

本文引用: 许娟, 邹小云, 贾守宁, 祁永福, 李海霖, 李军茹. 胃糜舒调控 IL-6/STAT3/ROR γ t Th17 分化信号通路治疗幽门螺杆菌感染胃炎小鼠的机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(7): 1312–1322.

胃糜舒调控 IL-6/STAT3/ROR γ t Th17 分化信号通路治疗 幽门螺杆菌感染胃炎小鼠的机制研究

许娟¹, 邹小云², 贾守宁², 祁永福², 李海霖², 李军茹^{2*}

1.青海大学医学院, 青海 西宁 810016; 2.青海省中医院, 青海 西宁 810001

〔摘要〕 目的 研究胃糜舒治疗幽门螺杆菌感染胃炎小鼠的效果及作用机制。方法 36 只小鼠随机分为对照组、模型组、胃糜舒低剂量组[7.43 g/(kg·d)]、胃糜舒中剂量组[14.85 g/(kg·d)]、胃糜舒高剂量组[29.70 g/(kg·d)]、阳性药物组[丽珠维三联 3.20 g/(kg·d)], 每组 6 只。除对照组外, 其余 5 组小鼠各给予抗生素混合溶液(庆大霉素 1.2 mg/mL、氨苄西林 10 mg/mL、阿奇霉素 10 mg/mL) 0.3 mL, 灌胃 3 d, 禁食 1 d 后开始幽门螺杆菌菌液灌服。检测胃糜舒对幽门螺杆菌感染胃炎小鼠的治疗情况, 通过 HE 染色、PAS 染色、瑞氏-吉姆萨染色观察胃组织损伤, 采用 ELISA 检测白细胞介素(IL)-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-17 水平; 采用流式细胞术检测辅助性 T 细胞 17(Th17)细胞比例; 免疫组织化学检测中性粒细胞标志物淋巴细胞抗原 6 复合物基因座 G(Ly6G), 免疫荧光共染髓过氧化物酶(MPO)、瓜氨酸化组蛋白 H3(CitH3); 通过 Western blot 检测 IL-6、信号转导与转录激活因子 3(STAT3)、磷酸化 STAT3(p-STAT3)、维甲酸相关孤儿受体 γ t(ROR γ t)蛋白表达水平。结果 与对照组比较, 模型组胃组织损伤严重, 黏膜层大片变性坏死, 伴有炎症细胞浸润, 黏液增多; 与模型组相比, 胃糜舒低、高剂量组损伤减轻, 黏膜层局部变性坏死, 炎症细胞浸润较多, 胃糜舒低剂量组黏液变化轻微, 高剂量组黏液减少; 胃糜舒中剂量组损伤减轻, 黏膜层轻微变性坏死, 炎症细胞浸润减少, 黏液减少。与对照组相比, 模型组 IL-6、TNF- α 、IL-17 水平增加($P<0.01$); 与模型组相比, 胃糜舒低、中、高剂量组 IL-6、TNF- α 、IL-17 水平降低($P<0.05$ 和 $P<0.01$)。与对照组相比, 模型组 Th17 细胞比例增加($P<0.01$); 与模型组相比, 胃糜舒低、高剂量组 Th17 细胞比例差异无统计学意义, 胃糜舒中剂量组 Th17 细胞比例降低($P<0.05$)。与对照组相比, 模型组 Ly6G、MPO、CitH3 阳性表达量增加($P<0.01$); 与模型组相比, 胃糜舒低、中、高剂量组 Ly6G、MPO、CitH3 阳性表达量降低($P<0.01$)。与对照组相比, 模型组 IL-6、p-STAT3、ROR γ t 蛋白表达水平增加($P<0.01$), STAT3 蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$); 与模型组相比, 胃糜舒低、中、高剂量组 IL-6、p-STAT3、ROR γ t 蛋白表达降低($P<0.05$ 和 $P<0.01$), STAT3 蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 胃糜舒可能通过调控 IL-6/STAT3/ROR γ t Th17 分化信号通路, 减轻幽门螺杆菌感染胃炎小鼠的胃组织损伤、调节 Th17 细胞极化和中性粒细胞诱捕网形成等发挥治疗作用, 为慢性糜烂性胃炎治疗提供新参考。

〔关键词〕 幽门螺杆菌感染胃炎; 胃糜舒; IL-6/STAT3/ROR γ t 信号通路; Th17 细胞分化; 中性粒细胞诱捕网

〔中图分类号〕 R285.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.07.002

Mechanism underlying the therapeutic effects of Weimishu on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in mice via regulation of the IL-6/STAT3/ROR γ t-mediated Th17 differentiation signaling pathway

XU Juan¹, ZOU Xiaoyun², JIA Shouning², QI Yongfu², LI Hailin², LI Junru^{2*}

1. Qinghai University Medical College, Xining, Qinghai 810016, China; 2. Qinghai Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xining, Qinghai 810001, China

〔收稿日期〕 2025-10-18

〔基金项目〕 2023 年中央财政转移支付地方项目——中药创新能力提升项目(国中医药科技中药便函[2023]24 号)。

〔通信作者〕 * 李军茹, 女, 博士, 主任医师, E-mail: qhxnlijunru@sina.com。

[Abstract] Objective To investigate the therapeutic effects and mechanism of action of Weimishu in treating *Helicobacter pylori* (Hp)-induced gastritis in mice. **Methods** A total of 36 mice were randomly divided into control, model, low- [7.43 g/(kg·d)], medium- [14.85 g/(kg·d)], and high-dose Weimishu [29.70 g/(kg·d)], and positive drug groups (Lizhuwei Sanlian 3.20 g/(kg·d)), with six mice in each group. Except for the control group, mice in the other 5 groups were administered 0.3 mL of a mixed antibiotic solution (gentamicin 1.2 mg/mL, ampicillin 10 mg/mL, azithromycin 10 mg/mL) by gavage for three consecutive days and then were fasted for 1 day before oral gavage with Hp suspension. The therapeutic effects of Weimishu on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in mice were evaluated by the following methods: HE staining, PAS staining, and Wright-Giemsa staining were used to observe the gastric tissue injury; ELISA was used to determine the levels of IL-6, TNF- α , and IL-17; Flow cytometry was employed to analyze the proportion of T helper 17 (Th17) cells; immunohistochemistry was performed to check the neutrophil marker lymphocyte antigen 6 complex locus G (Ly6G), while immunofluorescence co-staining was used to assess myeloperoxidase (MPO) and citrullinated histone H3 (CitH3). The protein expression levels of IL-6, signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), phosphorylated STAT3 (p-STAT3), and retinoic acid-related orphan receptor γ t (ROR γ t) were tested by Western blot. **Results** Compared with the control group, the model group exhibited severe gastric tissue injury characterized by extensive mucosal layer degeneration and necrosis, inflammatory cell infiltration and increased mucus secretion. Compared with the model group, gastric injury was alleviated in the low- and high-dose Weimishu groups, with focal mucosal degeneration and necrosis, and marked inflammatory cell infiltration, slight changes in mucus secretion in the low-dose Weimishu group, decreased mucus secretion in the high-dose group. The medium-dose Weimishu group showed alleviated injury, mild mucosal layer degeneration and necrosis, reduced inflammatory cell infiltration, and reduced mucus secretion. Compared with the control group, the levels of IL-6, TNF- α and IL-17 in the model group increased ($P<0.01$). Compared with the model group, the low-, medium- and high-dose Weimishu groups showed decreased levels of IL-6, TNF- α and IL-17 ($P<0.05$ and $P<0.01$). Compared with the control group, the proportion of Th17 cells in the model group increased ($P<0.01$). Compared with the model group, there was no significant difference in the proportion of Th17 cells in the low- and high-dose Weimishu groups, while the medium-dose group showed a decreased proportion of Th17 cells ($P<0.05$). Compared with the control group, the Ly6G-positive staining area, and the positive cell rates of MPO and CitH3 increased in the model group ($P<0.01$). Compared with the model group, the Ly6G-positive staining area, and the positive cell rates of MPO and CitH3 decreased in low-, medium- and high-dose Weimishu groups ($P<0.01$). Compared with the control group, the protein expression levels of IL-6, p-STAT3 and ROR γ t in the model group increased ($P<0.01$), and no significant difference was observed in the expression of STAT3 protein. Compared with the model group, the protein expression levels of IL-6, p-STAT3 and ROR γ t in the low-, medium- and high-dose Weimishu groups decreased ($P<0.05$ and $P<0.01$), and the expression of STAT3 protein was not statistically significant. **Conclusion** Weimishu may exert therapeutic effects by regulating the IL-6/STAT3/ROR γ t signaling pathway involved in Th17 cell differentiation, thereby alleviating gastric tissue injury, modulating Th17 cell polarization, and inhibiting neutrophil extracellular trap formation in mice with Hp-induced gastritis. These findings may provide a new therapeutic perspective for the treatment of chronic erosive gastritis.

[Keywords] *Helicobacter pylori*-induced gastritis; Weimishu; IL-6/STAT3/ROR γ t signaling pathway; Th 17 cell differentiation; neutrophil extracellular traps

慢性糜烂性胃炎(chronic erosive gastritis, CEG)是一种以胃黏膜完整性受损为特征的胃炎,胃镜下显示平坦或隆起的侵蚀,糜烂灶深度不超过 1 mm,未到达黏膜肌肉层^[1]。幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)感染是 CEG 的主要病因^[2]。目前,临床上针对 Hp 感染胃炎的治疗主要采用质子泵抑制剂、铋剂和抗生素联合的方案,但该方案存在抗生素耐药性增加、不良反应较多等问题,导致治疗效果不尽理想^[3]。

因此,寻找新的治疗方法和药物具有重要临床意义。

在 Hp 感染引发胃部炎症过程中,免疫系统的激活和异常免疫反应起着关键作用。辅助性 T 细胞(T helper cell, Th)和抗原呈递细胞(antigen-presenting cell, APC)之间的相互作用会使适应性免疫细胞偏向于产生 Th 极化细胞因子^[4]。Th17 细胞[即主要表达白细胞介素(interleukin, IL)-17 的细胞]被认为是 Hp 感染过程中的主要驱动免疫细胞之一^[5-6]。

该细胞分泌的 IL-17 与中性粒细胞的动员和活化密切相关,能够促进中性粒细胞的生成和积累,在多种炎症疾病中发挥关键作用^[7]。在 Hp 感染胃炎患者和动物模型中,Th17 细胞及其相关细胞因子的表达显著上调,提示 Th17 细胞介导的免疫反应在 Hp 感染胃炎的发病机制中具有重要地位^[8]。

IL-6/STAT3/ROR γ t 信号通路是调控 Th17 细胞分化的关键信号通路,IL-6 可以激活信号转导和转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3),激活后的 STAT3 进入细胞核,与维甲酸相关孤儿受体 γ t(retinoic acid-related orphan receptor gamma t, ROR γ t) 相互作用,促进 Th17 细胞的分化和 IL-17 的分泌^[9-11]。因此,调节 IL-6/STAT3/ROR γ t 信号通路可能成为治疗 Hp 感染慢性糜烂性胃炎的新靶点。

胃糜舒是青海省名中医李军茹主任医师临床治疗 Hp 感染相关性 CEG 的经验方。根据胃糜舒方组成药物的现代机制研究,分析该方可能通过抑制促炎因子的释放达到抗炎作用;通过促进细胞新生增强胃黏膜屏障功能,减少胃酸及药物的侵害;通过抗 Hp 达到对因治疗的效果^[12]。本研究旨在基于 IL-6/STAT3/ROR γ t Th17 分化信号通路,探讨胃糜舒治疗 Hp 感染胃炎小鼠的作用机制,为其临床应用提供实验依据和理论支持。

1 材料

1.1 动物来源

SPF 级雌性 C57BL/6 小鼠,体质量 18~22 g,4 周龄,购自成都药康生物科技有限公司,生产许可证号:SCXK(川)2020-0034,使用许可证号:SYXK(川)2020-0199,动物合格证编号:511214900044211。本动物实验经青海省中医院实验动物伦理委员会审查,认为该项目符合实验动物伦理学要求,项目批准号:QZYEC20241223-021。小鼠自由饮食,温度 20~26 ℃,湿度 40%~70%,12 h/12 h 光暗循环。

1.2 药物与细菌

胃糜舒方(柴胡 20 g,炒枳壳 16 g,白芷 10 g,白及 16 g,三七粉 5 g,制乳香 6 g,制没药 6 g,煅瓦楞子 30 g,黄芪 30 g,槟榔 10 g,败酱草 16 g),由青海省中医院中药房提供。胃糜舒全方加水浸泡后煎煮 30 min,过滤取汁,药渣加水煎煮 30 min,合

并两次药液,浓缩制成 0.5、1、2 g/mL 的低、中、高浓度胃糜舒汤剂,冷却后 4 ℃保存。丽珠维三联(枸橼酸铋钾片/替硝唑片/克林霉素片,批号:230902)购自丽珠医药集团股份有限公司。氨苄西林(批号:7177-48-2)、庆大霉素(批号:1405-41-0)购自上海麦克林生化科技股份有限公司。阿奇霉素(国药准字:H10960112)购自辉瑞制药有限公司。

Hp(菌株编号:GDMCC 1.1820)购自广东省微生物菌种保藏中心。将菌株接种至 Hp 固体培养基,置于 37 ℃厌氧工作站,调整气体环境为 85% N₂、10% CO₂、5% O₂,培养 48 h 进行复苏,扩增。

1.3 主要试剂

苏木素染液(德国 Sigma Aldrich 公司,货号:H9627);伊红染液(合肥博美生物科技有限责任公司,货号:YE2080);PAS 染色液、瑞氏-吉姆萨染色液(北京索莱宝科技有限公司,货号:G1280、G1020);Rat IL-6 ELISA Kit、Rat TNF- α ELISA Kit、Rat IL-17 ELISA Kit(上海茁彩生物科技有限公司,货号:ZC-36404、ZC-37624、ZC-36387);IL-17A Monoclonal Antibody(eBio17B7)PE(美国赛默飞世尔科技有限公司,货号:12-7177-81);细胞刺激混合液(Cell Activation Cocktail)、固定缓冲液(Fixation Buffer)、胞内染色破膜洗涤缓冲液(Intracellular Staining Permeabilization Wash Buffer)(10 $\times$)、FITC 标记的抗大鼠 CD4 抗体(FITC anti-rat CD4)(美国 BioLegend 公司,货号:423301、420801、421002、201505);淋巴细胞抗原 6 复合物位点 G(lymphocyte antigen 6 complex locus G, Ly6G)、瓜氨酸化组蛋白 H3(citrullinated histone H3, CitH3)、p-STAT3 单克隆抗体(英国 Abcam 公司,货号:ab238132、ab281584、ab32143);CY3 标记山羊抗兔、HRP 标记山羊抗兔(武汉赛维尔生物技术有限公司,货号:GB21303、GB22303);过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)(成都正能生物技术有限责任公司,货号:R25062);IL-6、STAT3 单克隆抗体(美国 Affinity 公司,货号:DF6087、AF6294);ROR γ t 单克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号:29910-1-AP); β -actin 单克隆抗体(武汉爱博泰克生物技术有限公司,货号:AC026);HRP 标记山羊抗兔 IgG(H+L)二抗[Goat Anti-Rabbit IgG(H+L)HRP](美国

Affbiotech 公司,货号:S0001);Western 及 IP 细胞裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号:P0013、P0009)。

1.4 主要仪器

低温高速组织研磨仪(武汉赛维尔生物科技有限公司,型号:KZ-III-F);酶标仪(美谷分子仪器有限公司,型号:SpectraMAX Plus384);垂直电泳槽(北京君意东方电泳设备有限公司,型号:JY-SCZ4+);全自动化学发光图像分析系统(上海天能科技有限公司,型号:5200 Multi);流式分析仪(美国 Beckman 公司,型号:Cytoflex);病理组织漂烘仪(常州市中威电子仪器有限公司,型号:PHY-III);数码三目显微摄像系统(麦克奥迪实业集团有限公司,型号:BA400Digital);台式高速冷冻离心机(湖南湘仪实验仪器厂,型号:H2050R);厌氧工作站(美国 Gene Science 公司,型号:AG300);荧光倒置显微镜(日本 Nikon 公司,型号:ECLIPSE Ti-U)。

2 方法

2.1 动物分组与造模

SPF 级 C57BL/6 小鼠 36 只,采用随机数字表法分为 6 组,分别为对照组、模型组、胃糜舒低剂量组、胃糜舒中剂量组、胃糜舒高剂量组、阳性药物组。除对照组外,其余 5 组动物参照文献[13-14]构建幽门螺杆菌感染模型,给予抗生素混合溶液(庆大霉素 1.2 mg/mL、氨苄西林 10 mg/mL、阿奇霉素 10 mg/mL)灌胃,0.3 mL/只,1 次/d,连续 3 d。禁食 1 d 后开始 Hp 菌液灌服。感染前 12 h 小鼠禁水、禁食;感染前 30 min,灌胃酸中和液,0.3 mL/只。挑取复苏后单菌落涂片,行革兰氏染色镜检及快速脲酶试验,脲酶试剂变成红色,试验结果阳性且镜下形态典型,确认菌株培养成功。用生理盐水洗脱细菌制成细菌悬液,在 600 nm 波长处测定浊度,调整菌液浓度至 1.5×10^9 CFU/mL。以 0.3 mL/只的量灌胃小鼠,对照组灌胃等体积 PBS,避免交叉污染。灌胃后 2 h 恢复饮食,每隔 1 天感染 1 次,共计灌胃 6 次。末次感染 14 d 后,取对照组及模型组小鼠,禁水禁食 12 h,处死小鼠,取出胃组织,用生理盐水轻轻地冲洗掉胃内残留食物,沿胃大弯剪开,取 1/3 胃组织放入 500 μ L 快速脲酶试剂中,37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h,当快速脲酶试剂变为红色,则判断为尿素酶阳性。

2.2 药物治疗

根据成人与小鼠体表面积进行换算^[15],70 kg 成

人临床剂量为 165 g/d,得小鼠临床等效剂量为 29.70 g/(kg·d),设为胃糜舒高剂量组,胃糜舒中、低剂量组分别为 14.85 g/(kg·d)和 7.43 g/(kg·d)。对照组给予等体积 PBS 溶液灌胃 13 d 后,继续自由饮水、进饮食喂养 2 周。其余 5 组均进行 13 d 的 Hp 造模,随后模型组自由饮水饮食喂养 2 周;胃糜舒低、中、高剂量组分别按 7.43、14.85、29.70 g/(kg·d)的剂量灌胃胃糜舒,阳性药物组灌胃 3.20 g/(kg·d)丽珠维三联,并继续自由饮水饮食喂养 2 周。

2.3 样本处理

小鼠经颈椎脱臼处死后,立即取腹主动脉血,室温静置 2 h,离心后分离血清,-80 $^{\circ}$ C 保存,用于 ELISA 检测。沿胃大弯剪开胃组织,轻轻冲掉胃内残留物,一部分 4%多聚甲醛固定,用于 HE 染色、PAS 染色、瑞氏-吉姆萨染色、免疫组织化学检测及免疫荧光共染;一部分液氮速冻后-80 $^{\circ}$ C 保存,用于 Western blot 检测;另取新鲜胃组织制备单细胞悬液,用于流式细胞术检测。

2.4 HE 染色观察胃组织病理学变化

剩余胃组织经甲醛固定,无水乙醇脱水处理,二甲苯透明、包埋,切片机切片。用 HE 试剂染色,封片后显微镜镜检,采集图像并分析。

2.5 PAS 染色观察胃组织黏液分泌变化

胃组织切片首先进行脱蜡水化,然后加入 PAS 氧化剂进行氧化,后加入席夫试剂进行浸染,冲洗之后苏木素染核,随后进行盐酸分化和水洗,反蓝液返蓝,最后脱水、透明、中性树胶封固。使用显微摄像系统对切片进行图像采集,采用 Image-ProPlus 6.0 图像分析系统测定所采集图片内的阳性表达面积。阳性表达面积百分比(%)=阳性表达面积/视野面积(像素面积) $\times 100\%$ 。

2.6 瑞氏-吉姆萨染色观察胃黏膜损伤情况

胃组织切片脱蜡至水,依次经瑞氏-吉姆萨染液染色 2 min、加缓冲液混匀染色 5 min、苏木素染核 3 min,盐酸分化水洗、返蓝液返蓝水洗 3 min,经梯度乙醇脱水、透明剂透明,用中性树胶封固,最后使用显微摄像系统对切片进行图像采集。

2.7 ELISA 检测 IL-6、TNF- α 和 IL-17 因子表达水平

胃组织制备匀浆后,以 3 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,-70 $^{\circ}$ C 保存,采用 ELISA 检测,根据试剂盒操作说

说明书进行操作,最后在 450 nm 波长处测定各孔的 OD 值,计算小鼠胃组织中 IL-6、TNF- α 和 IL-17 水平。

2.8 流式细胞术检测 Th17 细胞比例

将胃组织用 PBS 漂洗,剪成小块后轻磨,收集细胞悬液过滤,离心后加入红细胞裂解液裂解,收集细胞沉淀备用。每管加无血清培养基重悬细胞,加入细胞刺激混合液,离心,PBS 重悬后加 CD4 抗体标记,PBS 洗涤后离心弃上清液,每管加 200 μ L 固定缓冲液室温孵育,离心弃上清液后每管加 250 μ L 胞内染色破膜洗涤缓冲液洗涤两次,100 μ L 该缓冲液重悬细胞,加 IL-17A 抗体标记孵育后离心,弃上清液,PBS 重悬细胞后上机检测分析。

2.9 免疫组织化学检测 Ly6G 表达

胃组织切片经脱蜡、不同浓度乙醇处理及蒸馏水洗后,浸入修复液进行抗原修复,冷却后 PBS 洗涤;放入 3%过氧化氢溶液阻断内源性过氧化物酶;滴加牛血清封闭,再滴加一抗 Ly6G(1:100)4 $^{\circ}$ C 湿盒孵育过夜;次日 PBS 洗后滴加二抗(1:100)孵育;用新鲜 DAB 显色液显色,显微镜下控制时间,蒸馏水终止显色;苏木素复染细胞核,自来水洗、清水返蓝后流水冲洗;最后经不同浓度乙醇、二甲苯处理,中性树胶封片。使用显微摄像系统对切片进行图像采集,使用 Halo 数据分析系统计算每张图像阳性面积占比,进行统计分析。

2.10 免疫荧光共染 MPO 和 CitH3

胃组织石蜡切片处理:依次经脱蜡液、二甲苯、不同浓度乙醇脱蜡至水并水洗;两次抗原修复均用修复液经微波炉处理后,冷却,PBS 洗涤;用 3%双氧水阻断内源性过氧化物酶后 PBS 洗涤;牛血清封闭;加 MPO(1:200)和 CitH3(1:400)一抗均 4 $^{\circ}$ C 过夜后 PBS 洗涤;对应加两种 HRP 标记二抗分别室温孵育 50 min、37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min 后,进行 TSA 信

号放大;DAPI 复染细胞核;最后抗荧光淬灭封片剂封片。使用扫描摄像系统对切片进行图像采集,Halo 数据分析系统计数每张图像的阳性细胞率。

2.11 Western blot 检测 IL-6、STAT3、p-STAT3 和 ROR γ t 蛋白表达水平

取小鼠胃组织研磨,提取组织中总蛋白,对蛋白定量(BCA 试剂盒),进行 SDS-PAGE 凝胶电泳分离,分离蛋白转到 PVDF 膜,封闭,分别加入一抗 IL-6(1:2 000)、STAT3(1:500)、p-STAT3(1:2 000)、ROR γ t(1:2 000)、 β -actin(1:50 000),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;将 PVDF 膜放入二抗(稀释浓度:1:8 000)中,室温孵育 2 h,ECL 显色,测定蛋白表达情况。

2.12 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。符合正态分布且方差齐的计量资料,多组间采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD- t 检验;不符合正态分布或方差不齐的计量资料采用非参数检验。 $P < 0.05$ 提示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 胃糜舒对各组小鼠胃组织病理学的影响

对照组小鼠胃组织黏膜层上皮细胞排列整齐,固有层无炎症细胞浸润,结构正常。与对照组相比,模型组小鼠胃组织损伤严重,黏膜层上皮细胞广泛变性、坏死、脱落,胃小凹结构紊乱消失,伴淋巴细胞浸润,黏膜肌层水肿,肌层和黏膜下层血管充血明显,部分区域还有出血点。与模型组相比,胃糜舒低、高剂量组虽较模型组损伤有所减轻,但黏膜层仍有部分上皮细胞脱落、轻度肿胀,固有层炎症细胞浸润仍较多。胃糜舒中剂量组和阳性药物组修复情况相近,黏膜层上皮细胞基本完整,固有层炎症细胞浸润明显减少,胃腺结构和功能有所恢复。详见图 1。

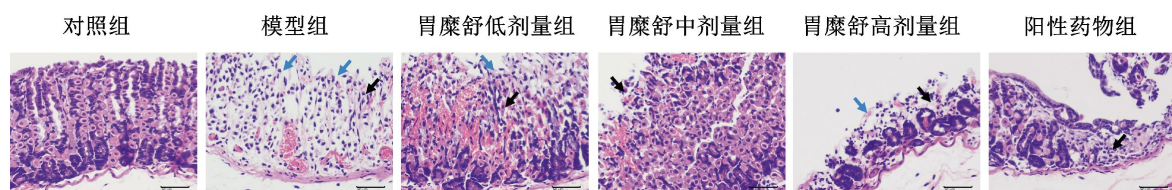


图 1 各组小鼠胃组织 HE 染色病理形态学变化($\times 400$, 标尺=50 μ m)

Fig.1 HE staining showing pathological morphological changes of gastric tissues in each group of mice ($\times 400$, scale=50 μ m)

注:蓝色箭头示黏膜层上皮细胞变性、坏死、脱落;黑色箭头示固有层炎症细胞浸润。

3.2 胃糜舒对各组小鼠胃组织黏液分泌的影响

对照组小鼠胃组织无明显黏液。与对照组相比,模型组小鼠胃组织 PAS 染色阳性表达面积百分比显著降低($P<0.01$),黏液分泌显著增多。与模型组相比,胃糜舒低剂量组小鼠胃组织 PAS 染色阳性表达面积百分率差异无统计学意义($P>0.05$);胃糜舒中、高剂量和阳性药物组小鼠胃组织 PAS 染色阳性表达面积百分比显著升高($P<0.01$),黏液分泌明显减少。详见图 2。

3.3 胃糜舒对各组小鼠胃黏膜损伤的影响

对照组小鼠胃组织黏膜层完整,形态正常。与对照组相比,模型组小鼠胃组织黏膜层受损,大片变性坏死,少量 Hp 侵染黏膜层。与模型组相比,胃糜舒低、高剂量组胃组织黏膜层受损,局部变性坏死,少量 Hp 侵染黏膜层;胃糜舒中剂量组和阳性药物组小鼠胃组织黏膜层受损,轻微变性坏死。详见图 3。

3.4 胃糜舒对各组小鼠 IL-6、TNF- α 和 IL-17 表达水平的影响

与对照组相比,模型组小鼠胃组织中 IL-6、TNF- α 和 IL-17 表达水平均显著增加($P<0.01$);与模型组相比,胃糜舒低、中、高剂量组和阳性药物组小鼠胃组织中 IL-6、TNF- α 和 IL-17 表达水平均降低($P<0.05$, $P<0.01$)。详见图 4。

3.5 胃糜舒对小鼠胃组织中 Th17 细胞比例的影响

与对照组相比,模型组中 Th17 细胞比例显著增加($P<0.01$);与模型组相比,胃糜舒低、高剂量组中 Th17 细胞比例差异无统计学意义($P>0.05$),而胃糜舒中剂量组和阳性药物组中 Th17 细胞比例均降低($P<0.05$)。详见图 5。

3.6 胃糜舒对小鼠胃组织中 Ly6G 的影响

细胞核为蓝色, Ly6G 显出的阳性表达为棕黄色。与对照组相比,模型组小鼠胃组织 Ly6G 阳性组织面积百分比显著升高($P<0.01$);与模型组相比,胃糜舒低、中、高剂量组和阳性药物组小鼠胃组织中

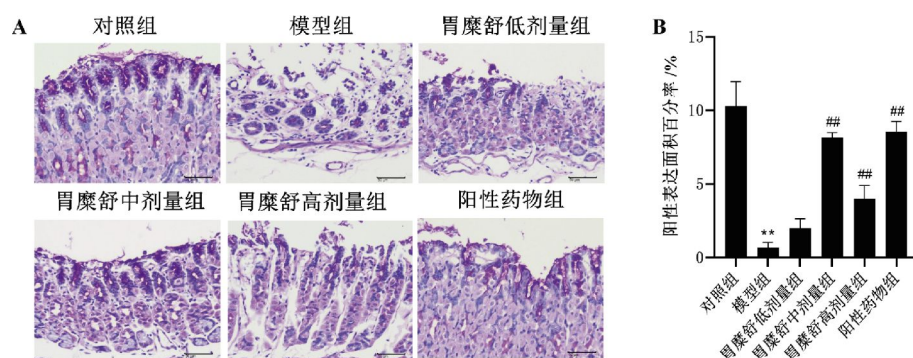


图 2 各组小鼠胃组织 PAS 染色结果($\times 400$, 标尺=50 μm)及阳性表达面积百分率比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Fig.2 PAS staining of gastric tissues and the percentage of positive expression area in each group of mice ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

注:与对照组比较, ** $P<0.01$;与模型组比较, ## $P<0.01$ 。

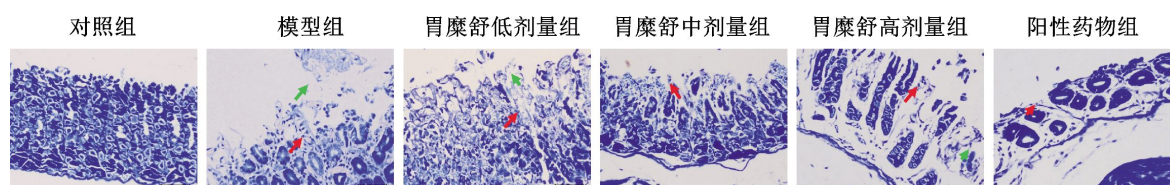


图 3 各组小鼠胃组织瑞氏-吉姆萨染色胃组织黏膜损伤变化($\times 400$, 标尺=50 μm)

Fig.3 Wright-Giemsa staining showing changes in gastric mucosal injury in gastric tissues in mice of each group ($\times 400$, scale=50 μm)

注:红色箭头示黏膜层变性、坏死;绿色箭头示 Hp 菌侵袭。

Ly6G 阳性组织面积百分比显著降低($P<0.01$)。详见图 6。

3.7 胃糜舒对小鼠胃组织中 MPO、CitH3 的影响

DAPI 染细胞核为蓝色,MPO 显出的阳性表达

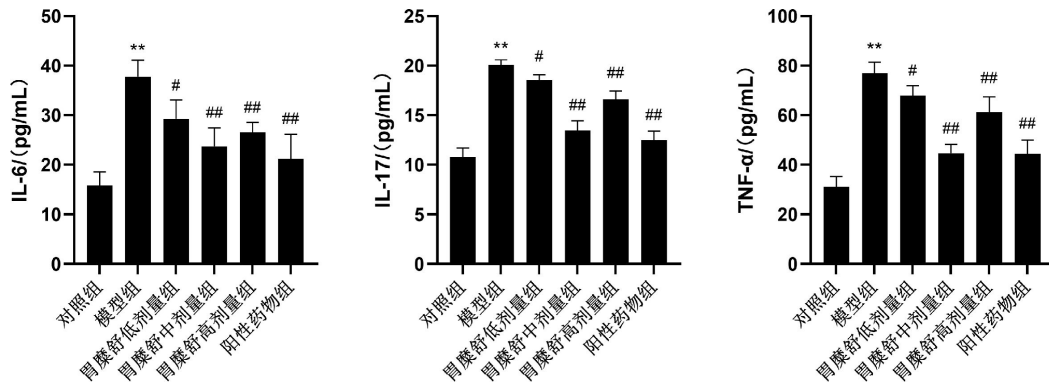


图 4 各组小鼠 IL-6、TNF-α、IL-17 水平比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig.4 Comparison of levels of IL-6, TNF-α, and IL-17 among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=6$)

注:与对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

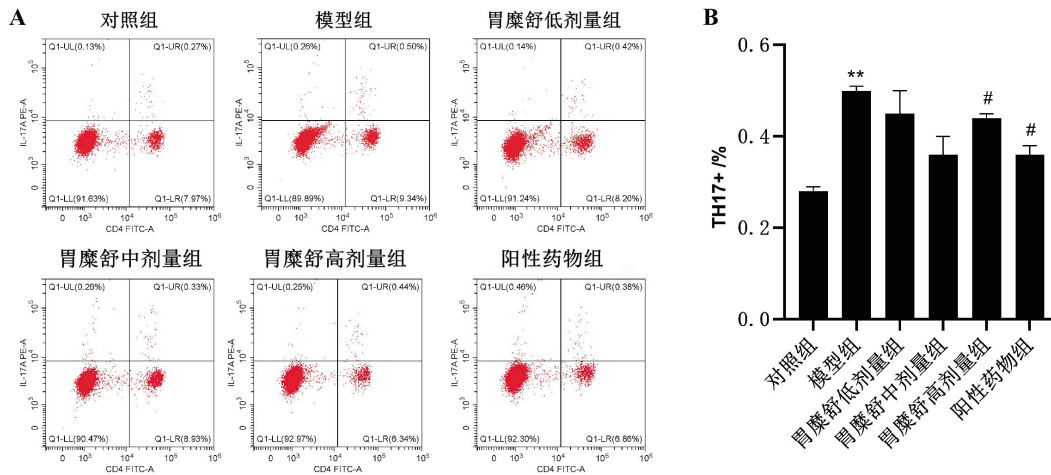


图 5 各组小鼠胃组织 Th17 流式细胞图及细胞比例统计结果($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig.5 Flow cytometry plots and statistical analysis of Th17 cell in gastric tissues among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=6$)

注:与对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.01$ 。

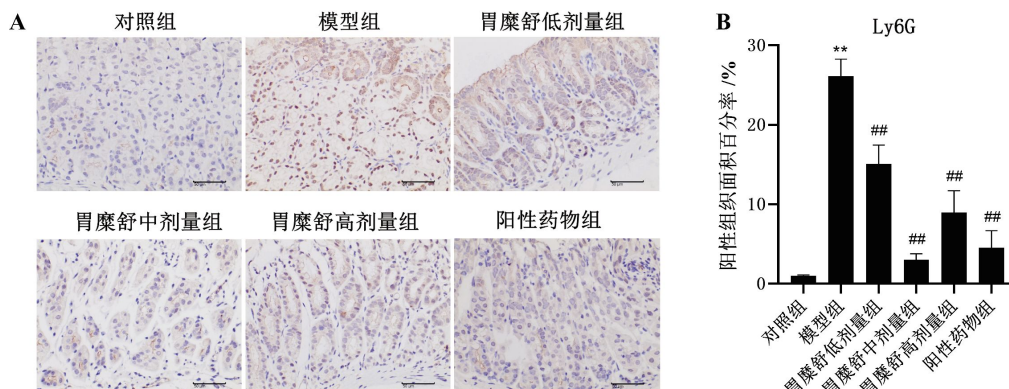


图 6 各组小鼠胃组织中 Ly6G 蛋白免疫组织化学染色图($\times 40$,标尺=50 μm)及蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig.6 Immunohistochemical staining ($\times 40$, scale=50 μm) and comparison of protein expression levels of Ly6G in gastric tissues among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=6$)

注:与对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

为红色,主要表达在细胞浆;CitH3 显出的阳性表达为绿色,主要表达在细胞核。与对照组相比,模型组中 MPO 和 CitH3 阳性表达水平均显著增加($P<0.01$);与模型组相比,胃糜舒低、中、高剂量组和阳性药物组中 MPO 和 CitH3 阳性表达水平均降低($P<0.05$, $P<0.01$)。详见图 7。

3.8 胃糜舒对小鼠胃组织中 IL-6、STAT3、p-STAT3 和 ROR γ t 蛋白表达水平影响

与对照组相比,模型组中 IL-6、p-STAT3 和 ROR γ t 蛋白表达水平均显著增加($P<0.01$),STAT3 蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$);与模型组相比,胃糜舒低、中、高剂量组和阳性药物组中 IL-6、p-STAT3 和 ROR γ t 蛋白表达水平均降低($P<0.05$, $P<$

0.01),STAT3 蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$)。详见图 8。

4 讨论

CEG 作为 Hp 感染相关的常见胃部疾病,其病理特征主要表现为胃黏膜的糜烂和炎症反应。目前,西医在治疗 CEG 时,主要根据病情发展采取抑酸、保护胃黏膜及抗 Hp 等治疗手段,患者往往需要长期联合使用多种药物,并且在治疗中断后症状易复发,整体远期疗效有限。相比之下,中医在治疗 CEG 方面具有悠久的历史和丰富的经验。胃糜舒方作为一种临床经验自拟方剂,方以柴胡为君,疏肝解郁、条达气机;臣以炒枳壳行气宽中、和胃消胀;白芷燥

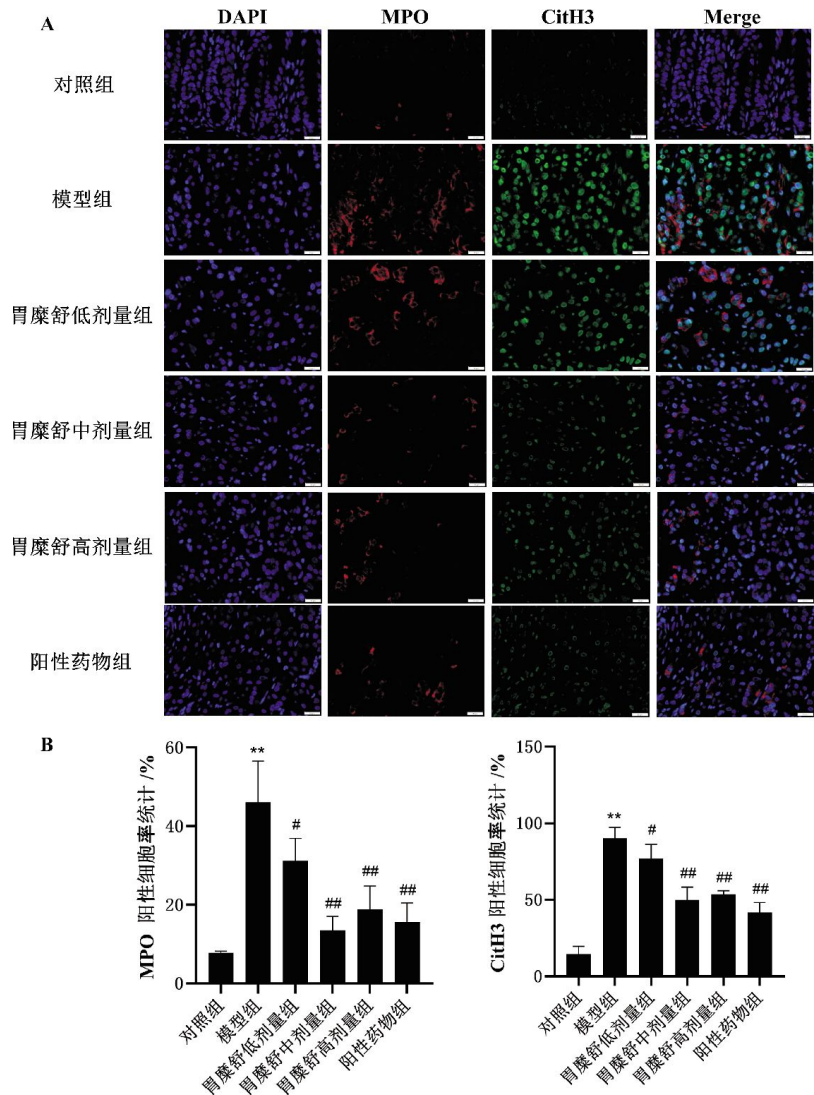


图 7 各组小鼠 MPO、CitH3 免疫荧光染色结果($\times 40$, 标尺=20 μ m)及阳性细胞率统计比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Fig.7 Immunofluorescence staining of MPO and CitH3 ($\times 40$, scale=20 μ m) and positive cell rates among different groups of mice ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

注:与对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

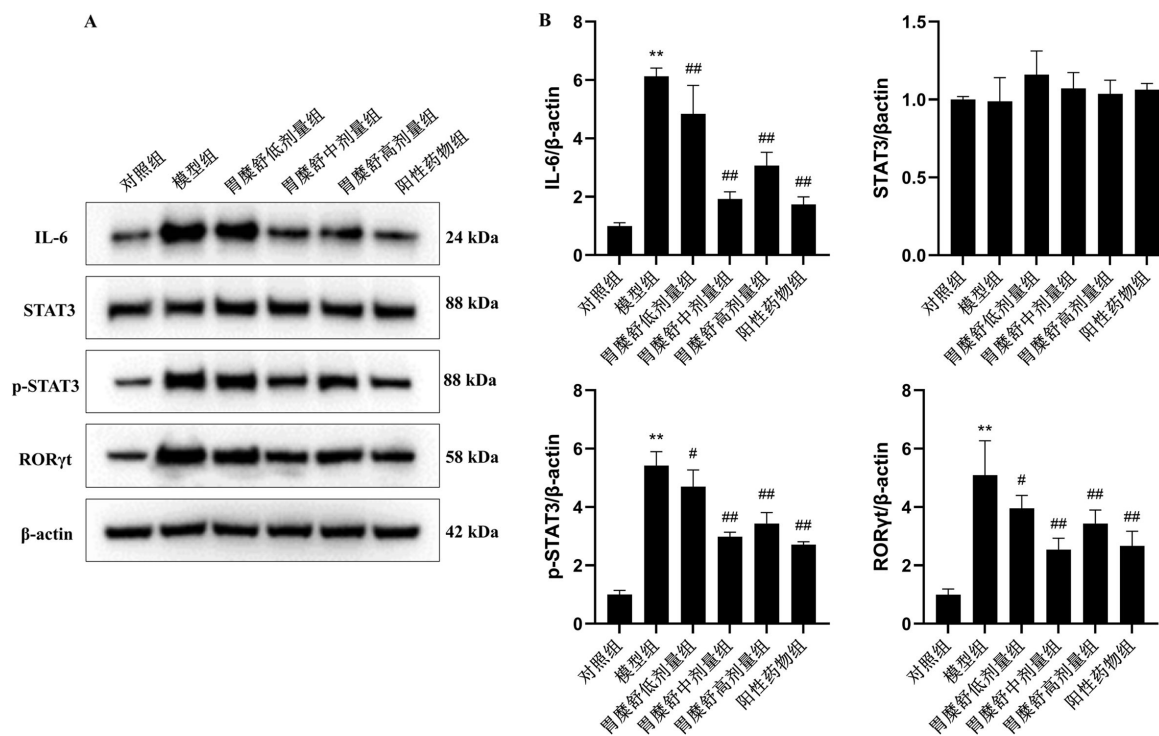


图 8 各组小鼠 IL-6、STAT3、p-STAT3 和 RORγt 蛋白相对表达水平比较($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig.8 Comparison of relative protein expression levels of IL-6, STAT3, p-STAT3, and RORγt among different groups of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

注:与对照组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

湿止痛,白及收敛生肌,三七化瘀止血,四者共助君药缓解胃脘疼痛、促进溃疡愈合。佐以乳香、没药活血化瘀、生肌止痛;煅瓦楞子制酸止血,防止理气活血药损伤胃黏膜;槟榔、败酱草清热除湿,兼顾存在的“瘀久化热”,使方剂不致过于温燥。使以黄芪补气,防止理气活血药耗伤正气。诸药合用,共奏疏肝健脾、理气止痛、调和胃肠的功效^[16]。本研究旨在探索胃糜舒方治疗 Hp 感染相关性 CEG 的分子机制,为临床治疗提供参考。

炎症反应在 Hp 感染胃炎的发展中扮演着关键角色,会引发胃黏膜损伤、炎症浸润以及胃部功能障碍^[17]。多种促炎因子如 IL-6、TNF-α 等,参与诱导和加重炎症反应,不仅直接损伤胃黏膜细胞,还会激活多条信号通路,导致胃黏膜组织的病理改变,加速胃炎的进展^[18-19]。此外,Hp 感染还会导致胃上皮细胞的紧密连接受损,进一步加剧炎症反应和组织损伤^[20]。本研究通过 ELISA 检测发现,胃糜舒各剂量组能够降低小鼠胃组织中 IL-6、TNF-α 因子的水平,这表明胃糜舒能够抑制炎症反应,减轻 Hp 感染胃炎的症状。同时,HE、PAS 和瑞氏染色结果显示,胃糜

舒各剂量组能够改善胃组织的病理损伤,促进胃黏膜黏蛋白的正常分布,且胃糜舒中剂量组的效果优于胃糜舒低、高剂量组,显示出其在治疗 Hp 感染胃炎方面的潜力。

近年来,Th17 细胞介导的免疫反应在 Hp 感染胃炎发病机制中的作用逐渐受到关注,调控 Th17 细胞极化被认为是治疗 Hp 感染胃炎的关键靶点^[21-22]。研究表明,抑制 Th17 细胞的活化或促进 Treg(regulatory T cell, Treg)细胞的功能均可有效减轻 Hp 感染引发的胃炎症状^[23]。Th17 细胞主要通过分泌 IL-17 等细胞因子参与免疫反应。IL-17 与中性粒细胞的激活及迁移密切相关,能促进这类细胞的增殖与聚集^[24]。小鼠模型表明,IL-17A 和 IL-17F 细胞因子在中性粒细胞募集的过程中对黏膜免疫抵御细胞外病原体起着重要作用^[25]。中性粒细胞的激活和募集是 Hp 炎症病变中的关键细胞环节^[26]。该细胞在炎症刺激下释放中性粒细胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)捕获和杀伤细菌,但过度形成的 NETs 也会导致组织损伤^[27]。研究表明,Hp 感染可以通过多种机制诱导中性粒细胞的活化和 NETs 的

释放,从而加重胃黏膜的炎症损伤^[28]。本研究通过流式细胞术检测发现,胃糜舒各剂量组能够降低小鼠胃组织中 Th17 细胞的比例,减少 IL-17 的分泌,其中胃糜舒中剂量组的治疗效果更好;通过免疫组织化学检测中性粒细胞标志物 Ly6G,并通过免疫荧光共染髓 MPO、CitH3 发现,胃糜舒各剂量组能够降低 NETs 的形成,减少中性粒细胞的浸润,表明胃糜舒能够通过抑制 NETs 的形成来减轻 Hp 感染引起的胃组织炎症损伤,其中以胃糜舒中剂量组疗效最佳,验证了上游信号通路的抑制效果,进一步强调了调控 Th17 细胞极化在 Hp 感染胃炎治疗中的重要性。

IL-6/STAT3/ROR γ t 信号通路在 Th17 的分化过程中发挥着核心调控作用。该通路的激活始于细胞因子 IL-6 与其受体结合,诱导 Janus 激酶的活化,导致信号转导及 STAT3 的磷酸化,磷酸化的 STAT3 形成二聚体并转入细胞核,在核内调控关键转录因子 ROR γ t 的表达,推动 Th17 细胞的分化^[29]。ROR γ t 是 Th17 细胞特异性转录因子,对 Th17 细胞特征性细胞因子,如 IL-17A、IL-17F 和 IL-22 的产生至关重要^[30]。此外,过氧化物酶体增殖物激活受体 α 通过抑制 IL-6/STAT3/ROR γ t 信号通路来抑制 Th17 细胞的分化,这表明该信号通路的调控对于 Th17 细胞的生成和功能至关重要^[31]。本研究结果显示,胃糜舒各剂量组能够降低小鼠胃组织中 IL-6、p-STAT3、ROR γ t 的表达,而 STAT3 总蛋白表达无明显变化,表明胃糜舒主要通过抑制 IL-6 的表达,减少 STAT3 的磷酸化,进而抑制 ROR γ t 的活性,调控 Th17 细胞的分化,这是胃糜舒治疗 Hp 感染胃炎的重要分子机制。

综上所述,本研究表明胃糜舒能够抑制 IL-6/STAT3/ROR γ t 信号通路,调控 Th17 细胞极化,抑制 NETs 形成,降低炎症因子水平,改善胃组织病理损伤,发挥治疗 Hp 感染胃炎的作用。其疗效呈现“倒 U 型”量效关系,以胃糜舒中剂量组疗效最佳。其具体的分子机制和有效成分仍需要进一步深入研究,为其临床推广和应用提供更坚实的理论基础。

参考文献

- [1] Dixon M F, Genta R M, Yardley J H, et al. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994[J]. The American Journal of Surgical Pathology, 1996, 20(10): 1161–1181.
- [2] Liu S W, Zhang S X, Chen H Y, et al. Changes in the salivary metabolome in patients with chronic erosive gastritis[J]. BMC Gastroenterology, 2023, 23(1): 161.
- [3] Shih C A, Wu D C, Shie C B, et al. Dual therapies containing an antibiotic plus a proton pump inhibitor or vonoprazan for *Helicobacter pylori* infection: A systematic review[J]. Microorganisms, 2025, 13(4): 715.
- [4] Dewayani A, Fauzia K A, Alfaray R I, et al. The roles of IL-17, IL-21, and IL-23 in the *Helicobacter pylori* infection and gastrointestinal inflammation: A review[J]. Toxins, 2021, 13(5): 315.
- [5] Caruso R, Fina D, Paoluzi O A, et al. IL-23-mediated regulation of IL-17 production in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa[J]. European Journal of Immunology, 2008, 38(2): 470–478.
- [6] Shi Y, Liu X F, Zhuang Y, et al. *Helicobacter pylori*-induced Th17 responses modulate Th1 cell responses, benefit bacterial growth, and contribute to pathology in mice[J]. The Journal of Immunology, 2010, 184(9): 5121–5129.
- [7] Dubin P J, Kolls J K. Th17 cytokines and mucosal immunity[J]. Immunological Reviews, 2008, 226(1): 160–171.
- [8] Arachchi P S, Fernando N, Weerasekera M M, et al. Proinflammatory cytokine IL-17 shows a significant association with *Helicobacter pylori* infection and disease severity[J]. Gastroenterology Research and Practice, 2017, 2017: 6265150.
- [9] Kumar R, Theiss A L, Venuprasad K. ROR γ t protein modifications and IL-17-mediated inflammation[J]. Trends in Immunology, 2021, 42(11): 1037–1050.
- [10] Harbour S N, Di Toro D F, Witte S J, et al. TH17 cells require ongoing classic IL-6 receptor signaling to retain transcriptional and functional identity[J]. Science Immunology, 2020, 5(49): eaaw2262.
- [11] Jin Y T, Pan Z Z, Zhou J, et al. Hedgehog signaling pathway regulates Th17 cell differentiation in asthma via IL-6/STAT3 signaling[J]. International Immunopharmacology, 2024, 139: 112771.
- [12] 廖玲玲. 自拟胃糜舒方对肝胃不和型慢性糜烂性胃炎患者血清炎症因子的影响[D]. 西宁: 青海大学, 2021.
- [13] 李慧臻, 王天麟, 马佳乐, 等. 基于 FoxP3/ROR γ t 免疫失衡探讨半夏泻心汤对幽门螺杆菌相关性胃炎小鼠免疫微环境的影响[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(11): 2574–2578.
- [14] Kong W J, Liu W D, Wang M, et al. Cordycepin exhibits anti-

- bacterial and anti-inflammatory effects against gastritis in *Helicobacter pylori*-infected mice[J]. *Pathogens and Disease*, 2022, 80(1): ftac005.
- [15] 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.
- [16] 管显鑫, 罗红英, 李军茹. 胃脘舒方对肝胃不和型慢性糜烂性胃炎患者胃功能及炎症反应水平的影响[J]. *中国民间疗法*, 2024, 32(21): 78–81.
- [17] Lamb A, Chen L F. Role of the *Helicobacter pylori*-induced inflammatory response in the development of gastric cancer[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2013, 114(3): 491–497.
- [18] Crabtree J E, Shallcross T M, Heatley R V, et al. Mucosal tumour necrosis factor alpha and interleukin-6 in patients with *Helicobacter pylori* associated gastritis[J]. *Gut*, 1991, 32(12): 1473–1477.
- [19] Subhash V V, Ho B. Inflammation and proliferation—a causal event of host response to *Helicobacter pylori* infection[J]. *Microbiology*, 2015, 161(6): 1150–1160.
- [20] Wei Y F, Li X, Zhao M R, et al. *Helicobacter pylori* disrupts gastric mucosal homeostasis by stimulating macrophages to secrete CCL3[J]. *Cell Communication and Signaling*, 2024, 22(1): 263.
- [21] Munari F, Fassan M, Capitani N, et al. Cytokine BAFF released by *Helicobacter pylori*-infected macrophages triggers the Th17 response in human chronic gastritis[J]. *The Journal of Immunology*, 2014, 193(11): 5584–5594.
- [22] Zhuang Y, Shi Y, Liu X F, et al. *Helicobacter pylori*-infected macrophages induce Th17 cell differentiation[J]. *Immunobiology*, 2011, 216(1/2): 200–207.
- [23] Zhang A Q, Niu L Y, Ni Y H, et al. STAT3 inhibition mitigates experimental autoimmune gastritis by restoring Th17/Treg immune balance[J]. *Immunologic Research*, 2025, 73(1): 90.
- [24] Liu R, Lauridsen H M, Amezcua R A, et al. IL-17 promotes neutrophil-mediated immunity by activating microvascular pericytes and not endothelium[J]. *Journal of Immunology (Baltimore, Md)*, 2016, 197(6): 2400–2408.
- [25] Shabgah A G, Fattahi E, Shahneh F Z. Interleukin-17 in human inflammatory diseases[J]. *Advances in Dermatology and Allergology*, 2014, 4: 256–261.
- [26] Bagheri N, Azadegan-Dehkordi F, Shirzad H, et al. The biological functions of IL-17 in different clinical expressions of *Helicobacter pylori*-infection[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2015, 81: 33–38.
- [27] Wang H, Kim S J, Lei Y, et al. Neutrophil extracellular traps in homeostasis and disease[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2024, 9: 235.
- [28] Ji X, Yu X, Xiao Z, et al. The release of NETs during SFTSV infection downregulates the specific inflammatory factors that lead to liver and spleen damage[J]. *Journal of leukocyte biology*, 2025, 117(6).
- [29] Yamashita T, Iwakura T, Matsui K, et al. IL-6-mediated Th17 differentiation through ROR γ t is essential for the initiation of experimental autoimmune myocarditis[J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 91(4): 640–648.
- [30] Mangani D, Subramanian A, Huang L, et al. Transcription factor TCF1 binds to ROR γ t and orchestrates a regulatory network that determines homeostatic Th17 cell state[J]. *Immunity*, 2024, 57(11): 2565–2582.
- [31] Chang H, Zhao F Y, Xie X W, et al. PPAR α suppresses Th17 cell differentiation through IL-6/STAT3/ROR γ t pathway in experimental autoimmune myocarditis[J]. *Experimental Cell Research*, 2019, 375(1): 22–30.

(本文编辑 苏 维)