

本文引用: 武泓岚, 王巧玥, 孟虹宇, 孙菲飞, 江婕妤, 吴利法, 夏旭婷, 刘富林. 高氧戊己汤调控 MyD88/NLRP3/Caspase-1 信号通路相关蛋白及肠道菌群稳态抗 Hp 感染的机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(7): 1355-1364.

高氧戊己汤调控 MyD88/NLRP3/Caspase-1 信号通路相关蛋白及肠道菌群稳态抗 Hp 感染的机制

武泓岚¹, 王巧玥², 孟虹宇³, 孙菲飞⁴, 江婕妤¹, 吴利法¹, 夏旭婷^{1*}, 刘富林^{1*}

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208; 2. 宁乡市中医医院, 湖南 宁乡 410600;

3. 益阳市第一中医医院, 湖南 益阳 413000; 4. 浏阳市中医医院, 湖南 浏阳 410300

〔摘要〕 目的 基于髓系分化初级反应蛋白质 88(MyD88)/NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)/胱天蛋白酶 1(Caspase-1)信号通路与肠道菌群稳态,探讨高氧戊己汤抗幽门螺杆菌(Hp)感染保护小鼠胃黏膜的作用机制。方法 将 38 只小鼠随机分为空白组 11 只、造模组 27 只。造模完成后,从两组中各随机选取 3 只小鼠,采用快速尿素酶试验判断模型构建是否成功。造模成功后,将造模组小鼠随机分为模型组、高氧戊己汤组、西药组(四联疗法),每组 8 只。高氧戊己汤组和西药组分别予灌胃对应药液 0.2 mL,空白组、模型组予灌胃蒸馏水 0.2 mL,连续干预 14 d。采用 HE 染色观察小鼠胃黏膜病理变化;Warthin-Starry 银染色检测小鼠胃黏膜 Hp 定植情况;ELISA 检测小鼠胃黏膜核因子 κ B(NF- κ B)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)含量;Western blot 及 RT-qPCR 检测胃黏膜 MyD88、NLRP3、Caspase-1 蛋白及 mRNA 表达水平;比色法检测丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性;16S rDNA 测序分析肠道菌群多样性与结构变化。结果 与空白组比较,模型组小鼠胃黏膜损伤明显,Hp 大量定植,NF- κ B、IL-1 β 、MDA 含量、SOD 活性均升高($P<0.01$),MyD88、NLRP3、Caspase-1 蛋白及 mRNA 表达水平均升高($P<0.01$)。与模型组比较,西药组和高氧戊己汤组小鼠胃黏膜病理损伤减轻,Hp 定植减少,NF- κ B、IL-1 β 、MDA 含量、SOD 活性均降低($P<0.01$),MyD88、NLRP3、Caspase-1 蛋白及 mRNA 表达水平均降低($P<0.05$, $P<0.01$)。16S rDNA 测序显示,与空白组比较,模型组肠道菌群 Chao1、Observed_species、Shannon 及 Simpson 指数均下降;与模型组比较,高氧戊己汤组菌群(Chao1、Observed_species 指数)丰富度呈升高趋势,且能恢复 β 多样性,同时调节门/属水平的物种组成(降低厚壁菌门/拟杆菌门比值),而西药组则进一步加剧菌群失调。结论 高氧戊己汤能抗 Hp 感染并保护胃黏膜,其机制可能与通过调控 MyD88/NLRP3/Caspase-1 信号通路抑制炎症及氧化应激双重反应,同时重塑肠道菌群结构与稳态密切相关。

〔关键词〕 高氧戊己汤;幽门螺杆菌;MyD88/NLRP3/Caspase-1 信号通路;炎症;氧化应激;肠道菌群

〔中图分类号〕 R285.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.07.006

Mechanism of hyperoxic Wuji Decoction against Helicobacter pylori infection by regulating MyD88/NLRP3/Caspase-1 signaling pathway related proteins and gut microbiota

WU Honglan¹, WANG Qiaoyue², MENG Hongyu³, SUN Feifei⁴, JIANG Jieyu¹, WU Lifa¹,

XIA Xuting^{1*}, LIU Fulin^{1*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Ningxiang Hospital of Traditional Chinese

〔收稿日期〕 2026-04-13

〔基金项目〕 湖南省自然科学基金项目(2024JJ7359);湖南省自然科学基金联合基金重点项目(2026JJ30090);湖南省教育厅重点项目(25A0289,23A0292);中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室培育基地开放基金重点项目(24PTKF1001)。

〔通信作者〕 * 刘富林,男,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:616217372@qq.com;夏旭婷,女,博士,副教授,硕士研究生导师,E-mail:308211635@qq.com。

Medicine, Ningxiang, Hunan 410600, China; 3. Yiyang First Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yiyang, Hunan 413000, China; 4. Liuyang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Liuyang, Hunan 410300, China

[Abstract] Objective To investigate the mechanism of action of hyperoxic Wuji Decoction (WJD) in protecting against *Helicobacter pylori* (Hp) infection-induced gastric mucosal injury in mice, based on the myeloid differentiation primary response protein 88/NOD-like receptor family pyrin domain-containing protein 3/cysteinyl aspartate-specific proteinase 1 (MyD88/NLRP3/Caspase-1) signaling pathway and gut microbiota homeostasis. **Methods** 38 mice were randomly divided into blank group ($n=11$) and modeling group ($n=27$). After modeling, 3 mice were randomly selected from each group to verify the success of modeling by rapid urease test. Then the successfully modeled mice were randomly divided into model group, hyperoxic WJD group, and Western medicine group (quadruple therapy group), with 8 mice in each group. Hyperoxic WJD group and the Western medicine group were administered 0.2 mL of their respective drug solutions by gavage daily, while the blank group and the model group received 0.2 mL of distilled water by gavage daily, for 14 consecutive days. After intervention, pathological changes of gastric mucosa were observed by HE staining; Hp colonization in gastric mucosa was checked by Warthin-Starry silver staining; the levels of NF- κ B and IL-1 β in gastric mucosa were tested by ELISA; protein and mRNA expression levels of MyD88, NLRP3, and Caspase-1 in gastric mucosa were measured by Western blot and RT-qPCR; MDA content and SOD activity were determined by colorimetric assay; and the diversity and structure of gut microbiota were analyzed by 16S rDNA sequencing. **Results** Compared with the blank group, the model group showed obvious gastric mucosal injury, massive Hp colonization, significantly increased NF- κ B, IL-1 β , MDA content and SOD activity ($P<0.01$), significantly upregulated protein and mRNA expressions of MyD88, NLRP3 and Caspase-1 ($P<0.01$). Compared with the model group, both the hyperoxic WJD group and the quadruple therapy group alleviated gastric mucosal pathological injury, reduced Hp colonization, decreased levels of NF- κ B, IL-1 β , MDA content and SOD activity ($P<0.01$), and decreased protein and mRNA expressions of MyD88, NLRP3 and Caspase-1 ($P<0.05$, $P<0.01$). 16S rDNA sequencing revealed that compared with the blank group, the model group exhibited decreased Chao1, Observed species, Shannon, and Simpson indices ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the model group, hyperoxic WJD group indicated an increasing trend in species (Chao1 and Observed species) richness ($P>0.05$), restored β -diversity, and modulated phylum/genus-level species composition (reducing the Firmicutes/Bacteroidota ratio), whereas the Western medicine group further exacerbated gut microbiota dysbiosis. **Conclusion** Hyperoxic WJD can protect the gastric mucosa against Hp infection. Its mechanism may be closely related to regulating the MyD88/NLRP3/Caspase-1 signaling pathway to inhibit the dual responses of inflammation and oxidative stress, and remodeling the structure and homeostasis of gut microbiota.

[Keywords] hyperoxic Wuji Decoction; *Helicobacter pylori*; MyD88/NLRP3/Caspase-1 signaling pathway; inflammation; oxidative stress; gut microbiota

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)是一种微需氧的革兰氏阴性杆菌,主要定植于人类胃黏膜表面,已被世界卫生组织列为 I 类致癌因子,与慢性胃炎、消化性溃疡及胃腺癌的发生发展存在明确因果关联^[1]。研究表明,全球超过 50%的人口存在 Hp 感染,其中亚洲患病率达 54.7%^[2]。此外,一项针对中国人群的前瞻性病例队列研究表明,在我国每年发生的胃癌中,非贲门胃癌近 89%,贲门胃癌约 59%,可归因于 Hp 感染^[3]。目前,Hp 的临床治疗多采用铋剂四联疗法,然而随着细菌耐药性增加、药物不良反应

增大、患者治疗依从性差^[4],Hp 的根除率显著下降,亟须安全高效的替代方案。

Hp 感染可诱发胃局部炎症与氧化应激反应^[5]。研究表明,Hp 可激活胃黏膜髓系分化初级反应蛋白 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)/NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)/胱天蛋白酶 1(cysteinyl aspartate specific proteinase, Caspase-1)信号通路,引发级联炎症反应,促使白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-18 等炎症

因子释放^[6-7]。同时,导致氧化应激标志物丙二醛(malondialdehyde, MDA)升高、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性失代偿,加剧胃黏膜损伤^[8]。此外,Hp 还可通过影响“胃-肠”轴破坏肠道菌群稳态^[9]。肠道菌群是维持肠道保护屏障的关键防线,其稳态失衡可增加炎症信号,进而加重胃黏膜损伤^[10]。因此,靶向调控炎症通路及肠道菌群可能是抗 Hp 治疗的重要方向。

中医药在提高 Hp 根除率、改善临床症状、减轻抗生素不良反应^[11-12]及调节肠道菌群^[13]等方面具有独特优势。研究发现,高氧戊己汤能减少 Hp 胃黏膜定植^[14-15],减轻炎症反应,保护胃黏膜。现代药理研究证实,吴茱萸碱通过调控表皮生长因子受体/丝裂原激活蛋白激酶/细胞外信号调节激酶信号通路降低炎症因子 IL-12、IL-1 β 、IL-8、IL-17 水平^[16]。黄连中的表小檗碱与小檗碱抑制 Hp 尿素酶活性,减轻氧化应激损伤,调节胃内 pH 值^[17-19]。白芍总苷能调节胃黏膜免疫微环境,减轻炎症损伤^[20]。然而,高氧戊己汤抗 Hp 的作用是否与调控 MyD88/NLRP3/Caspase-1 通路、抑制炎症反应及调节肠道菌群稳态有关,有待进一步明确。本研究以铋剂四联疗法(枸橼酸铋钾颗粒+阿莫西林胶囊+克拉霉素片+泮托拉唑钠肠溶片)为对照,基于 MyD88/NLRP3/Caspase-1 信号通路与肠道菌群,从炎症和氧化应激角度探讨高氧戊己汤抗 Hp 的具体机制。

1 实验材料

1.1 实验动物

38 只 SPF 级 BalB/c 小鼠,雌雄各半,5 周龄,体重 16~20 g,购于湖北省实验动物研究中心,合格证号:42000600051748,于室温 20~25℃、相对湿度 40%~70%环境中用普通饲料喂养。本研究所有实验程序均经湖南中医药大学动物实验伦理委员会批准(批准号:XMBH-201907170038)。

1.2 实验菌株

Hp(悉尼标准菌株,商城北纳创联生物科技有限公司,货号:BNCC356182)制成 1×10^9 CFU/mL 的菌悬液。

1.3 主要药品及试剂

高氧水(溶氧量 ≥ 18 mL/L,浙江氧典饮品有限公司,生产许可证号:SC10633102401450,批号:20230420);戊己粉(黄连:吴茱萸:白芍=1:1:1,规格:

0.9 g/瓶,长沙市雅尔生物科技有限公司于无菌环境下制成);氨苄西林、阿莫西林胶囊(海口奇力制药股份有限公司,国药准字:H46020585、H20046351);克拉霉素片(山东新华制药股份有限公司,批号:H19990225);枸橼酸铋钾颗粒(天圣制药集团股份有限公司,批号:H20123290);泮托拉唑钠肠溶片(浙江康恩贝制药股份有限公司,批号:H20143100)。

蛋白裂解液(碧云天生物技术有限公司,批号:P0013);MyD88 抗体、NLRP3 抗体、Caspase-1 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:29946-1-AP、68102-1-Ig、31020-1-AP);超纯琼脂糖(北京博迈德基因技术有限公司,批号:SH441-01);第三代高活性反转录酶试剂盒(成都市蓉为基因生物科技有限公司,批号:A502);SYBR 染料法荧光定量 PCR 反应混合液(赛默飞世尔科技公司,批号:4472920)。

1.4 主要仪器

电热恒温水浴槽(上海一恒科学仪器有限公司,型号:HWS-24);脱色摇床(海门其林贝尔仪器制造有限公司,型号:TS-100);电泳仪(北京百晶生物技术有限公司,型号:BG-subMIDI);台式高速冷冻离心机(丹麦 LaboGene 公司,型号:CF1524R);凝胶成像系统(美国 Ultra-Violet Products 公司,型号:GelDoc-It310);化学发光成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司,型号:ChemiScope6100);分光光度计(杭州优米仪器有限公司,型号:Unano-1000);荧光定量 PCR 仪、PCR 仪(杭州朗基科学仪器有限公司,型号:Q2000B、A200)。

2 实验方法

2.1 实验分组

适应性喂养 7 d 后,在无菌水中加入浓度为 0.25 mg/mL 的氨苄西林水溶液喂养 4 d,避免小鼠胃内杂菌干扰实验,采用随机数字表法将 38 只小鼠随机分成空白组 11 只和造模组 27 只,所有小鼠均用耳标记。

2.2 动物造模

空白组小鼠用 0.2 mL 无菌蒸馏水灌胃,造模组小鼠用 0.2 mL Hp 菌液灌胃,隔天 1 次,共 5 次。于末次灌胃后随机取空白组与造模组小鼠各 3 只,颈椎脱臼法处死后取胃黏膜行快速尿素酶实验,试纸颜色变为红色表明造模成功^[21]。将造模成功的 24 只小鼠随机分为模型组、高氧戊己汤组和西药组,每组 8 只。

2.3 药物制备及给药

高氧戊己汤制备:前期实验研究比较高氧水与戊己粉的 4 种配比(1:0.5、1:1、1:2、1:3),发现高氧戊己汤抑杀 Hp 的最佳配比为 1:2。在无菌环境下,将 0.45 mL 高氧水注入 1 瓶戊己粉(0.9 g)中充分混合即得。

根据成人治疗 Hp 感染的四联用药指南^[22],参照《药理实验方法学》^[23]以成人体质量 60 kg 作为剂量标准,根据小鼠与人 9:1 的等效比值,得出每 20 g 小鼠每天所需枸橼酸铋钾颗粒 1.33 mg、阿莫西林胶囊 6.1 mg、克拉霉素片 3 mg、泮托拉唑钠肠溶片 0.24 mg。计算 14 d 用药量并将其溶于 22.4 mL 生理盐水中备用。

造模成功后,高氧戊己汤组和西药组分别给予对应药液 0.2 mL 灌胃处理,空白组、模型组予以 0.2 mL 蒸馏水灌胃。均连续灌胃 14 d。

2.4 样本采集

末次灌胃后,各组小鼠禁食、禁水 12 h,行颈椎脱臼法处死。解剖取出胃黏膜,用灭菌生理盐水清洗,分 3 份:第 1 份置于 4%多聚甲醛中固定,用于 HE 染色及 Warthin-Starry 银染检测;第 2 份置于-80℃冰箱,用于 Western blot 和 RT-qPCR 检测;第 3 份加入 PBS 冰浴匀浆,离心取上清液,-80℃冰箱分装保存,用于 ELISA 及生化指标检测。

3 指标检测

3.1 HE 染色观察小鼠胃黏膜病理变化

石蜡切片常规脱蜡至水:依次置于二甲苯 I、II 中各浸泡 20 min,待蜡完全溶解后,依次转入无水乙醇 I、II 中各 5 min,用无水乙醇浸洗 20 s,流水冲洗去除残留乙醇。苏木素染色 5 min,流水洗至切片无色,分化液中分化 3~5 s,快速水洗,返蓝液中返蓝 3~5 s,快速水洗;伊红染色 5 min,水洗。梯度脱水透明:依次经 85%乙醇、95%乙醇、无水乙醇 I、无水乙醇 II、无水乙醇 III、正丁醇各浸泡 3~5 min,二甲苯 I、II 各浸泡 3~5 min。取出切片吹干后,中性树脂封片,于光学显微镜下观察并采图分析。

3.2 Warthin-Starry 银染色检测小鼠胃黏膜 Hp 定植

将样本脱蜡至水,浸入加盖的酸性硝酸银溶液于 43℃水浴中染色 1.5 h,取出切片转入加盖的 Warthin-Starry 银染色液中,56℃水浴,待染至淡黄棕色,取出平放,蒸馏水浸洗 5 min,脱水、透明,中性树脂封片,油镜下观察 Hp 定植情况并拍照。若镜下见呈 S 形(螺旋状)或弧形黑色物质,此为 Hp 的典型形态^[24],

提示存在 Hp 定植。

3.3 ELISA 检测小鼠胃黏膜 NF-κB、IL-1β 含量

用预冷的 PBS 冲洗胃黏膜,剪碎后与对应体积的 PBS 以 1:9 加入样本研磨器中,充分冰浴研磨。最后将匀浆液在 4℃下以 3 000 r/min 离心 10 min(离心半径 10 cm),取上清液。严格按照 ELISA 试剂盒说明书完成检测,收集并分析数据。

3.4 Western blot 检测胃黏膜 MyD88、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达水平

取胃黏膜经预冷的 PBS 漂洗 2 次,吸净,剪碎后加入预冷的 RIPA 裂解液,冰上裂解 30 min,用组织匀浆器充分匀浆,收集匀浆液于离心管中,在 4℃下以 12 000 r/min 离心 10 min(离心半径 10 cm),收集上清液并提取蛋白。采用 BCA 法测定蛋白浓度,按照试剂盒说明配置蛋白标准品与待测蛋白样品,按顺序加入蛋白样品及 BCA 工作液,锡箔纸包裹后置于 37℃孵育 30 min。检测后绘制标准曲线并计算蛋白浓度,随后制胶、电泳、转膜、封闭,孵育一抗:NLRP3(1:1 000)、Caspase-1(1:1 000)、MyD88(1:5 000),4℃下孵育过夜,TBST 洗膜 3 次,每次 10 min。随后室温孵育二抗 2 h 并同条件洗膜,经超敏 ECL 液显影后,采用 ImageJ 软件计算蛋白相对表达量。

3.5 RT-qPCR 检测胃黏膜 MyD88、NLRP3、Caspase-1 mRNA 表达水平

使用 Trizol 法提取胃黏膜 RNA,逆转录合成 cDNA,然后进行 RT-qPCR 反应。RT-qPCR 反应体系总体积为 20 μL,反应条件为 95℃预变性 5 min,95℃变性 10 s,58℃退火 20 s,72℃延伸 20 s,共计 40 个循环。以 β-actin 作为内参基因。引物序列详见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	方向	引物序列(5'-3')	长度/bp
MyD88	正向	CTTCCAGACCAAGTTTGCCTCA	121
	反向	GCATATAGTGATGAACCGCAGGA	
NLRP3	正向	CCTGGGCAACAATGATCTTGG	130
	反向	TAAGGCACGTTTTGTTTCACGAT	
Caspase-1	正向	CAAGGTGATCATTATTCAGGC	99
	反向	GCATCCGTTAAGAAATCCTC	
β-actin	正向	CTCCTGAGCGCAAGTACTCT	91
	反向	TACTCCTGCTTGCTGATCCAC	

3.6 比色法检测胃黏膜 MDA 含量和 SOD 活性

取各组小鼠胃黏膜匀浆后,4℃下以 3 000 r/min 离心 10 min(离心半径 10 cm),取上清液备用。采

用硫代巴比妥酸法,按MDA试剂盒说明书操作,于95℃水浴40 min,4℃下以3 500 r/min离心10 min(离心半径10 cm),取上清液,在532 nm波长处测定各管吸光度,计算MDA含量。采用黄嘌呤氧化酶法,按SOD试剂盒说明书操作,于37℃水浴40 min,在550 nm波长处测定各管吸光度,计算SOD活性。

3.7 16S rDNA 测序分析肠道菌群

采用CTAB法提取小鼠粪便样本DNA,以341F/805R引物扩增V3-V4区;PCR产物经AMPure XT beads纯化;在Illumina NovaSeq 6000平台进行双端测序;原始数据经质控、拼接、去嵌合体,使用QIIME2计算 α 多样性和 β 多样性,并统计门水平和属水平的物种相对丰度,注释数据库为SILVA。

3.8 统计学分析

应用统计软件SPSS 29.0对实验数据进行分析。计量资料采用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,若满足正态分布且方差齐性,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD分析;若满足正态分布,采用非参数检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

4 结果

4.1 高氧戊己汤对小鼠胃黏膜病理形态的影响

空白组小鼠胃黏膜上皮未见明显糜烂、脱落,腺体形态规则。与空白组比较,模型组小鼠胃黏膜上

皮明显糜烂脱落,腺体排列紊乱,可见散在炎症细胞浸润。与模型组比较,西药组小鼠胃黏膜上皮可见稍糜烂脱落,腺体形态较规则,可见个别炎症细胞浸润;高氧戊己汤组小鼠胃黏膜上皮未见明显糜烂脱落,腺体形态规则,炎症细胞浸润减少。详见图1。

4.2 高氧戊己汤对小鼠胃黏膜Hp定植的影响

空白组小鼠胃黏膜未见明显短杆状黑色物质;模型组小鼠胃黏膜可见大量密集呈S形(螺旋状)或弧形黑色物质,表明存在大量Hp定植。西药组和高氧戊己汤组小鼠胃黏膜可见少量散在分布的S形(螺旋状)或弧形黑色物质,说明Hp数量均有不同程度减少。详见图2。

4.3 高氧戊己汤对小鼠胃黏膜NF- κ B、IL-1 β 含量的影响

与空白组比较,模型组小鼠胃黏膜NF- κ B、IL-1 β 含量均显著上升($P < 0.01$)。与模型组比较,西药组和高氧戊己汤组小鼠胃黏膜NF- κ B、IL-1 β 含量均显著下降($P < 0.01$)。与西药组比较,高氧戊己汤组小鼠胃黏膜NF- κ B、IL-1 β 含量均显著下降($P < 0.01$)。详见图3。

4.4 高氧戊己汤对小鼠胃黏膜MyD88、NLRP3、Caspase-1蛋白表达水平的影响

与空白组比较,模型组小鼠胃黏膜MyD88、NLRP3、Caspase-1蛋白表达水平显著上升($P < 0.01$)。与模型组比较,高氧戊己汤组和西药组小鼠胃黏膜

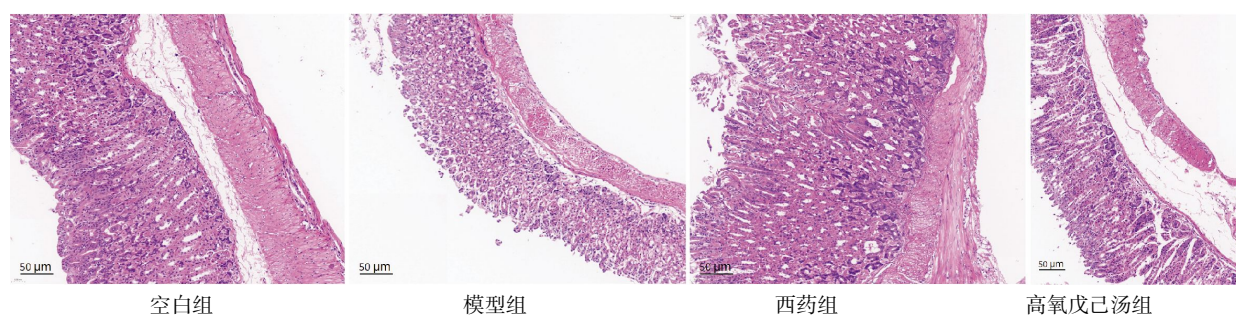


图1 各组小鼠胃黏膜HE染色图($\times 200$)

Fig. 1 HE staining images of gastric mucosa of mice in each group ($\times 200$)

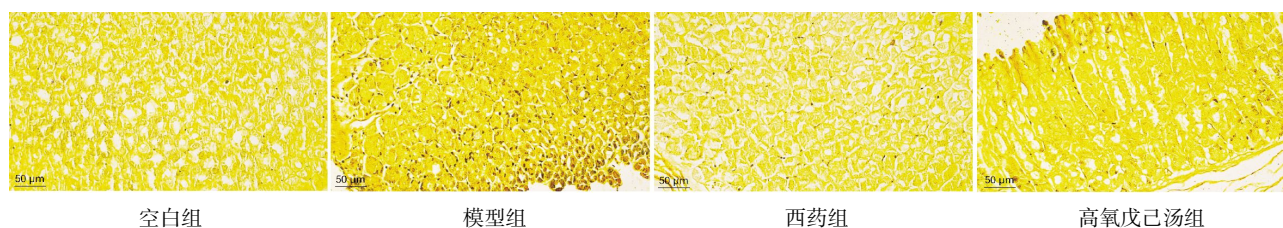


图2 各组小鼠胃黏膜Warthin-Starry银染图($\times 200$)

Fig. 2 Warthin-Starry silver staining images of gastric mucosa of mice in each group ($\times 200$)

注:镜下Hp菌丝及颗粒呈黑色,背景为黄色。

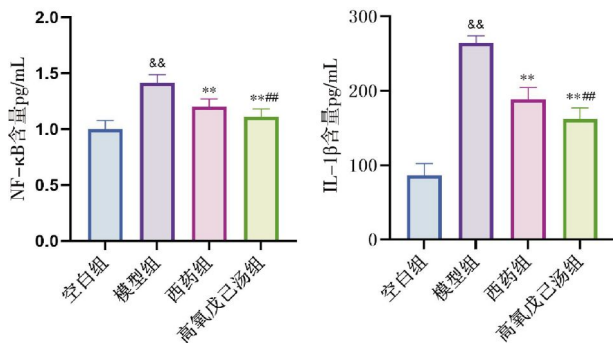


图3 各组小鼠胃黏膜 NF-κB、IL-1β 含量比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

Fig.3 Comparison of NF-κB and IL-1β levels in gastric mucosa among different groups of mice ($n=8, \bar{x} \pm s$)

注:与空白组比较, $^{&&}P<0.01$;与模型组比较, $^{**}P<0.01$;与西药组比较, $^{##}P<0.01$ 。

MyD88、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达水平下降($P<0.05$)。与西药组相比,高氧戊己汤组小鼠胃黏膜 MyD88、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达水平显著下降($P<0.01$)。详见图 4—5。

4.5 高氧戊己汤对小鼠胃黏膜 MyD88、NLRP3、Caspase-1 mRNA 表达水平的影响

与空白组比较,模型组小鼠胃黏膜 MyD88、NL-

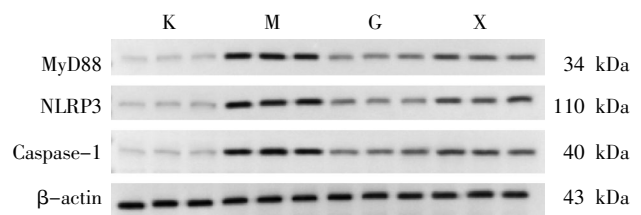


图4 各组小鼠胃黏膜 MyD88、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达电泳图

Fig.4 Western blot images of MyD88, NLRP3, and Caspase-1 protein expression in gastric mucosa among different groups of mice

注:K.空白组;M.模型组;G.高氧戊己汤组;X.西药组。

RP3、Caspase-1 mRNA 表达显著上升($P<0.01$)。与模型组比较,西药组和高氧戊己汤组小鼠胃黏膜 MyD88、NLRP3、Caspase-1 mRNA 表达显著下降($P<0.01$)。与西药组相比,高氧戊己汤组小鼠胃黏膜 MyD88、NLRP3、Caspase-1 mRNA 表达下降($P<0.05$)。详见图 6。

4.6 高氧戊己汤对小鼠胃黏膜 MDA 含量及 SOD 活性的影响

与空白组比较,模型组小鼠胃黏膜 MDA 含量、

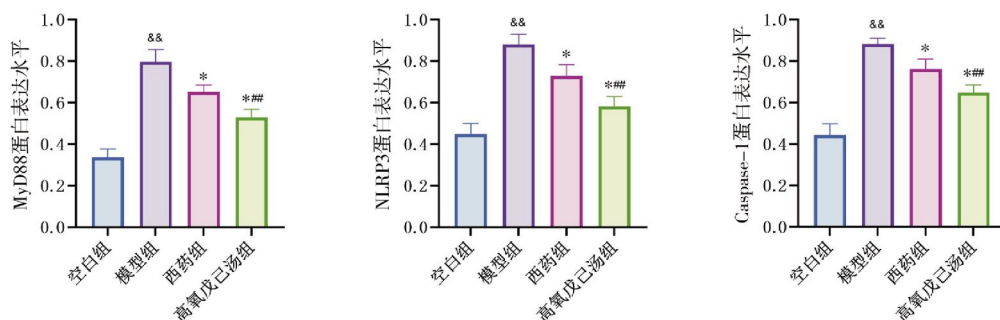


图5 各组小鼠胃黏膜 MyD88、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达水平比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

Fig.5 Comparison of MyD88, NLRP3, and Caspase-1 protein expression levels in gastric mucosa among different groups of mice ($n=8, \bar{x} \pm s$)

注:与空白组比较, $^{&&}P<0.01$;与模型组比较, $^{*}P<0.05$;与西药组比较, $^{##}P<0.01$ 。

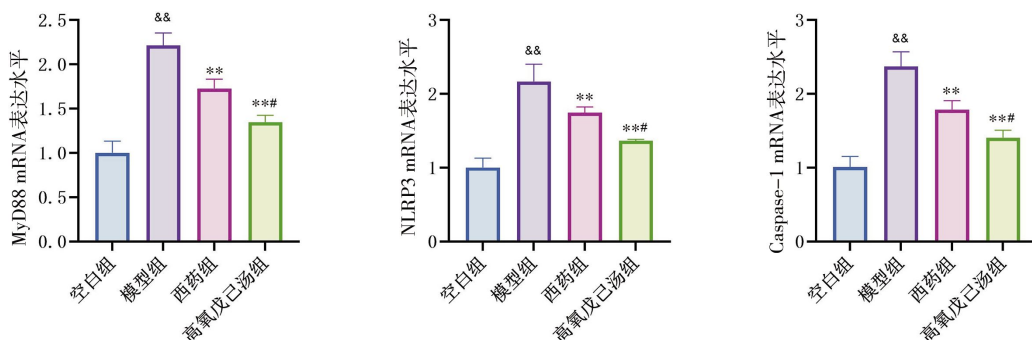


图6 各组小鼠胃黏膜 MyD88、NLRP3、Caspase-1 mRNA 表达水平比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

Fig.6 Comparison of MyD88, NLRP3, and Caspase-1 mRNA expression levels in gastric mucosa among different groups of mice ($n=8, \bar{x} \pm s$)

注:与空白组比较, $^{&&}P<0.01$;与模型组比较, $^{**}P<0.01$;与西药组比较, $^{#}P<0.05$ 。

SOD 活性显著上升($P<0.01$)。与模型组比较,西药组和高氧戊己汤组小鼠胃黏膜 MDA 含量、SOD 活性显著下降($P<0.01$)。与西药组相比,高氧戊己汤组小鼠胃黏膜 MDA 含量、SOD 活性下降更明显($P<0.01$)。详见图 7。

4.7 高氧戊己汤对小鼠肠道菌群的影响

4.7.1 α 多样性分析 与空白组比较,模型组小鼠肠道菌群 Chao1、Observed_species、Shannon 及 Simpson 指数均下降($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组比较,西药组上述指标均显著降低($P<0.01$);高氧戊己汤组 Chao1、Observed_species 指数呈升高趋势,Shannon、Simpson 指数呈降低趋势。与西药组比较,高氧戊己汤组 Simpson 指数呈升高趋势,Chao1、Observed_species、Shannon 指数显著升高($P<0.01$)。详见图8。

4.7.2 β 多样性分析 空白组、模型组与西药组样本点完全分离,提示 Hp 感染小鼠及西药干预治疗后

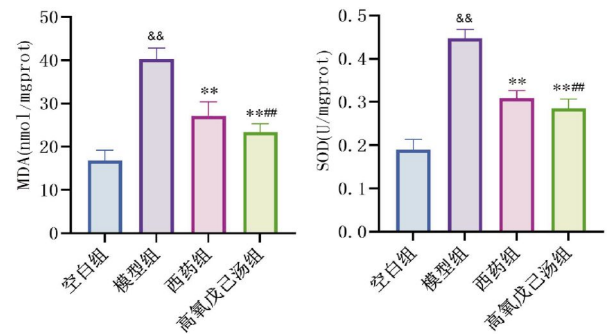


图 7 各组小鼠胃黏膜 MDA 含量及 SOD 活性表达水平比较 ($n=8$, $\bar{x}\pm s$)

Fig7 Comparison of MDA content and SOD activity expression levels in gastric mucosa among different groups of rats ($n=8$, $\bar{x}\pm s$)
注:与空白组比较, && $P<0.01$;与模型组比较, ** $P<0.01$;与西药组比较, * $P<0.05$, *** $P<0.001$ 。

的小鼠肠道菌群结构发生显著改变。相比之下,高氧戊己汤组与模型组呈现分离趋势,而与空白组更为接近,表明高氧戊己汤可有效恢复 Hp 感染小鼠的肠道菌群结构组成。详见图 9。

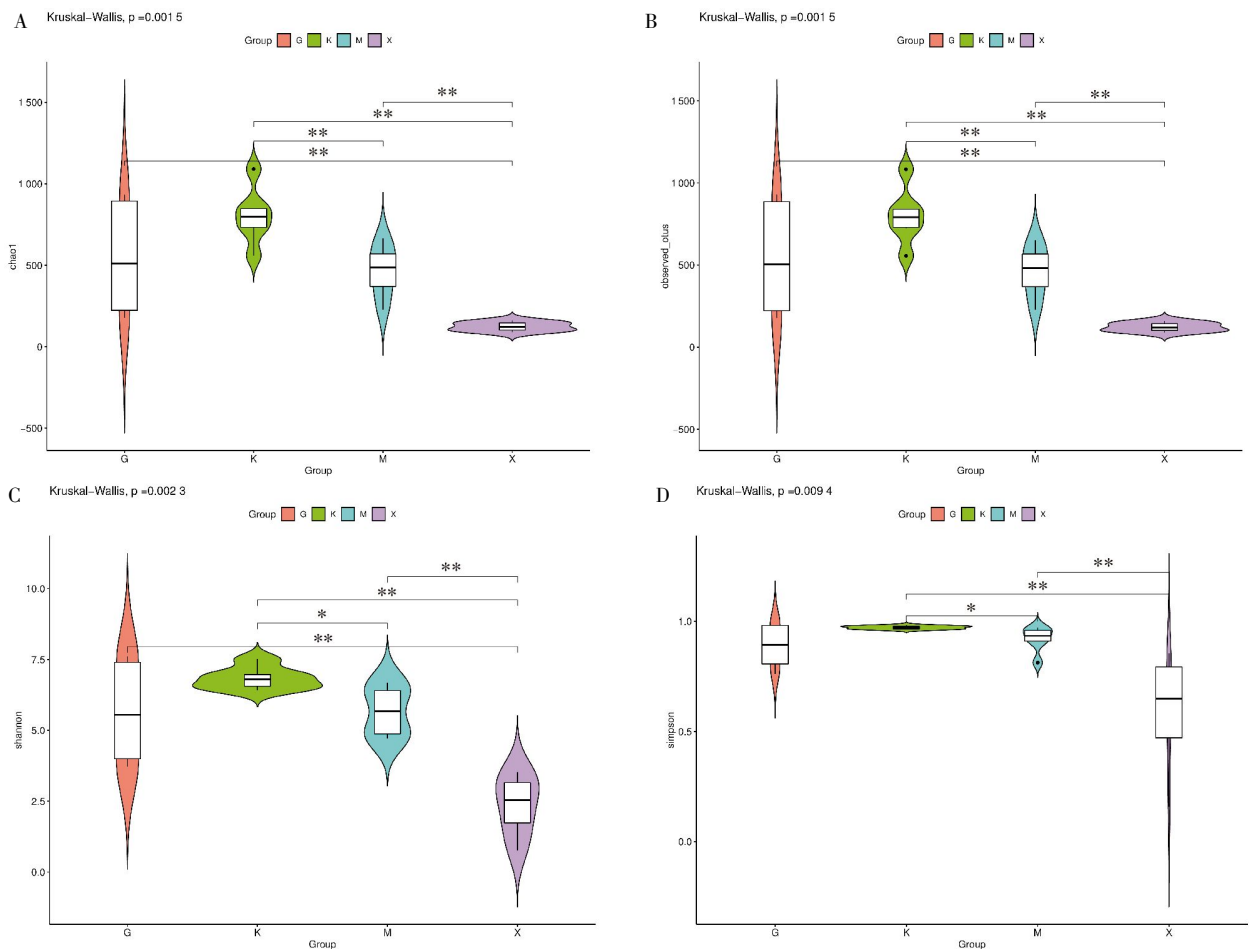


图 8 各组小鼠肠道菌群 α 多样性指数箱线图

Fig.8 Boxplots of gut microbiota α -diversity indices among different groups of mice

注:A.Chao1 指数;B.Observed_species 指数;C.Shannon 指数;D.Simpson 指数。K.空白组;M.模型组;X.西药组;G.高氧戊己汤组。* $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

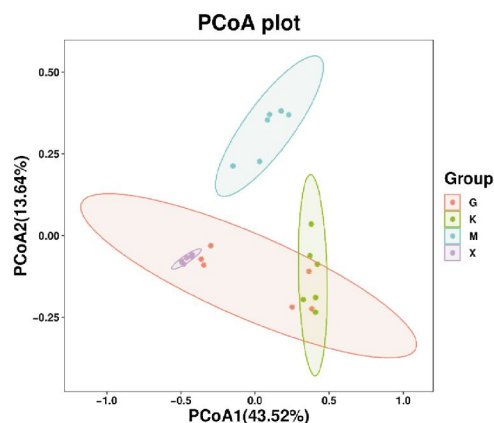


图9 各组小鼠肠道菌群 β 多样性主坐标分析

Fig.9 Principal coordinate analysis (PCoA) of gut microbiota β -diversity among different groups of mice

注:K.空白组;M.模型组;G.高氧戊己汤组;X.西药组。

4.7.3 物种组成分析 在门水平上,4组小鼠的肠道菌群中以厚壁菌门(*Firmicutes*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、疣微菌门(*Verrucomicrobiota*)、脱硫菌门(*Desulfobacterota*)和变形菌门(*Proteobacteria*)为核心菌门,但不同组的丰度分布存在差异。空白组小鼠的优势菌门是厚壁菌门和拟杆菌门,相对丰度分别为 50.67% 和 42.18%,二者比值(F/B)为 1.2。模型组中,厚壁菌门占比升高至 59.5%,拟杆菌门下降至 19.64%,F/B 升高至 3.03。西药组厚壁菌门与拟杆菌门分别占比 9.73%、29.47%,F/B 降至 0.33。高氧戊己汤组厚壁菌门与拟杆菌门丰度分别为 35.58%、34.07%,F/B 下降至 1.04,与空白组相近。与模型组比较,西药组厚壁菌门及放线菌门丰度显著降低,变形菌门丰度升高。详见图 10。

在属水平上,与空白组比较,模型组阿克曼菌属(*Akkermansia*)、*Ligilactobacillus*、拟杆菌属(*Bacteroides*)、毛螺菌科 NK4A136 属(*Lachnospiraceae* NK4A136 group)丰度均呈升高趋势,*Muribaculaceae_unclassified* 丰度呈降低趋势;与模型组比较,西药组阿克曼菌属、拟杆菌属丰度有升高趋势,*Muribaculaceae_unclassified* 丰度呈降低趋势,*Ligilactobacillus* 及毛螺菌科 NK4A136 属丰度显著降低,高氧戊己汤组阿克曼菌属、*Muribaculaceae_unclassified*、拟杆菌属丰度呈升高趋势,*Ligilactobacillus*、毛螺菌科 NK4A136 属丰度呈降低趋势。详见图 11。

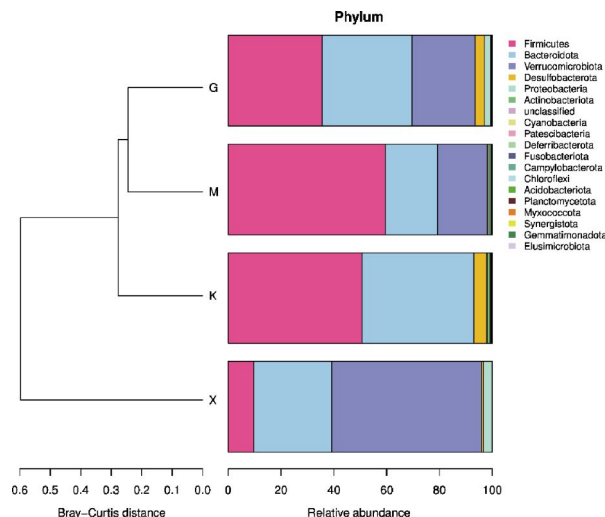


图10 各组小鼠肠道菌群门水平物种组成及聚类分析

Fig.10 Phylum-level composition and cluster analysis of

gut microbiota among different groups of mice

注:K.空白组;M.模型组;X.西药组;G.高氧戊己汤组。左侧为基于 Bray-Curtis 距离的样本聚类树;右侧为门水平物种相对丰度堆叠柱状图。

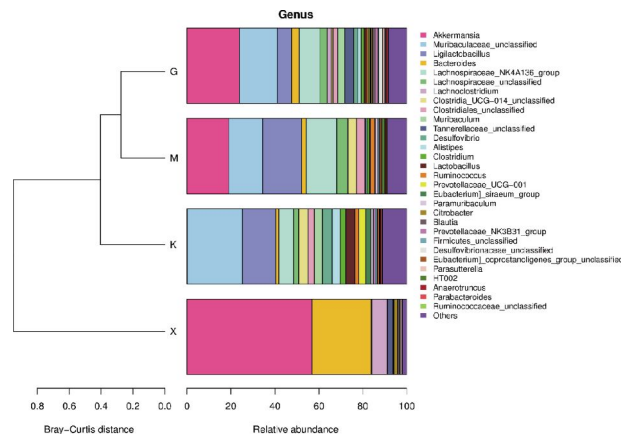


图11 各组小鼠肠道菌群属水平物种组成及聚类分析

Fig.11 Genus-level composition and cluster analysis of gut microbiota among different groups of mice

注:K.空白组;M.模型组;X.西药组;G.高氧戊己汤组。左侧为基于 Bray-Curtis 距离的样本聚类树;右侧为门水平物种相对丰度堆叠柱状图。

5 讨论

Hp 感染是慢性胃炎、消化性溃疡及胃癌的重要致病因素,其感染后多表现为胃脘痞满、疼痛、灼热、吞酸、嘈杂等症状,临床可归属于中医学“胃脘痛”“痞满”“嘈杂”等病症范畴。Hp 经口而入,直中胃腑,属于中医学“邪气”范畴,病位在胃,与脾、肝密切相关。随着病情迁延,湿热困脾、阻滞气机、热耗阴津、湿遏阳气,渐致虚实夹杂、寒热错杂^[25]。戊己汤由黄连、吴茱萸、白芍组成^[26],以黄连苦寒清泻肝胃之

火,吴茱萸辛热开郁降逆制黄连之苦寒,二药配伍而成“辛开苦降”之剂,契合Hp感染后邪郁中焦、寒热错杂、升降失常的核心病机。Hp感染病理机制涉及炎症反应、氧化应激及免疫调节等多重生物学过程^[7]。MyD88/NLRP3/Caspase-1信号通路是调控炎症反应的关键通路之一。Hp感染时,其脂多糖被胃上皮细胞表面受体识别,募集MyD88激活NF- κ B,启动NLRP3炎症小体表达^[6]。同时,Hp破坏肠道微生物稳态,进一步强化NLRP3介导的炎症反应。下游Caspase-1被激活,促使IL-1 β 、IL-18等炎症介质大量释放^[7],损伤胃黏膜。此外,Hp感染诱发氧化应激紊乱,表现为MDA水平升高、SOD活性失代偿,氧化-抗氧化系统失衡加剧胃黏膜损伤^[8]。本研究结果显示,Hp感染可诱导小鼠胃黏膜明显病理损伤及Hp定植,伴随炎症与氧化应激指标显著升高,同时MyD88/NLRP3/Caspase-1信号通路关键分子表达上调。高氧戊己汤干预可显著改善胃黏膜病理损伤,减少Hp定植,下调NF- κ B、IL-1 β 、MDA、SOD及通路关键分子的表达,且调控效果优于西药组,提示高氧戊己汤通过抑制MyD88/NLRP3/Caspase-1信号通路发挥抗炎、抗氧化作用,保护胃黏膜。

Hp感染不仅直接激活MyD88/NLRP3/Caspase-1信号通路诱发胃黏膜炎症,还可通过诱导肠道菌群失调间接加重胃黏膜损伤。16S rDNA测序结果显示,Hp感染可降低小鼠肠道菌群Chao1、Observed_species、Shannon及Simpson指数,显著改变菌群结构组成,破坏菌群物种丰富度和多样性。西药组的上述 α 多样性指数进一步降低,菌群结构与空白组完全分离,表明西药组干预加剧了菌群紊乱,而高氧戊己汤可促进菌群丰富度及结构恢复。F/B比值是评估肠道微生态的重要指标,其异常升高或降低均提示菌群失调^[28]。变形菌门增加也是肠道微生物菌群失调的标志^[28]。本研究中,模型组F/B比值明显升高,变形菌门丰度增加,有益菌放线菌门减少,四联疗法干预后肠道菌群紊乱加剧,而高氧戊己汤可恢复门水平物种组成。在属水平上,适度丰度的阿克曼菌属有助于维持肠道屏障功能^[29-30],但其过度增殖可降解黏蛋白,破坏黏液层,导致物种多样性下降及肠道炎症^[31-32]。四联疗法治疗后阿克曼菌属丰度过度升高,拟杆菌属明显增多,而益生菌Muribaculaceae_unclassified、

Ligilactobacillus、毛螺菌科NK4A136属丰度显著降低。上述结果表明,高氧戊己汤在恢复肠道微生态稳态方面较四联疗法更具优势。

综上,高氧戊己汤在抑制MyD88/NLRP3/Caspase-1通路、改善炎症与氧化应激的同时,可纠正肠道菌群失衡,提示该通路不仅介导胃部炎症与氧化应激,还可能通过全身性炎症反应间接影响远端肠道微生态,从而保护胃黏膜。同时,与四联疗法相比,高氧戊己汤对肠道菌群的负面影响更小,能够维持F/B比值平衡、抑制条件致病菌增殖、保留抗炎功能菌。本研究以“胃-肠”轴为核心,聚焦炎症及氧化应激双重反应,兼顾胃、肠细菌研究对胃功能的影响,将高氧水和中医经典方联合用于抗Hp,体现了中医的整体观及中西医结合思路,计划后续开展临床研究以进一步验证该结论。此外,高氧戊己汤作为中药复方与高氧水的联合制剂,其具体有效成分及协同增效作用仍需进一步研究。本研究结果为高氧戊己汤的临床应用提供了实验依据,也为开发抗Hp感染的中药新药提供了重要参考。

参考文献

- [1] Li Y H, Hahn A I, Laszkowska M, et al. Global burden of young-onset gastric cancer: A systematic trend analysis of the global burden of disease study 2019[J]. Gastric Cancer, 2024, 27(4): 684-700.
- [2] Hooi J K Y, Lai W Y, Ng W K, et al. Global prevalence of Helicobacter pylori infection: Systematic review and meta-analysis[J]. Gastroenterology, 2017, 153(2): 420-429.
- [3] Yang L, Kartsonaki C, Yao P, et al. The relative and attributable risks of cardia and non-cardia gastric cancer associated with Helicobacter pylori infection in China: A case-cohort study[J]. The Lancet Public Health, 2021, 6(12): e888-e896.
- [4] Deane C, Kelly O, O'Morain C. Current and future perspectives on the management of Helicobacter pylori: A narrative review[J]. Antibiotics, 2024, 13(6): 541.
- [5] 田静, 邓莉. 萝卜硫素抑制幽门螺杆菌诱导胃黏膜上皮细胞NLRP3炎症小体活化的研究[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(13): 1566-1571.
- [6] Liu M Q, Hu Z Z, Wang C K, et al. The TLR/MyD88 signalling cascade in inflammation and gastric cancer: The immune regulatory network of Helicobacter pylori[J]. Journal of Molecular Medicine, 2023, 101(7): 767-781.

- [7] Tran L S, Ying L, D'Costa K, et al. NOD1 mediates interleukin-18 processing in epithelial cells responding to *Helicobacter pylori* infection in mice[J]. *Nature Communications*, 2023, 14: 3804.
- [8] Nintewoue G F F, Nguefak L D T, Ngatcha G, et al. *Helicobacter pylori* infection—a risk factor for lipid peroxidation and superoxide dismutase over-activity: A cross-sectional study among patients with dyspepsia in Cameroon[J]. *JGH Open*, 2023, 7(9): 618–628.
- [9] 王腾腾, 孟存英, 时永全. 幽门螺杆菌与胃肠微生物群相互作用及关系的研究进展[J]. *空军军医大学学报*, 2024, 45(3): 356–360.
- [10] Jalali A M, Mitchell K J, Pompoco C, et al. Therapeutic significance of NLRP3 inflammasome in cancer: Friend or foe?[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(24): 13689.
- [11] 刘新宇, 罗金涛, 田帝, 等. 加减三仁汤治疗脾胃湿热型 Hp 感染胃炎的临床疗效及机制[J]. *中华中医药杂志*, 2026, 41(3): 1005–1009.
- [12] 何璠, 余维微, 周晓君, 等. 黄芪建中汤加减联合针刺治疗 Hp 阳性慢性萎缩性胃炎临床效果观察[J/OL]. *中华中医药学刊*, 2026–05–05. <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.r.20250711.0907.002>.
- [13] 贾梦迪, 张声生, 朱冷霁. 化湿清幽方治疗慢性非萎缩性胃炎伴 Hp 感染的疗效评价和对肠道菌群整体结构及多样性的影响[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2026, 34(3): 177–182.
- [14] 施敏, 刘富林, 张叔琦, 等. 高氧水和戊己丸对幽门螺杆菌的抑菌作用研究[J]. *中医药导报*, 2023, 29(6): 66–69, 75.
- [15] 施敏, 许文娟, 张叔琦, 等. 高氧戊己汤对幽门螺旋杆菌感染小鼠胃黏膜保护作用的研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2024, 51(9): 204–207.
- [16] 李莉, 杨伟, 梁春耕, 等. 吴茱萸碱调控 EGFR/MAPK/ERK 通路对 Hp 诱导慢性萎缩性胃炎大鼠的作用机制[J]. *河北医学*, 2025, 31(2): 215–223.
- [17] 高伟, 徐艳霞, 刘圆圆, 等. 小檗碱调控核因子 κ B 信号转导通路对幽门螺杆菌感染人胃癌细胞的影响[J]. *世界中医药*, 2022, 17(12): 1708–1711, 1718.
- [18] 邓炜超, 葛浩婷, 虞燕萍, 等. 黄连素对幽门螺杆菌感染模型小鼠胃内环境的影响[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2025, 35(4): 301–304, 323.
- [19] 谢欣睿. 表小檗碱的全合成及其抗幽门螺杆菌的作用研究[D]. 重庆: 西南大学, 2022.
- [20] 李学永, 康维娜, 温进平, 等. 白芍总苷对慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜的保护作用及机制[J]. *现代中西医结合杂志*, 2023, 32(12): 1638–1644, 1740.
- [21] 连大卫, 扶丽君, 许艺飞, 等. 幽门螺杆菌感染小鼠慢性胃炎模型的建立及评价[J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(7): 6–12.
- [22] 中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌学组. 2022 中国幽门螺杆菌感染治疗指南[J]. *中华消化杂志*, 2022, 42(11): 745–756.
- [23] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 1184.
- [24] Brkić N, Švagelj D, Omazić J. Pathohistological changes in the gastric mucosa in correlation with the immunohistochemically detected spiral and coccoid forms of *Helicobacter pylori*[J]. *Microorganisms*, 2024, 12(6): 1060.
- [25] 张学智, 魏玮, 蓝宇. 成人幽门螺杆菌引起的胃炎中西医协作诊疗专家共识(2020, 北京)[J]. *中医杂志*, 2020, 61(22): 2016–2024.
- [26] 太平惠民和剂局. 太平惠民和剂局方[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2024: 168.
- [27] Salvatori S, Marafini I, De Vico P, et al. Molecular insights into *Helicobacter pylori*-induced gastritis and gastric cancer[J]. *Cancers*, 2026, 18(2): 331.
- [28] Song M L, Chen L, Dong C, et al. Alginate oligosaccharide and gut microbiota: Exploring the key to health[J]. *Nutrients*, 2025, 17(12): 1977.
- [29] 蒋怡, 江平, 张明明, 等. 嗜黏蛋白阿克曼菌在肠道相关疾病中作用的研究进展[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2022, 42(10): 1490–1497.
- [30] Aja E, Zeng A, Gray W, et al. Health effects and therapeutic potential of the gut microbe *Akkermansia muciniphila*[J]. *Nutrients*, 2025, 17(3): 562.
- [31] Ganesh B P, Klopffleisch R, Loh G, et al. Commensal *Akkermansia muciniphila* exacerbates gut inflammation in *Salmonella* Typhimurium-infected gnotobiotic mice[J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e74963.
- [32] Gu Z Y, Pei W L, Zhang Y, et al. *Akkermansia muciniphila* in inflammatory bowel disease and colorectal cancer[J]. *Chinese Medical Journal*, 2021, 134(23): 2841–2843.

(本文编辑 田梦妍)