党参多糖对慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜损伤的影响Δ

张　然[1*]，杨　坤[2]，曾震军[1]，李素娟[1]，刘　杰[2]（1.河南中医药大学第一附属医院脾胃肝胆科，郑州　450003；2.河南中医药大学第一附属医院消化内镜中心，郑州　450003）

中图分类号　R285.5；R573.3；R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）16-1985-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.16.08

摘　要　目的　探究党参多糖（CPP）调节核转录因子红系2相关因子2（Nrf2）/血红素加氧酶1（HO-1）信号通路对慢性萎缩性胃炎（CAG）大鼠胃黏膜损伤的影响。**方法**　将大鼠随机分为对照组，模型组，CPP低、中、高剂量组（CPP 10、20、40 mg/kg）及ML385组（Nrf2抑制剂ML385 30 mg/kg联用CPP 40 mg/kg），每组10只，采用*N*-甲基-*N*′-硝基-*N*-亚硝基胍联合不规律饮食法建立CAG大鼠模型后，连续给药6周。HE染色观察胃黏膜组织病理形态变化；检测血清胃泌素（GAS）、胃动素（MTL）、胃蛋白酶（PP）及胃黏膜组织肿瘤坏死因子α（TNF-α）、白细胞介素8（IL-8）、丙二醛（MDA）、超氧化物歧化酶（SOD）水平；TUNEL染色观察胃黏膜组织细胞凋亡情况；免疫组化法观察胃黏膜组织Nrf2、B淋巴细胞瘤-2（Bcl-2）相关X蛋白（Bax）表达；Western blot法检测胃黏膜组织Nrf2、HO-1、Bax、Bcl-2蛋白表达。**结果**　与对照组比较，模型组大鼠胃黏膜组织损伤；GAS、MTL、PP、SOD水平，Nrf2、HO-1、Bcl-2蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）；MDA、TNF-α、IL-8水平，细胞凋亡指数，Bax蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，CPP低、中、高剂量组胃黏膜组织病理有不同程度改善；各定量指标均显著逆转（$P<0.05$）；Nrf2抑制剂ML385可显著减弱高剂量CPP对CAG大鼠上述指标的改善作用（$P<0.05$）。**结论**　CPP能改善CAG大鼠胃黏膜损伤，抑制氧化应激、炎症反应和细胞凋亡，其作用机制可能与激活Nrf2/HO-1信号通路有关。

关键词　党参多糖；慢性萎缩性胃炎；胃黏膜损伤；Nrf2/HO-1信号通路

Effects of *Codonopsis pilosula* polysaccharide on gastric mucosal injury in rats with chronic atrophic gastritis

ZHANG Ran[1], YANG Kun[2], ZENG Zhenjun[1], LI Sujuan[1], LIU Jie[2] (1. Dept. of Spleen, Stomach and Hepatobiliary, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450003, China; 2. Digestive Endoscopy Center, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450003, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the effects of *Codonopsis pilosula* polysaccharide (CPP) regulating the nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)/heme oxygenase-1 (HO-1) signaling pathway on gastric mucosal injury in rats with chronic atrophic gastritis (CAG). **METHODS** Rats were randomly divided into control group, model group, CPP low-dose, medium-dose and high-dose groups (CPP 10, 20, 40 mg/kg), and ML385 group (Nrf2 inhibitor ML385 30 mg/kg+CPP 40 mg/kg), 10 rats per group. CAG rat model was established using *N*-methyl-*N*′- nitro-*N*-nitrosoguanidine combined with irregular diet, then they were given drugs for consecutive 6 weeks. HE staining was used to observe the pathological changes in gastric tissue morphology; the levels of serum gastrin (GAS), motilin (MTL), pepsin (PP), as well as tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-8 (IL-8) malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in gastric mucosal tissue were detected; TUNEL assay was used to observe gastric mucosal tissue cell apoptosis; immunohistochemical assay was adopted to observe the expressions of Nrf2 and recombinant Bcl2 associated X protein (Bax) in gastric mucosal tissue; Western blot was used to detect the expressions of Nrf2, HO-1, Bax and Bcl-2 proteins in gastric mucosal tissue. **RESULTS** Compared with the control group, the gastric mucosal tissue was damaged; the levels of GAS, MTL, PP and SOD, and the protein expressions of Nrf2, HO-1 and Bcl-2 were significantly reduced in model group ($P<0.05$), while the levels of MDA, TNF-α and IL-8, the cell apoptosis index, and the protein expression of Bax were significantly increased ($P<0.05$). Compared with model group, CPP low-dose, medium-dose and high-dose groups showed varying degrees of improvement in gastric mucosal histopathology; the levels of the quantitative indicators were significantly reversed ($P<0.05$). Nrf2 inhibitor ML385 significantly attenuated the improvement effect of high-dose CPP on the above indicators in CAG rats ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** CPP can improve gastric mucosal injury in CAG rats, and inhibit oxidative stress, inflammatory response, and cell apoptosis. The mechanism of action may be related to the activation of Nrf2/HO-1 signaling pathway.

KEYWORDS　*Codonopsis pilosula* polysaccharides; chronic atrophic gastritis; gastric mucosal injury; Nrf2/HO-1 signaling pathway

Δ**基金项目**　河南省科技攻关项目（No.222102310727）；河南省卫生健康委国家中医临床研究基地科研专项（No.2022JDZX095）

＊**第一作者**　副主任医师，硕士。研究方向：中医药防治脾胃病。E-mail：zhangran1983926@126.com

慢性萎缩性胃炎（chronic atrophic gastritis，CAG）是一种难治性消化系统疾病，主要表现为炎症、胃腺体减少或萎缩、胃黏膜变薄，且伴或不伴肠化和（或）假幽门上皮化生，被认为是胃癌的癌前病变[1]。CAG的致病因素包括幽门螺杆菌感染、不良饮食习惯、环境因素、遗传因素等，其患者的典型临床症状包括食欲减退、恶心、胃酸反流等[2]。目前，质子泵抑制剂、抗生素、叶酸、维生素、抗幽门螺杆菌药物已被广泛用于CAG的治疗，但存在治疗局限性和副作用，且无法从根本上逆转胃黏膜萎缩[3]。氧化应激是CAG的重要发病机制之一，在多个方面促进疾病的发展，并积极参与炎症过程，导致胃黏膜持续损伤从而进展为胃癌[4]。因此，抑制氧化应激可以抑制炎症的发生，阻碍CAG的发展和进一步癌变。基于此，寻找抑制氧化应激新的治疗药物对缓解CAG患者的症状、提高患者生活质量具有重要意义。

中药常被用于治疗CAG，疗效显著。党参是一种传统的中草药，具有抗衰老、抗氧化、增强免疫、保护消化系统等药理活性；同时，党参可改善胃炎损伤，对胃癌癌前病变具有保护作用[5]。党参多糖（*Codonopsis pilosula* polysaccharides，CPP）作为党参的主要水溶性成分，具有抗肿瘤、免疫调节、抗炎、抗氧化等多种药理作用[6]。据报道，党参提取物通过改善氧化应激保护大鼠胃黏膜免受损伤[7]；CPP可减轻衰老小鼠肠道和肝脏的氧化应激和炎症反应，从而延缓衰老[8]。因此，推测CPP可能通过氧化应激改善CAG的胃黏膜损伤，但其具体作用机制还有待研究。核转录因子红系2相关因子2（nuclear factor-erythroid 2-related factor 2，Nrf2）是机体细胞抗氧化应激反应的重要中枢调节因子，氧化应激条件下，Nrf2与人胞质接头蛋白Keap1（KEAP1）解离以诱导下游血红素加氧酶1（heme oxygenase-1，HO-1）等抗氧化剂的产生，从而发挥防御作用[9]。研究表明，激活Nrf2/促分裂原活化的蛋白质激酶信号通路可改善胃黏膜组织的氧化应激和炎症，减轻CAG小鼠的胃黏膜损伤[10]，CPP通过激活Nrf2/HO-1信号通路减轻缺氧缺血性脑损伤大鼠的氧化应激和炎症[11]。但CPP能否通过激活Nrf2/HO-1信号通路发挥对CAG大鼠胃黏膜损伤的保护作用尚不清楚。本研究通过构建CAG大鼠模型，基于Nrf2/HO-1信号通路探究CPP对CAG大鼠胃黏膜损伤的影响，以期为CAG的临床治疗提供新的药物。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括ARTOS 3D型切片机（德国Leica公司）、Ti2型显微镜（日本Nikon公司）、Sorvall LYNX 6000型离心机（美国Thermo Fisher Scientific公司）、ELx808型酶标仪（美国BioTek公司）、EPS-300型电泳仪（上海天能科技有限公司）等。

1.2 主要药品与试剂

CPP标准品（批号LA2667，纯度98%）购自北京康瑞纳生物科技有限公司；Nrf2抑制剂ML385原料药（批号HY-100523，纯度99.96%）购自美国MCE公司；*N*-甲基-*N*′-硝基-*N*-亚硝基胍（*N*-methyl-*N*′-nitro-*N*-nitrosoguanidine，MNNG）（批号MB0455）购自大连美仑生物技术有限公司；盐酸雷尼替丁胶囊［国药准字H31022228，批号220609，规格0.15 g（按$C_{13}H_{22}N_4O_3S$计）］购自上海云峰药业有限公司；胃动素（motilin，MTL）酶联免疫吸附试验（ELISA）试剂盒、胃蛋白酶（pepsin，PP）ELISA试剂盒、丙二醛（malondialdehyde，MDA）试剂盒、苏木精-伊红（HE）染色试剂盒（批号分别为YB-E373R、YB-E169R、YB-E264R、YB1144）均购自上海钰博生物科技有限公司；胃泌素（gastrin，GAS）ELISA试剂盒、白细胞介素8（interleukin-8，IL-8）ELISA试剂盒、TUNEL试剂盒、辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase，HRP）标记的羊抗兔二抗、HRP标记的羊抗小鼠二抗（批号分别为KLR1106、KLR1167、D-AKE2011-50T、111-035-003、AS10-1427）均购自武汉艾美捷科技有限公司；肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）ELISA试剂盒、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）试剂盒（批号分别为ER1393、ER0332）均购自武汉菲恩生物科技有限公司；兔源Nrf2单克隆抗体、鼠源HO-1单克隆抗体、兔源B淋巴细胞瘤-2（B lymphoblastoma-2，Bcl-2）相关X蛋白（recombinant Bcl2 associated X protein，Bax）单克隆抗体、兔源Bcl-2单克隆抗体、兔源甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）多克隆抗体（批号分别为ab313825、ab305290、ab182734、ab182858、ab9485）均购自英国Abcam公司。

1.3 实验动物

SPF级SD雄性大鼠，体重（220±10）g，购自河南省实验动物中心，生产许可证号为SCXK（豫）2022-0001。所有实验大鼠在温度（25±2）℃和湿度50%～65%的环境中饲养，光照/黑暗循环12 h，自由摄食和饮水。动物实验经河南中医药大学第一附属医院伦理委员会批准，批件号为AF/SC-08/03.2。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

随机选取12只健康大鼠设为对照组，剩余55只大鼠为造模组。造模组大鼠给予含150 μg/mL MNNG的饮用水和含0.03%雷尼替丁的饲料，同时不规律饮食（饱食2 d、禁食1 d，交替进行），持续12周，构建CAG模型[12]。其中2只大鼠在12周的造模过程中死亡。造模结束时，分别处死3只造模大鼠和2只健康大鼠进行胃组织病理学检查，若与对照组大鼠比较，造模组大鼠出现胃黏膜层局部萎缩明显、胃腺数量减少等病理变化，则表明造模成功[12]。

将造模成功的50只大鼠随机分为模型组、ML385组（Nrf2抑制剂联用CPP）和CPP低、中、高剂量组，每组10只。CPP低、中、高剂量组大鼠分别灌胃10、20、40 mg/kg CPP（以生理盐水为溶剂）[8]；ML385组大鼠先灌胃40 mg/kg CPP，再腹腔注射30 mg/kg ML385（以生理盐水为溶剂）[13]；对照组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水。所有大鼠每天灌胃1次，连续6周。

2.2 样本采集

末次给药结束后，大鼠禁食、不禁水24 h，腹腔注射戊巴比妥钠麻醉后从腹主动脉取血，静置，以3 000 r/min离心15 min，采集上层血清，－70 ℃保存；然后在麻醉下颈椎脱臼处死大鼠，取大鼠胃黏膜组织，一部分胃黏膜组织用10%福尔马林固定用于组织学分析，另一部分于－80 ℃保存用于氧化应激和炎症相关标志物检测，以及信号通路、凋亡相关蛋白表达检测。

2.3 胃黏膜组织病理形态观察

取在10%福尔马林中固定的各组大鼠胃黏膜组织，常规石蜡包埋、切片（厚度4 μm），用二甲苯溶液脱蜡再水化，依次用苏木精和伊红溶液染色，经95%乙醇、二甲苯洗涤3次后，用中性胶密封，显微镜观察大鼠胃黏膜组织病理学变化情况。

2.4 血清胃状态相关指标检测

取“2.2”项下大鼠血清，按照相应ELISA试剂盒说明书操作，用酶标仪检测胃状态相关指标GAS、MTL、PP水平。

2.5 胃黏膜组织氧化应激和炎症相关标志物检测

取“2.2”项下冻存的部分胃黏膜组织，剪碎研磨后，匀浆取上清，按照相应试剂盒说明书操作，用酶标仪检测MDA、SOD、TNF-α、IL-8水平。

2.6 胃黏膜组织细胞凋亡检测

取“2.3”项下制备的大鼠胃黏膜组织石蜡切片，经脱蜡、水化后，按照TUNEL试剂盒说明书染色，显微镜下观察胃黏膜组织细胞凋亡情况，并计算细胞凋亡指数。细胞凋亡指数＝红色荧光标记细胞数/总细胞数×100%。

2.7 胃黏膜组织Nrf2、Bax蛋白表达检测

采用免疫组化法检测。取“2.3”项下制备的大鼠胃黏膜组织石蜡切片，烘烤后，浸入柠檬酸盐缓冲液中取抗原，100 ℃煮沸5 min。切片以3%过氧化氢孵育10 min，室温下用0.5 mL阻断液封闭1 h。然后将载玻片与Nrf2、Bax一抗（稀释比例均为1∶500），4 ℃孵育过夜；用HRP偶联二抗（稀释比例为1∶2 000）孵育1 h，DAB溶液孵育5 min，苏木精复染30 s。用梯度乙醇和二甲苯脱水后，中性胶密封，显微镜下观察，采用Image-Pro Plus 6.0软件分析蛋白阳性表达区域的平均光密度值。以平均光密度值表示目的蛋白的表达水平。

2.8 胃黏膜组织中信号通路、凋亡相关蛋白表达检测

采用Western blot法检测。取“2.2”项下冻存的部分胃黏膜组织，用蛋白裂解液处理，离心后收集上清液，即得总蛋白。采用BCA蛋白检测试剂盒定量总蛋白浓度。蛋白经变性处理后进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，分离并转移至PVDF膜上。室温下，用5%脱脂奶粉封闭2 h，加入Nrf2、HO-1、Bax、Bcl-2、GAPDH一抗（稀释比例均为1∶1 000），4 ℃孵育过夜；然后与酶标二抗（稀释比例均为1∶5 000）室温孵育1 h。使用Image J软件分析目的蛋白的平均灰度值，以目的蛋白与内参蛋白GAPDH灰度值的比值表示目的蛋白的表达水平。

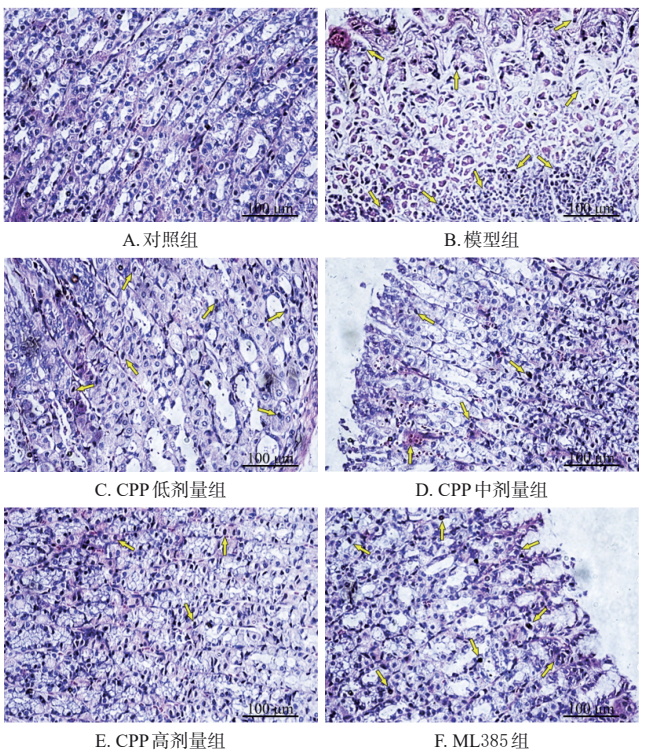
2.9 统计学处理

采用SPSS 22.0软件进行统计分析，计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，组间比较采用方差分析，进一步两两比较采用SNK-q检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 CPP对胃黏膜组织病理形态变化的影响

对照组大鼠胃黏膜上皮结构清晰，腺体数量、形态正常。模型组大鼠胃黏膜上皮明显变薄，黏膜层局部明显萎缩，腺体数量减少，炎症细胞浸润增多、排列疏松无序。CPP低、中、高剂量组大鼠胃黏膜组织病理有不同程度改善，胃黏膜上皮增厚，炎症细胞浸润减少，腺体形态正常。ML385组大鼠胃黏膜的病理状况相较于CPP高剂量组明显加重。结果见图1。



A. 对照组　B. 模型组　C. CPP低剂量组　D. CPP中剂量组　E. CPP高剂量组　F. ML385组

注：黄色箭头所指表示炎症细胞。

图1　各组大鼠胃黏膜组织HE染色显微图（×200）

3.2 CPP对血清胃状态相关指标的影响

与对照组比较，模型组大鼠血清GAS、MTL、PP水平均显著降低（$P<0.05$）。与模型组比较，CPP低、中、高剂量组大鼠血清GAS、MTL、PP水平均显著升高（$P<0.05$）。与CPP高剂量组比较，ML385组大鼠血清GAS、MTL、PP水平均显著降低（$P<0.05$）。结果见表1。

表1　各组大鼠血清胃状态相关指标比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	GAS/(pg/mL)	MTL/(pg/mL)	PP/(U/mL)
对照组	186.53±21.05	372.51±39.84	15.28±1.74
模型组	121.08±14.79[a]	215.93±24.46[a]	9.36±1.02[a]
CPP低剂量组	142.46±16.38[b]	261.48±29.05[b]	11.86±1.57[b]
CPP中剂量组	159.83±17.91[b]	309.37±31.29[b]	13.91±1.48[b]
CPP高剂量组	177.64±19.35[b]	357.84±38.51[b]	15.07±1.71[b]
ML385组	128.63±13.28[c]	226.83±24.16[c]	10.06±1.37[c]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与CPP高剂量组比较，$P<0.05$。

3.3 CPP对胃黏膜组织氧化应激和炎症相关标志物的影响

与对照组比较，模型组大鼠胃黏膜组织MDA、TNF-α、IL-8水平均显著升高，SOD水平显著降低（$P<0.05$）。与模型组比较，CPP低、中、高剂量组大鼠胃黏膜组织MDA、TNF-α、IL-8水平均显著降低，SOD水平均显著升高（$P<0.05$）。与CPP高剂量组比较，ML385组大鼠胃黏膜组织MDA、TNF-α、IL-8水平均显著升高，SOD水平显著降低（$P<0.05$）。结果见表2。

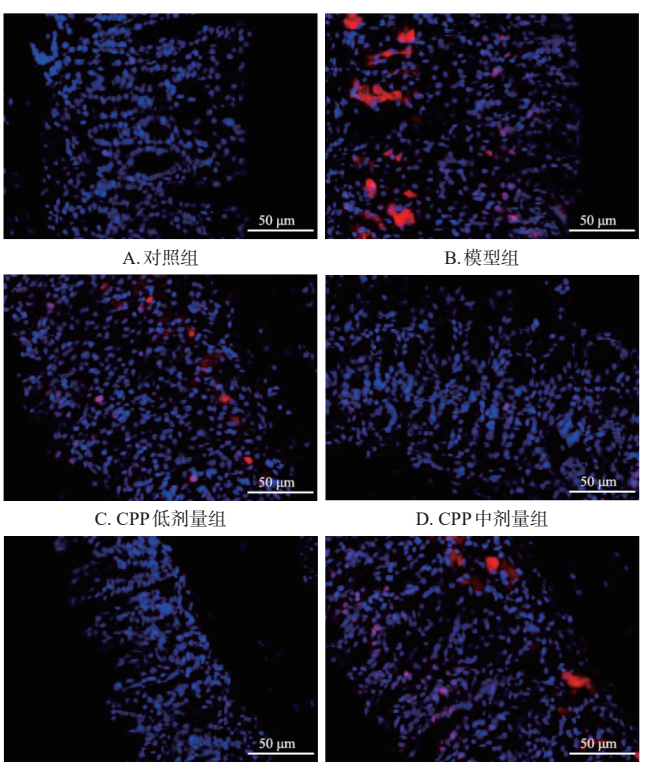
表2 各组大鼠胃黏膜组织氧化应激和炎症相关标志物比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	MDA/(mmol/mL)	SOD/(U/mL)	TNF-α/(pg/mL)	IL-8/(pg/mL)
对照组	5.37±0.84	91.64±10.17	75.82±8.4	13.45±1.51
模型组	16.58±1.73[a]	42.79±4.68[a]	168.31±18.25[a]	52.74±6.29[a]
CPP低剂量组	12.55±1.46[b]	55.53±5.91[b]	128.54±13.61[b]	41.09±4.24[b]
CPP中剂量组	9.47±1.05[b]	69.25±7.43[b]	107.42±12.36[b]	33.62±3.95[b]
CPP高剂量组	6.58±0.97[b]	82.05±8.79[b]	84.71±9.35[b]	24.08±2.53[b]
ML385组	15.38±1.83[c]	47.84±4.95[c]	146.83±16.38[c]	49.37±5.12[c]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与CPP高剂量组比较，$P<0.05$。

3.4 CPP对胃黏膜组织细胞凋亡的影响

与对照组[(5.12±0.73)%]比较，模型组[(46.75±5.81)%]大鼠胃黏膜组织细胞凋亡指数显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，CPP低、中、高剂量组[(33.06±3.72)%、(21.59±2.84)%、(13.82±1.75)%]大鼠胃黏膜组织细胞凋亡指数均显著降低（$P<0.05$）。与CPP高剂量组比较，ML385组[(42.05±4.37)%]大鼠胃黏膜组织细胞凋亡指数显著升高（$P<0.05$）。结果见图2。



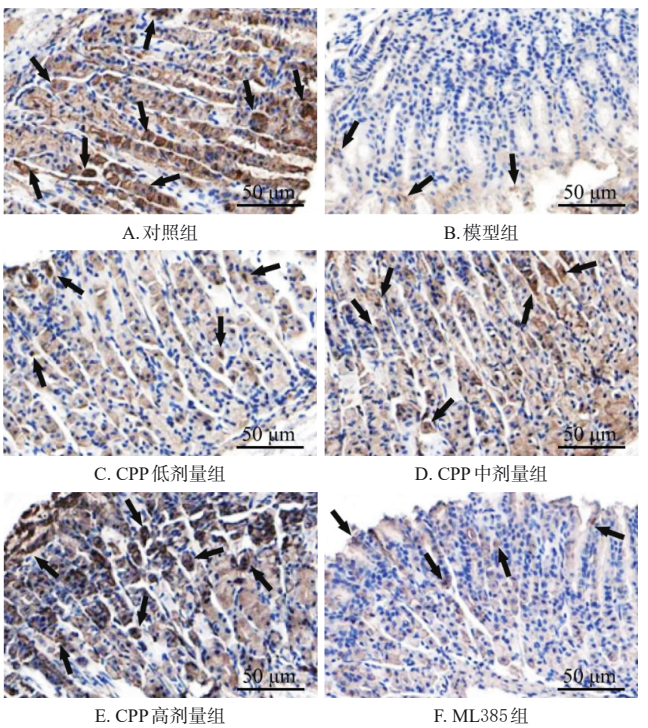
A. 对照组　B. 模型组　C. CPP低剂量组　D. CPP中剂量组　E. CPP高剂量组　F. ML385组

注：蓝色荧光表示细胞核；红色荧光表示凋亡细胞。

图2 各组大鼠胃黏膜组织TUNEL染色图（×400）

3.5 CPP对胃黏膜组织Nrf2、Bax蛋白表达的影响

免疫组化结果显示，与对照组比较，模型组大鼠胃黏膜组织Nrf2蛋白表达水平显著降低，Bax蛋白表达水平显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，CPP低、中、高剂量组大鼠胃黏膜组织Nrf2蛋白表达水平均显著升高，Bax蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）。与CPP高剂量组比较，ML385组大鼠胃黏膜组织Nrf2蛋白表达水平显著降低，Bax蛋白表达水平显著升高（$P<0.05$）。结果见图3、图4和表3。



A. 对照组　B. 模型组　C. CPP低剂量组　D. CPP中剂量组　E. CPP高剂量组　F. ML385组

注：黑色箭头所指表示蛋白阳性表达。

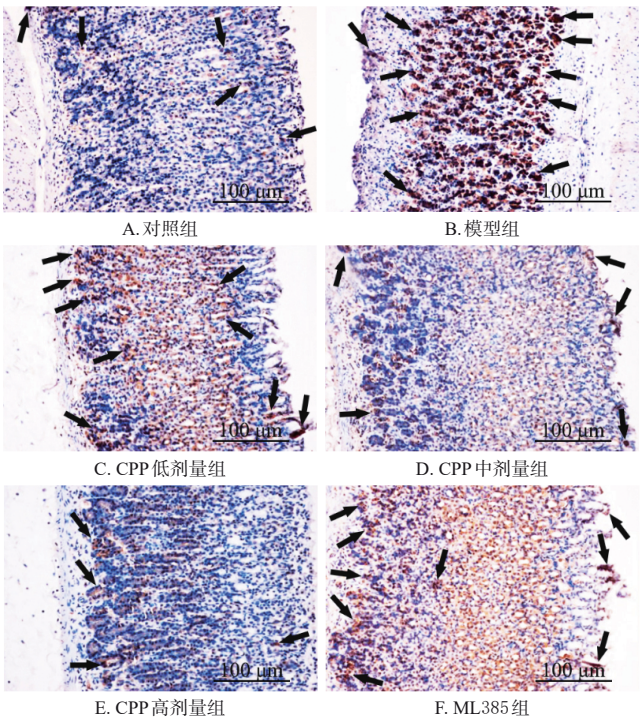
图3 各组大鼠胃黏膜组织Nrf2蛋白表达免疫组化图（×400）

3.6 CPP对信号通路及凋亡相关蛋白表达的影响

Western blot结果显示，与对照组比较，模型组大鼠胃黏膜组织Nrf2、HO-1、Bcl-2蛋白表达水平均显著降低，Bax蛋白表达水平显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，CPP低、中、高剂量组大鼠胃黏膜组织Nrf2、HO-1、Bcl-2蛋白表达水平均显著升高，Bax蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）。与CPP高剂量组比较，ML385组大鼠胃黏膜组织Nrf2、HO-1、Bcl-2蛋白表达水平均显著降低，Bax表达水平显著升高（$P<0.05$）。结果见图5、表4。

4 讨论

研究显示，正常胃黏膜可以通过慢性胃炎和CAG发展为肠上皮化生或异型增生，最终发展为胃癌[14]。因此，阻断或延缓CAG的进展对预防胃癌的发生具有重要意义。据报道，党参可调节胃肠道系统[15]，同时党参黄酒能改善CAG大鼠胃黏膜病理学损伤[16]。CPP是从党参根中提取的天然多糖组分，可改善肝纤维化、调节肠道菌群，并改善结肠炎小鼠的结肠黏膜损伤[17]，故推测CPP对CAG大鼠胃黏膜病理损伤有改善作用。



注：黑色箭头所指表示蛋白阳性表达。

图4　各组大鼠胃黏膜组织Bax蛋白表达免疫组化图（×100）

表3　各组大鼠胃黏膜组织Nrf2、Bax平均光密度值比较（免疫组化法，$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	Nrf2	Bax	组别	Nrf2	Bax
对照组	0.21±0.03	0.13±0.02	CPP中剂量组	0.16±0.02[b]	0.19±0.02[b]
模型组	0.09±0.01[a]	0.28±0.04[a]	CPP高剂量组	0.19±0.03[b]	0.15±0.06[b]
CPP低剂量组	0.13±0.02[b]	0.23±0.03[b]	ML385组	0.10±0.01[c]	0.26±0.03[c]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与CPP高剂量组比较，$P<0.05$。

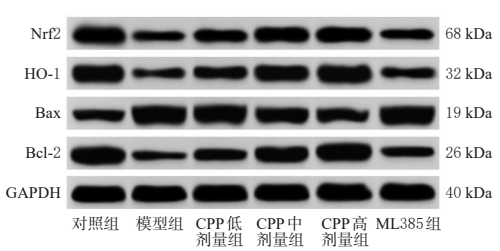


图5　各组大鼠胃黏膜组织中信号通路及凋亡相关蛋白表达电泳图

表4　各组大鼠胃黏膜组织中信号通路及凋亡相关蛋白表达水平比较（Western blot法，$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	Nrf2/GAPDH	HO-1/GAPDH	Bax/GAPDH	Bcl-2/GAPDH
对照组	0.93±0.10	0.98±0.10	0.43±0.05	0.97±0.11
模型组	0.41±0.04[a]	0.36±0.04[a]	1.02±0.11[a]	0.31±0.04[a]
CPP低剂量组	0.57±0.06[b]	0.54±0.06[b]	0.91±0.10[b]	0.49±0.05[b]
CPP中剂量组	0.73±0.08[b]	0.75±0.08[b]	0.68±0.07[b]	0.72±0.08[b]
CPP高剂量组	0.88±0.09[b]	0.92±0.10[b]	0.47±0.05[b]	0.93±0.09[b]
ML385组	0.47±0.06[c]	0.42±0.05[c]	0.98±0.10[c]	0.37±0.05[c]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与CPP高剂量组比较，$P<0.05$。

本研究采用MNNG联合不规律饮食法建立CAG大鼠模型，发现造模大鼠胃黏膜组织损伤，胃状态相关指标GAS、MTL、PP水平均显著降低，提示CAG大鼠模型构建成功，大鼠出现胃黏膜损伤。GAS、MTL、PP与CAG的发生发展密切相关：GAS、MTL能够促进胃黏膜细胞的增殖，增加胃酸和胃蛋白酶原的分泌，PP则促进食物消化[18]。胃炎被定义为胃黏膜炎症，而胃黏膜持续的炎症反应是CAG的主要诱因，并促进潜在并发症的发展；此外，氧化应激和胃黏膜细胞凋亡也是CAG发病机制中至关重要的因素，炎症反应和氧化应激刺激胃黏膜细胞凋亡，这是癌变的基础[19]。因此，抑制炎症反应、氧化应激并减少细胞凋亡，在阻止CAG向胃癌的进展过程中起到至关重要的作用。本研究结果显示，CAG大鼠抗氧化酶SOD和抗凋亡蛋白Bcl-2表达水平均显著降低，MDA、炎症相关因子TNF-α和IL-8及细胞凋亡指数、Bax蛋白表达水平均显著升高，提示CAG大鼠胃黏膜组织发生炎症反应和氧化应激，导致胃黏膜细胞凋亡。CPP已被发现能够通过调节肠道菌群相关的肠-肝轴来预防和减轻衰老小鼠肠道、肝脏的氧化应激和炎症反应[8]。本研究结果显示，CPP干预后，CAG大鼠胃黏膜组织损伤减轻，胃状态相关指标升高，炎症反应、氧化应激及细胞凋亡均被抑制，提示CPP能改善CAG大鼠胃黏膜损伤，减少炎症反应和氧化应激，抑制胃黏膜细胞凋亡。

Nrf2/HO-1信号通路是机体重要的抗氧化应激通路。正常情况下，Nrf2与其抑制蛋白KEAP1结合，并以失活形式广泛分布于细胞质中；机体受到氧化应激刺激时，Nrf2与KEAP1解离并移动到细胞核内，激活下游抗氧化因子如HO-1的表达，从而提高细胞抗氧化应激能力[20]。HO-1被认为是一种可靠的抗氧化和细胞保护剂，通过促进一氧化碳、胆红素等抗氧化剂的产生，起到抗氧化应激和抗炎的作用[21]。研究表明，Nrf2/HO-1信号通路参与胃损伤相关作用机制，如通过激活Nrf2/HO-1级联反应可改善吲哚美辛诱导的胃溃疡，抑制胃黏膜炎症[22]。Xie等[23]研究发现，上调Nrf2/HO-1信号通路可改善乙醇诱导的小鼠胃黏膜病变，减轻氧化损伤和炎症反应。Liu等[10]研究也发现，激活Nrf2/HO-1信号通路可减轻CAG小鼠胃黏膜损伤，抑制胃黏膜炎症和氧化应激。因此，Nrf2/HO-1信号通路可能参与CAG胃黏膜损伤进展。本研究结果显示，CAG大鼠胃黏膜组织Nrf2、HO-1蛋白表达水平均显著降低；而CPP干预后，Nrf2、HO-1蛋白表达水平均显著升高，提示CPP可能通过激活Nrf2/HO-1信号通路发挥对CAG大鼠胃黏膜损伤的保护作用。为进一步验证CPP对Nrf2/HO-1信号通路的激活作用，在CPP高剂量组的基础上使用Nrf2抑制剂ML385，结果显示，CPP对Nrf2/HO-1信号通路的激活及CAG大鼠胃黏膜损伤的保护程度均被减弱，提示CPP对CAG大鼠胃黏膜损伤的改善作用与Nrf2/HO-1信号通路的激活有关。

综上所述，CPP能改善CAG大鼠胃黏膜损伤，抑制氧化应激、炎症反应和细胞凋亡，其作用机制可能与激活Nrf2/HO-1信号通路有关。但本研究存在一些局限

性：CAG中细胞死亡的具体模式尚无进一步讨论；除了Nrf2/HO-1信号通路外，是否CPP同时激活其他信号轴在CAG的发生发展中发挥作用，需要进一步研究论证。

参考文献

[1] YIN Y，LIANG H L，WEI N，et al. Prevalence of chronic atrophic gastritis worldwide from 2010 to 2020：an updated systematic review and meta-analysis[J]. Ann Palliat Med，2022，11(12)：3697-3703.

[2] LIN X K，WANG W L. Analysis of high risk factors for chronic atrophic gastritis[J]. Saudi J Gastroenterol，2023，29(2)：127-134.

[3] WENG J，WU X F，SHAO P，et al. Medicine for chronic atrophic gastritis：a systematic review，meta- and network pharmacology analysis[J]. Ann Med，2023，55(2)：2299352.

[4] CHEN B，DONG X Q，ZHANG J L，et al. Effects of oxidative stress regulation in inflammation-associated gastric cancer progression treated using traditional Chinese medicines：a review[J]. Medicine，2023，102(46)：e36157.

[5] HE R P，MA R Y，JIN Z，et al. Proteomics and metabolomics unveil *Codonopsis pilosula*(Franch.)Nannf. ameliorates gastric precancerous lesions via regulating energy metabolism[J]. Front Pharmacol，2022，13：933096.

[6] LUAN F，JI Y F，PENG L X，et al. Extraction，purification，structural characteristics and biological properties of the polysaccharides from *Codonopsis pilosula*：a review[J]. Carbohydr Polym，2021，261：117863.

[7] 王涛，葛睿，杨飞，等. 党参提取物对大鼠胃黏膜损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床，2015，31(4)：138-141.
WANG T，GE R，YANG F，et al. Protection of the extract of *Codonopsis pilosula* on rat gastric mucosal injury[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med，2015，31(4)：138-141.

[8] ZOU Y F，YAN H，LI C Y，et al. A pectic polysaccharide from *Codonopsis pilosula* alleviates inflammatory response and oxidative stress of aging mice via modulating intestinal microbiota-related gut-liver axis[J]. Antioxidants，2023，12(9)：1781.

[9] XU L L，GAO Y R，HU M，et al. Edaravone dexborneol protects cerebral ischemia reperfusion injury through activating Nrf2/HO-1 signaling pathway in mice[J]. Fundam Clin Pharmacol，2022，36(5)：790-800.

[10] LIU S，SHU L，YANG J Y，et al. Rhein exhibits anti-inflammatory effects in chronic atrophic gastritis via Nrf2 and MAPK signaling[J]. Turk J Gastroenterol，2023，34(5)：525-532.

[11] 马竞，何文龙，高重阳，等. 党参多糖介导Nrf2通路对缺氧缺血性脑损伤的抗氧化和神经保护作用[J]. 中国临床解剖学杂志，2019，37(4)：403-408.
MA J，HE W L，GAO C Y，et al. Antioxidant and neuroprotective effects of *Codonopsis pilosula* polysaccharides on hypoxic-ischemic brain injury induced by Nrf2 pathway[J]. Chin J Clin Anat，2019，37(4)：403-408.

[12] 游绍伟，易旭，赵琦，等. 基于NF-κB信号通路探讨萎胃通调汤对大鼠慢性萎缩性胃炎的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志，2023，29(2)：88-97.
YOU S W，YI X，ZHAO Q，et al. Mechanism of Weiwei tongtiao decoction against chronic atrophic gastritis in rats：based on NF-κB signaling pathway[J] Chin J Exp Tradit Med Formul，2023，29(2)：88-97.

[13] SUN Y Y，ZHU H J，ZHAO R Y，et al. Remote ischemic conditioning attenuates oxidative stress and inflammation via the Nrf2/HO-1 pathway in MCAO mice[J]. Redox Biol，2023，66：102852.

[14] SUN L，JIN X L，HUANG L，et al. Risk of progression in patients with chronic atrophic gastritis：a retrospective study[J]. Front Oncol，2022，12：942091.

[15] LI F，YANG Y P，GE J L，et al. Multi-omics revealed the mechanisms of *Codonopsis pilosula* aqueous extract in improving UC through blocking abnormal activation of PI3K/Akt signaling pathway[J]. J Ethnopharmacol，2024，319(Pt 2)：117220.

[16] XU Q H，CUI F，LI X D，et al. Dangshen huangjiu prevents gastric mucosal injury and inhibits Akt/NF-κB pathway[J]. Food Funct，2023，14(17)：7897-7911.

[17] MENG X Q，KUANG H X，WANG Q H，et al. A polysaccharide from *Codonopsis pilosula* roots attenuates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis via modulation of TLR4/NF-κB and TGF-β_1/Smad3 signaling pathway[J]. Int Immunopharmacol，2023，119：110180.

[18] YAN Z P，XU T T，XU Y X，et al. Jianpiyiqi formula ameliorates chronic atrophic gastritis in rats by modulating the Wnt/β-catenin signaling pathway[J]. Exp Ther Med，2021，22(2)：878.

[19] HE Y，LIU H H，ZHOU X L，et al. Rutaecarpine ameliorates murine N-methyl-N′-nitro-N-nitrosoguanidine-induced chronic atrophic gastritis by sonic hedgehog pathway[J]. Molecules，2023，28(17)：6294.

[20] ALOMAIR M K，ALABDULADHEEM L S，ALMAJED M A，et al. *Achillea millefolium* essential oil mitigates peptic ulcer in rats through Nrf2/HO-1 pathway[J]. Molecules，2022，27(22)：7908.

[21] PEI J，WU M D，CAI S Y，et al. The protective effect of ursolic acid on unilateral ureteral obstruction in rats by activating the Nrf2/HO-1 antioxidant signaling pathway[J]. Comput Intell Neurosci，2022，2022：3690524.

[22] BALAHA M F，ALMALKI Z S，ALAHMARI A K，et al. AMPK/mTOR-driven autophagy & Nrf2/HO-1 cascade modulation by amentoflavone ameliorates indomethacin-induced gastric ulcer[J]. Biomed Pharmacother，2022，151：113200.

[23] XIE L，LUO M Y，LI J L，et al. Gastroprotective mechanism of modified LVdou gancao decoction on ethanol-induced gastric lesions in mice：involvement of Nrf-2/HO-1/NF-κB signaling pathway[J]. Front Pharmacol，2022，13：953885.

（收稿日期：2024-02-02　修回日期：2024-06-12）
（编辑：舒安琴）