

# 化痰消瘀方对胃癌前病变模型大鼠Notch1、 $\beta$ -catenin及PTEN表达的影响

郭亚云, 魏睦新

郭亚云, 魏睦新, 南京医科大学第一附属医院中医科 南京医科大学中西医结合研究所 江苏省南京市 210029

郭亚云, 在读硕士, 主要从事中西医结合治疗消化系统疾病的研究。

江苏省中医药局基金资助项目, No. 2011 EE11

作者贡献分布: 本课题由郭亚云与魏睦新共同设计; 研究过程由郭亚云完成; 数据分析由郭亚云完成; 写作由郭亚云完成; 魏睦新进行审改。

通讯作者: 魏睦新, 教授, 博士, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院中医科, 南京医科大学中西医结合研究所. weimuxin@njmu.edu.cn

电话: 025-68136267

收稿日期: 2014-11-04 修回日期: 2014-11-27

接受日期: 2014-12-05 在线出版日期: 2015-01-18

## Effect of Huatan Xiaoyu Fang on expression of Notch1, $\beta$ -catenin and PTEN in precancerous lesions of gastric cancer in rats

Ya-Yun Guo, Mu-Xin Wei

Ya-Yun Guo, Mu-Xin Wei, Department of Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University; Institute of Combined Traditional Chinese and Western Medicine of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: the Program of Jiangsu Province Bureau of Traditional Chinese Medicine, No. 2011 EE11

Correspondence to: Mu-Xin Wei, Professor, Department of Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University; Institute of Combined Traditional Chinese and Western Medicine of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. weimuxin@njmu.edu.cn

Received: 2014-11-04 Revised: 2014-11-27

Accepted: 2014-12-05 Published online: 2015-01-18

## Abstract

**AIM:** To observe the effect of Huatan Xiaoyu Fang (HTXY) on the expression of Notch1,  $\beta$ -catenin and PTEN in precancerous lesions of gastric cancer (PLGC) in rats.

**METHODS:** PLGC was induced by a complex method, in which *N*-methyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine was mainly used. After successful modeling, the model rats were randomly divided into a model group, low-, medium- and high-dose

HTXY groups, and a vitacoenzyme group, with 15 rats in each group. Fifteen normal rats comprised a blank control group. Eight weeks later, the rats' general conditions, the pathological changes in the gastric mucosa, and the expression of Notch1,  $\beta$ -catenin and PTEN were assessed.

**RESULTS:** Compared with the blank control group, the expression of Notch1 and  $\beta$ -catenin significantly decreased ( $P < 0.01$ ) and that of PTEN increased ( $P < 0.05$ ) in the model group. Compared with the model group, the expression of Notch1 and  $\beta$ -catenin significantly increased ( $P < 0.05$ ) and that of PTEN decreased ( $P < 0.01$ ) in each HTXY group and the vitacoenzyme group. Compared with the vitacoenzyme group, the expression of Notch1 and  $\beta$ -catenin decreased more significantly in the high-dose HTXY group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** HTXY can significantly improve the pathological changes in the gastric mucosa of rats with PLGC possibly by up-regulating the expression of Notch1 and  $\beta$ -catenin and down-regulating the expression of PTEN.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Huatan Xiaoyu Fang; Precancerous lesions of gastric cancer; Notch1;  $\beta$ -catenin; PTEN

Guo YY, Wei MX. Effect of Huatan Xiaoyu Fang on expression of Notch1,  $\beta$ -catenin and PTEN in precancerous lesions of gastric cancer in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(2): 249-255 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/249.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i2.249>

## 摘要

**目的:** 观察化痰消瘀方对胃癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)模型大鼠胃黏膜Notch1、 $\beta$ -catenin及PTEN蛋白表达的影响, 探讨化痰消瘀方逆转PLGC的机制, 为临床上胃癌的早期诊断和治疗提供新的途径。

## ■背景资料

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一, 但是, 胃癌病因复杂, 较难实施针对性的一级预防; 作为胃癌二级预防的重要内容, 因此, 对胃癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)的诊断与治疗则备受重视。

## ■同行评议者

姚登福, 教授, 南通大学附属医院

## ■ 研发前沿

PLGC 的发生发展是多种促癌基因和抑癌基因失调的结果。作为促癌基因 *Notch1*、*β-catenin*，抑癌基因 *PTEN*，其表达水平可因外界因素的影响而受到不同水平的调节。选择有效的药物干预，抑制促癌基因表达，提升抑癌基因水平，对抑制 PLGC 向胃癌的发展进程有重要意义。

**方法：**SD大鼠100只随机分为空白组17只，造模组83只，采用*N*-甲基-*N'*-硝基-*N*-亚硝基胍综合饥饿失常制备PLGC大鼠模型。造模成功后，空白组随机抽取15只，造模组抽取75只随机分为模型组、中药低、中、高剂量组和维酶素组，各15只，分别给药干预8 wk，观察各组大鼠一般情况和胃黏膜病理改变，并采用免疫组织化学法检测大鼠胃黏膜*Notch1*、*β-catenin*及*PTEN*的表达。

**结果：**较之空白组，模型组大鼠*Notch1*、*β-catenin*表达显著增高，差异有统计学意义( $P<0.01$ )，*PTEN*表达显著降低，差异有统计学意义( $P<0.05$ )；较之模型组，化痰消癥方各剂量组与维酶素组大鼠*PTEN*表达显著升高，*Notch1*、*β-catenin*表达显著下降，差异有统计学意义( $P<0.05$ )；且化痰消癥方高剂量组下调*Notch1*、*β-catenin*表达作用优于维酶素组( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。

**结论：**中药化痰消癥方可显著改善大鼠胃黏膜组织病理学状况，逆转PLGC，其机制可能是通过上调*PTEN*表达、下调*Notch1*、*β-catenin*表达，从而促使细胞增殖与凋亡的状态平衡而发挥对大鼠PLGC的治疗作用。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词：**化痰消癥方；胃癌前病变；*Notch1*；*β-catenin*；*PTEN*

**核心提示：**中药化痰消癥方可显著改善大鼠胃黏膜组织病理学状况，逆转胃癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)，其机制可能是通过上调*PTEN*表达、下调*Notch1*、*β-catenin*表达，从而促使细胞增殖与凋亡的状态平衡而发挥对大鼠PLGC的治疗作用。

郭亚云, 魏睦新. 化痰消癥方对胃癌前病变模型大鼠*Notch1*、*β-catenin*及*PTEN*表达的影响. 世界华人消化杂志 2015; 23(2): 249-255 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/249.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i2.249>

## 0 引言

1978年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)将慢性萎缩性列为胃癌的癌前状态，在其基础上伴发的不完全型肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)和/或中、重度异型增生(dysplasia, Dys)或上皮内瘤变(intraepithelial neoplasia, IN)则被视为癌前病变<sup>[1-3]</sup>。胃癌是最常见的恶性肿瘤之一，其发病率呈逐年上升趋势，胃癌的病因及发

病机制仍不完全清楚。目前，普遍认为胃癌及癌前病变的发生发展是多阶段、多基因、多因素参与的复杂过程<sup>[4]</sup>，其发展过程涉及多种癌基因的激活和抑癌基因的失活<sup>[5]</sup>。

临床研究已证实中药化痰消癥方在逆转胃癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)方面疗效显著<sup>[6-8]</sup>。本研究旨在通过动物实验，利用免疫组织化学法，观察该方对大鼠*Notch1*、*β-catenin*、*PTEN*等基因表达的影响，探索其逆转PLGC的作用机制，为早期诊断及治疗胃癌提供更有利的依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 6 wk ♂ 清洁级SD大鼠100只，体质量200 g ± 20 g，南京医科大学实验动物中心提供，动物许可证号：SYXK(苏)2008-0007。化痰消癥方由陈皮、半夏、半枝莲、猫爪草、鸡内金、紫丹参、薏苡仁、蒲黄粉、蒲公英等中药组成，以上药物各2 kg蒸馏水浸泡2 h后，水煎30 min，沸腾后保温10 min，取上清，药渣再次加水，同样方法煎煮和取上清液；合并、过滤，调节浓度至1 kg/L，分装-80 °C冷冻保存，备用。以上由南京医科大学中西医结合研究所制剂室提供。维酶素片0.2 g，北海阳光药业有限公司生产，批号：120813，国药准字：H45021183，研碎制成0.1 g/mL的混悬液。*N*-甲基-*N'*-硝基-*N*-亚硝基胍(*N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine, MNNG)5 g，购自日本东京化成工业株式会社，批号：MV340-MJ，EC编号：200-730-1；雷尼替丁0.15 g，江苏黄河药业股份有限公司产品，生产批号：121119，国药准字：H32025011；*β-catenin*、*PTEN*兔多克隆抗体，*β-catenin*、*PTEN* SP免疫组织化学试剂盒由武汉博士德生物工程有限公司提供；*Notch1*试剂由Cell Signaling Technology, Inc(CST)公司提供。

## 1.2 方法

**1.2.1 动物分组：**100只大鼠适应性喂养1 wk，按随机数字表法分为空白组17只、造模组83只。采用MNNG综合法制备模型<sup>[9,10]</sup>。待确定造模成功后，随机抽取空白组15只，造模组75只。造模组按随机数字表法分为模型组、中药高、中、低剂量组及维酶素组，每组15只，继续进行药物干预。

**1.2.2 PLGC大鼠模型建立：**MNNG综合饥饿失常及高盐水灌胃协同造模。MNNG以蒸馏水配置成1 g/L，4 °C避光保存，每日配制100 μg/mL

表 1 各组大鼠体质量变化情形 (mean  $\pm$  SD)

| 分组     | 给药前(n) | 给药前平均<br>体质量(g)    | 给药后(n) | 给药后平均<br>体质量(g)                  |
|--------|--------|--------------------|--------|----------------------------------|
| 空白组    | 15     | 472.40 $\pm$ 24.88 | 15     | 527.13 $\pm$ 21.26               |
| 模型组    | 15     | 412.27 $\pm$ 32.65 | 14     | 388.10 $\pm$ 28.53               |
| 维酶素组   | 15     | 409.31 $\pm$ 25.19 | 15     | 457.66 $\pm$ 23.20 <sup>b</sup>  |
| 中药高剂量组 | 15     | 411.53 $\pm$ 26.36 | 15     | 482.03 $\pm$ 25.79 <sup>bc</sup> |
| 中药中剂量组 | 15     | 407.84 $\pm$ 30.78 | 13     | 478.72 $\pm$ 25.40 <sup>bc</sup> |
| 中药低剂量组 | 15     | 410.70 $\pm$ 23.04 | 14     | 463.22 $\pm$ 25.21 <sup>b</sup>  |

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 模型组, <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 维酶素组.

置于棕色瓶中, 大鼠自由饮用. 标准大鼠饲料中加入0.03%雷尼替丁, 饥饱失常法饲喂, 即进食2 d、禁食1 d. 禁食当天予15%氯化钠2 mL/只灌胃; 空白组于同1 d予蒸馏水2 mL/只灌胃. 分别于第10周、15周、20周随机抽取造模组大鼠各2只处死, 剖腹取胃, 将胃沿胃大弯切开, 依次从胃体、胃窦处分别取材, 40 g/L中性甲醛液固定, 梯度乙醇脱水, 常规石蜡包埋, 并作5  $\mu$ m厚的连续切片, 常规苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色, 中性树胶封片, 光镜下观察造模情况. 于实验第20周观察到胃黏膜出现IM、IN, 确定造模成功.

1.2.3 给药: 空白组正常喂养; 模型组予蒸馏水2 mL灌胃, 1次/d; 中药高剂量组按3 mL/kg予制备好的化痰消癆方灌胃, 1次/d; 中剂量组按2 mL/kg予化痰消癆方灌胃, 1次/d; 低剂量组按1 mL/kg灌胃, 1次/d; 维酶素组按10 mL/kg予制备好的维酶素混悬液灌胃, 1次/d. 干预8 wk后将动物全部处死, 取胃窦及胃体组织, 检测相关指标.

1.2.4 检测指标: 大鼠一般情况: 观察实验造模和治疗过程中各组大鼠药物干预前后的体质量变化及其他一般情况.

胃黏膜病理检测: 大鼠处死后迅速剖腹取胃, 后于胃窦部取材, 予40 g/L甲醛溶液固定, 石蜡包埋、切片, 予HE染色. 判定各组大鼠PLGC的发生例数, 以胃黏膜出现IM、IN判定为PLGC.

免疫组织化学法检测Notch1、 $\beta$ -catenin及PTEN: 严格按照SP免疫组织化学试剂盒操作步骤进行. 光学显微镜下选择Notch1、 $\beta$ -catenin及PTEN阳性表达部位采集照片.

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件包进行统计学处理. 计量资料以mean  $\pm$  SD表示, 两组间采用 $t$ 检验; 计数资料采用 $\chi^2$ 检验. 以 $P < 0.05$ 表示

差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 大鼠一般情况 空白组大鼠被毛光泽, 体型健硕, 活动及进食良好, 粪便呈颗粒状, 无死亡; 模型组大鼠被毛稀疏、枯槁, 体型瘦削, 活动迟缓, 进食少, 粪便偏软、时不成形, 死亡1只; 化痰消癆方高中低剂量组大鼠一般情况均较模型组有所好转, 体型逐渐恢复, 活动及进食增加, 粪便逐渐正常, 其中中药高、中剂量组好转明显, 中剂量组死亡2只, 低剂量组死亡1只; 维酶素组大鼠一般情况尚可, 体形恢复、活动及进食增加不明显, 粪便时偏软.

药物干预后, 化痰消癆方各剂量组及维酶素组大鼠体质量较模型组显著增加( $P < 0.01$ ); 化痰消癆方高、中剂量组体质量较维酶素组增加更为显著( $P < 0.05$ ). 表明化痰消癆方对大鼠体质量增长作用显著, 且高、中两个剂量组效果优于维酶素组(表1).

2.2 Notch1表达情况 与空白组比较, 模型组大鼠胃黏膜Notch1表达水平显著上升, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 化痰消癆方高、中、低剂量组与维酶素组大鼠Notch1表达水平均明显降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ). 与维酶素组比较, 化痰消癆方高剂量组Notch1表达水平下降更为显著, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )(表2).

Notch1蛋白免疫组织化学结果显示: 化痰消癆方高剂量组大鼠胃黏膜部分细胞可见黄色、褐色程度不同的染色, 与模型组和维酶素组比较染色较浅. 模型组和维酶素组细胞染色较重(图1).

2.3  $\beta$ -catenin表达情况 与空白组比较, 模型组大鼠胃黏膜 $\beta$ -catenin表达水平显著上升, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 化痰消癆方

## ■相关报道

王延丽等研究显示在PLGC中, Wnt2、 $\beta$ -catenin存在着高表达. 所以 $\beta$ -catenin的表达上调参与了胃癌的发生. 杨晓东等研究结果亦显示Notch信号通路在胃黏膜癌变的过程中可能起着促进作用, 即预示胃癌形成的高风险. 李大卫等研究发现Notch1与PTEN在胃癌中表达呈负相关, 提示PTEN的表达缺失可能协同促进Notch1失调导致胃癌产生.

## ■创新盘点

以临床验证有效的化痰消癥方为干预因素,探索PLGC的中医逆转机制,并以信号通路为切入点,通过复制动物病理模型,从组织病理和信号通路层面进行中药机制的研究和作用靶点的探索,对于胃癌的防治具有意义。

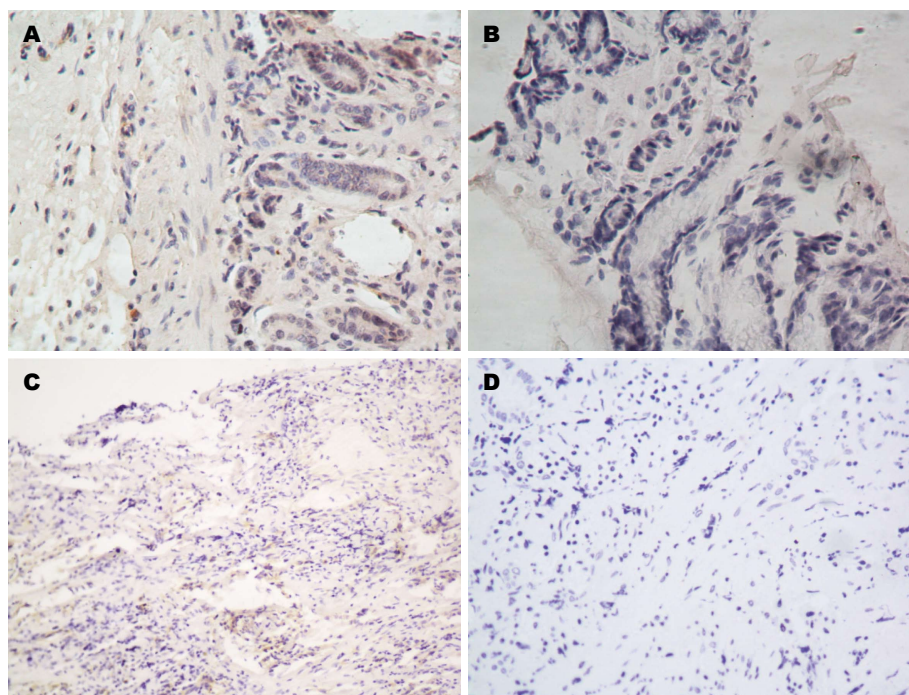


图1 免疫组织化学检测化痰消癥方干预对大鼠胃黏膜组织Notch1蛋白的表达影响。A: Notch1模型组( $\times 400$ ); B: Notch1中药低剂量组( $\times 400$ ); C: Notch1维酶素组( $\times 200$ ); D: Notch1中药高剂量组( $\times 400$ )。

表2 各组大鼠胃黏膜Notch1检测结果 (mean  $\pm$  SD)

| 分组     | <i>n</i> | Notch1                        |
|--------|----------|-------------------------------|
| 空白组    | 15       | 0.32 $\pm$ 0.8                |
| 模型组    | 14       | 2.67 $\pm$ 0.33 <sup>b</sup>  |
| 维酶素组   | 15       | 1.87 $\pm$ 0.54 <sup>c</sup>  |
| 中药高剂量组 | 15       | 0.87 $\pm$ 0.16 <sup>cd</sup> |
| 中药中剂量组 | 13       | 1.44 $\pm$ 0.62 <sup>c</sup>  |
| 中药低剂量组 | 14       | 2.33 $\pm$ 0.58 <sup>c</sup>  |

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 空白组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 模型组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 维酶素组。

表3 各组大鼠胃黏膜 $\beta$ -catenin检测结果 (mean  $\pm$  SD)

| 分组     | <i>n</i> | $\beta$ -catenin              |
|--------|----------|-------------------------------|
| 空白组    | 15       | 0.23 $\pm$ 0.03               |
| 模型组    | 14       | 0.49 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>  |
| 维酶素组   | 15       | 0.37 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>  |
| 中药高剂量组 | 15       | 0.26 $\pm$ 0.01 <sup>cd</sup> |
| 中药中剂量组 | 13       | 0.31 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>  |
| 中药低剂量组 | 14       | 0.33 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>  |

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 空白组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 模型组; <sup>d</sup> $P < 0.05$  vs 维酶素组。

高、中、低剂量组与维酶素组大鼠 $\beta$ -catenin表达水平明显降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与维酶素组比较,化痰消癥方高剂量组 $\beta$ -catenin表达水平下降更为显著,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(表3)。

$\beta$ -catenin蛋白免疫组织化学结果显示:化痰消癥方高剂量组大鼠胃黏膜少量细胞可见黄色、褐色程度不同的染色,与模型组和维酶素组比较染色细胞数量较少。模型组和维酶素组细胞染色数量较多(图2)。

2.4 PTEN表达情况 与空白组比较,模型组大鼠胃黏膜PTEN表达水平显著下降,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组比较,化痰消癥方高、中、低剂量组与维酶素组大鼠PTEN表达水平明显上升,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与维酶素组比

较,化痰消癥方高剂量组PTEN表达水平上升更为显著,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )(表4)。

PTEN蛋白免疫组织化学结果显示:化痰消癥方高剂量组大鼠胃黏膜部分细胞可见黄色、褐色程度不同的染色,与模型组和维酶素组比较染色较深。模型组细胞染色较中药高、中剂量组和维酶素组浅(图3)。

### 3 讨论

PLGC是胃癌发生和发展过程中的一个重要阶段,早期发现和干预是防控胃癌的重要手段。1988年Correa等提出胃癌的发生模式为:“正常胃黏膜-慢性浅表性胃炎-慢性萎缩性胃炎-小肠型肠上皮化生-大肠型肠上皮化生-异型增生(中重度)-胃癌(肠型)”<sup>[11]</sup>,这是目前较为认可的胃

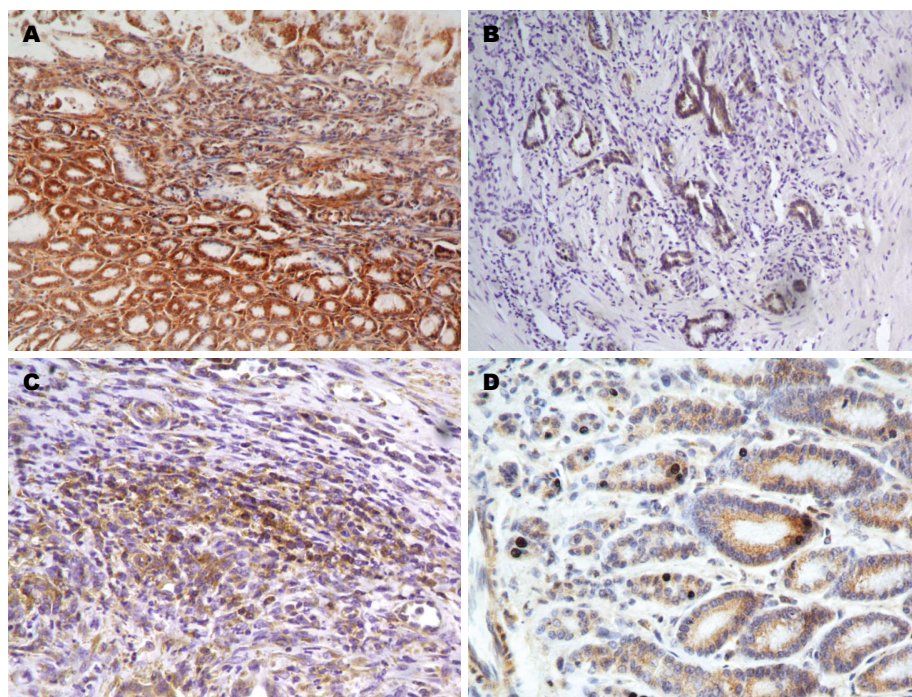


图 2 免疫组织化学检测化痰消痞方干预对大鼠胃黏膜组织 $\beta$ -catenin蛋白的表达影响( $\times 400$ )。A:  $\beta$ -catenin模型组; B:  $\beta$ -catenin中药高剂量组; C:  $\beta$ -catenin维酶素组; D:  $\beta$ -catenin中药中剂量组。

#### 应用要点

观察化痰消痞方对PLGC模型大鼠胃黏膜Notch1、 $\beta$ -catenin及PTEN蛋白表达的影响, 探讨化痰消痞方逆转PLGC的机制, 为临床上胃癌的早期诊断和治疗提供新的途径。

表 4 各组大鼠胃黏膜PTEN检测结果 (mean  $\pm$  SD)

| 分组     | n  | PTEN                          |
|--------|----|-------------------------------|
| 空白组    | 15 | 0.23 $\pm$ 0.03               |
| 模型组    | 14 | 0.39 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>  |
| 维酶素组   | 15 | 0.41 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>  |
| 中药高剂量组 | 15 | 0.83 $\pm$ 0.01 <sup>cd</sup> |
| 中药中剂量组 | 13 | 0.55 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>  |
| 中药低剂量组 | 14 | 0.48 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>  |

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 空白组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 模型组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 维酶素组。

癌进展模式; 而PLGC则为病理概念, 指胃黏膜及腺上皮的某种病变可能转变成胃癌。21世纪初, WHO在表述上以IN取代了DYS<sup>[12]</sup>。目前临床上将IM和IN统称为PLGC<sup>[3]</sup>。由于现代医学对于PLGC尚无理想治疗药物, 因此, 国内外众多学者期望从中医中药研究领域寻求突破。近年来研究证实, 中医药对PLGC的逆转效果显著, 显现出中医药的治疗优势<sup>[13]</sup>。

中医学将PLGC归属为“胃脘痛”、“胃痛”、“嘈杂”等范畴, 其病位在胃, 中医病因不外乎外邪诱发、饮食所伤、情志不遂等因素长期积累, 不断作用, 以致机体阴阳气血失调, 脏腑经络功能失常, 引起食滞、气郁、血瘀、热郁等一系列病理性改变。临床研究进一步表明, 活血化瘀法可以改善病变黏膜血液循环, 增

强对致癌物质的抵抗能力<sup>[14]</sup>, 达到预防胃癌的发生、降低胃癌发病率的效果。因此, 中药化痰消痞方在PLGC的治疗和胃癌的防治中具有重要意义<sup>[15]</sup>。本方使用二陈汤加减。方中陈皮燥湿化痰, 健脾行气; 半夏和胃降逆, 调脾胃升降之气机; 丹参活血化瘀, 功兼四物; 鸡内金消食健胃, 涩精止遗; 薏苡仁、蒲公英健脾利湿, 清热解毒, 使湿热蕴毒得以清除, 使邪有去路。诸药合用, 共奏益气健脾、行瘀化痰之功效。本实验旨在探索中药化痰消痞方的作用机制, 通过动物实验, 筛选临床诊治PLGC的有效分子生物学指标。

Wnt信号通路在生物发育、细胞转运及凋亡等过程中发挥非常重要的作用, 其异常活化与胃癌密切相关。 $\beta$ -catenin是Wnt信号通路中的主要蛋白之一, 其稳定性与腺瘤样的结肠息肉病蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)密切相关<sup>[16]</sup>。在肿瘤细胞中, APC基因的突变导致APC蛋白不能与 $\beta$ -catenin相互作用, 同时也失去对 $\beta$ -catenin表达水平的调节。 $\beta$ -catenin在胞浆内大量积聚并进入细胞核, 与T细胞因子(T-cell factor, TCF)/淋巴增强因子(lymphoid enhancing factor, LEF)转录因子结合, 激活相关基因的转录, 从而导致了细胞增殖异常和肿瘤发生。王延丽等<sup>[17]</sup>研究显示在PLGC中, Wnt2、 $\beta$ -catenin存在着高表达。所以 $\beta$ -catenin的表达上调参与了胃癌的发生。Notch信号通路又称为C启动子结合蛋白

### ■同行评价

本文以二陈汤加减,方中陈皮燥湿化痰;半夏和胃降逆;丹参活血化痰;鸡内金消食健胃;薏苡仁、蒲公英健脾利湿,诸药合用,共奏益气健脾、行瘀化痰之功;探索中药化痰消瘀方的作用机制,筛选临床诊治PLGC的有效分子生物学指标。

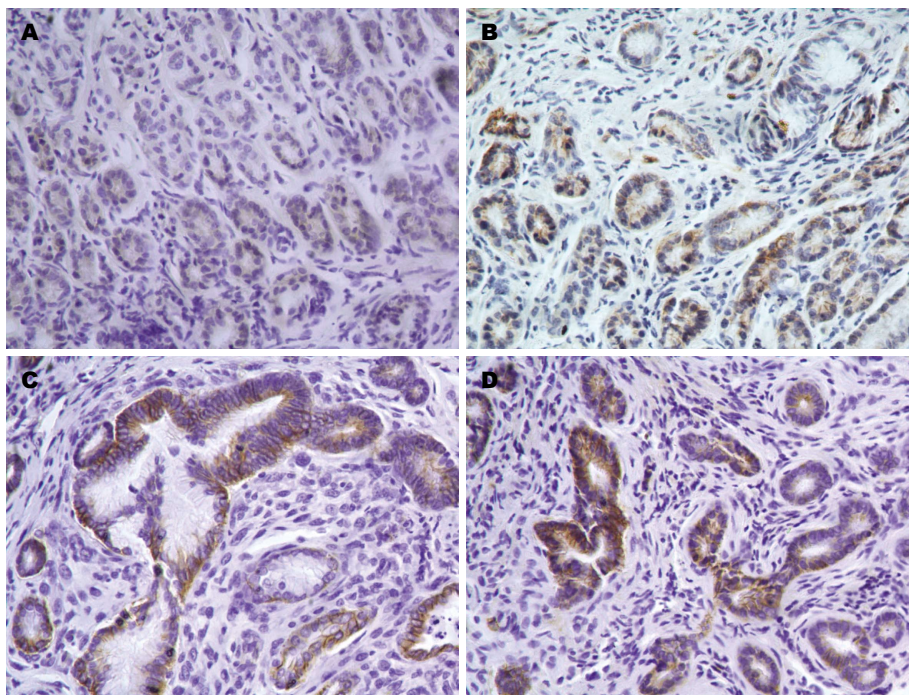


图3 免疫组织化学检测化痰消瘀方干预对大鼠胃黏膜组织PTEN蛋白的表达影响( $\times 400$ )。A: PTEN模型组; B: PTEN中药高剂量组; C: PTEN中药低剂量组; D: PTEN维酶素组。

(C-promoter binding protein-1, CBF-1)/RBP-J $\kappa$ 依赖途径,其调控着细胞的分化、增殖和凋亡。不同种类细胞中的Notch通路能阻止或促进细胞的分化,在肿瘤干细胞向肿瘤发展的过程中也发挥重要作用。Notch1信号可通过CBF-1依赖方式结合环氧合酶2(cyclooxygenase 2, COX-2)启动子,而COX-2通过前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE-2)与相邻细胞的细胞膜EP(E-prostanoid)受体结合,经G2蛋白偶联途径或过氧化物酶增殖体激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)促进胃癌的增长<sup>[18]</sup>。前期研究<sup>[19]</sup>也表明Notch1在PLGC组织及胃癌中均有更高的表达;杨晓东等<sup>[20]</sup>研究结果亦显示Notch信号通路在胃黏膜癌变的过程中可能起着促进作用,即预示胃癌形成的高风险。PTEN具有双特异性磷酸酶活性,是新近发现的抑癌基因。有研究发现Notch1与PTEN在胃癌中表达呈负相关<sup>[21]</sup>,提示PTEN的表达缺失可能协同促进Notch1失调导致胃癌产生;在胃癌中Notch1可能通过负性调节PTEN以及过度上调PI3K/AKT<sup>[22]</sup>参与胃癌的发生发展。

本实验结果显示,在PLGC中,Notch1、 $\beta$ -catenin存在着高表达,PTEN表达缺失。经化痰消瘀方治疗后,能显著降低Notch1、 $\beta$ -catenin蛋白的阳性表达率;提高PTEN蛋白的阳性表达率,

并优于维酶素的治疗效果。Notch1、 $\beta$ -catenin表达下降;PTEN表达上升,提示化痰消瘀方可能通过抑制促癌基因的激活,和/或促进相关抑癌基因的表达,控制和维持细胞的正常生长,从而逆转胃黏膜损伤的病理生化指标,修复胃黏膜损伤,以达到逆转PLGC的结果。

### 4 参考文献

- 1 Chang DT, Schellenberg D, Shen J, Kim J, Goodman KA, Fisher GA, Ford JM, Desser T, Quon A, Koong AC. Stereotactic radiotherapy for unresectable adenocarcinoma of the pancreas. *Cancer* 2009; 115: 665-672 [PMID: 19117351 DOI: 10.1002/cncr.24059]
- 2 李晓丽,刘希光,程熙国,姜鹏,姚如永.照射时间延长对小鼠LEWIS肺癌细胞杀伤作用影响. *齐鲁医学杂志* 2008; 23: 195-197
- 3 Gutierrez-Gonzalez L, Graham TA, Rodriguez-Justo M, Leedham SJ, Novelli MR, Gay LJ, Ventayol-Garcia T, Green A, Mitchell I, Stoker DL, Preston SL, Bamba S, Yamada E, Kishi Y, Harrison R, Jankowski JA, Wright NA, McDonald SA. The clonal origins of dysplasia from intestinal metaplasia in the human stomach. *Gastroenterology* 2011; 140: 1251-1260.e1-6 [PMID: 21223968 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.12.051]
- 4 王茵萍,孙茂峰,吴旭.胃粘膜上皮紧密连接与实验性胃癌前病变的关系. *肿瘤防治杂志* 2013; 10: 259-262
- 5 Lee JO, Yang H, Georgescu MM, Di Cristofano A, Maehama T, Shi Y, Dixon JE, Pandolfi P, Pavletich NP. Crystal structure of the PTEN tumor suppressor: implications for its phosphoinositide phosphatase activity and membrane association. *Cell* 1999; 99: 323-334 [PMID: 10555148 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81663-3]

- 6 范尧夫, 魏睦新. 胃癌前病变的研究进展及防治对策. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1807-1812
- 7 郭亚云, 冷秀梅, 魏睦新. 化痰消癥方用于胃癌前病变的疗效观察. 现代中西医结合杂志 2013; 22: 3663-3665
- 8 陈庆, 魏睦新. 魏睦新教授辨证与辨病结合治疗萎缩性胃炎经验摘要. 辽宁中医药大学学报 2013; 15: 97-99
- 9 Kang YH, Lee HS, Kim WH. Promoter methylation and silencing of PTEN in gastric carcinoma. *Lab Invest* 2002; 82: 285-291 [PMID: 11896207 DOI: 10.1038/labinvest.378044]
- 10 Nagahara A, Watanabe S, Miwa H, Endo K, Hirose M, Sato N. Reduction of gap junction protein connexin 32 in rat atrophic gastric mucosa as an early event in carcinogenesis. *J Gastroenterol* 1996; 31: 491-497 [PMID: 8844468]
- 11 Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, Puc J, Miliareis C, Rodgers L, McCombie R, Bigner SH, Giovanella BC, Ittmann M, Tycko B, Hibshoosh H, Wigler MH, Parsons R. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 1997; 275: 1943-1947 [PMID: 9072974 DOI: 10.1126/science.275.5308.1943]
- 12 Hamilton SR, Aaltonen LA. World Health Organization classification of tumours, Pathology and genetics of tumours of digestive system. Lyon: IARC Press, 2000
- 13 王琦, 杨少军. 中医药在慢性萎缩性胃炎前期病变中的应用与研究现状. 时珍国医国药 2012; 23: 2008-2009
- 14 王爱武, 王梅, 袁久荣, 田景奎, 吴丽敏, 耿晖. 猫爪草提取物体外抗肿瘤作用的研究. 天然产物研究与开发 2004; 16: 530-532
- 15 刘皓, 王霞, 范尧夫, 魏睦新. 化痰消癥方对胃癌前病变大鼠Caspase-3、Cyclind1及mTOR表达的影响. 中医学报 2014; 29: 941-944
- 16 Henderson BR. Nuclear-cytoplasmic shuttling of APC regulates beta-catenin subcellular localization and turnover. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 653-660 [PMID: 10980707 DOI: 10.1038/35023605]
- 17 王延丽, 朱西杰, 蔡根深, 肖清燕, 王儒, 李美丽. 复方蜥蜴散不同微粒组合剂对胃癌前病变大鼠Wnt信号通路中Wnt2、 $\beta$ -catenin蛋白表达影响的研究. 时珍国药 2014; 25: 1501-1504
- 18 Yeh TS, Wu CW, Hsu KW, Liao WJ, Yang MC, Li AF, Wang AM, Kuo ML, Chi CW. The activated Notch1 signal pathway is associated with gastric cancer progression through cyclooxygenase-2. *Cancer Res* 2009; 69: 5039-5048 [PMID: 19491270 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4021]
- 19 Sun Y, Gao X, Liu J, Kong QY, Wang XW, Chen XY, Wang Q, Cheng YF, Qu XX, Li H. Differential Notch1 and Notch2 expression and frequent activation of Notch signaling in gastric cancers. *Arch Pathol Lab Med* 2011; 135: 451-458 [PMID: 21466361 DOI: 10.1043/2009-0665-OA.1]
- 20 杨晓东, 张辉, 白志刚, 姜可伟, 叶颖江, 王杉. Notch信号通路在胃癌组织中的表达及其意义. 中华普通外科杂志 2009; 24: 146-148
- 21 李大卫, 吴晴, 彭志海, 杨兆瑞, 王一. Notch1和PTEN在胃癌组织中的表达及其意义. 癌症 2007; 26: 1183-1187
- 22 Liu ZJ, Xiao M, Balint K, Smalley KS, Brafford P, Qiu R, Pinnix CC, Li X, Herlyn M. Notch1 signaling promotes primary melanoma progression by activating mitogen-activated protein kinase/phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathways and up-regulating N-cadherin expression. *Cancer Res* 2006; 66: 4182-4190 [PMID: 16618740 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3589]

编辑: 韦元涛 电编: 闫晋利

