

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2026.15.012

基于 PI3K/Akt 信号通路探讨热敏灸对慢性萎缩性胃炎模型大鼠胃黏膜组织细胞凋亡的影响

张琦¹, 周艳苹², 王齐德¹, 陈树娟¹, 孙宇¹, 李芳², 龚红斌², 谢明君², 刘慧², 章海凤^{1,2}✉

1. 江西中医药大学, 江西省南昌市新建区梅岭大道 1688 号, 330004; 2. 江西中医药大学附属医院

[摘要] **目的** 从磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 通路探讨热敏灸治疗慢性萎缩性胃炎 (CAG) 的可能机制。**方法** 58 只 SD 大鼠随机分为空白组 (14 只) 和造模组 (44 只)。空白组大鼠予常规饲养, 造模组大鼠则以浓度为 140 $\mu\text{g/ml}$ 的 1-甲基-3-硝基-1-亚硝基胍 (MNNG) 溶液作为大鼠日常饮用水, 辅以饥饱失常 12 周建立 CAG 大鼠模型。将造模成功的 40 只大鼠再随机分为模型组 (10 只)、抑制剂组 (10 只)、艾灸组 (20 只)。艾灸组大鼠每日悬灸“中脘”穴 40 min, 依据施灸过程中其尾温的变化, 区分为热敏灸组 (10 只) 与非热敏灸组 (9 只); 抑制剂组大鼠每日束缚 40 min 后予 PI3K/Akt 信号通路抑制剂雷帕霉素溶液 1 mg/kg 灌胃; 模型组大鼠每日束缚 40 min 后予 1 ml/kg 生理盐水灌胃; 各组干预均每日 1 次, 共 28 天, 空白组不做任何干预。干预结束后, 比较各组大鼠体质量, HE 染色法观察各组大鼠胃黏膜病理组织学改变; TUNEL 法检测胃黏膜细胞凋亡阳性率, 免疫组化法检测胃黏膜基质金属蛋白酶-7 (MMP-7)、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、表皮生长因子受体 (EGFR) 蛋白水平, qPCR 法检测胃黏膜组织 *PI3K*、*Akt*、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (*mTOR*) mRNA 表达, Western Blot 法检测大鼠胃黏膜组织磷酸化蛋白激酶 B (p-Akt)、磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (p-mTOR) 蛋白水平。**结果** 与空白组比较, 其余各组大鼠体质量均降低, 胃黏膜细胞凋亡阳性率显著增加, 胃黏膜 MMP7、VEGFA 及 EGFR 蛋白含量显著升高, *PI3K*、*Akt*、*mTOR* mRNA 表达显著升高, p-Akt、p-mTOR 蛋白水平均升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 病理观察显示大鼠胃黏膜变薄, 腺体紊乱、萎缩, 并伴有肠化生。与模型组比较, 热敏灸组、非热敏灸组、抑制剂组上述各指标均显著改善 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与热敏灸组比较, 非热敏灸组、抑制剂组胃黏膜细胞凋亡阳性率升高; 非热敏灸组 MMP7、VEGFA、EGFR 蛋白含量及 *PI3K*、*Akt*、*mTOR* mRNA 表达升高, p-Akt、p-mTOR 蛋白水平亦升高; 抑制剂组 EGFR 蛋白含量升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。热敏灸组大鼠胃黏膜腺体排列较为规则, 结构大致正常。**结论** 热敏灸能改善 CAG 大鼠体质量及修复胃黏膜损伤, 其作用机制可能通过抑制胃黏膜 PI3K/Akt 信号通路的过度激活, 从而减少胃黏膜细胞的凋亡。

[关键词] 慢性萎缩性胃炎; 热敏灸; 细胞凋亡; 从磷脂酰肌醇 3-激酶; 蛋白激酶 B

慢性萎缩性胃炎 (chronic atrophic gastritis, CAG) 是一种以胃黏膜固有腺体减少为主要特征的慢性消化系统疾病, 常伴随肠腺化生或假幽门腺化生, 临床表现为上腹不适、饱胀、疼痛等非特异性症状^[1], 若未得到有效治疗可能发展为胃癌^[2]。2022 年监测数据显示, 我国胃癌新发病例占全部恶性肿瘤的

7.43%^[3], 给我国医疗和经济带来了巨大负担。因此, 对 CAG 进行及时且有效的干预具有重要的临床价值。研究^[4]表明, 磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路在慢性胃炎-萎缩性胃炎-肠上皮化生-异型增生-胃癌的演变过程中起到关键调控作用, 其异常活化可促进 CAG 的发生与发展。因此, 针对该通路的干预可能成为防治 CAG 的重要策略。在临床治疗方面, 针灸能有效缓解 CAG 患者常见的胃脘胀满、隐痛、嗝气反酸、

基金项目: 国家自然科学基金 (82460968); 江西省自然科学基金重点项目 (20224ACB206042)

✉ 通信作者: 1045597511@qq.com

食欲不振、乏力、大便稀溏等不适症状^[5]，而热敏灸作为灸法的优化形式，在改善消化系统疾病症状及病理状态方面显示出较传统灸法更优的效果^[6-7]。前期实验研究提示，热敏灸能够改善CAG大鼠的胃肠动力及胃黏膜损伤^[8]，但其具体作用机制尚未明确。因此，本研究拟从PI3K/Akt信号通路入手，探讨热敏灸治疗CAG的潜在分子机制，以期热敏灸在该病临床防治中的应用提供依据。本研究已通过江西中医药大学实验动物科技中心伦理委员会审批，审批号20230324007。

1 材料与方法

1.1 动物

健康SPF级SD雄性大鼠58只，体质量150~180 g，6周龄，由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供，实验动物生产许可证号SCXK(湘)2019-0004。大鼠于江西中医药大学实验动物科技中心饲养，适应性饲养1周，温度20~24℃，湿度50%~70%，12/12 h明暗循环。

1.2 主要试剂与仪器

艾条(江西中医药大学附属医院生产，二级精艾绒，规格：0.8 cm×12 cm)；无水乙醇(批号：2312139)，西陇科学股份有限公司；生理盐水(批号：C19091502)，思玛特健康科技有限公司；水杨酸钠(批号：54-21-7)，上海阿拉丁生化科技股份有限公司；雷帕霉素(Rapamycin，批号：HY-10219)，上海诺宁生物科技有限公司；1-甲基-3-硝基-1-亚硝基胍(MNNG，批号：M813171)，上海麦克林生化科技股份有限公司；4%多聚甲醛(批号：2120490)，百凯美生物科技有限公司；TUNEL试剂盒(批号：AK19882)、免疫组化试剂盒(批号：DS05F8V07206)，武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司；基质金属蛋白酶-7(MMP-7，批号：Od34034)、血管内皮生长因子A(VEGFA，批号：83m8093/4)、表皮生长因子受体(EGFR，批号：3d5328Oq)抗体，江苏亲科生物研究中心有限公司；总RNA提取试剂盒(批号：MPC2407003)、qPCR试剂盒(批号：MPC2405007)、磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)抗体(批号：AC241031032)，武汉赛维尔生物科技有限公司；HRP标记兔抗二抗(批号：20001097)、HRP标记鼠抗二抗(批号：2001237)、GAPDH抗体(批号：10029187)，武汉三鹰生物技术有限公司；Omni-Rapid™快速蛋白定量试剂盒(批号：037B1500)、

ECL发光液(批号：03891160)，上海雅酶生物科技有限公司；磷酸化蛋白激酶B(p-Akt)抗体(批号：AF0016)，江苏亲科生物研究中心有限公司。

红外热像仪(上海维恩伟业红外医疗器械有限公司，WNⅢ0805型)；红外电子体温计(广西好升平医疗器械有限公司，6187型)；高速冷冻离心机(贝克曼库尔特英国股份有限公司，Allegra X-30R型)；多功能酶标仪(铂金埃尔默股份有限公司，EnSight型)；倒置荧光显微镜(上海徕卡仪器有限公司，N2B900型)；多功能成像系统(德国耶拿分析仪器，UVP Chemstudio touch型)；核酸测定仪(赛默飞世尔科技公司，NanoDrop One型)；实时荧光定量PCR仪(伯乐生命医学产品有限公司，CFX96型)；电泳仪(伯乐生命医学产品有限公司，1658004型)；电转仪(伯乐生命医学产品有限公司，1703935型)。

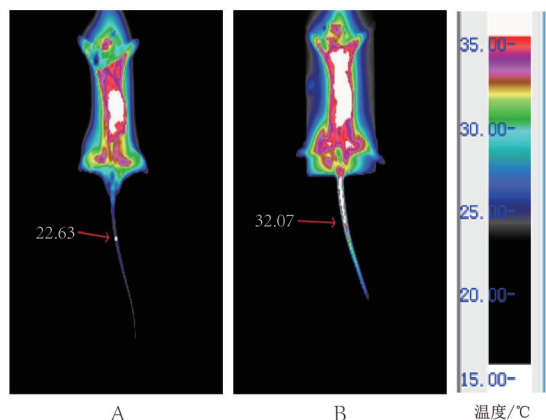
1.3 模型制备方法

参考文献[9]制备CAG大鼠模型：以蒸馏水配制浓度为1 g/L的MNNG储备液，置于4℃冰箱内避光保存。临用前取该储备液以纯净水稀释至终浓度为140 μg/ml，作为大鼠日常饮用水。饮水瓶以锡纸包裹避光，供大鼠自由饮用，每日更换一次新鲜药液。辅以饥饿失常方法，即足量喂食1天，禁食1天，同时于禁食日按1 ml/100 g予30%乙醇与2%水杨酸钠混合溶液灌胃，灌胃前后均禁食禁水1 h，连续干预12周。分别于第10周、第12周采用随机数字表法抽取2只大鼠，通过胃黏膜组织病理学检测造模组大鼠发现，其胃黏膜腺体发生萎缩，数量减少，黏膜层变薄，排列结构紊乱，部分腺体呈囊状扩张样改变，并可见杯状细胞化生及炎性细胞浸润，提示造模成功^[10]。

1.4 分组及干预方法

采用随机数字表法将58只大鼠分为空白组14只，造模组44只。模型评价后剩余40只造模成功的大鼠采用随机数字表法分为模型组(10只)、艾灸组(20只)和抑制剂组(10只)。造模结束后次日开始，艾灸组选用特制实验动物艾条悬灸“中脘”穴，穴位定位参照《实验针灸学》^[11]。穴位皮肤去毛，束缚后距离大鼠皮肤约3 cm温和灸，每次40 min；抑制剂组束缚40 min，随后按1 mg/kg的雷帕霉素溶液灌胃；模型组束缚40 min，并予1 ml/kg生理盐水灌胃；各组干预均每日1次，共28天，空白组不做任何干预。干预期间各组大鼠均自由饮用纯净水及进食。

艾灸组大鼠每日艾灸时采用数字式医用红外热像仪分别采集大鼠尾部红外热像信息,并应用医用红外热像系统 V2.1 记录小于 0.05℃ 温度变化。在艾灸过程中,每 5 min 采用红外电子体温计精确测量大鼠尾根部 1/3 处体表温度,期间尾温升高超过 1℃,则判定为发生腧穴热敏现象,见图 1。干预 28 天内,根据每日尾温升高度数的平均值判定, > 1℃ 则纳入热敏灸组, < 1℃ 纳入非热敏灸组,在 1℃ 上下波动则不纳入观察^[12]。最终,热敏灸组纳入 10 只,非热敏灸组纳入 9 只。



注: A, 艾灸“中脘”穴前; B, 艾灸“中脘”穴后。

图 1 艾灸大鼠“中脘”穴红外热成像前后图像

Figure 1 Comparison before and after infrared thermal imaging of moxibustion at Zhongwan (CV 12)

1.5 观察指标与方法

1.5.1 一般状况及体质量分析 观察大鼠在研究期间总体健康状态,包括精神、活动、饮食、毛发、大便及体质量。每组采用随机数字表法选取 6 只大鼠进行体质量分析。

1.5.2 胃黏膜组织病理学观察 干预结束后,各组大鼠禁食不禁水 24 h,大鼠脱颈处理并取出胃组织。各组按随机数字表法选取 1 只大鼠胃组织并沿胃大弯剪开, -4℃、0.9% 氯化钠溶液冲洗,截取 1 cm×1 cm×1 cm 大小胃黏膜组织,经 4% 多聚甲醛固定、HE 染色,倒置荧光显微镜镜下观察胃黏膜组织病理变化。

1.5.3 TUNEL 检测胃黏膜细胞凋亡 各组采用随机数字表法选取 6 个大鼠胃黏膜,常规石蜡切片,脱蜡水化;根据 TUNEL 试剂盒的说明书步骤进行,使用倒置荧光显微镜扫描切片,观察 TUNEL 阳性细胞(以绿色荧光为阳性)情况,并用 DAPI 染色进行核定位。采用 ImageJ 1.54f 系统进行图像分析,并计数阳性细胞比例。

1.5.4 免疫组化法检测胃黏膜 MMP7、VEGFA、EGFR 蛋白水平 各组采用随机数字表法选取 6 个大鼠胃黏膜,常规石蜡切片经脱蜡、水化后,采用微波炉加热进行抗原修复,5%BSA 封闭,加一抗 MMP7 (1:100)、VEGFA (1:200)、EGFR (1:100),随后于 4℃ 湿盒中孵育过夜,滴加相应的酶标二抗于室温孵育, DAB 显色,复染,脱水、透明,封片,于倒置荧光显微镜下观察。染色结果以胞浆胞膜呈棕黄色为阳性,每张阳性结果切片随机选取 9 个视野放大 400 倍,采用 ImageJ 1.54f 系统进行图像分析,以平均吸光度值表示 MMP7、VEGFA、EGFR 蛋白含量。

1.5.5 qPCR 检测胃黏膜组织 PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达 各组采用随机数字表法选取 6 个大鼠胃黏膜。根据 RNA 提取试剂盒提取 RNA,经核酸测定仪测定, RNA 样品的 OD260/OD280 比值为 1.8~2.0 时,表明其纯度符合要求,后经逆转录成 cDNA。qPCR 检测胃黏膜组织 PI3K、Akt、mTOR mRNA 水平,引物序列见表 1。GAPDH 内参照,目的基因 mRNA 的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。

表 1 大鼠胃黏膜组织 PI3K、Akt、mTOR mRNA 引物序列
Table 1 Primer sequences of PI3K, Akt and mTOR mRNA in rat gastric mucosa

基因名称	引物序列 (5'-3')	长度/bp
GAPDH	上游: AGAGACAGCCGCATCTTCTT	235
	下游: TTCTCAGCCTTGACTGTGCC	
PI3K	上游: ACCTGTGCCTTCTGCCTTAC	130
	下游: TCTTTGAATGCCCCCGTGTT	
Akt	上游: CTACGGTGCAGGAGATTGTGT	132
	下游: CACAGCCCGAAGTCCGTTAT	
mTOR	上游: GCAATGGGCACGAGTTTGTT	94
	下游: AGTGTGTTACACAGGCCAA	

注: GAPDH, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; PI3K, 磷脂酰肌醇 3-激酶; Akt, 蛋白激酶 B; mTOR, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白。

1.5.6 Western Blot 检测胃黏膜组织 p-Akt、p-mTOR 蛋白水平 各组剩余大鼠胃黏膜组织中采用随机数字表法抽取 3 个,按蛋白抽提试剂盒说明对胃黏膜组织细胞进行总蛋白提取。采用 BCA 法对样品进行蛋白定量后上样,经 SDS/PAGE 凝胶电泳,然后电转移至膜封闭后,分别加入相应一抗 p-Akt (1:1000)、p-mTOR (1:2000) 和二抗 (HRP 标记二抗: 1:50 000 稀释), GAPDH (1:15 000) 蛋白表达为参照。随后通过 ECL 化学发光试剂处理, X 光胶片进行曝光显影,使用 ImageJ 1.54f 软件分析

Akt及mTOR 蛋白条带，并以目的蛋白与内参蛋白灰度值的比值，计算目的蛋白的相对表达水平。

1.6 统计学方法

采用SPSS 26.0软件，本研究计量资料数据均符合正态分布，以均值±标准差 ($\bar{x}\pm s$)表示，若方差齐则多组间比较采用单因素方差分析，两两比较选LSD法；若方差不齐，则选用Tamhane T_2 法。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。用GraphPad Prism 9绘图。

2 结果

2.1 各组大鼠一般状况观察

空白组大鼠精神活跃，反应灵敏，运动协调，行为自如；摄食量及饮水量均未见明显异常；大鼠毛发浓密且有光泽，紧贴皮肤，皮肤黏膜色泽红润，耳廓及尾部血管充盈良好，呈淡红色；排便正常，粪便形态规则，质地适中，未见稀便或干结现象。模型组大鼠精神萎靡、活动减少、摄食量下降，毛发干枯无光泽且蓬乱，耳廓及尾部皮肤色泽稍显红润，大便性状不稳定（时干时稀）。热敏灸组、非热敏灸组及抑制剂组大鼠精神状态明显改善，活动度提升，神态自然，毛发排列整齐且光泽度改善，耳廓及尾部皮肤色泽由苍白转为淡红，大便性状由稀溏恢复至成形且干稀适中。表2示，与空白组比较，其余各组大鼠体质量均降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，各干预组大鼠的体质量均

表2 各组大鼠体质量比较

Table 2 Comparison of body weight of rats in each group ($g, \bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	体质量
空白组	6	539.70±24.88
模型组	6	288.83±11.05 ^{a)}
热敏灸组	6	379.98±11.19 ^{a) b)}
非热敏灸组	6	385.77±32.27 ^{a) b)}
抑制剂组	6	403.03±15.20 ^{a) b)}

注：a) 与空白组比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组比较， $P<0.01$ 。

增加 ($P<0.01$)；热敏灸组、非热敏灸组、抑制剂组三组间大鼠体质量比较差异无统计学意义 ($P>0.01$)。

2.2 各组大鼠胃黏膜组织病理学观察

图2示，空白组胃黏膜层厚度正常，腺体丰富且排列整齐。模型组大鼠胃黏膜固有腺体减少，排列相对紊乱，并可见肠上皮化生。与模型组比较，各治疗组肠上皮化生明显消失，热敏灸组大鼠胃黏膜腺体排列较为规则，结构大致正常，非热敏灸组胃黏膜腺体排列明显紊乱，并可见散在炎性细胞浸润，抑制剂组胃黏膜结构排列欠规整，伴有轻度形态异常。

2.3 各组大鼠胃黏膜细胞凋亡情况

表3示，与空白组比较，其余各组大鼠胃黏膜细胞凋亡阳性率增加 ($P<0.01$)。与模型组比较，热敏灸组、非热敏灸组及抑制剂组胃黏膜细胞凋亡阳性率降低 ($P<0.01$)。与热敏灸组比较，非热敏灸组、抑制剂组细胞凋亡阳性率升高 ($P<0.05$)。各组大鼠胃黏膜细胞TUNEL检测荧光图见图3。

表3 各组大鼠胃黏膜细胞凋亡阳性率比较

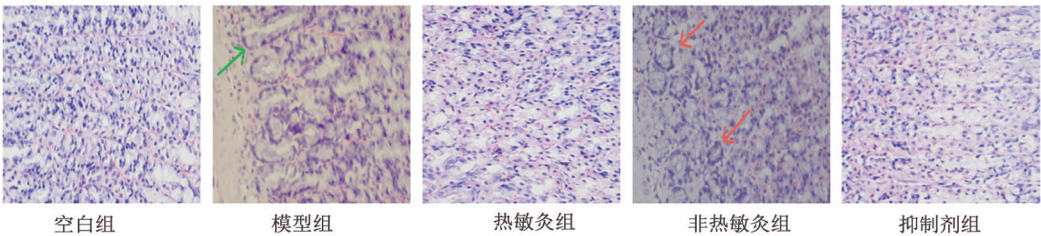
Table 3 Comparison of positive rate of gastric mucosal cell apoptosis in rats of each group ($\%, \bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	细胞凋亡阳性率
空白组	6	1.64±0.33
模型组	6	9.52±1.01 ^{a)}
热敏灸组	6	3.26±0.89 ^{a) b)}
非热敏灸组	6	5.14±1.24 ^{a) b) c)}
抑制剂组	6	4.64±1.08 ^{a) b) c)}

注：a) 与空白组比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组比较， $P<0.01$ ；c) 与热敏灸组比较， $P<0.05$ 。

2.4 各组大鼠胃黏膜MMP7、VEGFA、EGFR蛋白含量比较

表4示，与空白组比较，其余各组大鼠胃黏膜MMP7、VEGFA及EGFR蛋白含量升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，各干预组MMP7、VEGFA及EGFR



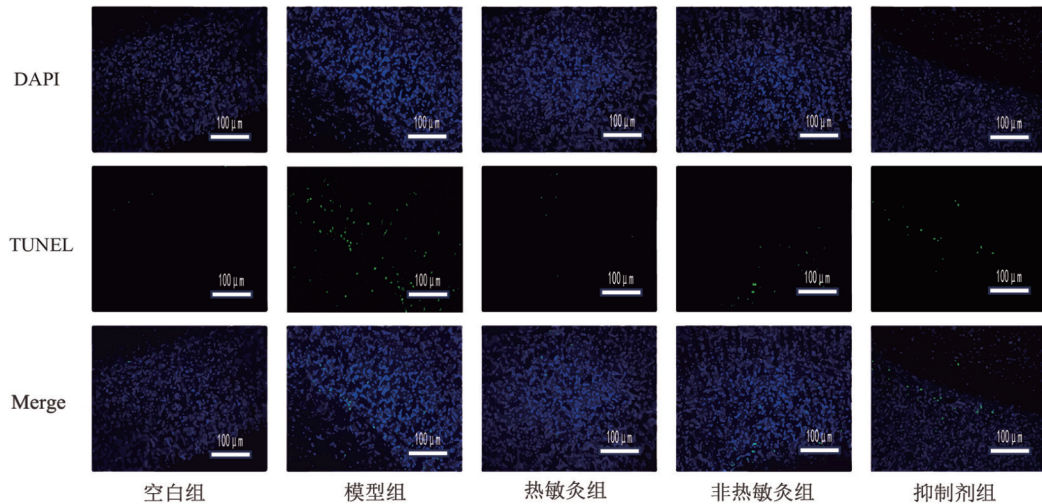
注：红色箭头示炎性浸润；绿色箭头示肠上皮化生。

图2 各组大鼠胃黏膜组织HE染色图 (×400)

Figure 2 HE staining in gastric mucosa of rats in each group (×400)

蛋白含量降低 ($P<0.01$)；与热敏灸组比较，非热敏灸组 MMP7、VEGFA 及 EGFR 蛋白含量均升高，抑制剂组 EGFR 蛋白含量升高 ($P<0.01$)；与

非热敏灸组比较，抑制剂组 MMP7、VEGFA 及 EGFR 蛋白含量均降低 ($P<0.01$)。各组大鼠胃黏膜 MMP7、VEGFA、EGFR 免疫组化染色图见图 4。



注：DAPI 核染色为蓝色荧光；TUNEL 染色为绿色荧光；Merge 为 DAPI 与 TUNEL 的合并图。

图 3 各组大鼠胃黏膜细胞凋亡染色图 (×200)

Figure 3 Gastric mucosal cell apoptosis staining of rats in each group (×200)

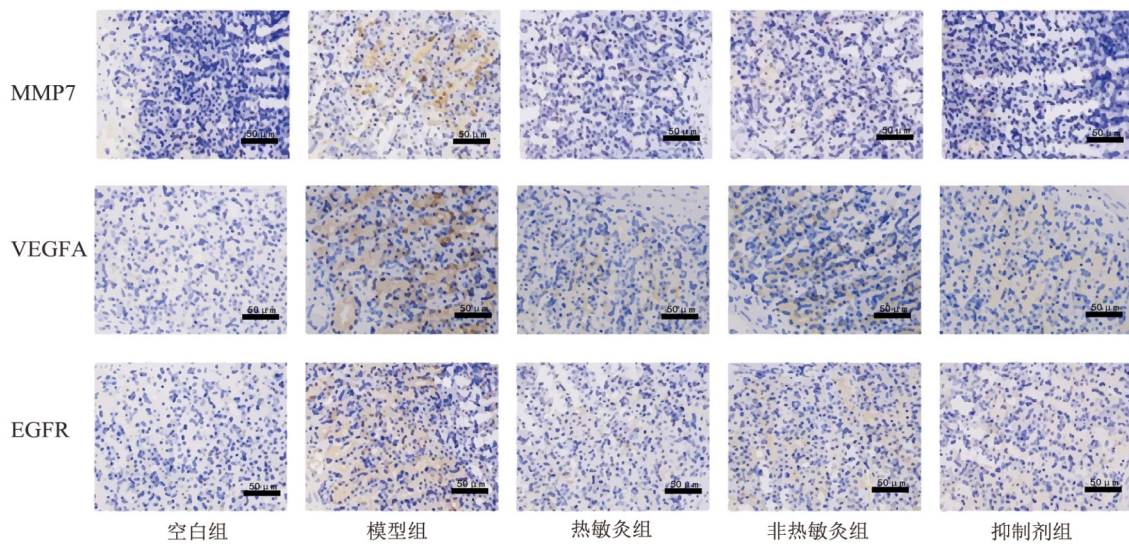
表 4 各组大鼠胃黏膜 MMP7、VEGFA、EGFR 蛋白含量比较

Table 4 Protein expression levels of MMP7, VEGFA and EGFR in gastric mucosa of rats in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	MMP7	VEGFA	EGFR
空白组	6	1.71±0.22	2.94±0.67	2.70±0.66
模型组	6	13.16±1.25 ^{a)}	17.88±0.89 ^{a)}	17.62±1.04 ^{a)}
热敏灸组	6	4.84±0.64 ^{a) b)}	6.52±0.81 ^{a) b)}	6.64±0.60 ^{a) b)}
非热敏灸组	6	7.91±0.99 ^{a) b) c)}	9.55±0.43 ^{a) b) c)}	10.02±0.55 ^{a) b) c)}
抑制剂组	6	4.23±0.32 ^{a) b) d)}	6.44±0.99 ^{a) b) d)}	8.91±0.65 ^{a) b) c) d)}

注：MMP7，基质金属蛋白酶-7；VEGFA，血管内皮生长因子 A；EGFR，表皮生长因子受体。

a) 与空白组比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组比较， $P<0.01$ ；c) 与热敏灸组比较， $P<0.01$ ；d) 与非热敏灸组比较， $P<0.01$ 。



注：棕黄色为阳性表达；MMP7，基质金属蛋白酶-7；VEGFA，血管内皮生长因子 A；EGFR，表皮生长因子受体。

图 4 各组大鼠胃黏膜 MMP7、VEGFA、EGFR 免疫组化染色图 (×400)

Figure 4 Immunohistochemical expression of MMP7, VEGFA, EGFR in gastric mucosa of rats in each group (×400)

2.5 各组大鼠胃黏膜PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达比较

表 5 示，与空白组比较，其余各组大鼠胃黏膜PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，各干预组PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达下降 ($P<0.01$)；与非热敏灸组比较，热敏灸组和抑制剂组PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达下降 ($P<0.05$)。

表 5 各组大鼠胃黏膜PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达比较
Table 5 Comparison of PI3K, Akt and mTOR mRNA expressions in gastric mucosa of rats in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	PI3K	Akt	mTOR
空白组	6	1.01±0.14	1.01±0.17	1.03±0.25
模型组	6	4.95±0.44 ^{a)}	3.38±0.44 ^{a)}	4.01±0.34 ^{a)}
热敏灸组	6	2.13±0.71 ^{a) b) c)}	1.70±0.37 ^{a) b) c)}	2.00±0.53 ^{a) b) c)}
非热敏灸组	6	3.17±0.71 ^{a) b)}	2.22±0.27 ^{a) b)}	2.74±0.56 ^{a) b)}
抑制剂组	6	2.31±1.05 ^{a) b) c)}	1.73±0.32 ^{a) b) c)}	2.03±0.63 ^{a) b) c)}

注：PI3K，磷脂酰肌醇 3-激酶；Akt，蛋白激酶B；mTOR，哺乳动物雷帕霉素靶蛋白。
a) 与空白组比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组比较， $P<0.01$ ；c) 与非热敏灸组比较， $P<0.05$ 。

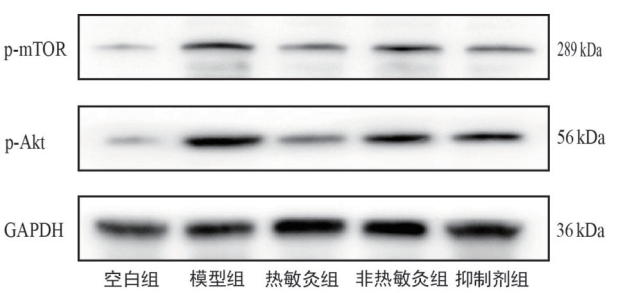
2.6 各组大鼠胃黏膜p-Akt、p-mTOR 蛋白水平比较

表 6 示，与空白组比较，其余各组大鼠胃黏膜组织中p-Akt、p-mTOR 蛋白水平均升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)；与模型组比较，各干预组胃黏膜组织中p-Akt、p-mTOR 蛋白水平均降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)；与非热敏灸组比较，热敏灸组及抑制剂组胃黏膜组织中p-Akt、p-mTOR 蛋白水平均降低 ($P<0.05$)。各组大鼠胃黏膜p-Akt、p-mTOR 蛋白电泳图见图 5。

表 6 各组大鼠胃黏膜p-Akt、p-mTOR 蛋白水平比较
Table 6 Comparison of p-Akt and p-mTOR protein expressions in gastric mucosa of rats in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	p-Akt	p-mTOR
空白组	6	1.00±0.25	1.00±0.79
模型组	6	7.23±0.91 ^{a)}	9.99±0.50 ^{a)}
热敏灸组	6	3.18±1.18 ^{b) c) e)}	4.00±1.98 ^{b) c) e)}
非热敏灸组	6	4.90±0.70 ^{a) d)}	7.07±1.04 ^{a) d)}
抑制剂组	6	3.18±1.18 ^{b) c) e)}	4.09±1.96 ^{b) c) e)}

注：p-Akt，磷酸化蛋白激酶B；p-mTOR，磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白。
a) 与空白组比较， $P<0.01$ ；b) 与空白组比较， $P<0.05$ ；c) 与模型组比较， $P<0.01$ ；d) 与模型组比较， $P<0.05$ ；e) 与非热敏灸组比较， $P<0.05$ 。



注：p-Akt，磷酸化蛋白激酶B；p-mTOR，磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白。

图 5 各组大鼠胃黏膜组织p-Akt、p-mTOR 蛋白电泳图
Figure 5 Electrophoretogram of p-Akt and p-mTOR protein in gastric mucosa of rats in each group

3 讨论

CAG 属于中医学“胃脘痛”“痞满”“吞酸”等病症。中医学认为，CAG 的发病机制涉及多重病理因素，多因脾胃功能虚弱、运化失司，致使水谷精微输布障碍，痰湿瘀血等产物阻滞胃络、影响胃腑濡养功能。在临床治疗方面，中医注重整体辨证与个体化施治相结合，通过健脾和胃、疏调肝气、降逆和胃等治疗法则，促进气血运行通畅，恢复机体阴阳平衡状态^[13]。中医药治疗 CAG 不仅能改善患者临床症状，还能对胃黏膜萎缩具有较好的治疗作用^[1]。CAG 被视为胃癌演进的关键节点^[14]，因此其早期干预对阻断疾病进展至关重要。本研究采用 MNNG 诱导联合饥饱失常的方法制备 CAG 模型大鼠^[9]，所构建模型的组织病理学出现胃黏膜的炎症浸润、腺体萎缩、黏膜变薄等典型病理改变，与临床 CAG 患者的病变高度吻合，表明成功构建了 CAG 大鼠模型。

针灸能够通过调控细胞内外信号分子，减轻胃黏膜的炎性损伤，达到治疗 CAG 的效果^[15]。研究^[6]表明，热敏灸产生的感传效应和临床疗效往往优于在固定穴位施行的传统灸法，尤其在治疗一些疑难病症（如慢性胃肠疾病等）时，效果更为显著。动物实验难以获取主观热敏反馈，故常选临床常用穴刺激，并以艾灸所致体表或尾温变化为客观指标，评估腧穴热敏化状态以模拟临床^[8, 12]。中脘穴作为胃经募穴、八会穴之腑会，以及任脉与足阳明胃经的交会穴，在针灸治疗 CAG 中具有重要的临床价值。从解剖学角度来看，募穴作为脏腑经气汇聚于胸腹部的特定穴位，其解剖位置与相应脏腑具有空间邻近性。中脘穴位于上腹部，毗邻胃腑，

具有健脾和胃、调理中焦的功效,是目前针灸治疗 CAG 的常用取穴^[16]。

CAG 患者长期处于慢性炎症微环境中,具有显著升高的癌症风险^[17]。研究^[18]表明,CAG“炎-癌”转化的核心靶点有 MMP-7、VEGFA、EGFR 等,且主要涉及癌症信号通路。MMP7 是一种锌依赖性内肽酶,主要表达于上皮细胞和腺体组织,通过降解细胞外基质(ECM)破坏胃黏膜屏障功能,释放如胰岛素样生长因子-1、表皮生长因子等生长因子,激活其受体,进而激活 PI3K/Akt 通路,加剧炎症浸润及腺体萎缩^[19]。在 CAG 患者胃黏膜中,MMP-7 表达显著上调,其水平与幽门螺杆菌(Hp)感染、促炎因子的释放密切相关^[20]。VEGFA 是血管内皮生长因子家族的核心成员,主要通过结合血管内皮生长因子受体 1(VEGFR-1)和血管内皮生长因子受体 2(VEGFR-2)激活下游 PI3K/Akt 信号通路,作为调控血管生成的关键因子,在 CAG 的病理进程中发挥双重作用^[21]。EGFR 是一种具有酪氨酸激酶活性的跨膜受体,主要分布于胃黏膜上皮细胞基底膜,能与配体结合后触发受体二聚化激活下游 PI3K/Akt 信号通路^[22]。研究表明,EGFR 通过调控胃黏膜上皮细胞增殖、分化及凋亡参与 CAG 病理进程,且在 CAG 大鼠胃黏膜中表达显著上调^[23]。本实验结果发现,CAG 大鼠经艾灸中脘穴后,其胃黏膜中 MMP7、VEGFA 及 EGFR 蛋白表达较模型组下降;与非热敏灸组比较,热敏灸组大鼠胃黏膜中 MMP7、VEGFA 及 EGFR 蛋白表达下降更明显,表明热敏灸能抑制 CAG 大鼠胃黏膜中 MMP7、VEGFA、EGFR 蛋白表达,减轻炎症反应、下调癌症信号通路,促进 CAG 大鼠胃黏膜的修复,且效果优于非热敏灸。

CAG 为胃癌前病变,其发病与 PI3K/Akt 信号通路的异常激活密切相关^[24]。PI3K 具有丝氨酸/苏氨酸激酶的活性,能被上游生长因子(如 VEGF 等)激活,进而招募下游信号分子,以此催化磷脂酰肌醇二磷酸(PIP_2)生成磷脂酰肌醇三磷酸(PIP_3), PIP_3 募集 Akt 和 3-磷酸肌醇依赖蛋白激酶-1(PDK1),PDK1 磷酸化 Akt 部分激活 Akt,激活的 Akt 磷酸化下游靶蛋白,磷酸化的 Akt 能抑制胃癌细胞的凋亡^[25]。mTOR 作为 Akt 通路的关键下游组分,其磷酸化修饰 Akt 调控,并进一步影响下游基因功能^[26]。研究^[4]表明,PI3K、Akt 蛋白是促进胃癌进展的关键因子,其磷酸化的表达在慢性胃炎-萎缩性胃炎-肠上皮化生-异型增生-胃癌这一

过程中显著升高。本实验结果显示,抑制剂组大鼠胃黏膜细胞凋亡阳性率较模型组下降,PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达与 MMP7、VEGFA、EGFR 蛋白表达较模型组显著下调,并有效改善了胃黏膜萎缩状态。因此,抑制 PI3K/Akt 信号通路的激活,可能与调控细胞增殖凋亡、改善胃黏膜损伤修复相关,并在一定程度上延缓或降低慢性炎症向癌变转化的风险。已有研究^[27]表明,PI3K/Akt 信号通路的异常激活不仅加速胃黏膜萎缩和肠上皮化生进程,还可通过下游 mTOR 等效应分子促进胃癌前病变,因此调控 PI3K/Akt 信号通路可有效防治 CAG。本实验结果发现,模型组大鼠胃黏膜细胞凋亡阳性率显著上升,PI3K、Akt、mTOR mRNA 及 p-Akt、p-mTOR 蛋白水平较空白组显著上调,病理学观察可见明显的腺体萎缩、炎性浸润、胃腺囊性扩张以及肠上皮化生等。与模型组比较,热敏灸组大鼠胃黏膜细胞凋亡阳性率下降,PI3K、Akt、mTOR mRNA 及 p-Akt、p-mTOR 蛋白表达水平下降,且低于非热敏灸组,提示热敏灸可抑制 CAG 大鼠 PI3K/Akt 信号通路的激活,调控细胞增殖和凋亡,改善胃黏膜的萎缩及肠化生,且抑制效果优于非热敏灸。

综上所述,热敏灸可能通过抑制胃黏膜 PI3K/Akt 信号通路激活,下调相关蛋白和基因表达,改善胃黏膜病理变化,进而达到防治 CAG 的目的,且较非热敏灸具有更好的疗效。然而,CAG 是一个多基因、多靶点、多通路参与的复杂过程,本研究未能全面探讨热敏灸对其他相关信号通路的影响,未来可结合转录组学、蛋白组学或磷酸化蛋白组学技术,筛选出差异常表达最显著的信号枢纽,构建热敏灸治疗 CAG 的“关键分子调控网络”。

参考文献

- [1] 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 慢性萎缩性胃炎中西医结合诊疗专家共识(2025 年)[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2025, 33(3): 230-241.
- [2] 王亚杰, 国嵩, 杨洋, 等. 慢性萎缩性胃炎的流行病学及其危险因素分析[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2019, 27(11): 874-878.
- [3] 国家卫生健康委办公厅. 国家卫生健康委办公厅印发食管癌及胃癌筛查与早诊早治方案[EB/OL]. (2024-06-21) [2026-02-11]. <https://www.nhc.gov.cn/ylyjs/gzdt/202406/2bb28e7a39ce4734bee4e31ff5442e0f.shtml>.
- [4] 刘婷, 迟文成, 韩路拓, 等. PI3K/Akt 信号通路对胃癌的作用机制及中医药治疗研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2024, 33(22): 3194-3201.

- [5] Li Y, Zhang Y, Meng H, et al. Efficacy and safety of acupuncture therapy for chronic atrophic gastritis: a meta-analysis and trial sequential analysis protocol[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(35): e17003.
- [6] 陈日新, 康明非. 膻穴热敏化及其临床意义[J]. *中医杂志*, 2006, 47(12): 905-906.
- [7] 艾崇, 熊桂华, 陈珊珊, 等. 热敏灸在消化系统疾病中的应用研究进展[J]. *中外医学研究*, 2023, 21(4): 165-169.
- [8] 李琳慧, 付勇, 熊俊, 等. 热敏灸对慢性萎缩性胃炎大鼠 Ghrelin 及 GHSR 的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(11): 5480-5485.
- [9] 林玲, 韩涛, 陆璐, 等. 慢性萎缩性胃炎及胃癌前病变动物模型的总结应用与评述[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(2): 220-227.
- [10] 刘平, 杨迪, 王凤云, 等. 基于中西医病证特点的胃癌前病变动物模型构建和评价分析[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2025, 35(12): 1188-1192.
- [11] 李忠仁, 方剑乔, 易受乡, 等. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 255-256.
- [12] Chen R X, Lv Z M, Chen M R, et al. Stroke treatment in rats with tail temperature increase by 40 min moxibustion[J]. *Neurosci Lett*, 2011, 53(2): 131.
- [13] 王萍, 尹晓岚, 张北华, 等. 近 40 年慢性萎缩性胃炎及胃癌前病变中医研究述评[J]. *中医杂志*, 2020, 61(22): 1943-1947.
- [14] Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process—first American Cancer Society award lecture on cancer epidemiology and prevention[J]. *Cancer Res*, 1992, 52(24): 6735-6740.
- [15] 林立洪, 李培武, 胡启彦. 针刺治疗慢性萎缩性胃炎研究进展[J]. *陕西中医*, 2023, 44(6): 811-814.
- [16] 张金胜, 赵紫璇, 史少静, 等. 基于数据挖掘探讨近 10 年针灸治疗慢性萎缩性胃炎选穴规律[J]. *上海针灸杂志*, 2024, 43(10): 1154-1159.
- [17] Liu L, Fan X H, Tang X D. Revolutionizing gastric cancer prevention: novel insights on gastric mucosal inflammation-cancer transformation and Chinese medicine[J]. *Chin J Integr Med*, 2025, 31(10): 942-952.
- [18] 刘鹏, 江晓涛, 聂课朝, 等. 肿瘤免疫细胞因子与慢性萎缩性胃炎“炎-癌转化”研究进展[J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(6): 3346-3351.
- [19] Chen F, Xiang W, Qiang G. Tanshinone II_A affects the proliferation of A549/Tax by affecting the expression of MMP7 through the PI3K-AKT-mTOR signaling pathway[J]. *Discov Oncol*, 2025, 16(1): 369.
- [20] Chung W C, Jung S H, Lee K M, et al. The detection of *Helicobacter pylori* cag pathogenicity islands (PAIs) and expression of matrix metalloproteinase-7 (MMP-7) in gastric epithelial dysplasia and intramucosal cancer[J]. *Gastric Cancer*, 2010, 13(3): 162-169.
- [21] Cheng X, Gu H, Chong Y, et al. Vitamin C mediates IGFBP7 to alleviate chronic atrophic gastritis via the HIF-1 α /VEGF pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2025, 29(4): e70392.
- [22] Talukdar S, Emdad L, Das S K, et al. EGFR: an essential receptor tyrosine kinase-regulator of cancer stem cells[J]. *Adv Cancer Res*, 2020, 147: 161-188. DOI: 10.1016/bs.acr.2020.04.003.
- [23] 杨玥玮, 程楠, 刘丽然, 等. 香连化浊方对慢性萎缩性胃炎模型大鼠胃黏膜 EGFR/MAPK/ERK 信号通路的影响[J]. *中医杂志*, 2023, 64(14): 1483-1490.
- [24] 朱婷婷, 唐洁, 谢思琪, 等. 细胞因子及其相关信号通路在慢性萎缩性胃炎病理过程中的作用[J]. *实用中医内科杂志*, 2024, 38(1): 61-64.
- [25] Saahene R O, Agbo E, Barnes P, et al. A review: mechanism of phyllanthus urinaria in cancers-NF- κ B, PI3K/AKT, and MAPKs signaling activation[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021: 4514342. DOI: 10.1155/2021/4514342.
- [26] Noorolyai S, Shajari N, Baghbani E, et al. The relation between PI3K/AKT signalling pathway and cancer[J]. *Gene*, 2019, 698: 120-128. DOI: 10.1016/j.gene.2019.02.076.
- [27] 陈泽慧, 安静, 魏玥, 等. 消痞颗粒对胃癌前病变模型大鼠胃黏膜组织 miR-21-PTEN-PI3K/AKT 信号通路的影响[J]. *中医杂志*, 2020, 61(18): 1628-1632.

Effect of Heat-Sensitive Moxibustion on Apoptosis of Gastric Mucosal Tissue in Chronic Atrophic Gastritis Model Rats: Based on PI3K/Akt Signaling Pathway

ZHANG Qi¹, ZHOU Yanping², WANG Qide¹, CHEN Shujuan¹, SUN Yu¹, LI Fang², GONG Hongbin², XIE Mingjun², LIU Hui², ZHANG Haifeng^{1,2}

1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, 330004; 2. Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To investigate the potential mechanism of heat-sensitive moxibustion on chronic atrophic gastritis (CAG) through the phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B (PI3K/Akt) signaling pathway. **Methods**

Fifty-eight SD rats were randomly divided into blank group ($n=14$) and modeling group ($n=44$). Rats in the blank group were fed routinely, while the rats in the modeling group received drinking water containing 1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (MNNG) at a concentration of $140\text{ }\mu\text{g/ml}$, combined with irregular fasting and feeding for 12 weeks to establish CAG model. After successful modeling, the rats were randomly divided into model group ($n=10$), inhibitor group ($n=10$) and moxibustion group ($n=20$). After 40 minutes of suspended moxibustion at "Zhongwan" (CV 12) daily, the rats in the moxibustion group were divided into heat-sensitive moxibustion group ($n=10$) and non-heat-sensitive moxibustion group ($n=9$) according to the change of tail temperature during moxibustion. The inhibitor group was bound for 40 minutes daily, and then administered with PI3K/Akt signaling pathway inhibitor, rapamycin solution, by gavage at a dose of 1 mg/kg . The model group received intragastric administration of 1 ml/kg normal saline after 40 minutes of restraint stress each day. All interventions were administered once daily for 28 consecutive days, while the blank group received no intervention. After the intervention finished, the body weight of rats in each group was compared. HE staining was used to observe the histopathological changes of gastric mucosa. The apoptosis-positive rate of gastric mucosal cells was detected by TUNEL assay. Immunohistochemistry was performed to determine the protein levels of matrix metalloproteinase-7 (MMP7), vascular endothelial growth factor A (VEGFA) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in gastric mucosa. The mRNA expression levels of *PI3K*, *Akt* and mammalian target of rapamycin (*mTOR*) in gastric mucosal tissues were detected by qPCR. The protein levels of phosphorylated Akt (p-Akt) and phosphorylated mTOR (p-mTOR) in rat gastric mucosal tissues were measured by Western Blotting.

Results Compared to the blank group, rats in all other groups exhibited decreased body weight, significantly increased gastric mucosal cell apoptosis-positive rates, elevated protein levels of MMP7, VEGFA and EGFR in gastric mucosa, increased mRNA expression levels of *PI3K*, *Akt* and *mTOR*, and enhanced protein expression levels of p-Akt and p-mTOR ($P<0.05$ or $P<0.01$). Histopathological examination revealed thinning of the gastric mucosa, glandular disorganization and atrophy, accompanied by intestinal metaplasia. Compared to the model group, the heat-sensitive moxibustion group, the non-heat-sensitive moxibustion group and the inhibitor group all showed significant improvements in the above-mentioned indicators ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared to the heat-sensitive moxibustion group, the non-heat-sensitive moxibustion group and the inhibitor group exhibited increased positive rates of gastric mucosal cell apoptosis; the non-heat-sensitive moxibustion group showed increased protein levels of MMP7, VEGFA and EGFR, as well as mRNA expression levels of *PI3K*, *Akt* and *mTOR*, and protein expressions of p-Akt and p-mTOR; the inhibitor group exhibited elevated protein expression level of EGFR ($P<0.05$ or $P<0.01$). Histopathological examination showed that the gastric mucosal glands in the heat-sensitive moxibustion group were arranged more regularly, with an approximately normal structural appearance. **Conclusion** Heat-sensitive moxibustion can improve the body weight of CAG rats and repair gastric mucosal injury. Its therapeutic effects may be mediated by inhibiting excessive activation of gastric mucosal PI3K/Akt signaling pathway, thereby reducing gastric mucosal cell apoptosis.

Keywords chronic atrophic gastritis; heat-sensitive moxibustion; apoptosis; phosphoinositide 3-kinase; protein kinase B

(收稿日期: 2026-02-11; 录用日期: 2026-04-30; 修回日期: 2026-05-29)

[编辑: 邓 媛]