

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.32.005

益胃消瘀颗粒改善大鼠胃黏膜肠上皮化生的作用研究*

田锋亮¹,李延萍^{2△},杨小军¹,刘宇¹,陈万群¹

(1.重庆市中医院消化科 400021;2.重庆市中医院 400021)

[摘要] **目的** 观察益胃消瘀颗粒(YWXY)对胃黏膜萎缩及肠上皮化生(IM)大鼠胃组织的影响,探讨其治疗胃黏膜 IM(GIM)及抑制癌变的可能机制。**方法** 选择 8 周雄性 SD 大鼠 60 只,按随机数字表法分为 6 个组:对照组、模型组、YWXY 高、中、低剂量组及胃复春组,每组 10 只。采用 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)造模,6、7 个月后分次抽检 3 只,造模成功后进入给药阶段,给药 3 个月后观察大鼠胃组织学改变,ELISA 法检查大鼠血清及胃组织胃蛋白酶原(PG)Ⅰ/Ⅱ、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平,RT-qPCR 检测胃黏膜标本中 NF- κ B、Bcl-2、Fas、Bax 的表达,Western blot 检测胃黏膜中 Smad4、骨形成蛋白 4(BMP4)的表达。**结果** 光镜下观察模型组可见胃黏膜萎缩及 IM,而 YWXY 高、中剂量组萎缩及 IM 均较模型明显改善,YWXY 低剂量组及胃复春组改善不明显。与模型组比较,YWXY 高、中、低剂量组及胃复春组血清 PG Ⅰ水平明显升高($P<0.01$),血清及胃黏膜 TNF- α 明显降低($P<0.01$),胃黏膜组织中 NF- κ B 及 Bcl-2 表达明显下降($P<0.05$);对照组、YWXY 高剂量组及胃复春组 Fas 表达明显升高($P<0.05$);对照组、YWXY 高、中、低剂量组及胃复春组 Bax 表达明显升高($P<0.01$);对照组、YWXY 高剂量组与模型组 Smad4 表达明显升高($P<0.01$);对照组、YWXY 低、中、高剂量组及胃复春组 BMP4 表达明显下降($P<0.01$)。**结论** YWXY 能改善大鼠胃黏膜萎缩 IM 的程度,提高 PG Ⅰ水平;可能是通过降低 TNF- α 水平,抑制胃黏膜 NF- κ B、Bcl-2、BMP4 的表达,促进 Fas、Bax、Smad4 的表达,从而抑制胃黏膜萎缩 IM 向癌变发展。

[关键词] 益胃消瘀颗粒;胃黏膜肠化生;肿瘤调控因子**[中图法分类号]** R259**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2018)32-4102-05

Effect of Yiwei Xiaopi particulate matter on improving gastric mucosal intestinalization in rats*

TIAN Fengliang, LI Yanping[△], YANG Xiaojun, LIU Yu, CHEN Wanqun

(1. Department of Gastroenterology, Chongqing Traditional Chinese Medicine Hospital, Chongqing 400021, China; 2. Chongqing Traditional Chinese Medicine Hospital, Chongqing 400021, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of Yiwei Xiaoyu particulate matter (YWXY) on gastric mucosa in rats with atrophic gastric mucosa and intestinal metaplasia (IM), and investigate the possible mechanism of treatment of IM and inhibition of carcinogenesis. **Methods** Sixty male SD rats of eight weeks were divided into the blank group, the model group, the YWXY high, middle, low dose groups and the WFC group, with ten rats in each group. Modeling was performed using N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG), and 3 samples were taken after 6 and 7 months respectively. After successful modeling, the drug was administered for 3 months, the histological changes of the rats were observed, the contents of PG Ⅰ/Ⅱ and TNF- α in serum and gastric tissues were detected by ELISA, the expressions of NF- κ B, Bcl-2, Fas and Bax in gastric mucosa were detected by RT-qPCR, the expressions of Smad4, BMP4 in gastric mucosa were detected by Western blot. **Results** Under light microscope, mucosal atrophy and IM were present in the model group, which were significantly improved in the YWXY high and middle dose groups compared with the model group, the YWXY low dose group and the WFC group were slightly improved. The serum PG Ⅰ levels in the YWXY high, middle low dose groups, and the WFC group increased compared with the model group ($P<0.01$), while the content of mucosal and serum TNF- α ($P<0.01$), the expressions of NF- κ B and Bcl-2 decreased ($P<0.01$); the expressions of Fas in the blank group, the YWXY high dose group and the WFC group increased ($P<0.05$); the expression of Bax in the blank group, the YWXY high, middle and low dose groups and the WFC group increased ($P<0.01$); the levels of Smad4 in the blank group, the YWXY high dose group and the model group

* 基金项目:重庆市科委基金项目(cstc2015jbky330025004, cstc2016shms-zd10001-11);重庆市十三五中医药重点专科建设项目(渝中医 2016-16);国家中医药管理局项目[全国名老中医药专家王仁强传承工作室建设项目(2013 年)]。 作者简介:田锋亮(1980—),副主任医师,硕士,主要从事消化系统疾病的中医诊治研究。 △ 通信作者, E-mail: 840051779@qq.com。

increased ($P<0.01$); the expression of BMP4 in the blank group, the YWXY high, middle, low dose groups and the WFC group significantly decreased ($P<0.01$). **Conclusion** YWXY can improve the atrophy and IM of rat gastric mucosa and increase the content of PG I; it may decrease the level of $\text{TNF-}\alpha$, inhibit the expression of $\text{NF-}\kappa\text{B}$, Bcl-2 and BMP4, and promote the expression of Fas, Bax and Smad4 to inhibit the atrophic gastric mucosa and IM becoming cancer.

[Key words] Yiwei Xiaoyu particulate matter; gastric intestinal metaplasia; tumor regulating factors

胃黏膜肠上皮化生 (gastric intestinal metaplasia, GIM) 是指胃黏膜中出现类似小肠或大肠黏膜的上皮细胞, 由胃固有腺体颈部未分化细胞转化而来, GIM 的诊断需要病理明确: 光镜下出现胃黏膜组织肠上皮的杯状细胞、吸收细胞、潘氏细胞和 PAS 阳性的具有刷状缘的细胞。它是一种癌前病变, 可增加胃癌发病的风险, 胃癌经历了慢性胃炎—萎缩性胃炎 (atrophic gastritis, AG)—肠上皮化生 (IM)—异型增生—胃癌多步骤复杂的发展过程^[1]。有研究认为化生在某种条件下是可逆转或被清除的^[2], 对 GIM 的治疗成为胃癌早期干预的突破点, 目前尚无有效的西药治疗慢性 AG (CAG) 及 GIM, 某些中药及相关制剂对 AG 伴 IM 的研究报道较多, 本课题组前期研究结果显示, 益胃消瘀颗粒 (Yiwei Xiaoyu particulate matter, YWXY) 治疗 AG 及癌前病变有效^[3], 本实验采用 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍 (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG) 造模的 AG 伴 IM 大鼠, 给予 YWXY 治疗, 观察大鼠胃组织的病理改变, 检测其对胃蛋白酶原 (PG) I / II、肿瘤坏死因子- α ($\text{TNF-}\alpha$)、胃黏膜 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 、Bcl-2、Fas、Bax、Smad4、骨形成蛋白 4 (BMP4) 等相关肿瘤因子的影响, 探讨 YWXY 治疗 GIM 及抑制癌变的可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级雄性 SD 大鼠 60 只, 体重 180~200 g, 8 周龄, 由陆军军医大学实验动物中心提供, 动物生产许可证号为 SCXK-PLA-20120031, 并经试验动物伦理审查委员会审查通过。

1.1.2 药物及配制 YWXY 有红参、三七、白术、薏苡仁、法落海、娑罗子、浙贝母等组成, 由本院制剂室制作。MNNG 试剂购于 TCL 公司。MNNG 用去离子水配成 1 g/L 的储备液 (每周配制 1 次), 4℃ 冰箱避光保存, 用前以自来水稀释为 50 mg/L 的溶液, 装入避光饮水瓶内给大鼠自由饮用。法莫替丁购于阿拉丁公司, 配制含 0.004% 法莫替丁的粉末状饲料, 胃复春购于杭州胡庆余堂药业有限公司。

1.1.3 主要试剂与仪器 所有 ELISA 试剂盒购自厦门慧嘉公司, $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 及 β -actin 引物购自上海百力格生物工程公司。抗体 NKX6.3 (DF6461) 和 BMP4 (AF0302) 购自 Affinity 公司。CFX96 定量 PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司; WB 成像系统购自英国 SYNGENE 公司; 蛋白电泳仪和转膜仪购自美国 Bio-

Rad 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物造模与分组 将 60 只雄性大鼠, 分成对照组、模型组及 YWXY 高、中、低剂量组和胃复春组, 每组 10 只, 对照组常规喂养, 其余 50 只采用 MNNG 诱导造模。MNNG 每 24 小时更换 1 次药液, 造模期间不再给予其他饮水。造模 6 个月抽检 3 只大鼠病理提示仅存在胃黏膜萎缩, 未见 IM, 7 个月再次抽检 3 只大鼠病理均提示胃黏膜萎缩伴 IM, 剩余存活大鼠即为有效动物。造模成功标准: 参照《中药新药临床研究指导原则》(2002)^[4] 中 GAG 的病理诊断标准, 经病理确诊: (1) 固有腺体萎缩; (2) 黏膜肌层增厚; (3) 可有 IM 或假幽门腺上皮化生; (4) 固有膜炎症; (5) 可有淋巴滤泡形成。

1.2.2 用药 造模成功后, 对照组、模型组继续正常喂养, 不给任何药物; YWXY 低、中、高剂量组, 分别给予 YWXY 0.75、1.50、2.25 g·kg⁻¹·d⁻¹ 给药, 每日分 2 次喂; 胃复春组, 按 0.45 g·kg⁻¹·d⁻¹ 给药, 喂养 3 个月后将动物处死。

1.2.3 ELISA 法检查大鼠血清及胃组织 PG I / II、 $\text{TNF-}\alpha$ 的水平 实验结束后, 全部大鼠禁食 24 h, 用 10% 水合氯醛溶液腹腔内注射麻醉大鼠, 腹主动脉取血约 10 mL, 分离血清, -20℃ 低温保存, 检测血清 PG I / II、 $\text{TNF-}\alpha$ 水平。摘离全胃, 沿大弯侧剪开, 冷生理盐水漂洗内容物, 再沿小弯侧剪开, 一半用滤纸吸干水分, 钝刀片从胃窦侧刮取胃黏膜 50~100 mg, 放入适量磷酸缓冲液中, 电动匀浆器制成 10% 匀浆 (低温), 离心 (3 000 r/min) 10 min, 分离上清液, -20℃ 保存, 检测组织中 PG I / II、 $\text{TNF-}\alpha$ 水平; 一半置 10% 中性福尔马林液中固定 24 h 后沿大小弯方向剪成约 2 mm 的条状物, 顺序石蜡包埋, 取一部分 5 mm 切片, 行 HE 染色, 观察病理组织学改变。胃黏膜及血清 PG I / II、 $\text{TNF-}\alpha$ 测定按试剂盒说明操作。

1.2.4 RT-qPCR 检测胃黏膜标本中 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 、Bcl-2、Fas 及 Bax 的表达 提取大鼠胃组织总 RNA, 进行 RT-qPCR 扩增, $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 引物上游: 5'-TTC AAC ATG GCA GAC GAC GA-3', 下游: 5'-AGG TAT GGG CCA TCT GTT GAC-3'; Bcl-2 引物上游: 5'-CTG GTG GAC AAC ATC GCT CT-3', 下游: 5'-GCA TGC TGG GGC CAT ATA GT-3'; Fas 引物上游: 5'-TGT CAG CCT GGT GAA CGA AA-3', 下游: 5'-AGG CGC ACC TTC TGC ATT TA-3'; Bax 引物上

游:5'-GCG AAT TGG CGA TGA ACT GG-3',下游:5'-CCC AGT TGA AGT TGC CGT CT-3'。反应条件为 95 ℃ 预变性 2 min,95 ℃ 变性 15 s,60 ℃ 退火 45 s,熔解曲线:60~95 ℃,共 40 个循环。反应结束后,将原始数据、扩增曲线和熔解曲线等信息从定量软件中导出进行分析,得出各个样本目的基因的 ct 值,用相对定量 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析结果。

1.2.5 Western blot 检测 Smad4、BMP4 蛋白表达
从胃组织中抽提蛋白质,BAC 法测定总蛋白水平。取 50 μg 总蛋白与上样液混合,上样前 100 ℃ 煮沸 5 min。将蛋白加入点样孔,电泳初始电压 80 V,溴酚蓝染料的前缘进入分离胶上缘后提高电压至 100 V,当溴酚蓝染料到达分离胶底部时停止电泳。恒流 30 mA,电转 120 min。转移结束后,取出 PVDF 膜并标记膜的方向。用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭,室温振荡 60 min。TBST 漂洗液洗膜 8 min,共 3 次,将膜移入杂交器皿中,加入用一抗稀释液按 1:1 000 进行稀释的抗体(Smad4 和 BMP4),封口后 4 ℃ 孵育过夜;用 TBST 漂洗液摇荡洗膜 10 min,共 3 次,将 PVDF 膜移入另一新的杂交器皿中,加入二抗稀释液稀释的辣根过氧化物酶标记的二抗(1:2 000),37 ℃ 振荡 60 min。加入 ECL 显色液进行显色并拍照,用 IPP 软件分析目的条带灰度值,经内参 β-actin 校正后进行统计学分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SLD 法,检验水准 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

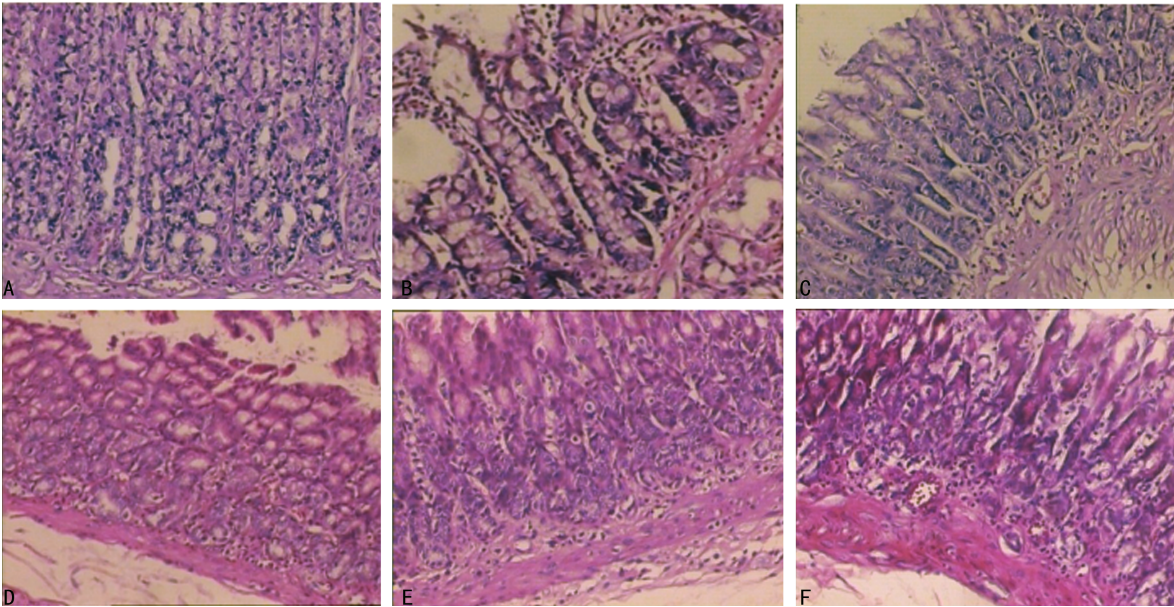
2 结 果

2.1 各组大鼠胃黏膜病理组织学结果 对照组大鼠

胃黏膜上皮完整,固有层见密集排列的腺体,腺体大小、形态规则,散在少量淋巴细胞,未见胃黏膜萎缩。模型组大鼠胃黏膜显示慢性炎症,黏膜腺体减少,排列紊乱,可见囊性扩张的腺体,腺上皮可见不同程度的 IM,固有层淋巴细胞灶性浸润,黏膜肌层增厚。YWXY 高剂量组大鼠可见胃黏膜萎缩程度减轻,腺体增多,排列规则,散在淋巴细胞、浆细胞浸润。YWXY 中剂量组大鼠胃黏膜萎缩程度减轻,腺体排列规则,IM 明显减少,可见淋巴细胞、浆细胞散在浸润,小血管扩张充血纤维组织增生。YWXY 低剂量组大鼠胃黏膜仍见萎缩,但较模型组稍减轻,黏膜腺体稍增加,囊性扩张腺体减少,排列稍规则,IM 减少,可见固有层淋巴细胞灶性浸润,小血管扩张充血。胃复春组大鼠胃黏膜萎缩程度减轻,黏膜腺体增多,排列稍规则,有散在的淋巴细胞浸润,见图 1。

2.2 各组大鼠血清及胃黏膜组织 PG I、PG II 及 TNF-α 水平比较 与模型组比较,对照组和 YWXY 高、中、低剂量组及胃复春组血清 PG I 水平明显升高 ($P < 0.01$);对照组及 YWXY 高、中剂量组胃黏膜 PG I 水平明显升高 ($P < 0.01$)。血清 PG II 模型组下降,与对照组、YWXY 低剂量组及胃复春组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。模型组血清及胃黏膜 TNF-α 水平明显升高,与其他各组比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。

2.3 各组大鼠胃黏膜组织 NF-κB、Bcl-2、Fas 及 Bax 表达水平比较 模型组胃黏膜 NF-κB、Bcl-2 表达明显升高,与其他各组比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);模型组 Fas 表达下降,与对照组、YWXY 高剂量组及胃复春组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);模型组 Bax 表达明显低于其他各组 ($P < 0.01$),见表 2。



A:对照组;B:模型组;C:YWXY 高剂量组;D:YWXY 中剂量组;E:YWXY 低剂量组;F:胃复春组

图 1 光镜下各组大鼠胃黏膜组织病理学变化(HE ×100)

表 1 各组大鼠血清和胃黏膜 PG I、PG II 及 TNF-α 水平比较(̄x±s,n=16)

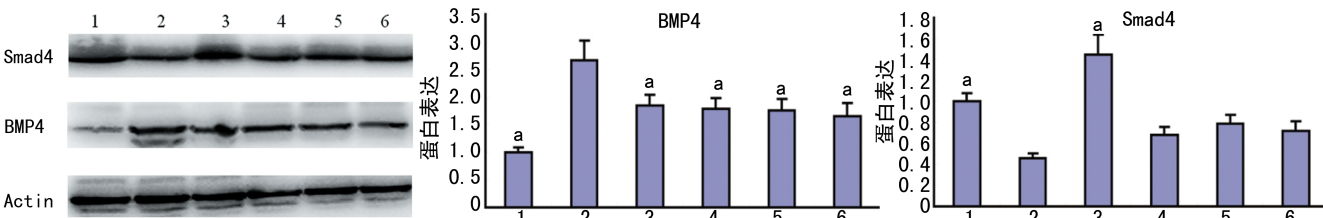
组别	血清 PG I	血清 PG II	血清 TNF-α	胃黏膜 PG I	胃黏膜 PG II	胃黏膜 TNF-α
对照组	56.73±13.63 ^a	1.60±0.37 ^b	161.99±13.79 ^a	79.77±4.40 ^a	3.75±1.64	211.54±19.69 ^a
模型组	41.07±12.16	1.37±0.30	193.81±18.63	70.95±7.34	3.60±1.44	259.60±30.16
YWXY 高剂量组	54.80±8.60 ^a	1.44±0.30	170.8±21.93 ^a	76.08±10.49 ^a	3.75±0.77	231.20±17.29 ^a
YWXY 中剂量组	50.88±13.45 ^a	1.54±0.58	171.96±16.16 ^a	75.51±11.97 ^a	3.56±0.91	248.48±22.43 ^b
YWXY 低剂量组	51.65±14.74 ^a	1.76±0.42 ^b	184.09±14.98 ^b	70.28±11.14	3.51±0.88	244.95±20.23 ^b
胃复春组	53.68±14.27 ^a	1.63±0.55 ^b	175.53±14.8 ^a	71.82±9.78	3.41±0.37	233.82±16.58 ^a

^a:*P*<0.01,^b:*P*<0.05,与模型组比较

表 2 各组大鼠胃黏膜组织 NF-κB、Bcl-2、Fas 及 Bax 表达水平比较(̄x±s,n=10)

组别	NF-κB	Bcl-2	Fas	Bax
对照组	0.120±0.030 ^a	0.107±0.051 ^a	3.542±1.798 ^a	0.349±0.105 ^a
模型组	0.245±0.095	0.175±0.085	2.771±1.264	0.272±0.125
YWXY 高剂量组	0.169±0.095 ^a	0.136±0.07 ^a	3.093±1.449 ^b	0.415±0.086 ^a
YWXY 中剂量组	0.147±0.132 ^a	0.149±0.083 ^a	2.644±1.846	0.364±0.126 ^a
YWXY 低剂量组	0.126±0.106 ^a	0.147±0.035 ^a	2.577±0.835	0.367±0.195 ^a
胃复春组	0.183±0.136 ^b	0.134±0.051 ^a	3.018±0.870 ^b	0.440±0.308 ^a

^a:*P*<0.01,^b:*P*<0.05,与模型组比较



1:对照组;2:模型组;3:YWXY 高剂量组;4:YWXY 中剂量组;5:YWXY 低剂量组;6:胃复春组;^a:*P*<0.05,与模型组比较

图 2 Western blot 检测各组大鼠 Smad4 及 BMP4 表达

2.4 各组大鼠胃黏膜组织 Smad4、BMP4 表达水平比较 与对照组比较,模型组 Smad4 明显下降(*P*<0.01);与模型组比较,YWXY 高剂量组 Smad4 明显升高(*P*<0.01)。与对照组比较,模型组 BMP4 明显升高(*P*<0.01);与模型组比较,YWXY 高、中、低剂量组及胃复春组明显下降(*P*<0.05),见图 2。

3 讨论

西医认为 AG 伴 IM 是胃癌前病变,随着病情进展,会导致胃癌的发生,而 GIM 通过有效的治疗,部分患者病情能够得到控制和逆转,在中医学中没有“CAG 伴 IM”这一病名,根据本病常见的胃脘痞满、胃中嘈杂、痞或不痛、纳食减少等相关临床表现,将其归属于“胃痞”“胃脘痛”等范畴之中,中医认为本病病机为本虚标实之证,以脾阳气虚、胃阴虚为本,以气郁、湿热、痰浊、瘀血为标,本病病位在脾胃,与肝的关系密切,辨证采用理气、化湿、清热、活血、补虚、通阳等法治疗^[5-7]。根据本病特点,本研究自拟 YWXY 治疗 AG 伴 IM,药方由红参、三七、白术、薏苡仁、法落海、娑罗子、浙贝母等组成,具有益气温阳、行气化湿、活血化痰之效。结果发现 YWXY 能够改善大鼠胃黏

膜萎缩 IM 的程度,且效果优于胃复春片。

PG 是胃液中胃蛋白酶没有消化活性的前体物质,其中 PG I 主要由胃腺的主细胞和黏液颈细胞分泌,PG II 主要由胃体和胃底黏膜的泌酸腺的主细胞分泌。在浅表性胃炎—AG—胃癌的发展过程中,均伴随着 PG 的变化,PG 可以作为治疗和预防干预过程中重要的监测指标。本研究提示模型组大鼠血清、胃黏膜 PG I 及 PG II 与对照组比较均下降(*P*<0.05),YWXY 高、中、低剂量组及胃复春组均能提高血清 PG I 水平(*P*<0.01),而 YWXY 高、中剂量组能够提高胃组织 PG I 水平(*P*<0.01),YWXY 低剂量组及胃复春组提高血清 PG II 水平(*P*<0.05),胃组织 PG II 水平各组大鼠比较差异无统计学意义(*P*>0.05)。结果说明 AG 伴 IM 大鼠血清及胃黏膜的 PG1 水平下降,YWXY 可以通过提高 PG I 水平修复受损胃黏膜,是其治疗 AG 伴 IM 的可能作用机制。

NF-κB 是一种能与免疫球蛋白 κ 轻链基因的增强子 κB 序列特异结合的蛋白因子,NF-κB 可通过提高凋亡抑制蛋白的表达,肿瘤细胞凋亡被延缓或抑制,从而加速癌症的发展,NF-κB 的激活,可诱导炎症

递质和免疫相关基因的转录与表达,如 TNF- α ,而 TNF- α 进一步活化 NF- κ B,目前认为 TNF- α 促肿瘤作用的机制是多途径的,可能与其过度表达并与受体结合通过多条信号通路抑制细胞凋亡及促进细胞增殖,TNF- α 可以调节端粒酶活性,通过 NF- κ B 中的 p65 导致人类端粒酶催化亚基(hTERT)从细胞质易位到核,最终推动细胞无限增殖^[8];通过 NF- κ B 途径诱导激活的胞苷脱氨酶大量产生,引起肿瘤相关基因如 p53 和 c-myc 基因突变^[9]。本研究提示,模型组大鼠胃黏膜 NF- κ B 表达较对照组明显升高($P<0.01$),YWXY 高、中、低剂量均能够抑制 NF- κ B 的表达,与模型组比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。与对照组比较,模型组血清及胃黏膜 TNF- α 水平均明显升高($P<0.01$);与模型组比较,YWXY 高、中、低剂量组及胃复春组血清及胃黏膜 TNF- α 水平均明显下降($P<0.05$)。结果说明 AG 伴 IM 大鼠 NF- κ B、TNF- α 表达升高,YWXY 能够抑制胃黏膜 NF- κ B 的表达,降低大鼠血清及胃黏膜 TNF- α 水平,可能是其治疗 AG 伴 IM,预防癌变的作用机制之一。

Bcl-2 是一种凋亡抑制基因,其激活后可转录生成亲脂性膜蛋白,主要是通过抑制线粒体依赖性凋亡通路被激活的功能达到抑制细胞凋亡和延长细胞寿命的作用。Bax 基因则是凋亡促进基因,与 Bcl-2 基因同属一族,它不但可以拮抗 Bcl-2 的凋亡抑制作用,而且还可直接促进细胞的凋亡。当细胞受到凋亡诱导因子刺激后,Bcl-2/Bax 的比率决定细胞的凋亡程度。Fas 是细胞表面可以传递死亡信号的受体,其作为一种细胞膜抗原,主要功能是介导细胞凋亡,具有抵抗 Bcl-2 蛋白抑制细胞凋亡的作用。胃癌癌前病变中,已经存在细胞凋亡的异常和相关基因的改变,Bcl-2 基因表达增高,Fas、Bax 基因表达减低,细胞凋亡受到抑制,这可能是胃癌癌前病变向胃癌发展的机制之一^[10-12]。本研究显示,模型组大鼠胃黏膜 Bcl-2 表达明显高于对照组($P<0.01$),YWXY 高、中、低剂量组及胃复春组明显低于模型组($P<0.05$);胃黏膜 Fas 模型组与对照组比较表达下降($P<0.01$),YWXY 高剂量组与模型组比较表达升高($P<0.05$);胃黏膜 Bax 模型组与对照组比较表达下降($P<0.01$),YWXY 高、中、低剂量组及胃复春组与模型组比较表达升高($P<0.01$)。结果说明 AG 伴 IM 大鼠 Bcl-2 表达升高,Fas、Bax 表达下降,YWXY 能够抑制胃黏膜 Bcl-2 的表达,促进 Fas、Bax 的表达,促进了增殖细胞的凋亡,有效抑制细胞异常增殖,可能是其在预防胃黏膜萎缩 IM 继续发展、癌变的作用机制。

Smad4 基因位于人染色体 18q21,其所编码的 Smad4 蛋白是 BMP 通路的重要级联分子,在信号传导、调节靶基因的转录过程中发挥着重要的作用^[13]。胃癌组织中 Smad4 表达阳性率明显低于正常胃组织,胃癌组织中 Smad4 的表达与组织分化程度、淋巴结转

移、临床分期有关^[14]。BMP4 属于转化生长因子 β (TGF- β)超家族成员之一,在肿瘤形成过程中具有重要作用^[15],马松林等^[16]研究认为 BMP4 能促进胃癌细胞的迁移及侵袭,其机制可能与上调 Snail 表达有关,BMP4 通过它们经典的信号传导子 Smad4 在胃细胞系中上调 Cdx2 的表达^[17]。本研究提示,模型组大鼠 Smad4 明显低于对照组($P<0.01$),YWXY 高剂量组明显高于模型组($P<0.01$);模型组 BMP4 明显高于对照组($P<0.01$),YWXY 低、中、高剂量组明显低于模型组($P<0.01$)。说明 YWXY 能够促进 Smad4 的表达,抑制 BMP4 的表达,是其抑制胃黏膜萎缩 IM 向癌变发展的可能机制。

综上所述,本研究证实 YWXY 能够改善大鼠胃黏膜萎缩 IM 的程度,提高 PG I 水平,可能通过降低 TNF- α 水平,抑制胃黏膜 NF- κ B、Bcl-2、BMP4 的表达,促进 Fas、Bax、Smad4 的表达,抑制胃黏膜萎缩 IM 向癌变发展。

参考文献

[1] EDA A,OSAWA H,SATOH K,et al. Aberrant expression of CDX2 in Barrett's epithelium and inflammatory esophageal mucosa[J]. J Gastroenterol,2003,38(1):14-22.

[2] WALKER M M. Is intestinal metaplasia of the stomach reversible? [J]. Gut,2003,52(1):1-4.

[3] 吴莉佳,谢慧民,田锋亮,等. 益胃消瘀颗粒治疗慢性萎缩性胃炎 30 例[J]. 中国中西医结合消化杂志,2007,15(1):57-59.

[4] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:125-129.

[5] 中华中医药学会脾胃病分会. 慢性萎缩性胃炎中医诊疗共识意见[J]. 中医杂志,2010,51(8):749-753.

[6] 张越亚,杨国红. 慢性萎缩性胃炎癌前病变中医药研究进展[J]. 中医临床研究,2017,9(2):146-148.

[7] 季梅,杨进. 慢性萎缩性胃炎的中医药研究进展[J]. 湖南中医杂志,2015,31(4):176-179.

[8] AKIYAMA M,HIDESHIMA T,HAYASHI T,et al. Nuclear factor- κ B p65 mediates tumor necrosis factor α -induced nuclear translocation of telomerase reverse transcriptase protein [J]. Cancer Res,2003,63(1):18-21.

[9] KOMORI J,MARUSAWA H,MACHIMOTO T,et al. Activation-induced cytidine deaminase links bile duct inflammation to human cholangiocarcinoma[J]. Hepatology,2008,47(3):888-896.

[10] 崔涛,刘莹,朱祖安,等. NF- κ B、Bcl-2、Bax 在胃不典型增生、胃癌中的表达及其意义[J]. 山东大学学报,2006,44(7):689-693.

[11] LIANG C Z,ZHANG J K,SHI Z L,et al. Matrine induces caspase-dependent apoptosis in human osteosarcoma cells in vitro and in vivo through the upregulation of Bax and Fas/FasL and downregulation of Bcl-2[J]. Cancer Chemother Pharmacol,2012,69(2):317-331. (下转第 4111 页)

胺酮相关性肾损害的发病机制、设计合理的药物治疗靶点,为发掘更精确和个性化的诊断和治疗方法可提供研究基础。

参考文献

[1] LIU K M, CHUANG S M, LONG C Y, et al. Ketamine-induced ulcerative cystitis and bladder apoptosis involve oxidative stress mediated by mitochondria and the endoplasmic reticulum[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2015, 309(4):318-331.

[2] SHAHANI R, STREUTKER C, DICKSON B, et al. Ketamine-associated ulcerative cystitis: a new clinical entity[J]. *Urology*, 2007, 69(5):810-812.

[3] JUAN Y S, LEE Y L, LONG C Y, et al. Translocation of NF-kappaB and expression of cyclooxygenase-2 are enhanced by ketamine-induced ulcerative cystitis in rat bladder[J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(8):2269-2285.

[4] ZHANG Q H, ZHOU Z S, LU G S, et al. Melatonin improves bladder symptoms and may ameliorate bladder damage via increasing HO-1 in rats[J]. *Inflammation*, 2013, 36(3):651-657.

[5] GIMONA M, KAVERINA I, RESCH G P, et al. Calponin repeats regulate actin filament stability and formation of podosomes in smooth muscle cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(6):2482-2491.

[6] YEUNG L Y, RUDD J A, LAM W P, et al. Mice are prone to kidney pathology after prolonged ketamine addiction[J]. *Toxicol Lett*, 2009, 191(2/3):275-278.

[7] KUMAR A, SINGH A. Possible involvement of GABAergic mechanism in protective effect of melatonin against sleep deprivation-induced behaviour modification and oxidative damage in mice[J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2009, 23(4):439-448.

[8] RAJANDRAM R, YAP N Y, ONG T A, et al. Oral ketamine induced pathological changes of the urinary tract in a rat model[J]. *Malays J Pathol*, 2017, 39(1):47-53.

(上接第 4106 页)

[12] CHIPUK J E, MOLDOVEANU T, LLAMBI F, et al. The Bcl-2 family reunion[J]. *Mol Cell*, 2010, 37(3):299-310.

[13] PAPAGEORGIS P, CHENG K, OZTURK S, et al. Smad4 inactivation promotes malignancy and drug resistance of colon cancer[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(3):998-1008.

[14] 潘理会, 刘海旺, 李春辉. TGF- β 1, T β R-I 和 Smad4 在胃癌发生发展中的相互关系[J]. *实用医学杂志*, 2015, 31(19):3192-3194.

[15] KALLIONIEMI A. Bone morphogenetic protein 4-a fasci-

[9] WAI M S, CHAN W M, ZHANG A Q, et al. Long-term ketamine and ketamine plus alcohol treatments produced damages in liver and kidney[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2012, 31(9):877-886.

[10] AHMADVAND H, TAVAFI M, KHOSROWBEYGI A. Amelioration of altered antioxidant enzymes activity and glomerulosclerosis by coenzyme Q10 in alloxan-induced diabetic rats[J]. *J Diabetes Complications*, 2012, 26(6):476-482.

[11] OZGUVEN A A, YILMAZ O, TANELI F, et al. Protective effect of ketamine against hemorrhagic cystitis in rats receiving ifosfamide[J]. *Indian J Pharmacol*, 2014, 46(2):147-151.

[12] TAN D X, MANCHESTER L C, REITER R J, et al. Significance of melatonin in antioxidative defense system: reactions and products[J]. *Biol Signals Recept*, 2000, 9(3/4):137-159.

[13] LEIBOWITZ A, VOLKOV A, VOLOSHIN K, et al. Melatonin prevents kidney injury in a high salt diet-induced hypertension model by decreasing oxidative stress[J]. *J Pineal Res*, 2016, 60(1):48-54.

[14] OZDINC S, OZ G, OZDEMIR C, et al. Melatonin: is it an effective antioxidant for pulmonary contusion? [J]. *J Surg Res*, 2016, 204(2):445-451.

[15] 徐冬辉, 邓宇, 李乐慧, 等. 褪黑素激活 Nrf2 和 HO-1 对锰诱导线粒体氧化应激的影响[J]. *毒理学杂志*, 2013, 27(4):269-273.

[16] GUO Y, SUN J, LI T, et al. Melatonin ameliorates restraint stress-induced oxidative stress and apoptosis in testicular cells via NF-kappaB/iNOS and Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):95-99.

[17] NITURE S K, KASPAR J W, SHEN J, et al. Nrf2 signaling and cell survival[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 244(1):37-42.

(收稿日期:2018-01-26 修回日期:2018-06-20)

nating regulator of cancer cell behavior[J]. *Cancer Genet*, 2012, 205(6):267-277.

[16] 马松林, 张姮, 廖宇圣, 等. BMP4 对胃癌细胞迁移和侵袭的影响及其作用机制[J]. *山东医药*, 2017, 57(8):38-40.

[17] BARROS R, PEREIRA B, DULUC I, et al. Key elements of the BMP/SMAD pathway co-localize with CDX2 in intestinal metaplasia and regulate CDX2 expression in human gastric cell lines[J]. *J Pathol*, 2008, 215(4):411-420.

(收稿日期:2018-04-28 修回日期:2018-07-22)