

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2021.11.013

# 柴芍六君汤对慢性萎缩性胃炎肝郁脾虚证模型大鼠胃黏膜组织 NF- $\kappa$ B、c-Myc、STAT1 表达的影响

朱景茹<sup>1</sup>, 黄婉仪<sup>2</sup>, 杨宗保<sup>3</sup>, 甘慧娟<sup>1</sup>✉

1. 福建中医药大学中医证基地, 福建省福州市闽侯上街邱阳路 1 号, 350122; 2. 福建中医药大学针灸学院; 3. 厦门大学医学院

**摘要** 目的 探讨柴芍六君汤治疗慢性萎缩性胃炎 (CAG) 肝郁脾虚证的可能作用机制。方法 42 只 SD 大鼠随机分为空白组 10 只和造模组 32 只。造模组采用复合因素造模法建立 CAG 肝郁脾虚证大鼠模型。造模成功的 30 只大鼠随机分为模型组、维酶素组和柴芍六君汤组, 每组 10 只。柴芍六君汤组予浓度为 0.51 g/ml 柴芍六君汤 10 ml/ (kg · d) 灌胃, 维酶素组予浓度为 24 mg/ml 维酶素混悬液 10 ml/ (kg · d) 灌胃, 空白组和模型组用等体积灭菌饮用水灌胃, 干预 4 周。观察大鼠体质量、胃黏膜组织病理变化, 检测胃黏膜组织核转录因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)、原癌基因 (c-Myc) mRNA 和转录活化蛋白 1 (STAT1) 蛋白表达。结果 各组大鼠体质量增长情况比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。模型组胃黏膜固有层腺体萎缩, 排列稀疏紊乱, 壁细胞和主细胞丢失, 较多炎性浸润, NF- $\kappa$ B、c-Myc mRNA 和 STAT1 蛋白表达较空白组显著上升 ( $P < 0.01$ )。柴芍六君汤组 NF- $\kappa$ B mRNA 和维酶素组 c-Myc mRNA 表达较模型组下降 ( $P < 0.05$ ), 两组病变胃黏膜均有不同程度的改善, 炎性浸润减轻, STAT1 蛋白表达降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。柴芍六君汤组 NF- $\kappa$ B mRNA 表达较维酶素组下降 ( $P < 0.05$ )。结论 柴芍六君汤可以改善 CAG 肝郁脾虚证萎缩胃黏膜, 其机制可能与抑制 NF- $\kappa$ B/STAT1 异常激活, 下调胃黏膜组织 NF- $\kappa$ B mRNA 和 STAT1 蛋白过表达有关。

**关键词** 慢性萎缩性胃炎; 柴芍六君汤; 肝郁脾虚证; 核转录因子  $\kappa$ B; 原癌基因; 转录活化蛋白 1

慢性萎缩性胃炎 (chronic atrophic gastritis, CAG) 是多种因素共同作用导致的消化系统疾病<sup>[1]</sup>。中医学根据 CAG 相关证候将其归属为“胃痞”“胃脘痛”“呃逆”等范畴。有研究<sup>[2]</sup>指出, CAG 病性本虚标实、虚实夹杂, 肝郁脾虚是其重要的病理特点, 气虚、气滞证素贯穿疾病始终。柴芍六君汤具有疏肝健脾化痰的功效, 既往研究证实其为治疗 CAG 肝郁脾虚证的有效方剂<sup>[3-4]</sup>。核转录因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)、原癌基因 (c-Myc) 和转录活化蛋白 1 (STAT1) 在炎症细胞因子介导、免疫应答和细胞增殖凋亡方面起重要作用, 已被证实与 CAG 进一步发展成胃癌关系密切<sup>[5-7]</sup>。本实验用柴芍六君汤干预 CAG 肝郁脾虚证模型大鼠, 综合大鼠体质量、胃黏膜组织形态及 NF- $\kappa$ B、c-Myc 和 STAT1 表达变化, 来探讨柴芍六君汤治疗 CAG 肝郁

脾虚证的可能分子机制。本实验通过厦门大学实验动物管理伦理委员会审查, 编号: XMULAC20190142。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

42 只清洁级 SD 大鼠, 8 周龄, 雌雄各半, 体质量 180 ~ 220 g, 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司, 实验动物合格证号: 20170005012857, 饲养于厦门大学动物实验中心。

### 1.2 药物

柴芍六君汤组成: 北柴胡 6 g (批号: 1905018006), 人参 9 g (批号: 190802), 白芍 4.5 g (批号: 20181201), 白术 9 g (批号: 20190301), 茯苓 9 g (批号: 107201906), 法半夏 4.5 g (批号: 180701), 醋陈皮 6 g (批号: 15101301), 炙甘草 3 g (批号: 1905018006)。饮片购自闽侯上街致诚医药商店, 药材浸泡 30 min, 武火煮沸后, 文火煎煮 30 min, 倒出药液, 单蒸水没过药渣进行第二遍煎煮, 混合两次药液浓缩成含

基金项目: 国家自然科学基金 (81873237); 福建省自然科学基金 (2018J01889)

✉ 通讯作者: hjganzz@126.com

生药量 0.51 g/ml, 6 层无菌纱布过滤 3 遍后 EP 管分装, 4℃ 保存。维酶素片 (乐普恒久远药业有限公司, 批号: 20190405) 溶于单蒸水配成含药量 24 mg/ml 的维酶素混悬液。

### 1.3 主要试剂与仪器

脱氧胆酸钠, 北京奥博星生物技术有限公司, 批号: 20190726; 氨水, 上海百舜生物科技有限公司, 批号: C10586777; 苏木素-伊红 (HE) 染色试剂盒, 上海源叶生物科技有限公司, 批号: J19S11Y125305; RIPA 裂解液, Solarbio 公司, 批号: 20191210; RNA 提取试剂盒, 北京艾德莱生物科技有限公司, 批号: 302034AX; BCA 试剂盒, Thermo 公司, 批号: QB214754; Trans2K Maker, TransStart 公司, 批号: 20190830; STAT1 抗体, Proteintech 公司, 批号: 00036841; PVDF 膜, Amersham 公司, 批号: 2019-06; ECL 发光液, Advansta 公司, 批号: 190520-81; 逆转录试剂盒, TOYOBO 公司, 批号: 791100; 辣根过氧化物酶, Proteintech 公司, 批号: 20000003; 琼脂糖, Biofroxx 公司, 批号: E22811F322。

RM2245 型切片机, 德国 Leica 公司; ETC811 型基因扩增仪, 苏州东胜兴业科学仪器有限公司; Gentier96E 型荧光定量 PCR 仪, 西安天隆科技有限公司; 5810R 型高速低温离心机, 德国 Eppendorf 公司; 041BR126545 型电泳仪, 美国 Bio-Rad 公司; Axio Imager A2 型正置荧光显微镜, 德国 Carl Zeiss 公司。

### 1.4 分组、造模和干预方法

42 只 SD 大鼠按随机数字表法分成空白组 10 只、造模组 32 只。造模组参照文献 [8] 改进复合因素造模法建立 CAG 肝郁脾虚证大鼠模型: 0.1% 氨水溶液和 20 mmol/L 脱氧胆酸钠溶液每日交替饮用, 配合饥饱失常法 (2 日足食, 1 日禁食) 与夹尾刺激法 (每日 1 h, 保持大鼠激惹状态), 造模 10 周。造模结束后进行旷场实验, 造模组取 2 只大鼠观察胃黏膜组织病理, 根据模型大鼠胃黏膜组织固有层腺体萎缩、神态疲惫、大便溏结不调, 以及旷场实验活跃度降低判断 CAG 肝郁脾虚证模型建立成功 [9-11]。将造模成功的 30 只大鼠按随机数字表法分为模型组、维酶素组和柴芍六君汤组, 每组 10 只。参照人和动物剂量换算常规算法, 即大鼠给药量为人的 6 倍 [11], 柴芍六君汤组和维酶素组分别予柴芍六君汤、维酶素混悬液

10 ml/(kg·d) 灌胃, 空白组和模型组予等体积灭菌饮用水灌胃, 各组均连续干预 4 周。

### 1.5 观察指标及方法

1.5.1 大鼠一般情况 观察大鼠精神状态、大便秘性状、活动情况并测量体质量。

1.5.2 旷场实验 将室内噪声及光线分别控制在 30 dB、60 Lux 以内, 旷场箱底面划分为相等的 25 块方格, 大鼠适应室内环境后, 放入长、宽均为 100 cm, 高 40 cm 的旷场箱中央区域, Smart 3.0 软件记录分析 5 min 内每只大鼠活动总距离及中央区停留时间, 并观察大鼠直立探索次数 [12]。每只大鼠实验结束后, 向旷场箱内喷洒 75% 乙醇旷场除味, 毛巾拭干。

1.5.3 胃黏膜组织病理形态 最后一次给药后禁食不禁水 12 h, 称取大鼠体质量, 麻醉后断头处死, 迅速打开腹腔, 取出全胃并由幽门至胃大弯处剪开, 生理盐水漂洗干净胃内容物, 选取胃窦部进行病理形态学检测。将胃黏膜修剪成 0.5 cm × 0.5 cm 的组织块放入 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h, 进行梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 组织浸蜡, 石蜡包埋, 4 μm 厚度切片, 做 HE 染色, 中性树脂封片后, 光学显微镜下观察胃黏膜组织病理形态。

1.5.4 qPCR 法检测胃黏膜组织 NF-κB、c-Myc mRNA 表达 取 100 mg 胃黏膜组织进行 RNA 提取, 洗脱 RNA, 测浓度跑胶鉴定; 取 1 μg 样品进行 RNA 逆转录, PCR 反应条件: 94℃ 5 min、94℃ 30 s、60℃ 30 s、72℃ 30 s, 30 个循环; 分别取 2 μl PCR 产物进行检测, 电泳 140 V 15 min, 琼脂糖凝胶成像。用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  表示 NF-κB、c-Myc mRNA 相对表达量。引物由厦门铂瑞生物科技有限公司合成, 序列见表 1。

表 1 胃黏膜组织 NF-κB、c-Myc mRNA 引物序列

| 基因      | 引物序列 (5'-3')               | 产物长度 /bp |
|---------|----------------------------|----------|
| NF-κB   | 上游: GGCAGCACTCCTTATCA      | 249      |
|         | 下游: GGTGTCGTCCCATCGTAG     |          |
| c-Myc   | 上游: TCTCCGTCCTATGTTGCG     | 277      |
|         | 下游: GGCTGGTGCTGCTTTTGC     |          |
| β-actin | 上游: CTGGCTCCTAGCACCATTGAA  | 180      |
|         | 下游: AAAACGCAGCTCAGTAACAGTC |          |

注: NF-κB, 核转录因子 κB; c-Myc, 原癌基因。

1.5.5 Western blot 法检测胃黏膜组织 STAT1 蛋白表达 取 30 μg 胃黏膜组织蛋白样品, 加入 4 × 上样缓冲液, 沸水浴 10 min 后, 4℃、10000 r/min 离心 10 min (离心半径 15 cm); 制备 12% SDS-

PAGE 胶进行电泳分离; 将 SDS-PAGE 胶上的蛋白通过电转移到 PVDF 膜上; 电转结束后, 将 PVDF 浸泡在含 5% 脱脂奶粉的封闭液中, 室温孵育 1 h; PBST 洗膜 3 次, 每次 10 min; 加入一抗, 4℃ 摇床过夜; PBST 洗 3 次, 每次 20 min; 加入辣根过氧化物酶标记的二抗溶液, 室温孵育 1 h; PBST 洗 3 次, 每次 10 min; 将 PVDF 膜与 ECL 溶液反应 2 min, 快速于暗室中曝光显影。使用 Image J v1. 8. 0 软件进行灰度值分析。

## 1. 6 统计学方法

应用 SPSS 23. 0 软件进行数据分析, 计量资料均以  $(\bar{x} \pm s)$  表示。两组比较满足正态分布且方差齐时用  $t$  检验, 方差不齐时  $t$  检验, 不满足正态性用两样本秩和检验。多组比较采用单因素方差分析, 两两比较用 LSD 法。检验水准  $\alpha = 0. 05$ 。

## 2 结果

### 2. 1 大鼠一般情况及造模组胃黏膜组织病理形态

空白组大鼠活泼好动, 毛发洁白光泽, 褐色大便, 质地不软不硬、无特殊气味; 造模组大鼠毛发质硬色淡黄、蓬松无光泽; 神态疲惫, 安静扎堆; 大便溏结不调、质软味臭; 胃黏膜固有层腺体明显萎缩, 排列稀疏紊乱, 大量细胞空泡变性和炎性浸润, 组织间隙伴见散在出血点, 见图 1 (扫描二维码获取图片)。

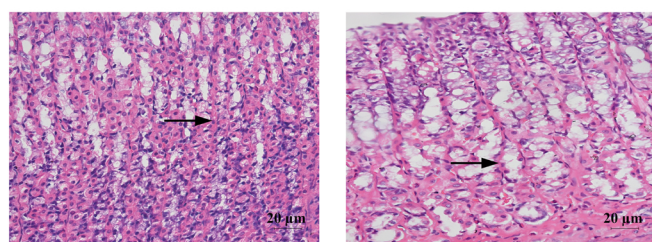
### 2. 2 两组大鼠旷场实验结果比较

与空白组比较, 造模组旷场实验总路程、中央区停留时间及直立探索次数均显著减少 ( $P < 0. 01$ )。结果见表 2。

表 2 两组大鼠旷场实验结果比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 鼠数 | 总路程/cm                           | 中央区停留时间/s                     | 直立探索/次                       |
|-----|----|----------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 空白组 | 10 | 3312. 50 ± 503. 98               | 24. 98 ± 6. 23                | 25. 80 ± 7. 60               |
| 造模组 | 32 | 1900. 21 ± 843. 57 <sup>a)</sup> | 11. 14 ± 10. 05 <sup>a)</sup> | 10. 81 ± 9. 82 <sup>a)</sup> |

注: a) 与空白组比较,  $P < 0. 01$ 。



空白组

模型组

注: 箭头表示固有层腺体。

### 2. 3 各组大鼠体质量比较

图 2、表 3 示, 空白组由于自由摄食饮水, 干预前体质量明显高于其余 3 组, 当达到一定重量后, 体质量增长幅度趋于平缓; 与空白组比较, 模型组、维酶素组和柴芍六君汤组体质量增长较多, 尤以柴芍六君汤组增长最多, 但各组比较差异无统计学意义 ( $P > 0. 05$ )。

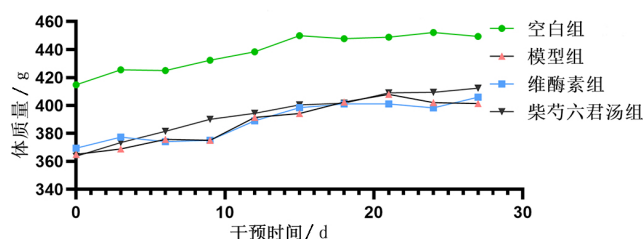


图 2 各组大鼠体质量增长曲线图

表 3 各组大鼠体质量增长比较 ( $g, \bar{x} \pm s$ )

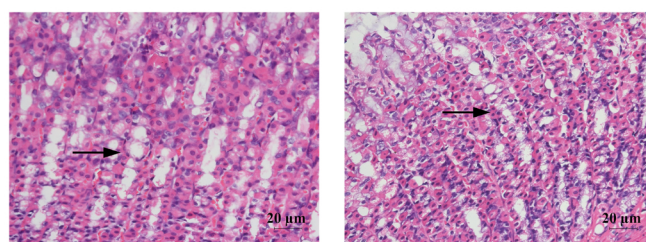
| 组别     | 鼠数 | 体质量增长           |
|--------|----|-----------------|
| 空白组    | 10 | 34. 66 ± 7. 98  |
| 模型组    | 10 | 36. 30 ± 9. 42  |
| 维酶素组   | 10 | 36. 50 ± 25. 84 |
| 柴芍六君汤组 | 10 | 48. 63 ± 23. 93 |

### 2. 4 各组大鼠胃黏膜组织病理形态结果

图 3 示 (扫描二维码获取彩色图片), 空白组胃黏膜形态正常, 结构完整规则, 固有层腺体排列紧密整齐; 模型组胃黏膜腺体萎缩, 排列稀疏紊乱, 腺腔体积增大, 壁细胞、主细胞丢失, 较多炎性浸润和散在出血点; 维酶素组胃黏膜腺体萎缩改善, 排列较整齐, 腺腔体积仍较大, 炎性浸润减轻, 伴有散在出血点; 柴芍六君汤组胃黏膜形态较正常, 腺体萎缩改善, 排列整齐, 可见较少炎性浸润。

### 2. 5 各组大鼠胃黏膜组织 NF-κB 和 c-Myc mRNA 表达比较

图 4 示, 与空白组比较, 模型组 NF-κB 和 c-Myc mRNA 表达量显著上升 ( $P < 0. 01$ ); 与模型

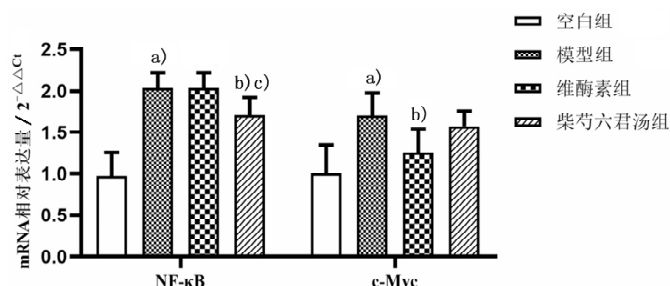


维酶素组

柴芍六君汤组

图 3 各组大鼠胃黏膜组织 HE 染色病理图 ( $\times 400$ )

组比较, 柴芍六君汤组 NF- $\kappa$ B mRNA 和维酶素组 c-Myc mRNA 表达量均下降 ( $P < 0.05$ ), 维酶素组 NF- $\kappa$ B mRNA 和柴芍六君汤组 c-Myc mRNA 表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 与维酶素组比较, 柴芍六君汤组 NF- $\kappa$ B mRNA 表达量下降 ( $P < 0.05$ ); 维酶素组与柴芍六君汤组 c-Myc mRNA 表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。



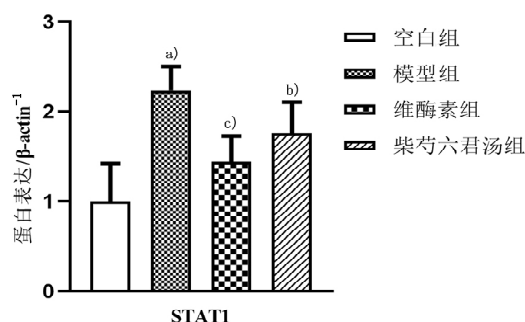
注: NF- $\kappa$ B, 核转录因子  $\kappa$ B; c-Myc, 原癌基因。

a) 与空白组比较,  $P < 0.01$ ; b) 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; c) 与维酶素组比较,  $P < 0.05$ 。

图4 各组大鼠胃黏膜组织 NF- $\kappa$ B、c-Myc mRNA 表达比较

## 2.6 各组大鼠胃黏膜组织 STAT1 蛋白表达比较

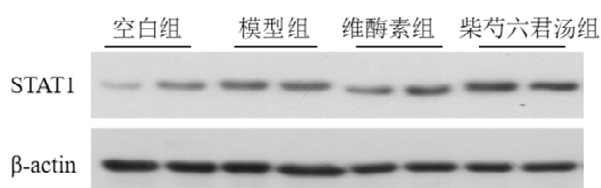
图5示, 与空白组比较, 模型组 STAT1 蛋白表达显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 维酶素组和柴芍六君汤组 STAT1 蛋白表达均降低 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ); 维酶素组与柴芍六君汤组 STAT1 蛋白表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。各组大鼠胃黏膜组织 STAT1 蛋白表达电泳图见图6。



注: STAT1, 转录活化蛋白1。

a) 与空白组比较,  $P < 0.01$ ; b) 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; c) 与模型组比较,  $P < 0.01$ 。

图5 各组大鼠胃黏膜组织 STAT1 蛋白表达比较



注: STAT1, 转录活化蛋白1。

图6 各组大鼠胃黏膜组织 STAT1 蛋白表达电泳图

## 3 讨论

胃癌因其高发病率和高死亡率位居我国恶性肿瘤第二位, 每年新发病例约 40 万例, 死亡约 35 万例, 癌症负担持续上升<sup>[3]</sup>。CAG 是正常胃黏膜到胃癌形成的病理过渡阶段, 进一步发展可形成上皮内瘤变, 与胃癌发病呈正相关, 多数由 CAG 进展的胃癌患者在明确诊断时已处于进展期, 五年生存率不足 50%<sup>[4]</sup>。因此, 对 CAG 密切监测并及时进行阻断是防治胃癌的关键。慢性萎缩性胃炎病位在胃, 与肝、脾密切相关。《素问·六元正纪大论篇》云“木郁之发, 民病胃脘当心而痛”, CAG 发病主要责之于脾胃虚弱, 肝郁气滞, 故以疏肝健脾为基本治疗方法。柴芍六君汤出自《医宗金鉴》, 方中柴胡、白芍味苦, 性微寒, 功能疏肝解郁、养血柔肝; 人参、白术、茯苓益气健脾, 以助中焦脾胃升降清浊功能的恢复; 半夏、陈皮理气燥湿化痰; 甘草调和诸药。诸药合用共奏疏肝健脾、理气化痰之功效。维酶素是以多种核黄素和维生素为主要成分的营养复合制剂, 具有促进胃黏膜上皮和腺上皮再生的作用<sup>[5]</sup>, 对 CAG 有良好疗效, 故本实验选用维酶素作为阳性对照药。

病证结合动物模型一直是中医药基础研究的热点, 多以行为学观察、理化指标及宏观表征作为模型评价的标准。有报道<sup>[6]</sup>指出, 肝郁脾虚证动物多出现皮毛干枯无光泽、静卧少动、倦怠乏力、食少便溏等宏观表征以及自发活动减少、探索时间缩短等旷场实验表现, 均可作为评估肝郁脾虚证的四诊指标。本实验结果显示, 造模组大鼠胃黏膜固有层腺体呈现病理性萎缩和炎性浸润, 提示 CAG 模型成立; 造模组大鼠出现毛发淡黄无光泽、神态疲惫、安静扎堆、体质量下降、大便溏结不调、旷场实验总路程和中央区停留时间明显缩短、对外界的好奇探索程度减弱等表现, 较为符合中医肝郁脾虚证的生物学特征, 提示成功建立 CAG 肝郁脾虚证大鼠模型。

CAG 持续加重可能涉及炎症刺激和多基因表达异常如原癌基因的激活、抑癌基因的突变, 在此基础上导致胃黏膜细胞增殖凋亡失衡是胃癌形成的重要分子基础<sup>[7]</sup>。研究<sup>[8]</sup>显示, c-Myc 是原癌基因的磷酸化蛋白质, 对细胞周期、细胞生长分化、细胞凋亡具有调控作用。NF- $\kappa$ B 和酪氨酸蛋白激酶 (JAK) /信号转导及转录激活因子 (STAT) 是人体 2 条重要的信号通路, 在胃癌细胞凋亡调控的分

子路径中存在一定的交汇点。NF- $\kappa$ B 为多向调控的蛋白质因子,能够影响机体炎症反应、细胞凋亡及肿瘤生长,诱导白细胞介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 等炎症因子生成,加重炎症反应,NF- $\kappa$ B 活化水平与炎症程度呈正相关<sup>[19-21]</sup>。STAT1 为 JAK/STAT 信号转导的核心,磷酸化后进入细胞核内参与多基因转录,并通过激活 TNF- $\alpha$ 、环氧合酶 2 (COX-2) 等细胞因子来促进肿瘤细胞凋亡,起到抑制肿瘤生长的作用,在许多肿瘤中呈高表达<sup>[21-22]</sup>。

本实验结果显示,模型组大鼠胃黏膜组织中 NF- $\kappa$ B、c-Myc mRNA 及 STAT1 蛋白呈现高表达,这与既往相关文献报道<sup>[18,20-21]</sup> 结果一致。柴芍六君汤干预 CAG 肝郁脾虚证大鼠,在促进体质量增长和病变胃黏膜修复方面均起作用。经柴芍六君汤干预后,CAG 肝郁脾虚证大鼠胃黏膜组织 NF- $\kappa$ B mRNA 和 STAT1 蛋白表达均下降,而对 c-Myc mRNA 的调节作用不明显。因此认为,柴芍六君汤通过下调 NF- $\kappa$ B mRNA 和 STAT1 蛋白的表达水平,从而减少炎症反应,抑制细胞过度凋亡,达到治疗 CAG 肝郁脾虚证的目的。

综上所述,柴芍六君汤逆转 CAG 肝郁脾虚证的作用机制可能与抑制 NF- $\kappa$ B/STAT1 异常激活,调控靶基因转录的过程,从而下调 NF- $\kappa$ B mRNA 和 STAT1 蛋白的表达量,抑制胃黏膜细胞凋亡紊乱,改善胃黏膜炎症状态和病理形态,增强胃黏膜屏障修复功能有关。除此之外,是否还涉及更多基因的影响或调控,有待进一步深入研究。

## 参考文献

- [1] 张声生,李乾构,唐旭东,等. 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.
- [2] 黄远程,潘静琳,黄超原,等. 慢性萎缩性胃炎癌前病变证型、证素演变规律文献研究 [J]. 中医杂志,2019,60(20):1778-1783.
- [3] 刘丽,韩远峰,郭益湘. 柴芍六君汤合丹参饮加减治疗慢性萎缩性胃炎疗效观察 [J]. 实用中医药杂志,2017,33(2):123-124.
- [4] 马立华,蔡柏. 柴芍六君加味方抑制慢性萎缩性胃炎患者胃黏膜腺体萎缩及机制研究 [J]. 西部中医药,2019,32(7):80-82.
- [5] 高晓珊. 理气活血解毒法干预慢性萎缩性胃炎癌前病变的临床疗效及机制研究 [D]. 北京:北京中医药大学,2018.
- [6] 冯海一,张友波,李柱虎. C-myc 基因及蛋白在木脂素对人胃癌 MGC-803 细胞抗增殖过程中的作用 [J]. 时珍国医国药,2015,26(2):381-383.
- [7] 周音. IL-27 在胃癌发生发展中的表达及临床意义研究 [D]. 沈阳:中国医科大学,2019.
- [8] LIU Y, XU W, WANG G, et al. Material basis research for Huangqi Jianzhong Tang against chronic atrophic gastritis rats through integration of urinary metabolomics and systems dock [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 223: 1-9. doi: 10.1016/j.jep.2018.05.015.
- [9] 李灿东主编. 中医诊断学 [M]. 北京:中国中医药出版社,2016:180.
- [10] 留甜甜,宋亚刚,田硕,等. 基于中西医临床病症特点的慢性萎缩性胃炎动物模型分析 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(4):777-781.
- [11] 邵义祥. 医学实验动物学教程 [M]. 南京:东南大学出版社,2016:221-224.
- [12] KRAEUTER A, GUEST PC, SARNYAI Z. The open field test for measuring locomotor activity and anxiety-like behavior [J]. Methods Mol Biol, 2019, 1916: 99-103. doi: 10.1007/978-1-4939-8994-2\_9.
- [13] CHEN W, ZHENG R, BAADE PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2):115-132.
- [14] 国家卫生健康委员会. 胃癌诊疗规范(2018年版) [J]. 中华消化病与影像杂志(电子版), 2019, 9(3):118-144.
- [15] 唐承璐,吕小红. 胃苏颗粒联合维酶素治疗慢性萎缩性胃炎的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(7):2002-2005.
- [16] 刘佳,许可,张兰. 肝郁脾虚证动物模型评价方法 [J]. 中医药导报, 2019, 25(23):120-122.
- [17] 汪波. 安胃汤对慢性萎缩性胃炎大鼠 JAK1/STAT3 信号通路的影响 [D]. 南宁:广西中医药大学,2016.
- [18] 章海凤,罗淑瑜,张瑶,等. 热敏灸对慢性萎缩性胃炎模型大鼠 c-myc、survivin、Cyclin D1 的影响 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(3):746-749.
- [19] VALLABHAPURAPU S, KARIN M. Regulation and function of NF- $\kappa$ B transcription factors in the immune system [J]. Ann Rev Immunol, 2009, 27: 693-733. doi: 10.1146/annurev.immunol.021908.132641.
- [20] 张录梅,周熙祥,张秋菊,等. 温胃舒胶囊通过抑制核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 通路减轻慢性胃炎大鼠胃黏膜损伤 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2020, 36(4):297-303.
- [21] 刘欢,谭新华. 胃癌细胞中 STAT1 的表观遗传学调控机制的研究 [J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(6):580-583.
- [22] 易亮,吴艳萍,韩倩,等. pEGFP-N1-HRF3a 重组质粒通过调节 STAT1 的活化诱导非小细胞肺癌细胞的凋亡 [J]. 中国细胞生物学学报, 2020, 42(3):385-391.

# Effect of *Chaishao Liuju Decoction* (柴芍六君汤) on the Expression of NF- $\kappa$ B, c-Myc and STAT1 in Gastric Mucosa of Rats Model with Chronic Atrophic Gastritis of Liver Constraint and Spleen Deficiency Pattern

ZHU Jingru<sup>1</sup>, HUANG Wanyi<sup>2</sup>, YANG Zongbao<sup>3</sup>, GAN Huijuan<sup>1</sup>

1. Research Base of Traditional Chinese Medicine Syndrome, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, 350122; 2. School of Acupuncture and Moxibustion, Fujian University of Traditional Chinese Medicine; 3. School of Medicine, Xiamen University

**ABSTRACT Objective** To explore the possible mechanism of *Chaishao Liuju Decoction* (CSLJD, 柴芍六君汤) in the treatment of chronic atrophic gastritis (CAG) with liver constraint and spleen deficiency pattern. **Methods** Forty-two SD rats were randomly divided into blank group (10 rats) and modeling group (32 rats). In model group, the rat model of CAG with liver constraint and spleen deficiency pattern was replicated by the compound factor modeling method. Thirty successful modelling rats were randomized into model group, vitacoenzyme group and CSLJD group, with 10 rats in each group. The CSLJD group was gavaged with 10 ml/ (kg · d) of 0.51 g/ml CSLJD; vitacoenzyme group was gavaged with 10 ml/ (kg · d) of 24 mg/ml vitacoenzyme suspension; blank group and model group were gavaged with the same volume of sterilized drinking water; all the interventions lasted for 4 weeks. The body mass and pathological changes of gastric mucosa in rats were assessed. The mRNA expression of nuclear transcription factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) and proto-oncogene (c-Myc) and protein expression of transcription-activated protein 1 (STAT1) were detected. **Results** There was no statistically significant difference in the body mass increase of rats between groups ( $P > 0.05$ ). The glands in lamina propria of gastric mucosa in the model group were atrophied, arranged sparsely and disorderly, lost of parietal cells and principal cells, and with more inflammatory infiltration; the expressions of NF- $\kappa$ B and c-Myc mRNA and STAT1 protein were significantly higher than those of the blank group ( $P < 0.01$ ). Compared to those in the model group, the expression of NF- $\kappa$ B mRNA in CSLJD group and the expression of c-Myc mRNA in vitacoenzyme group decreased ( $P < 0.05$ ); the pathological changes of gastric mucosa in both groups were improved with varying degrees; the inflammatory infiltration was alleviated; the expression of STAT1 protein was inhibited ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The expression of NF- $\kappa$ B mRNA in CSLJD group was lower than that in vitacoenzyme group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** CSLJD can improve atrophic gastric mucosa and has therapeutic effect on CAG rats with liver constraint and spleen deficiency pattern. Its mechanism may be related to inhibiting the abnormal activation of NF- $\kappa$ B/STAT1 and down-regulating the overexpression of NF- $\kappa$ B mRNA and STAT1 protein in gastric mucosa.

**Keywords** chronic atrophic gastritis; *Chaishao Liuju Decoction* (柴芍六君汤); liver constraint and spleen deficiency pattern; nuclear transcription factor- $\kappa$ B; proto-oncogene; transcription-activated protein 1

(收稿日期: 2020-10-07; 修回日期: 2021-02-24)

编辑: 王利芬

## 欢迎邮购《中医杂志》过刊

2000、2001 年合订本, 每本 100 元, 2002、2003 年合订本每本 105 元, 2004 年合订本 115 元, 2005 年合订本 125 元, 2007—2010 年合订本每年 140 元。2011 (缺 5、6 期)—2013 年每册 9.80 元, 2014 (缺 21 期)—2017 年 (缺 3、5、15、18 期) 每册 15 元, 2018 年每册 20 元 (缺 5、7、9 期), 2020 年每册 20 元 (缺 7、8、9 期)。2011—2013 年合订本, 每年 4 本, 全年 280 元, 2014、2015、2016、2017 年合订本 (每年 4 本, 缺 2017 年上半年合订本), 全年 400 元。2018、2019、2020 年合订本 (4 本), 600 元。《中医杂志》2006—2008 年增刊每册 40 元。

以上免费邮寄, 如需挂号每件另加 3 元。

欲购者请汇款至北京市东直门内南小街 16 号, 收款人: 中医杂志社

或关注《中医杂志》官方微信 (zyzzgzh) 购买。邮编: 100700, 电话: (010) 64089195。