、ME40601S、CR00401S);一抗白细胞分化抗原(leucocyte differentiation antigen, CD)206、CD16、Nrf2、HO-1(长沙 Abiowell 公司,货号:AWA11319、AWA12698、AWA48931、AWA12614)。

1.3 主要仪器

智能数显磁力加热搅拌器(杭州米欧仪器有限公司,型号:IP-350S);电子天平(福州华志科学仪器有限公司,型号:HJK-FA110);实时荧光定量PCR仪(美国 Applied Biosystems 公司,型号:A40426);高速冷冻离心机[山海天(苏州)科技有限公司,型号:TS1624R];恒温水浴锅(宝曼科学仪器有限公司,型号:190814);梯度 PCR 仪(型号:MP60101)、多温区金属浴(型号:GT20404)、恒温电子冰盒(型号:GT20301)、迷你垂直电泳槽(型号:PE60201)、迷你转印槽(型号:PE60301)、程序式冷冻组织破碎仪(型号:GS60201)、迷你涡旋仪(型号:GC20102)、超微量核酸蛋白检测仪(型号:GD30102)、中型水平电泳槽(型号:ME60101)均购自武汉莫纳生物科技有限公司。

2 方法

2.1 分组、造模及给药

通过随机数字表法将大鼠随机分为空白组($n=6$)与造模组($n=33$)。造模组采用复合因素诱导法建立 PLGC 动物模型^[11-12]。具体步骤如下:(1)日常饮用水为 150 $\mu\text{g/mL}$ 的 MNNG 溶液;(2)0.03 $\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 雷尼替丁灌胃,每日 1 次;(3)45%乙醇空腹灌胃,2 mL/次,每周 2 次;(4)配合饥饿失常(即进食 2 d,禁食 1 d)。上述干预措施持续实施 12 周。造模结束后,在造模组中随机抽取 3 只大鼠,麻醉后剖腹,取胃组织标本,由病理科医师进行病理学检测及审阅,若提示胃组织黏膜萎缩,同时伴有肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)及上皮内瘤变(intraepithelial neoplasia, IN),则判定 PLGC 模型建立成功^[13]。将造模成功的剩余 30 只大鼠随机分为模型组、维酶素组和复方胃炎合剂低、中、高剂量组,每组 6 只。给药剂量根据人体临床用量与实验动物等效剂量换算原则^[14](以成人平均体质量 60 kg 计算),复方胃炎合剂低、中、高剂量组灌胃剂量为 2.5、5、10 $\text{mL}/(\text{kg}\cdot\text{d})$,维酶素组灌服 0.2 $\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 的维酶素混悬液。空白组和模型组均给予等量生理盐水灌胃,共干预 4 周。

2.2 标本采集

在完成药物干预后,经过 12 h 禁食处理,将大鼠置于大小适宜的透明玻璃罩内,实施吸入麻醉。待

其完全麻醉后,剖开腹腔,将胃组织分离出,随后沿胃大弯纵向剖开胃腔,用生理盐水轻柔漂洗至无内容物残留后,取一部分胃窦组织置于冻存管内,立即投入干冰快速冷冻后再转至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱冻存;其余胃窦部组织浸入 10%福尔马林液中固定。

2.3 观察指标

2.3.1 大鼠整体情况观察 取材前采集各组大鼠外观图像,观察尾部及毛发形态学变化;并且每两周对大鼠的体质量进行记录。

2.3.2 HE 染色观察胃黏膜组织学改变 完成药物干预后,取大小为 $0.5\text{ cm}\times 0.5\text{ cm}$ 的大鼠胃黏膜组织标本,立即置于 10%福尔马林液中,固定 24 h 后采用梯度乙醇脱水,二甲苯透明及浸蜡,石蜡包埋、切片及染色。其中,HE 染色具体步骤如下:脱蜡、梯度乙醇复水、苏木素和伊红染色、梯度乙醇脱水、透明处理,最后使用中性树胶封片。将胃黏膜组织置于光学显微镜下观察其病理学改变,评估黏膜结构变化。

2.3.3 qPCR 检测大鼠胃组织白细胞介素(interleukin, IL)-12、IL-23、IL-4、精氨酸酶 1(arginase-1, Arg-1)mRNA 相对表达量 使用总 RNA 提取试剂盒从胃组织中提取总 RNA。使用逆转录预混液(含 dsDNase)试剂盒将 500 ng 总 RNA 逆转录成 cDNA。实时定量 PCR(每个样本 3 个复孔),反应体系:Template $2\text{ }\mu\text{L}$,Primer R($10\text{ }\mu\text{mol/L}$) $0.2\text{ }\mu\text{L}$,Primer F($10\text{ }\mu\text{mol/L}$) $0.2\text{ }\mu\text{L}$, $2\times$ 实时荧光定量 PCR 预混液 $5\text{ }\mu\text{L}$,无核酸酶水 $2.6\text{ }\mu\text{L}$ 。引物序列见表 1。扩增结束后,进行表达量计算。

2.3.4 Western blot 检测大鼠胃组织 Nrf2、HO-1、CD16、CD206 蛋白相对表达量 取胃组织(约 20 mg)加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液于冰上匀浆, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$

$14\text{ }000\text{ r/min}$ 离心 20 min (离心半径: 6.41 cm)收集上清液。采用 BCA 法对样品进行蛋白定量,将样品与上样缓冲液充分混合后置于 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 沸水浴中加热 10 min 使其充分变性。采用 10%聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分离蛋白。电泳完成后,再将其电转至 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 孔径的 PVDF 膜上。将经过预处理的样本置于含有 5%脱脂牛奶的封闭液中,于室温环境下静置封闭 2 h。再加入相应一抗 β -actin($1:30\text{ }000$)、Nrf2($1:1\text{ }250$)、HO-1($1:2\text{ }000$)、CD16($1:1\text{ }250$)、CD206($1:3\text{ }000$),于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日,将样本取出,采用 $1\times$ TBST 缓冲液充分洗膜后,加入 HRP 标记的二抗($1:10\text{ }000$),置于室温条件下孵育 2 h。最后,使用 ECL 化学发光法显影,采用 ImageJ 图像分析软件测定各条带灰度值后,以 β -actin 为内参蛋白,计算 Nrf2、HO-1、CD16、CD206 蛋白的相对表达量。

2.4 统计学方法

采用 IBM SPSS 24.0 软件、GraphPad Prism 10.1.0 软件进行数据分析。计量资料符合正态分布采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,若不符合正态分布则采用“ $M(P25,P75)$ ”表示。对于结果符合正态分布的多组间比较采用方差分析,数据不符合正态分布或方差不齐时采用非参数检验。均以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠尾部形态观察结果

空白组大鼠尾巴修长粗壮,色泽红润有光泽。模型组大鼠尾巴更为细短,整体色泽瘀暗,缺乏光泽。复方胃炎合剂低剂量组大鼠尾巴同样表现出更细短的特征,尾巴颜色为淡红色,仍保留一定光泽度。复方胃炎合剂中剂量组大鼠尾巴长度介于空白组与复方胃炎合剂低剂量组之间,色泽与复方胃炎

表 1 引物序列及产物

Table 1 Primer sequences and products

基因	正向序列(5'→3')	反向序列(5'→3')	引物长度/bp
IL-12	TGTCAATCAGCTACCTCCTC	TAAGACACTTGGCAGGTCCAG	100
IL-23	TGCTGGACTCGGACATCTTC	GTCTCCAGTGGTGATCCTC	124
Arg-1	GGACATCGTGTACATCGGCT	CTTCCTTCCAGCAGGTAGC	102
IL-4	CAAGTCTGGGGTTCTCGGTG	AGTGTGTGAGCGTGGACTC	154
GAPDH	GGCAAGTTCAACGCCACAG	CGCCAGTAGACTCCACGACA	142

合剂低剂量组较为一致。复方胃炎合剂高剂量组和维酶素组大鼠尾巴长度相差不大,直径略细,色泽红润且有光泽。

3.2 各组大鼠形态学特征与体质量变化分析

空白组大鼠的毛发浓密、有光泽、质地柔软,反映出大鼠身体功能的正常运转与良好的营养状况。模型组和复方胃炎合剂低剂量组大鼠体形明显较空白组瘦小,毛发稀疏无光泽、质地粗糙,整体营养状况较差。复方胃炎合剂中、高剂量组及维酶素组大鼠的体形接近空白组大鼠,皮毛恢复光泽、质地改善,其中复方胃炎合剂高剂量组最接近空白组。

与空白组比较,模型组和复方胃炎合剂低剂量组体质量降低($P<0.05$)。与模型组比较,复方胃炎合剂中、高剂量组和维酶素组大鼠体质量升高($P<0.05$)。详见图 1—2。

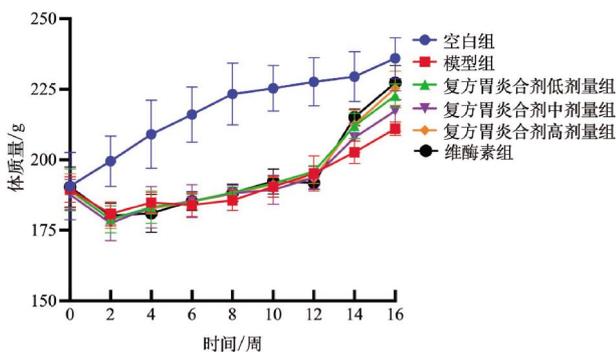


图 1 各组大鼠体质量变化趋势图

Fig.1 Body weight changes of rats in different groups

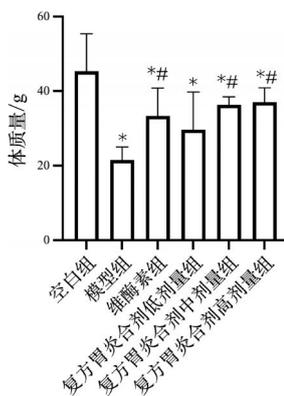


图 2 各组大鼠体质量比较

Fig.2 Comparison of body weight of rats in different groups

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

3.3 各组大鼠胃组织病理形态观察结果

空白组大鼠胃黏膜组织形态结构未见明显异

常,胃黏膜细胞及腺体结构完整、排列整齐,上皮细胞形态规则。模型组大鼠胃黏膜层变薄,腺管结构破坏,腺泡数量减少,并伴有大量炎症细胞浸润,可见 IM 及 IN 等异常病理改变。复方胃炎合剂各剂量组与维酶素组胃黏膜均有不同程度的恢复与改善。复方胃炎合剂中、高剂量组大鼠的胃黏膜修复显著,腺管完整性明显改善,腺体排列较整齐,细胞核形态较为均匀,炎症浸润明显减轻。维酶素组和复方胃炎合剂低剂量组的细胞形态趋于一致,黏膜厚度部分恢复,但腺体排列仍欠规则,部分有扭曲、分支,黏膜功能未完全恢复。详见图 3。

3.4 各组大鼠胃组织 Arg-1、IL-4、IL-23、IL-12 的 mRNA 相对表达量比较

与空白组比较,模型组 Arg-1、IL-4 mRNA 相对表达量升高($P<0.05$),IL-23、IL-12 mRNA 相对表达量降低($P<0.05$)。与模型组比较,复方胃炎合剂低、中、高剂量组和维酶素组 Arg-1 mRNA 相对表达量降低($P<0.05$),复方胃炎合剂高剂量组和维酶素组 IL-4 mRNA 相对表达量降低($P<0.05$),复方胃炎合剂高剂量组 IL-23 mRNA 相对表达量升高($P<0.05$),复方胃炎合剂中、高剂量组及维酶素组 IL-12 mRNA 相对表达量升高($P<0.05$)。与维酶素组比较,复方胃炎合剂高剂量组 IL-12 mRNA 相对表达量升高($P<0.05$)。详见图 4。

3.5 各组大鼠胃组织 HO-1、Nrf2、CD206、CD16 蛋白相对表达量比较

与空白组比较,模型组 HO-1、Nrf2、CD206 蛋白相对表达量降低($P<0.05$)。与模型组比较,复方胃炎合剂低、中、高剂量组和维酶素组 HO-1 蛋白相对表达量升高($P<0.05$),复方胃炎合剂中、高剂量组和维酶素组 Nrf2、CD206 蛋白相对表达量升高($P<0.05$),复方胃炎合剂低、中、高剂量组和维酶素组 CD16 蛋白相对表达量降低($P<0.05$)。与维酶素组比较,复方胃炎合剂低、中、高剂量组 HO-1 蛋白相对表达量降低($P<0.05$),复方胃炎合剂低、中剂量组 Nrf2 和复方胃炎合剂低、中、高剂量组 CD206 蛋白相对表达量降低($P<0.05$),复方胃炎合剂低、中剂量组 CD16 蛋白相对表达量升高($P<0.05$)。详见图 5—6。

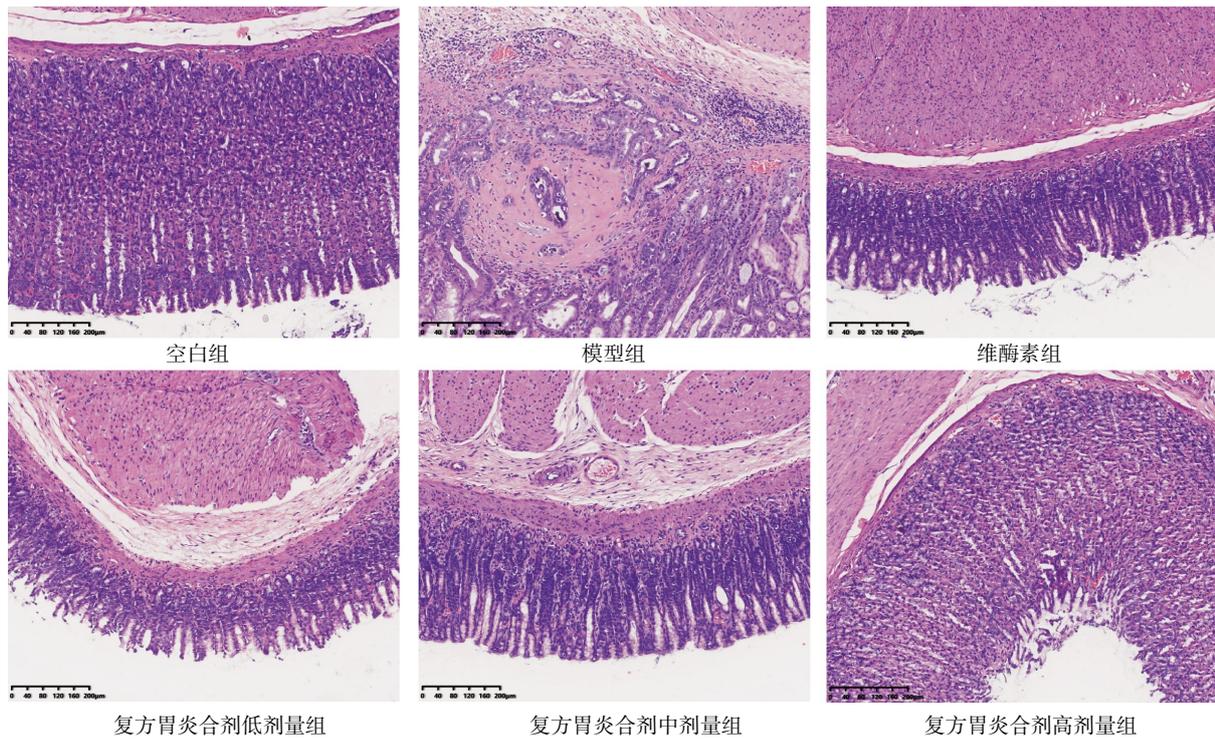


图 3 各组大鼠胃黏膜组织病理图(HE,×100)

Fig.3 Histopathological images of gastric mucosal tissue of rats in different groups (HE staining, ×100)

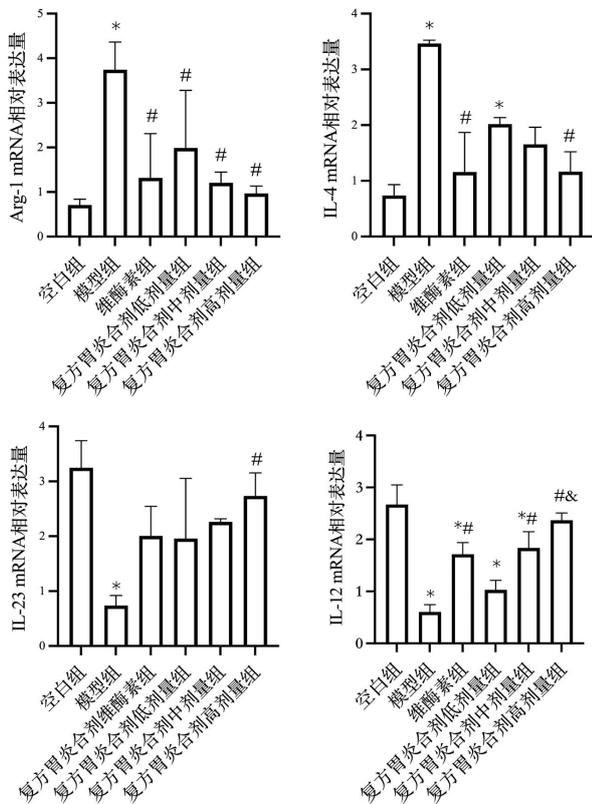


图 4 各组大鼠胃组织 Arg-1、IL-4、IL-23、IL-12 的 mRNA 相对表达量比较

Fig.4 Comparison of mRNA expression levels of Arg-1, IL-4, IL-23, and IL-12 of gastric tissues of rats in different groups
注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与维酶素组比较,& $P<0.05$ 。

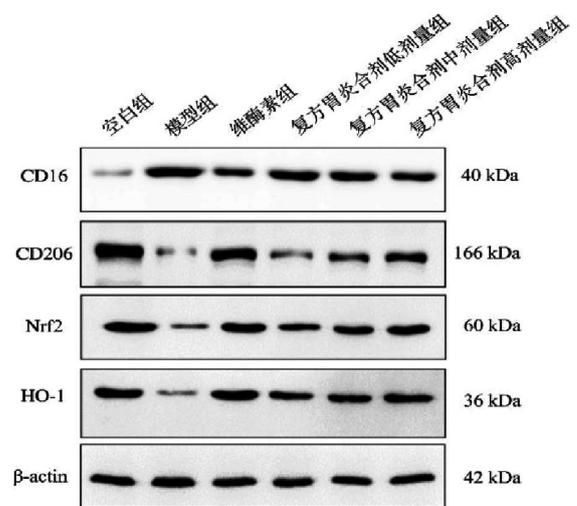


图 5 各组大鼠胃组织 HO-1、Nrf2、CD206、CD16 蛋白表达条带图

Fig.5 Protein expression bands of HO-1, Nrf2, CD206, and CD16 in gastric tissues of rats in different groups

4 讨论

现代中医学者多将 PLGC 归于“胃痞”“胃痛”“痞满”等范畴^[15]。研究认为,PLGC 脾胃运化失司,痰湿瘀阻,湿、热、痰、瘀相结,从而损伤胃络,破坏胃黏膜的正常结构和功能^[3]。因此,在本研究动物实验中,模型组大鼠呈现出的体质量持续降低、毛发稀疏晦暗粗糙、尾巴细短瘀暗等特征,与 PLGC 病机演变

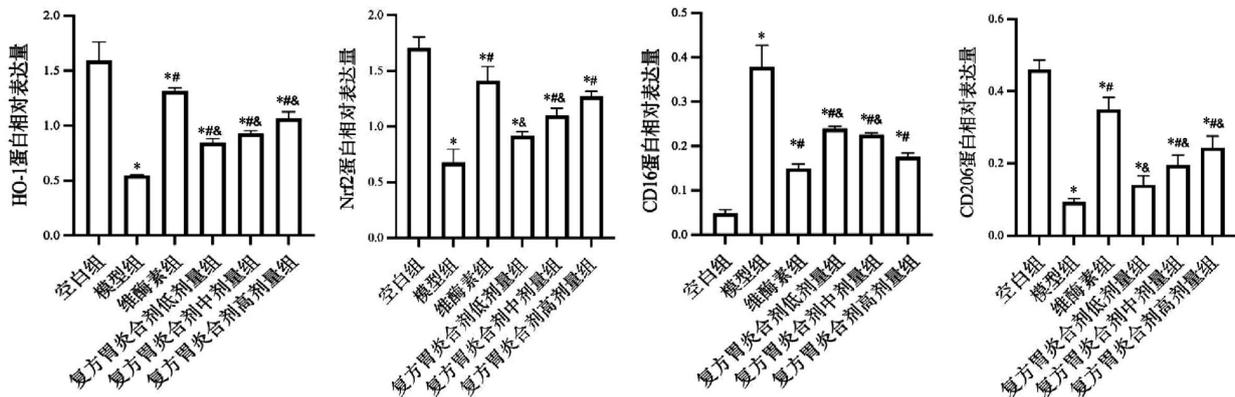


图6 各组大鼠胃组织 HO-1、Nrf2、CD16、CD206 蛋白相对表达量比较

Fig.6 Comparison of relative protein expression levels of HO-1, Nrf2, CD16, and CD206 in gastric tissues of rats in different groups

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与维酶素组比较,& $P<0.05$ 。

的过程具有一致性。复方胃炎合剂方中,黄芪健脾益气、党参补脾养胃,二者相须为用,共奏甘温益气、健脾养胃之效,强化后天之本;白术健脾燥湿、茯苓健脾渗湿,二者配伍则健脾益气、祛湿之力尤彰;佐以法半夏燥湿化痰、佩兰芳香化湿、陈皮理气燥湿,共行健脾燥湿化痰之功;黄连清热燥湿、豆蔻开胃消食、砂仁化湿和胃、枳壳破气消积、莪术行气破血、地龙清热通络、白芍和营缓急以止痛、甘草调和诸药。全方共奏健脾清热化湿、活血化痰、软坚散结之效,有助于恢复脾胃运化之职,进而促使胃黏膜萎缩、IM 或异型增生等病理改变逐渐逆转。

本研究通过模拟人类因硝酸盐摄入过量造成胃黏膜损伤的病理过程,采用 MNNG 自由饮用法构建动物模型。病理形态学检查结果显示,模型组大鼠胃黏膜上皮腺体明显萎缩,且排列紊乱,大量异型增生的细胞聚集在固有层与黏膜肌层交界处,经干预后,复方胃炎合剂中、高剂量组大鼠毛发浓密有光泽、质地柔软顺滑,体质量增长,尾巴形态接近生理状态,提示干预效果尚佳。同时,复方胃炎合剂中、高剂量组大鼠胃黏膜上皮腺体萎缩程度得到明显改善,胃黏膜上皮排列趋于整齐,IM 及异型增生均减少,其改善效果优于维酶素组。

在胃部疾病中,氧化-抗氧化失衡会破坏胃黏膜细胞,损害胃黏膜的正常生理结构和生理功能^[6]。Nrf2/HO-1 为氧化应激经典通路,经研究证实,其关键因子 Nrf2 在胃癌的发生发展中处于异常转录活

性状态,并使下游具有抗氧化作用的靶基因 HO-1、醌氧化还原酶-1 过高表达,使机体始终处于过度的抗氧化状态,破坏机体氧化-抗氧化平衡,加重胃黏膜上皮组织损伤,加重疾病进程,从而增加胃癌的发病风险^[17-18]。本研究结果显示,复方胃炎合剂能通过调节 Nrf2/HO-1 信号通路相关蛋白 Nrf2、HO-1 的表达,抑制氧化应激的发生,从而保护胃黏膜细胞。

巨噬细胞在不同损伤微环境中所呈现出的多样性和功能的可塑性被定义为巨噬细胞极性,其表型具有高度可塑性,根据所处微环境不同,可极化为经典活化巨噬细胞(M1 型)、替代活化巨噬细胞(M2 型)等多种亚型^[19]。从功能表现分析,M1 型巨噬细胞的主要特征为大量分泌 IL-12、IL-23 等促炎性细胞因子,抑制胃癌生长,并诱导机体产生 I 型免疫应答;而 M2 型巨噬细胞以高分泌 IL-10、IL-4、Arg-1 及多种识别受体(如巨噬细胞甘露糖受体、清道夫受体等)为主要特征,参与构建免疫抑制微环境,并促进肿瘤血管的生成,从而发挥促肿瘤作用^[20]。本研究显示,复方胃炎合剂能调控 Nrf2/HO-1 信号通路相关基因 Arg-1、IL-4、IL-23、IL-12 和相关蛋白 CD16、CD206 的表达,通过降低微环境中的氧化应激水平,促进抗肿瘤的 M1 型巨噬细胞分化,抑制 M2 型的形成,达到治疗 PLGC 的目标,且部分疗效优于维酶素。虽然本研究提出了“复方胃炎合剂→Nrf2/HO-1→胃黏膜修复”的机制通路,但缺乏直接的干预验证(如使用 Nrf2 抑制剂或激动剂进行反向验证),且

仅检测 Nrf2/HO-1 信号通路的部分指标,今后可增加 M1/M2 其他典型标志物的检测,以更全面评估极化状态。

综上所述,氧化应激、巨噬细胞极性参与胃黏膜“炎-癌”转化全过程,Nrf2/HO-1 信号通路在该过程中发挥关键作用。本研究证实,复方胃炎合剂可调控 Nrf2/HO-1 信号通路相关基因及蛋白的表达,进而抑制氧化应激,调控巨噬细胞极性,实现对胃黏膜 IM 与异型增生的控制乃至逆转。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 林佳, 洪婕, 柯晓, 等. “胃炎 1 号”治疗慢性萎缩性胃炎疗效观察[J]. 福建中医药, 2022, 53(3): 17-19.
- [3] 王秋月, 杨正宁, 黄晓峰, 等. 基于复方胃炎合剂治疗慢性萎缩性胃炎作用机制的网络药理学和分子对接分析[J]. 吉林大学学报(医学版), 2025, 51(3): 691-702.
- [4] 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.
- [5] 苏冉. 新型血管紧张素 II 受体拮抗剂的手性拆分及维酶素的主要成分测定[D]. 济南: 山东大学, 2018.
- [6] ZHAO Y, SUN Y Z, WANG G Y, et al. Dendrobium officinale polysaccharides protect against MNNG-induced PLGC in rats via activating the NRF2 and antioxidant enzymes HO-1 and NQO-1[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019, 2019: 9310245.
- [7] 杨良俊. 胃痞灵调控 PI3K/AKT/mTOR 信号通路介导胃癌前病变小鼠自噬的机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2020.
- [8] 潘华峰, 林琨洋, 罗敏怡, 等. 胃痞灵通过 Nrf2/NQO1/HO-1 信号通路调控胃“炎-癌”转化氧化应激机制[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(3): 1241-1246.
- [9] 刘雪雯, 刘乃华, 潘华峰. 胃癌前病变中免疫细胞功能多样性及中医药干预研究进展[J]. 中医肿瘤学杂志, 2024, 6(6): 113-122.
- [10] 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.
- [11] 陈心怡, 舒劲. MNNG 溶液联合多因素诱导胃癌前病变大鼠模型研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(8): 104-108.
- [12] 陆钰婷, 刘华一, 尚家驹, 等. N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍复合法建立胃癌前病变大鼠模型的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(16): 4089-4095.
- [13] 刘婷, 彭敏, 刘倩倩, 等. 胃癌前病变大鼠病证结合模型的构建与评价[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(6): 3624-3627.
- [14] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [15] 康文婷, 时昭红, 刘嵩. 中医药精准靶向治疗胃癌前病变及相关信号通路研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(10): 91-96.
- [16] 王丽娟, 汪龙德, 汪霞, 等. 基于 Keap1/Nrf2/ARE 信号通路探讨平胃胶囊对胃黏膜上皮细胞恶变的影响及其机制[J]. 中国现代应用药学, 2025, 42(4): 539-548.
- [17] 沈磊, 张平平, 杨海涛. Keap1-Nrf2-ARE 信号通路在胃腺癌细胞中的表达及意义[J]. 肿瘤学杂志, 2019, 25(8): 703-706.
- [18] 石铖, 王茜, 刘宇, 等. 基于 Keap1/Nrf2/ARE 信号通路探讨半夏泻心汤对慢性萎缩性胃炎大鼠的影响及作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(20): 31-37.
- [19] PAN Y Y, YU Y D, WANG X J, et al. Tumor-associated macrophages in tumor immunity[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 583084.
- [20] BOUTILIER A J, ELSAWA S F. Macrophage polarization states in the tumor microenvironment[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(13): 6995.

(本文编辑 周旦)