

实验研究

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.18.015

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

陈泽慧¹, 安静², 魏玥², 贾云飞³, 杨英姿¹, 王菀¹, 杨晋翔^{2*}

1. 北京中医药大学, 北京市朝阳区北三环东路 11 号, 100029; 2. 北京中医药大学第三附属医院; 3. 河南省中医院

摘要 目的 探讨消痞颗粒治疗胃癌前病变的可能作用机制。方法 70 只 Wistar 大鼠随机分为空白组 10 只, 造模组 60 只。造模组采用以 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍溶液每只 5 ml/(kg·d) 灌胃, 配合自由饮用 0.05% 氨水溶液及食含 0.03% 雷尼替丁的颗粒状饲料, 三种因素联合建立胃癌前病变大鼠模型。44 周末将造模成功的 41 只大鼠随机分为模型组 14 只、维酶素组 14 只、消痞颗粒组 13 只。模型组大鼠予生理盐水 3 ml/(kg·d) 灌胃, 维酶素组予维酶素片 0.3 g/(kg·d) 灌胃, 消痞颗粒组予消痞颗粒 9 g/(kg·d) 灌胃, 共给药 12 周。采用 RT-PCR 法检测大鼠胃黏膜组织 miR-21、张力蛋白同源基因 (PTEN) 基因表达, 采用 ELISA 法检测大鼠胃黏膜组织磷酸肌醇 3 激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (AKT) 蛋白表达。结果 各组大鼠胃黏膜组织 miR-21、PTEN 基因表达及 AKT、PI3K 蛋白表达差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。与空白组比较, 模型组和维酶素组 miR-21 基因表达升高, PTEN 基因表达降低 ($P < 0.01$); 模型组、维酶素组、消痞颗粒组 AKT、PI3K 蛋白表达均升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 消痞颗粒组 miR-21 基因表达降低, PTEN 基因表达升高, AKT、PI3K 蛋白表达均降低 ($P < 0.01$), 而维酶素组各指标与模型组比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 消痞颗粒可能通过抑制胃黏膜组织 miR-21 异常表达来调控 PTEN 基因, 从而对 PI3K/AKT 信号通路进行干预来逆转胃癌前病变的发生。

关键词 胃癌前病变; 消痞颗粒; 胃黏膜; 张力蛋白同源基因; 磷酸肌醇 3 激酶; 蛋白激酶 B

胃癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一, 其发病率、死亡率在全球居各类癌症前列, 我国是胃癌的高发国家^[1]。胃癌前病变 (PLGC) 是指具有恶性转化可能的胃黏膜病理改变, 通常包括胃黏膜萎缩、肠上皮化生、上皮内瘤变 (异型增生)。上皮内瘤变是当前公认的最重要的胃癌前病变, 是胃癌防治的关键环节^[2]。因此, 对 PLGC 进行有效干预是防控胃癌的重要手段。我们认为, PLGC 基本病机为本虚标实, 虚以脾胃气虚或阴虚为主, 实为瘀血、热毒内阻。临床研究^[3]表明, 以益气化瘀解毒立法的消痞颗粒对异型增生的细胞异型性和结构异型性具有明显改善作用, 并且动物实验^[4-5]证实, 消痞颗粒可提高 PLGC 状态下人第 10 号染色

体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因 (PTEN) 蛋白的低表达, 并且可以逆转磷酸肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/AKT) 信号通路异常激活。基于上述研究, 本研究观察消痞颗粒对 PLGC 模型大鼠胃黏膜组织 miR-21、PTEN 基因表达及 PI3K、AKT 蛋白表达的影响, 探讨其治疗 PLGC 的可能机制。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 Wistar 大鼠 70 只, 4 周龄, 体重 110 ~ 130 g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 实验动物生产许可证号: SCXK (京) 2016-0011。于北京中医药大学科研中心实验动物室屏蔽环境下分笼饲养, 每笼 5 只, 正常光照条件, 明暗周期 12 h/12 h, 室温 (25 ± 3) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 (50 ± 5) %。

1.2 药物及饲料

消痞颗粒组成: 党参 10 g, 百合 30 g, 乌药

基金项目: 国家自然科学基金面上项目纵向课题后续研究计划 (81173232); 北京中医药大学基本科研业务费项目 (2018-JYBZZ-XS232, 2017-JYB-JS114)

* 通讯作者: yjx571102@163.com

10 g, 香橡皮 10 g, 丹参 15 g, 三七粉 3 g, 莪术 5 g, 蒲公英 15 g, 白花蛇舌草 30 g, 由北京中医药大学第三附属医院药剂科配置成中药颗粒剂, 规格: 12 g/袋, 每克颗粒剂相当于生药 9 g, 用 SPF 级动物饮用水配置成含生药 3 g/ml 的药液备用。盐酸雷尼替丁胶囊, 湖南汉森制药股份有限公司生产, 0.15 g/粒, 批号: 1805103。由北京华阜康生物科技股份有限公司制作为含 0.03% 雷尼替丁的颗粒状大鼠饲料, 实验动物饲料许可证号: SCXK (京) 2014-0008。维酶素片, 乐普恒久远药业有限公司生产, 批号: 20170215, 0.2 g/片, 用 SPF 级动物饮用水配制成浓度为 0.15 g/ml 的维酶素混悬液, 滤去糖衣沉淀后备用。

1.3 主要试剂及仪器

N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍 (MNNG, 货号: M0527), 日本东京化成工业株式会社生产, 5 g/瓶, 配置成浓度为 1 g/L 的母液, 4℃ 冰箱保存, 使用时用 SPF 级动物饮用水稀释为 200 μg/ml 的溶液。氨水 (货号: A112079), 北京翰隆达科技发展有限公司; TRIzol® Reagent (货号: 15596-018)、M-MLV 反转录酶 (货号: AM2044)、Fast SYBR® Green Master Mix Bulk Pack (货号: 4385614), 均为 Invitrogen 公司产品; 三氯甲烷 (货号: 10006818)、异丙醇 (货号: 80109218)、无水乙醇 (货号: 10009218), 北化凯明化工有限公司; dNTPs (货号: GD1102-4 ml)、Agarose 琼脂糖 (货号: GA005-400G)、GenGreen 核酸染料 (货号: GG1301-500 μl), Genview 公司; 100 bp LadderI (货号: NMW001), 北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司; 大鼠 PI3K 酶联免疫试剂盒 (货号: CSB-E08418r), 大鼠 AKT 酶联免疫试剂盒 (货号: CSB-E12655r), 武汉华美生物工程有限公司; 水合氯醛 (货号: 20160715), 上海国药集团化学试剂有限公司。

紫外分光光度计 (Quwell 公司, 型号: Q-5000); 凝胶成像分析仪 (北京市六一仪器厂, 型号: WD-9413); 双稳数显电泳仪 (北京东林昌盛生物科技有限责任公司, 型号: DG-III); 荧光定量 PCR 仪 (ABI 公司, 型号: ABI PRISM 7500); 离心机 (Sigma 公司, 型号: 3K18); 普通 PCR 仪 (ABI 公司, 型号: 9600); 标准规格酶标仪 (Thermo Scientific 公司, 型号: Multiskan MK3); 自动洗板机 (北京拓普分析仪器有限公司, 型号: DEM-3); 电热恒温培养箱 (黄石市恒丰医疗器械有限公司, 型号: SKP-02.600)。

2 方法

2.1 造模方法

参照团队前期建立慢性萎缩性胃炎及胃癌前病变大鼠模型的方法^[8], 本研究采用多因素复合造模方法, 具体如下: 实验大鼠在屏蔽环境下分笼饲养, 每日给予新鲜的 0.05% 氨水溶液自由饮用, 每 24 h 更换 1 次; 同时每日给予 200 μg/ml 的 MNNG 溶液灌胃 1 次, 每只灌胃量为 5 ml/kg。每日自由进食含 0.03% 雷尼替丁的颗粒状 SPF 级大鼠饲料, 期间不再给予任何其他食物, 直至造模成功。PLGC 大鼠模型成功判定参照《中国慢性胃炎共识意见 (2017 年, 上海)》^[9] 中的病理诊断标准, 于实验第 30 周末起每隔两周按照计算机生成随机数字法抽取模型组 2 只大鼠进行胃黏膜组织病理学 HE 染色检查, 若 2 只大鼠胃黏膜病理均发现异型增生则表示模型建立成功, 停止造模。

2.2 分组及给药

将 70 只 SPF 级雄性 Wistar 大鼠根据体重因素按照计算机生成随机数字法分组, 其中空白组 10 只, 余 60 只进行模型建立。空白组给予 SPF 级动物饮用水及普通大鼠饲料喂养直至实验结束。造模组 60 只直至第 44 周末两只大鼠胃黏膜病理均出现异型增生为造模成功。从第 45 周开始将造模成功的 41 只大鼠根据随机数字法分为模型组 14 只、维酶素组 14 只、消痞颗粒组 13 只。模型组予生理盐水 3 ml/kg 灌胃, 维酶素组予维酶素混悬液 2 ml/kg (含维酶素 0.3 g/kg) 灌胃, 消痞颗粒组予消痞颗粒混悬液 3 ml/kg (含生药 9 g/kg) 灌胃。各组大鼠均每日灌胃 1 次, 持续 12 周, 所有实验大鼠于第 56 周末处死。

2.3 观察指标及方法

干预结束后, 空白组存活 9 只, 模型组 12 只, 维酶素组 11 只, 消痞颗粒组 12 只, 采用随机数字表法抽取空白组 8 只, 模型组、维酶素组、消痞颗粒组每组各 10 只进行指标检测。大鼠禁食不禁水 24 h, 腹腔内注射 10% 水合氯醛 0.4 ml/100 g 进行麻醉, 麻醉后摘除全胃, 迅速沿胃大弯剪开, PBS 缓冲液漂洗胃内容物, 取胃窦部胃黏膜组织, 迅速置于液氮内冷冻, 储存于 -80℃ 冰箱内备用。

2.3.1 RT-PCR 法检测胃黏膜组织中 miR-21、PTEN 基因表达 从 GenBank 获得目的基因 mRNA 的全长序列, 利用引物和探针设计软件 Primer 5.0 设计引物序列, 并通过 BLAST 验证引物序列具有

特异性,引物均委托鼎国昌盛生物技术有限责任公司合成。miR-21 以 U6 为内参照, PTEN 以 GAPDH 为内参照。miR-21: 上游 CGGCTAGCTTAT-CAGACTGAT, 下游 CAGTGCCTGTCTGAGT, 产物长度: 68 bp; U6: 上游 CGGCTAGCTTAT-CAGACTGAT, 下游 CAGTGCCTGTCTGAGT, 产物长度: 102 bp; PTEN: 上游 CATTGCCTGTGTGT-GGTGAC, 下游 TGTCATTATCCGCACGCTCT, 产物长度: 201 bp; GAPDH: 上游 GGCAAGTTCAACG-GCACAG, 下游 GCCAGTAGACTCCACGACAT, 产物长度: 141 bp。PCR 反应采用一步法, 95℃ 预变性 2 min; 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火 30 s, 35 次循环; 72℃ 延伸 30 s。反应完成后基因相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算各样本目标基因表达。

2.3.2 ELISA 法检测胃黏膜组织中 PI3K、AKT 蛋白表达 取以上样品常温解冻, 混匀后于 6000 ~ 10000 r/min 4℃ 离心 (离心半径 13.5 cm) 30 s, 取上清, 加入 100 μ l 样品至 96 孔反应板中孵育, 具体方法按照试剂盒操作步骤进行, 终止液终止后上机检测反应孔中的吸光值 (OD 值), 根据样本 OD 值, 由标准曲线查出相应的浓度。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 23.0 软件进行数据分析, 计量资料符合正态分布以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 方差齐时用 LSD 法, 方差不齐时用 Dunnett T^3 法。两组计量资料相关分析采用双变量相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠胃黏膜组织中 miR-21、PTEN 基因表达比较

表 1 示, 各组间大鼠 miR-21 表达差异有统计学意义 ($F = 85.762, P < 0.001$)。空白组与模型组、消痞颗粒组、维酶素组进行两两比较, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.001$); 消痞颗粒组与模型组、维酶素组进行两两比较, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.001$); 模型组与维酶素组组间比较差异无统计学意义 ($P = 1.000$)。各组间大鼠 PTEN 基因表达差异有统计学意义 ($F = 42.478, P < 0.001$); 空白组与模型组、消痞颗粒组、维酶素组进行两两比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.001, P = 0.001, P = 0.034$); 消痞颗粒组与模型组、维酶素组进行两两比较, 差异均有统计学意义

(均 $P < 0.001$); 模型组与维酶素组组间比较差异无统计学意义 ($P = 0.409$)。

表 1 各组大鼠胃黏膜组织中 miR-21、PTEN 基因表达比较 ($2^{-\Delta\Delta Ct}, \bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	miR-21	PTEN
空白组	8	0.921 $\pm$ 0.183	1.421 $\pm$ 0.361
模型组	10	1.449 $\pm$ 0.264*	0.761 $\pm$ 0.179*
维酶素组	10	1.427 $\pm$ 0.250*	0.980 $\pm$ 0.395*
消痞颗粒组	10	0.321 $\pm$ 0.041* Δ $\blacktriangle$	2.451 $\pm$ 0.740* Δ $\blacktriangle$

注: PTEN, 张力蛋白同源基因; 与空白组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与维酶素组比较, $\blacktriangle P < 0.01$

3.2 各组大鼠胃黏膜组织中 PI3K、AKT 蛋白表达比较

表 2 示, 各组间大鼠 PI3K 蛋白表达差异有统计学意义 ($F = 128.697, P < 0.001$); 空白组与模型组、消痞颗粒组、维酶素组进行两两比较, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.001, P = 0.010, P < 0.001$); 消痞颗粒组与模型组、维酶素组进行两两比较, 差异均具有统计学意义 (均 $P < 0.001$); 模型组与维酶素组组间比较差异无统计学意义 ($P = 0.310$)。各组间大鼠 AKT 蛋白表达差异具有统计学意义 ($F = 15.312, P < 0.001$); 空白组与模型组、消痞颗粒组、维酶素组进行两两比较, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.001, P = 0.033, P = 0.006$); 消痞颗粒组与模型组、维酶素组进行两两比较, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.001, P = 0.022$); 模型组与维酶素组组间比较差异无统计学意义 ($P = 0.745$)。

表 2 各组大鼠胃黏膜组织中 PI3K、AKT 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	PI3K (pg/ml)	AKT (ng/ml)
空白组	8	114.988 $\pm$ 5.677	1.954 $\pm$ 0.716
模型组	10	1750.605 $\pm$ 332.724*	35.400 $\pm$ 6.896*
维酶素组	10	1439.032 $\pm$ 216.406*	27.600 $\pm$ 17.455*
消痞颗粒组	10	196.655 $\pm$ 54.345* Δ $\blacktriangle$	6.564 $\pm$ 3.064* Δ $\blacktriangle$

注: PI3K, 磷酸肌醇 3 激酶; AKT, 蛋白激酶 B; 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与维酶素组比较, $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$

3 讨论

中医学认为, 慢性萎缩性胃炎的病因不外乎外感六淫、饮食不节、情志不畅、劳逸失调、素体脾虚等引起, 病位主要在胃, 与脾、肝密切相关。由于自然状态下从正常胃黏膜至胃黏膜萎缩、肠上皮化生、异型增生的过程为漫长消耗性变化, 因此

PLGC 的病机总属本虚标实，虚实夹杂。本病的正虚始终贯穿整个病程中，而气滞、郁热、瘀血、痰湿等标实因素由于不同的病程阶段也呈差异性分布。尤其在疾病后期，久病入络，由气入血，胃络瘀阻；加之胃属阳明燥土，各种病理因素导致胃气壅滞，郁滞内停，极易化热，实邪久郁而酿成热毒，进一步促使血肉败坏，诱发癌变。由此可见，血瘀、热毒的产生是疾病发展甚至恶变的关键病理环节；针对上述病机，在固护脾胃的基础上及时阻断血瘀、热毒的促恶化作用是治疗 PLGC 的主要方法。本实验选用以百合乌药汤化裁而成的消痞颗粒进行干预，方中党参甘平，可补中益气，生津养血；百合甘微寒，能补气润燥、养阴安神。上述二味行君药之司，针对 PLGC 脾胃虚损的病机补气健脾、益阴生津。乌药辛温，行气止痛；香橼皮疏肝理气，和中化痰，二味共奏调畅脾胃气机之功，配伍补益药使补而不滞，又可助活血化瘀。丹参苦寒，活血祛瘀，凉血消痈；三七性温、味甘微苦，可化瘀止血，活血定痛；莪术破血祛瘀，行气止痛，此三味可消胃络瘀痼，加快胃黏膜血液微循环，祛瘀生新。白花蛇舌草与蒲公英苦寒，可清热利湿，解毒消痈，针对 PLGC 湿热毒蕴的病机达到化湿、解毒、抗癌的功效。由此可见，消痞颗粒在补气养阴的基础上配伍散结理气、活血化瘀、清热解毒之要药，以达益气化瘀解毒之功。

PLGC 病因复杂，其发病机制尚未完全阐明。近年来，miR-21-PTEN-PI3K/AKT 信号通路轴在胃癌中的作用已得到广泛认可^[8-10]。研究^[11-12]表明，miR-21 可通过靶向抑癌基因 PTEN 来调控肿瘤细胞的增殖和凋亡，在胃癌中作为癌症启动子基因发挥着关键作用，与胃癌预后不良相关。PI3K/AKT 信号通路在细胞生长、增殖、代谢和血管生成等多种细胞功能的调节中起着关键作用。证据显示，PI3K/AKT 通路失调可促使胃癌的发生，导致相关基因出现显著过度表达^[13]，其激活通常与 PTEN 失活密切相关^[14]。miR-21 异常表达可以抑制 PTEN 基因表达，PTEN 基因的低表达降低了其抗磷脂酰肌醇 3, 4, 5-三磷酸 (PIP3) 的脂质磷酸酶活性，从而导致 AKT 活化增加，AKT 通过下游多种途径对靶蛋白磷酸化发挥抗凋亡作用^[15]。因此，在胃癌中通常呈现 miR-21 高表达→抑癌基因 PTEN 低表达→PI3K/AKT 信号通路轴异常激活的连锁反应。

本研究结果显示，模型组大鼠胃黏膜组织 miR-21 表达异常增高，维酶素组大鼠与模型组大

鼠在 miR-21 表达差异无统计学意义，而消痞颗粒组大鼠 miR-21 表达显著降低，且低于空白组，说明消痞颗粒在抑制 miR-21 方面明显优于维酶素。此外，对 PTEN 基因及 AKT、PI3K 蛋白表达的检测证实消痞颗粒可显著提高 PTEN 基因表达，抑制 AKT、PI3K 蛋白表达，疗效优于维酶素。值得注意的是，本实验发现消痞颗粒组大鼠的 miR-21 表达较空白组大鼠更低，PTEN 基因表达较空白组大鼠更高；而 PI3K 与 AKT 蛋白表达不及空白组低，并非与 miR-21、PTEN 基因呈现完全一致的表达状态，表明消痞颗粒对于 miR-21、PTEN 基因的干预作用优于 PI3K/AKT 信号通路，推测 miR-21、PTEN 基因可能是消痞颗粒直接调控的靶点，而与 miR-21、PTEN 基因表达相关的 PI3K/AKT 信号通路则体现了消痞颗粒的间接调控作用，其机制需进一步研究。

综上所述，消痞颗粒可能是通过对 miR-21 的下调，进一步解除对 PTEN 基因表达抑制，恢复 PTEN 基因活性，从而减少 PIP3 信号传导来降低 AKT 活化，阻碍细胞抗凋亡作用来实现逆转 PLGC、预防胃癌的目的。

参考文献

- [1] 陈万青, 张思维, 曾红梅, 等. 中国 2010 年恶性肿瘤发病与死亡 [J]. 中国肿瘤, 2014, 23 (1): 1-10.
- [2] 张北华, 蔡毅东, 王萍, 等. 胃黏膜定标活检技术临床应用共识 (2018) [J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38 (12): 1496-1500.
- [3] 李军祥, 赵凤志, 田德录, 等. 消痞灵冲剂对人胃粘膜癌前期病变影响的光镜、电镜观察 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21 (11): 691-693.
- [4] 魏玥, 杨晋翔, 安静, 等. 益气化瘀解毒法对慢性萎缩性胃炎伴异型增生大鼠 PI3K 的影响 [J]. 现代中医临床, 2018, 25 (2): 31-34.
- [5] 安静. 益气化瘀解毒法对慢性萎缩性胃炎伴异型增生大鼠干预的实验研究及中药治疗的系统评价 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [6] 魏玥, 杨晋翔, 李志钢, 等. N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍胃癌前病变大鼠造模联合因素的探讨 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2011, 19 (2): 111-112.
- [7] 房静远, 杜奕奇, 刘文忠, 等. 中国慢性胃炎共识意见 (2017 年, 上海) [J]. 胃肠病学, 2017, 22 (11): 670-687.
- [8] QIANG Z, MENG L, YI C, et al. Curcumin regulates the miR-21/PTEN/Akt pathway and acts in synergy with PD98059 to induce apoptosis of human gastric cancer MGC-803 cells [J]. J Int Med Res, 2019, 47 (3): 1288-

1297.

[9] WANG P, GUAN Q, ZHOU D, et al. miR-21 Inhibitors modulate biological functions of gastric cancer cells via PTEN/PI3K/mTOR pathway [J]. DNA Cell Biol, 2018, 37 (1): 38–45.

[10] ZHOU H, LIU H, JIANG M, et al. Targeting microRNA-21 suppresses gastric cancer cell proliferation and migration via PTEN/Akt signaling axis [J]. Cell Transplant, 2019, 28(3): 306–317.

[11] WANG YN, XU F, ZHANG P, et al. MicroRNA-575 regulates development of gastric cancer by targeting PTEN [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 113: 108716. doi: 10.1016/j.biopha.2019.108716.

[12] LIU S, TIAN Y, ZHU C, et al. High miR-718 suppress-

es phosphatase and tensin homolog (PTEN) expression and correlates to unfavorable prognosis in gastric cancer [J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 5840–5850. doi: 10.12659/MSM.909527.

[13] RIQUELME I, TAPIA O, ESPINOZA JA, et al. The gene expression status of the PI3K/AKT/mTOR pathway in gastric cancer tissues and cell lines [J]. Pathol Oncol Res, 2016, 22(4): 797–805.

[14] SPANGLE JM, ROBERTS TM, ZHAO JJ. The emerging role of PI3K/AKT-mediated epigenetic regulation in cancer [J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2017, 1868 (1): 123–131.

[15] PULIDO R. PTEN inhibition in human disease therapy [J]. Molecules, 2018, 23(2): 285.

Effect of *Xiaopi Granules* (消痞颗粒) on miR-21-PTEN-PI3K/AKT Signaling Pathway in Gastric Mucosa Tissue of Precancerous Lesions of Gastric Cancer Model Rats

CHEN Zehui¹, AN Jing², WEI Yue², JIA Yunfei³, YANG Yingzi¹, WANG Wan¹, YANG Jinxiang²

1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029; 2. The Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine; 3. Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine

ABSTRACT **Objective** To explore the possible mechanism of *Xiaopi Granules* (消痞颗粒) in treating precancerous lesions of gastric cancer (PLGC). **Method** A total of 70 Wistar rats were randomly divided into a blank group of 10 rats, and 60 rats for making models. The modeling group is made by gavage with 200 µg/ml of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine solution 5 ml/(kg·d) each, free drinking of 0.05% ammonia solution and pellet feed containing 0.03% Ranitidine. The 3 factors were combined to establish a rat model of PLGC. At the end of the 44th week, 41 successful modeling rats were randomly divided into a model group (14 rats), a vitacoenzyme group (14 rats), and a *Xiaopi Granules* group (13 rats). Rats in the model group were given normal saline 3 ml/(kg·d) by gavage, the vitacoenzyme group was gavage with vitacoenzyme tablets 0.3 g/(kg·d), and the *Xiaopi Granules* group was gavage with *Xiaopi Granules* 9 g/(kg·d) for 12 weeks. RT-PCR was used to detect the expression of miR-21 and PTEN gene in gastric mucosa of rats, and phosphoinositide 3-kinase (PI3K), protein kinase B (AKT) protein expression in gastric mucosa of rats was detected by ELISA. **Results** The differences in the expression of miR-21, PTEN gene and AKT, PI3K protein in gastric mucosal tissue of rats in each group were statistically significant ($P < 0.01$). Compared with the blank group, the expression of miR-21 gene in the model group and the vitacoenzyme group increased, and the expression of PTEN gene decreased ($P < 0.01$); the expression of AKT and PI3K protein in the model group, the vitacoenzyme group and the *Xiaopi Granules* group all increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the expression of miR-21 gene in the *Xiaopi Granules* group was decreased, the expression of PTEN gene was increased, and the protein expression of AKT and PI3K were decreased ($P < 0.01$), but there was no statistical difference in all the indicators between the model group and vitacoenzyme group ($P > 0.05$). **Conclusion** *Xiaopi Granules* may regulate the PTEN gene by inhibiting the abnormal expression of miR-21 in gastric mucosal tissue, thereby intervening the PI3K/AKT signaling pathway to reverse the occurrence of precancerous lesions of gastric cancer.

Keywords precancerous lesions of gastric cancer; *Xiaopi Granules* (消痞颗粒); gastric mucosa; tensin homologous gene; phosphoinositide 3-kinase; protein kinase B

(收稿日期: 2019-11-29; 修回日期: 2020-04-23)

编辑: 邓 媛