

## 基于TGF- $\beta_1$ /Smads信号通路探讨香连化浊方对慢性萎缩性胃炎大鼠细胞周期和增殖的影响

王艺灿<sup>1</sup>, 王杰<sup>1,2</sup>, 程祎睿<sup>1</sup>, 李晓静<sup>1</sup>, 马益彬<sup>1</sup>, 刘秋华<sup>1</sup>, 刘紫薇<sup>1</sup>, 郭榆西<sup>1</sup>, 杜朋丽<sup>1,2</sup>,  
才艳茹<sup>1,2</sup>, 杜姚<sup>1,2</sup>, 支政<sup>1</sup>, 李博林<sup>1,2</sup>, 杨倩<sup>1,2\*</sup>  
(1. 河北中医药大学第一附属医院, 石家庄 050011;  
2. 河北省中医院 河北省浊毒证重点实验室, 石家庄 050011)

**【摘要】** 目的:运用生物信息学技术和动物实验探究香连化浊方调节细胞周期抑制增殖治疗萎缩性胃炎(CAG)的潜在作用机制。方法:利用GEO数据库和GEO2R工具筛选出CAG差异基因,使用加权基因共表达网络分析(WGCNA)寻找CAG的核心基因(hub gene),与GeneCards数据库获得细胞周期-增殖相关基因取交集,并进行富集分析,得到与CAG相关的信号通路和生物过程。基于STRING数据库进行蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络的构建,寻找核心基因2.0(hub 2.0),并进行动物实验验证。从70只雄性Wistar大鼠中随机抽取14只作为正常组,其余56只大鼠采用“饥饱失常+N-甲基-N-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)+水杨酸钠”联合造模法制备CAG模型。将造模成功的大鼠随机分为模型组,香连化浊方高、中、低剂量组(36、18、9 g·kg<sup>-1</sup>),摩罗丹组(1.4 g·kg<sup>-1</sup>),灌胃给药,疗程60 d。使用苏木素-伊红(HE)染色观察大鼠胃黏膜组织病理学变化;透射电镜观察胃黏膜组织细胞超微结构,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测胃黏膜组织中转化生长因子(TGF)- $\beta_1$ /Smads信号通路TGF- $\beta_1$ 、Smad2、Smad3蛋白,S/G<sub>2</sub>/M期标志物双蛋白(geminin)、增殖标志物MCM2的蛋白相对表达量并进行Spearman相关性分析。结果:最终得到包括TGF- $\beta_1$ 在内的15个hub 2.0基因,TGF- $\beta_1$ 信号通路参与CAG发病。与正常组比较,模型组大鼠胃黏膜组织中TGF- $\beta_1$ 、Smad2、geminin、MCM2蛋白表达明显升高( $P<0.05$ ),Smad3蛋白表达水平明显下降( $P<0.05$ );与模型组比较,各药物组胃黏膜组织中TGF- $\beta_1$ 和geminin表达明显降低( $P<0.05$ ),香连化浊方中、高剂量组和摩罗丹组Smad2、MCM2蛋白表达水平明显下降( $P<0.05$ ),香连化浊中高剂量组和摩罗丹组Smad3蛋白表达水平明显上升( $P<0.05$ )。Spearman相关性分析表明Smad3和其余指标均负相关,其余指标之间均呈正相关( $P<0.01$ )。结论:香连化浊方可能通过抑制TGF- $\beta_1$ /Smads信号通路,调节细胞周期,抑制增殖治疗CAG。

**【关键词】** 香连化浊方; 加权基因共表达网络分析(WGCNA); 慢性萎缩性胃炎; 增殖; 细胞周期

**【中图分类号】** R284.2;R285;R289 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2026)08-0128-09

**【doi】** 10.13422/j.cnki.syfjx.20241316

**【网络出版地址】** <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20240905.1427.006>

**【网络出版日期】** 2024-09-05 16:14:50 **【增强出版附件】** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>



### Investigating Effect of Xianglian Huazhuo Prescription on Cell Cycle and Proliferation in Rats with Chronic Atrophic Gastritis Through TGF- $\beta_1$ /Smads Signaling Pathway

WANG Yican<sup>1</sup>, WANG Jie<sup>1,2</sup>, CHENG Yirui<sup>1</sup>, LI Xiaojing<sup>1</sup>, MA Yibin<sup>1</sup>, LIU Qiuhua<sup>1</sup>, LIU Ziwei<sup>1</sup>,  
GUO Yuxi<sup>1</sup>, DU Pengli<sup>1,2</sup>, CAI Yanru<sup>1,2</sup>, DU Yao<sup>1,2</sup>, ZHI Zheng<sup>1</sup>, LI Bolin<sup>1,2</sup>, YANG Qian<sup>1,2\*</sup>  
(1. The First Affiliated Hospital of Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China;

**【收稿日期】** 2024-03-14

**【基金项目】** 国家科技部重点研发课题项目(2018YFC1704100,2018YFC1704102);国家中医药管理局第二批国家中医临床研究基地建设专项(国中医药科技函[2018]131号);国家中医药管理局科技项目(GZY-KJS-2023-025);河北省中央引导地方科技专项(246Z7708G);河北省省级科技计划资助项目(246W7701D);河北省科学技术厅河北省重点研发计划项目(21377724D, 21377740D);河北省中医药管理局中医药类科研计划项目(2023022,2022026,2022032,2021034);河北省自然科学基金项目(H2023423001)

**【第一作者】** 王艺灿,在读硕士,从事中西医结合治疗脾胃病研究,E-mail:w15032133682@163.com

**【通信作者】** \*杨倩,博士生导师,主任医师,从事中西医结合治疗脾胃病研究,E-mail:yang0311qian@126.com

2. Hebei Key Laboratory of Turbidity Toxin Syndrome, Shijiazhuang 050011, China)

**[Abstract] Objective:** To explore the potential mechanism of Xianglian Huazhuo prescription (XLHZ) in treating chronic atrophic gastritis (CAG) by regulating cell cycle and inhibiting proliferation, using bioinformatics technology and animal experiments. **Methods:** Differential expressed genes (DEGs) related to CAG were screened using GEO database and GEO2R tool. Weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) was employed to search for hub genes of CAG. These hub genes were intersected with cell cycle proliferation based on GeneCards database. Enrichment analysis of the intersecting genes was performed to obtain signaling pathways and biological processes related to CAG. Protein protein interaction (PPI) analysis of genes was conducted using the Protein Interaction Platform (STRING) database to search the super hub gene (hub 2.0), and animal experiments were conducted for further validation. Fourteen of 70 male Wistar rats were randomly selected as the normal group, and the remaining 56 rats were prepared by the combined modeling method of "starvation disorder+N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) + sodium salicylate". The successfully modeled rats were randomly divided into the model group, XLHZ-H, XLHZ-M, and XLHZ-L groups (36, 18, 9 g·kg<sup>-1</sup>, respectively), and Morodan group (1.4 g·kg<sup>-1</sup>). Each group was given corresponding intervention for 60 days. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the histopathological changes of gastric mucosa in rats. The ultrastructure of gastric mucosal tissue cells was observed by transmission electron microscopy. The relative expression levels of TGF- $\beta_1$ , Smad2 and Smad3 proteins, S/G<sub>2</sub>/M phase marker geminin and proliferation marker MCM2 were detected by Western blot in gastric mucosal tissue, and Spearman correlation analysis was performed. **Results:** A total of 15 hub 2.0 genes were identified, including TGF- $\beta_1$ , suggesting the involvement of the TGF- $\beta_1$  signaling pathway in the CAG pathogenesis. Compared with the normal group, the expressions of TGF- $\beta_1$ , Smad2, geminin and MCM2 proteins in the gastric mucosa tissue of the model group were increased ( $P<0.05$ ), and the expression of Smad3 protein was decreased ( $P<0.05$ ). Compared with the model group, the expressions of TGF- $\beta_1$  and geminin in the gastric mucosa were decreased in the drug groups ( $P<0.05$ ). The XLHZ-M group, XLHZ-H group and Morodan group had significantly decreased protein expression of Smad2 and MCM2 ( $P<0.05$ ). The protein expression of Smad3 was significantly increased in XLHZ-M, XLHZ-H, and Morodan groups ( $P<0.05$ ). Spearman correlation analysis showed that Smad3 was negatively correlated with other indicators, and positively correlated with other indicators ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** XLHZ may inhibit TGF- $\beta_1$ /Smads signaling pathway, regulate cell cycle, and inhibit proliferation in the treatment of CAG.

**[Keywords]** Xianglian Huazhuo prescription; weighted gene co-expression network analysis (WGCNA); chronic atrophic gastritis; proliferation; cell cycle

慢性萎缩性胃炎(CAG)是一种较常见的以胃黏膜上皮固有腺体减少或消失为特征,伴或不伴有肠上皮化生和异型增生的慢性疾病,属于胃的癌前疾病,是胃癌二级预防工作的重点<sup>[1]</sup>。“七五”“八五”“十一五”期间CAG及胃癌前病变多次列入中医临床重点研究项目<sup>[2]</sup>,深入探究中药复方治疗CAG的机制有益于优化治疗方案,为临床实践提供依据。

国医大师李佃贵教授基于内经思想结合中医理论和临床实际创立浊毒理论体系,认为浊毒内蕴是萎缩性胃炎的病机所在<sup>[3]</sup>,拟经验方香连化浊方治疗CAG。香连化浊方基于浊毒理论构建,由黄连、藿香、豆蔻、木香等18味药物组成,方中藿香、黄连共奏芳香化浊,清热利湿之效为君;白花蛇舌草、半枝莲、白术、豆蔻清热解毒,健脾化浊为臣;香附、枳实、木香、延胡索行气,三七、白芍、川芎、当归活血养血,茯苓、砂仁健脾化湿,百合滋养胃阴,全蝎解毒散结,共为佐使药,共奏化浊解毒、和胃降逆之功,临床疗效显著,可以明显缓解胃痛胃胀等症状。

关于香连化浊方治疗CAG的研究目前正在深入进行中,其中一项随机对照双盲的临床注册研究

正在进行,其结果将提供更多关于香连化浊方疗效的实证数据。在前期研究中,本课题组通过网络药理学、生物信息学技术、动物实验等发现香连化浊方可以通过调节增殖和凋亡过程,发挥保护胃黏膜的作用,然而却没有深入探究香连化浊方干预增殖周期的具体环节<sup>[4-7]</sup>。为深入探究香连化浊方的作用机制,本研究基于加权基因共表达网络分析(WGCNA)构建不同的基因共表达基因模块确定与CAG发病相关的模块与核心基因,运用蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络技术确定细胞周期-增殖-核心基因的核心基因2.0(hub 2.0),结合课题组前期研究及查阅文献后确定转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )/Smads信号通路与CAG发病密切相关,并通过动物实验进一步验证。旨在深入探究香连化浊方干预细胞周期,抑制增殖,治疗CAG的机制,为临床治疗提供更多理论依据。

## 1 生物信息学

**1.1 CAG差异基因的获取及数据集质量评估及细胞周期和增殖相关基因的获取** 以“chronic atrophic gastritis”为检索词在GEO数据库进行检

索,将物种设置为“Homo sapiens”,筛选与CAG相关基因表达谱数据集得到“GSE233973”数据集,该数据集包含14个CAG(自身免疫性胃炎)、13个幽门螺杆菌感染慢性胃炎(未明确说明是CAG还是慢性非萎缩性胃炎故本研究不予采纳)和9个正常胃黏膜组织样本。使用GEO2R工具对“GSE233973”数据集中CAG和正常胃黏膜组织进行差异基因(DEGs)的分析筛选,使用“GPL21185”平台进行注释,以 $P_{adj}<0.05$ 且 $|\log_2FC|>1$ 为筛选差异基因的标准,获得CAG的差异表达基因,并使用箱线图和火山图进行数据集质量评估。

使用GeneCards数据库,分别以“cell cycle”“proliferation”为关键词进行检索,各自取其相关性前500的蛋白作为细胞周期和增殖的相关基因。

**1.2 WGCNA筛选CAG核心基因及细胞周期-增殖-CAG核心基因的获取** 使用R语言软件(4.1.2版)进行WGCNA的操作,使用WGCNA软件包对CAG差异基因进行样品聚类及缺失值检测,使用Pick Soft Threshold函数筛选软阈值构建共表达网络(当 $R^2<0.8$ 时选用经验软阈值)。构建加权邻接矩阵,基于Topological Overlap Matrix(TOM)的相异度度量(1-TOM)的分层聚类来构建相关基因模块。以模块特征基因(MEs)为主成分筛选基因和CAG的潜在相关性,总结各模块基因的表达模式,从中选择与CAG正负相关程度最高的模块,筛选模块中基因重要性(GS) $>0.5$ 且基因与模块(MS)相关性 $>0.8$ 的基因共同作为CAG核心基因。

CAG核心基因与细胞周期和增殖相关基因取交集,得到细胞周期-增殖-CAG核心基因,使用微生物平台绘制韦恩图,并进行后续的分析。

**1.3 富集分析** 使用DAVID平台对细胞周期-增殖-CAG核心基因进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)分析和基因本体(GO)分析,其中GO分析包括生物学过程(BP)、细胞组分(CC)和分子功能(MF),并使用chiplet网站将富集结果进行可视化。

**1.4 PPI网络的构建和hub 2.0基因的筛选** 使用STRING数据库对细胞周期-增殖-CAG核心基因进行PPI分析,物种选择“Homo sapiens”,其他选择默认参数,导出为tsv格式后,使用Cytoscape 3.7.2计算Degree值,并按照Degree值排序进行可视化,将Degree值前15的作为hub 2.0基因。

## 2 材料

**2.1 动物** 70只SPF级6~8周龄健康雄性Wistar大鼠,体质量(150±20)g,于北京维通利华实验技术

有限公司购买,动物合格证号SCXK(京)2016-0006,饲养于河北中医药大学SPF级动物实验中心,自由饮食,普通饲料饲养,饲养室温度20~25℃,自然光照。

**2.2 伦理** 本动物实验经由河北中医药大学动物伦理委员会批准(编号DWLL2019022)。

**2.3 药物** 香连化浊方煎液由河北中医药大学第一附属医院中药房制备及提供,饮片经河北中医药大学第一附属医院程杰主任药师鉴定为正品。香连化浊方组成为黄连(6g,批号2010041)、藿香(10g,批号201102)、豆蔻(6g,批号20092901)、木香(6g,批号20092101)、炒白芍(15g,批号200904)、砂仁(6g,批号201001)、炒枳实(10g,批号20082601)、炒白术(12g,批号200904)、醋香附(9g,批号201001)、白花蛇舌草(15g,批号200901)、半枝莲(15g,批号200701)、茯苓(15g,批号20112201)、三七粉(2g,批号20010801)、当归(12g,批号2011068)、川芎(9g,批号20102701)、全蝎(3g,批号201102)、延胡索(10g,批号200704)、百合(12g,批号200404)。由河北中医药大学第一附属医院中药房采用传统水煎方式,将药物浸泡并煎煮2次,合并煎液,浓缩配成含生药质量浓度为0.9、1.8、3.6g·mL<sup>-1</sup>药液,放置于-4℃冰箱备用。摩罗丹浓缩丸(邯郸制药股份有限公司,国药准字Z20090013,规格1.84g/16丸,相当于生药材4.5g),用蒸馏水加热搅拌,配制成质量浓度为0.14g·mL<sup>-1</sup>的摩罗丹混悬液。

**2.4 试剂与仪器**  $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体、TGF- $\beta_1$ 抗体、Smad2抗体、微小染色体维持蛋白2(MCM2)抗体、辣根过氧化物酶(HRP)-山羊抗兔、HRP-山羊抗小鼠抗体、放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液(武汉Servicebio公司,批号分别为GB15001、GB111876、GB11172、GB11162、GB23303、GB23301、G2002-100ML);Smad3抗体、双子蛋白(geminin)抗体(美国Affinity公司,批号分别为AF6362、DF7270);N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG,上海Aladdin公司,批号M105583);水杨酸钠(天津市百世化工有限公司,批号20210302);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(珠海贝索生物技术有限公司,批号BA4025)。

BX53型显微镜(上海第三分析仪器厂);H-7650型透射电镜(日本日立公司);RT-6100型酶标仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司);D3024R型台式高速冷冻离心机[大龙兴创实验仪器(北京)

有限公司];JY92-11N型超声波细胞破碎仪(宁波新芝生物);SVE-2型垂直电泳仪、SVT-2型转印电泳仪、G9055-4型抗体孵育盒、AIWBwell™分析软件(武汉Servicebio公司);6100型化学发光仪(上海Clinx公司)。

### 3 方法

#### 3.1 造模与标本采集

**3.1.1 动物模型制备及药物干预** 将70只健康雄性Wistar大鼠,根据体质量随机抽取14只作为正常组,其余56只作为造模组用于制备CAG模型。造模方法应用复合造模法造模<sup>[8]</sup>,2 d足食,1 d禁食,饥饿时用2%水杨酸钠10 mL·kg<sup>-1</sup>灌胃,180 mg·L<sup>-1</sup> MNNG溶液锡箔纸遮光自由饮,每日更换。造模至第20周和24周时随机抽取正常组和造模组各2只处死,HE染色观测胃黏膜病理状况,在第24周时,HE染色发现胃黏膜固有腺体萎缩,数量减少,胃黏膜变薄,提示模型成功,造模过程中死亡2只,解剖后发现胃肠胀气明显<sup>[8]</sup>。将造模成功的50只CAG大鼠按照随机数字表法平均分成模型组,香连化浊方高、中、低剂量组,摩罗丹组。根据课题组前期研究结果<sup>[4]</sup>,香连化浊方高、中、低剂量组分别予中药香连化浊方煎液36、18、9 g·kg<sup>-1</sup>灌服,摩罗丹组予摩罗丹混悬液1.4 g·kg<sup>-1</sup>灌胃,正常组、模型组予0.01 mL·g<sup>-1</sup> 0.9%氯化钠溶液灌胃,每日1次,连续灌胃60 d。

**3.1.2 标本采集** 大鼠于末次灌胃后禁食不禁水24 h,3%戊巴比妥钠(45 mg·kg<sup>-1</sup>)腹腔注射麻醉后迅速开腹,分离大鼠胃组织,在冰袋上切取新鲜胃窦组织块<1 mm<sup>3</sup>,快速放入电镜固定液中;再切取部分胃窦部组织放于4%多聚甲醛中保存,室温固定;最后把胃组织分成小块置于冻存管中,先放于液氮罐,后转移到-80℃冰箱保存。实验大鼠尸体进行无公害处理。

#### 3.2 检测指标及统计方法

**3.2.1 大鼠一般情况观察** 在实验过程中观察各组大鼠的食欲、体质量、毛发色泽、精神状态、活动时间、二便情况。

**3.2.2 大鼠胃黏膜病理学变化** 将胃组织固定24 h后,用乙醇脱水、二甲苯透明、浸蜡,石蜡包埋,切成厚4 μm左右薄片,进行HE染色;二甲苯按脱蜡,梯度乙醇脱水;苏木素染色;0.5%盐酸-乙醇分化;水洗蓝化,梯度乙醇脱水;伊红染色;乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

**3.2.3 大鼠胃黏膜细胞超微结构变化** 将胃组织固定2 h后,磷酸缓冲液漂洗,锇酸固定,丙酮逐级

脱水,渗透包埋,超薄切片机切片,柠檬酸铅和醋酸铀双染色,在透射电镜下观察细胞超微结构并拍照。

**3.2.4 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测胃组织TGF-β<sub>1</sub>、Smad2、Smad3、geminin、MCM2蛋白表达水平** 取大鼠胃黏膜组织,液氮研磨,RIPA裂解液过夜裂解,12 000 r·min<sup>-1</sup>离心(离心半径79.6 mm),取上清样本,十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),转硝酸纤维素(NC)膜固定,在室温下摇床封闭2 h,用封闭液稀释的一抗MCM2、TGF-β<sub>1</sub>、Smad2、geminin(1:1 000)、内参β-actin(1:2 000),摇床慢摇孵育过夜。洗膜后滴加稀释的二抗(1:5 000),室温孵育,洗膜后显色,实验重复3次。使用AIWBwell™进行数据分析,目标蛋白/β-actin的灰度值比值为检测指标的半定量分析结果。

**3.3 统计学方法** 采用SPSS 26.0统计分析软件处理和分析数据结果,Graphpad 8.0软件作图,计量资料满足正态分布采用 $\bar{x}\pm s$ 描述,多组间比较采用单因素ANOVA检验方法,两两比较采用最小显著性差异法(LSD),假设检验采用双侧检验, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。运用R语言(4.2.1版本)进行Spearman相关性分析并绘制散点图矩阵, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。流程图见增强出版附加材料。

### 4 结果

#### 4.1 生物信息学部分结果

**4.1.1 数据集质量评估** 使用GEO2R进行数据集质量的评估,将GEO2R分析的数据按照 $P_{\text{adj}}<0.05$ 且 $|\log_2\text{FC}|>1$ 条件进行筛选,使用“GPL21185”平台进行注释后可得到9 870个不重复的CAG差异基因。见增强出版附加材料。

使用DAVID数据库对这138个基因进行KEGG分析和GO分析后按照 $P<0.05$ 进行筛选,得出KEGG富集功能分析主要涉及丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路、细胞组分(CC)信号通路、TGF-β信号通路等164个信号通路;GO-生物过程(BP)主要涉及基因表达的正向调节等743个生物学过程;GO-CC主要涉及细胞核等81个细胞组分;GO-分子功能(MF)主要涉及蛋白结合等118个分子功能。见增强出版附加材料。

**4.1.2 WGCNA筛选核心基因结果及与细胞周期-增殖相关基因交集** 当软阈值 $\beta=30$ 时,无尺度拟合指数 $R^2$ 仍达不到0.8,经查阅CSDN网站后选用经验

软阈值 16 (blog.csdn.net/nixiang\_888/article/details/114867613), 设置最小模块的基因数目为 95 个, 剪切高度为 20 000, 去除波动范围比较小的基因, 将 MEDiss Thres 设置为 0.15 以合并距离相近且相似的模块, 将相似模块合并后, 得到 6 个模块, 可观察到各模块与 CAG 之间的相关性, 其中 MEgreen 色模块与 CAG 的负相关性最高 ( $r=-0.97, P=3\times 10^{-5}$ ), 模块内含有 865 个相关基因, 将模块内  $GS>0.5$  且  $MS>0.8$  的基因作为 CAG 的负相关 hub 基因, 得到 656 个负相关 hub 基因; MEblack 色模块与 CAG 的正相关性最高 ( $r=0.88, P=3\times 10^{-8}$ ), 模块内含有 6 250 个基因, 将模块内  $GS>0.5$  且  $MS>0.8$  的基因作为 CAG 正相关 hub 基因, 得到 3 414 个正相关 hub 基因。将 WGCNA 得到的正负相关性最高的模块的 hub 基因作为 CAG 核心基因与细胞周期-增殖相关基因进行取交集得到 86 个 CAG-细胞周期-增殖核心基因。见增强出版附加材料。

**4.1.3 富集分析结果** 使用 DAVID 数据库对这 86 个基因进行 KEGG 分析和 GO 分析后按照  $P<0.05$  进行筛选, KEGG 富集功能分析主要涉及磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 信号通路、细胞周期信号通路、TGF- $\beta$  信号通路等 156 个信号通路; GO-BP 主要涉及基因表达的正向调节等 519 个生物学过程; GO-CC 主要涉及细胞核等 73 个细胞组分; GO-MF 主要涉及蛋白结合等 101 个分子功能。见

增强出版附加材料。

**4.1.4 PPI 网络的构建及 hub 2.0 的筛选结果** 将 86 个共同靶点导入 STRING 数据库构建网络, 该网络包括 83 个节点和 1 469 条边。将 Degree 值降序排列前 15 个作为 hub 2.0, TGF- $\beta_1$  抗体位于 hub 2.0 的模块, Smad3 在 Degree 值中位数之上, 后续基于 hub 2.0 基因对 CAG 大鼠 TGF- $\beta_1$ /Smads 信号通路蛋白进行动物实验验证。见增强出版附加材料。

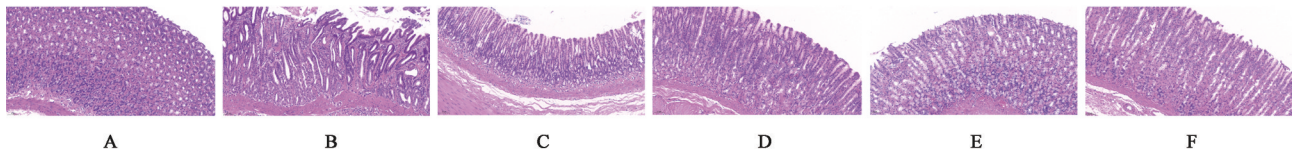
## 4.2 动物试验

### 4.2.1 香连化浊方对 CAG 大鼠一般情况的影响

正常组大鼠精神状态良好, 眼神清亮, 动作敏捷, 毛色光泽、茂密, 体型、体质量、排便、饮水及进食量均正常。模型组大鼠精神萎靡, 活动减少, 体质量减轻, 大便质地软黏, 毛色发黄、稀疏、黯淡, 饮水及进食量减少, 各给药组精神状态、体质量、毛发、饮水、排便及进食状态均有不同程度改善, 其中香连化浊中高剂量组改善最为明显。

### 4.2.2 香连化浊方对 CAG 大鼠胃黏膜病理学变化

HE 染色法显示, 正常组胃黏膜腺体排列方向整齐, 无腺体萎缩、水肿、充血和炎性浸润; 模型组胃黏膜变薄, 腺体排列紊乱, 腺体减少, 部分腺上皮细胞异型增生, 可见急慢性炎症细胞浸润。与模型组比较, 香连化浊方中、高剂量组和摩罗丹组在腺体排列均有不同程度的改善, 偶见少量慢性炎症细胞浸润, 未发现腺上皮细胞异型增生。见图 1。



注: A. 正常组; B. 模型组; C-E. 香连化浊方低、中、高剂量组; F. 摩罗丹组 (图 2、图 3 同)

图 1 香连化浊方对 CAG 大鼠胃黏膜组织病理学形态的影响 (HE,  $\times 200$ )

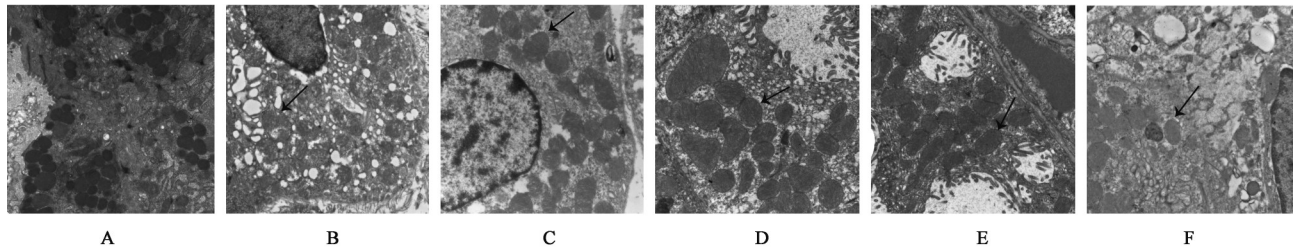
Fig. 1 Effect of Xianglian Huazhuo prescription on histopathological morphology of gastric mucosa in CAG rats (HE,  $\times 200$ )

**4.2.3 香连化浊方对 CAG 大鼠胃黏膜细胞超微结构** 透射电镜显示, 正常组细胞质内可见大量线粒体, 多数结构正常, 线粒体形态规则, 排列整齐, 嵴密, 粗面内质网无肿胀、扩张; 模型组细胞核固缩, 胞质内线粒体肿胀, 数量减少, 结构异常, 嵴稀疏、断裂, 内质网和高尔基体数量减少, 内质网轻度扩张, 细胞质变得松散, 出现空泡; 给药各组线粒体数量较模型组增加, 部分线粒体出现嵴断裂, 多数结构正常, 空泡数量减少。见图 2。

**4.2.4 香连化浊方对 CAG 大鼠胃黏膜组织 TGF- $\beta_1$ /Smads 信号通路相关蛋白表达的影响** Western blot 结果显示, 与正常组比较, 模型组大鼠胃黏膜组织

中 TGF- $\beta_1$ 、Smad2 蛋白表达明显升高 ( $P<0.05$ ), Smad3 蛋白表达水平明显下降 ( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 各药物组胃黏膜组织中 TGF- $\beta_1$  表达水平明显降低 ( $P<0.05$ ), 香连化浊方中、高剂量组和摩罗丹组 Smad2、Smad3 蛋白表达水平明显下降 ( $P<0.05$ ); 与摩罗丹组比较, 香连化浊方中剂量组 TGF- $\beta_1$  蛋白表达水平明显降低 ( $P<0.05$ ), 香连化浊方中、高剂量组 Smad2 表达水平明显降低 ( $P<0.05$ )。见表 1、图 3 和增强出版附加材料。

**4.2.5 香连化浊方对 CAG 大鼠胃黏膜组织细胞周期及增殖标志物 geminin 和 MCM2 蛋白表达的影响** Western blot 结果显示, 与正常组比较, 模型组大



注:黑色箭头表示线粒体;绿色箭头表示空泡

图2 香连化浊方对CAG大鼠胃黏膜细胞超微结构的影响(透射电镜,×20 000)

Fig. 2 Effect of Xianglian Huazhuo prescription on ultrastructure of gastric mucosa cells in CAG rats (TEM, ×20 000)

表1 香连化浊方对CAG大鼠胃黏膜组织中TGF-β<sub>1</sub>、Smad2、Smad3蛋白表达的影响(̄x±s, n=3)

Table 1 Effect of Xianglian Huazhuo prescription on expression of TGF-β<sub>1</sub>, Smad2 and Smad3 in gastric mucosa of CAG rats (̄x±s, n=3)

| 组别        | 剂量/g·kg <sup>-1</sup> | TGF-β <sub>1</sub> /β-actin | Smad2/β-actin             | Smad3/β-actin           |
|-----------|-----------------------|-----------------------------|---------------------------|-------------------------|
| 正常组       |                       | 0.12±0.05                   | 0.51±0.04                 | 0.89±0.24               |
| 模型组       |                       | 0.86±0.12 <sup>1)</sup>     | 1.42±0.09 <sup>1)</sup>   | 0.25±0.14 <sup>1)</sup> |
| 香连化浊方低剂量组 | 9                     | 0.72±0.07 <sup>2)</sup>     | 1.36±0.07 <sup>3)</sup>   | 0.43±0.15               |
| 香连化浊方中剂量组 | 18                    | 0.36±0.03 <sup>2,3)</sup>   | 0.92±0.03 <sup>2,3)</sup> | 0.74±0.18 <sup>2)</sup> |
| 香连化浊方高剂量组 | 36                    | 0.52±0.05 <sup>2)</sup>     | 0.84±0.04 <sup>2,3)</sup> | 0.62±0.21 <sup>2)</sup> |
| 摩罗丹组      | 1.4                   | 0.63±0.08 <sup>2)</sup>     | 1.17±0.03 <sup>2)</sup>   | 0.59±0.13 <sup>2)</sup> |

注:与正常组比较<sup>1)</sup>P<0.05;与模型组比较<sup>2)</sup>P<0.05;与摩罗丹组比较<sup>3)</sup>P<0.05(表2同)

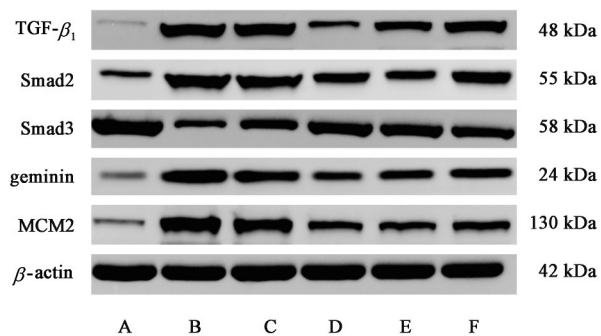


图3 各组胃黏膜组织中TGF-β<sub>1</sub>、Smad2、Smad3、geminin、MCM2蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoretic of TGF-β<sub>1</sub>, Smad2, Smad3, geminin, MCM2 protein expression in gastric mucosal tissue of rats in each group

鼠胃黏膜组织中geminin、MCM2蛋白表达明显升高(P<0.05);与模型组比较,各药物组胃黏膜组织中geminin表达明显降低(P<0.05),香连化浊方中、高剂量组和摩罗丹组MCM2蛋白表达水平明显下降(P<0.05);与摩罗丹组比较,香连化浊方中、高剂

量组geminin表达水平明显下降(P<0.05)。见表2、图3和增强出版附加材料。

表2 香连化浊方对CAG大鼠胃黏膜组织中geminin、MCM2蛋白表达水平的影响(̄x±s, n=3)

Table 2 Effect of Xianglian Huazhuo prescription on expression level of geminin and MCM2 protein in gastric mucosa of CAG rats (̄x±s, n=3)

| 组别        | 剂量/g·kg <sup>-1</sup> | geminin/β-actin           | MCM2/β-actin            |
|-----------|-----------------------|---------------------------|-------------------------|
| 正常组       |                       | 0.31±0.05                 | 0.24±0.09               |
| 模型组       |                       | 1.13±0.15 <sup>1)</sup>   | 1.25±0.19 <sup>1)</sup> |
| 香连化浊方低剂量组 | 9                     | 0.98±0.07 <sup>2,3)</sup> | 1.05±0.25 <sup>3)</sup> |
| 香连化浊方中剂量组 | 18                    | 0.56±0.03 <sup>2,3)</sup> | 0.57±0.19 <sup>2)</sup> |
| 香连化浊方高剂量组 | 36                    | 0.68±0.02 <sup>2,3)</sup> | 0.59±0.19 <sup>2)</sup> |
| 摩罗丹组      | 1.4                   | 0.84±0.03 <sup>2)</sup>   | 0.69±0.17 <sup>2)</sup> |

#### 4.2.6 香连化浊方对CAG大鼠TGF-β<sub>1</sub>、Smad2、Smad3、geminin、MCM2表达水平相关性分析

Spearman相关性系数显示,各组Smad3蛋白相对表达量与TGF-β<sub>1</sub>、Smad2、geminin、MCM2均呈负相关(P<0.01),TGF-β<sub>1</sub>、Smad2、geminin、MCM2之间蛋白相对表达量均呈正相关(P<0.01),TGF-β<sub>1</sub>和geminin呈正相关,且正相关性最强(r<sub>s</sub>=0.94, P<0.01),MCM2与Smad3呈负相关,且负相关性最强(r<sub>s</sub>=-0.94, P<0.01)。见增强出版附加材料。

#### 5 讨论

CAG在中国患病率高达20%,有发生胃癌的风险<sup>[9]</sup>。CAG可归属于中医“胃痞”“心下痛”等范畴,中医基于整体观念和辨证论治运用内外治法治疗CAG疗效显著<sup>[10]</sup>。现代人多饮食不节,嗜食肥甘厚味,导致湿热之邪胶结于中焦脾胃,久而酿生浊毒,浊毒内蕴乃CAG的病机所在,国医大师李佃贵教授基于浊毒理论运用化浊解毒法拟香连化浊方治疗CAG。

CAG的发生发展与胃黏膜细胞增殖-凋亡失衡密切相关。细胞周期是细胞生命活动的基本过程,

其控制着细胞的生长、分裂和增殖,细胞周期的紊乱可能导致细胞增殖-凋亡失衡,影响CAG细胞的生长和分化,进而引发胃黏膜的损伤和炎症反应。因此,深入研究CAG中细胞周期的变化及其调控机制,对于揭示疾病的发病机制及寻找有效的治疗策略具有重要意义。

本研究通过GeneCard数据库筛选细胞周期和增殖相关基因,使用GEO数据库筛选CAG相关差异基因,通过WGCNA确定核心基因与细胞周期和增殖相关基因取交集后进行富集分析,KEGG分析表明CAG-细胞周期-增殖核心基因主要涉及MAPK、细胞周期、TGF- $\beta$ 等156个信号通路。运用PPI分析方式按照Degree值进一步筛选得到包括TGF- $\beta_1$ 抗体、MYC、表皮生长因子受体(EGFR)、B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、 $\beta$ -连环蛋白(CTNNB1)、鼠类肉瘤病毒癌基因(KRAS)、胱天蛋白酶-3(Caspase-3)、核转录因子(NF)- $\kappa$ B1、酪氨酸激酶受体(ERBB2)、缺氧诱导因子1 $\alpha$ (HIF1A)、非受体型酪氨酸蛋白激酶(SRC)、Janus激酶2(JAK2)、信号转导与转录激活因子1(STAT1)、细胞黏附分子44(CD44)、增强子蛋白锌指同源物2(EZH2)在内的15个基因,此外Smad3基因的Degree值也高于中位数。结合前期研究香连化浊方可以通过TGF- $\beta$ 信号通路下游的PI3K/Akt和EGFR/MAPK/细胞外调节蛋白激酶(ERK)信号通路发挥抑制细胞增殖及异常分化、促进细胞凋亡的作用,改善大鼠胃黏膜病理状态<sup>[4-7,11-12]</sup>,本次研究拟验证香连化浊方对CAG大鼠TGF- $\beta_1$ /Smads通路 with 细胞周期和增殖的影响,以期为该方的临床应用提供更为坚实的理论基础和实验依据。

TGF- $\beta_1$ 蛋白是TGF- $\beta$ 超家族的成员之一,可促进细胞增殖,在CAG发病及癌变过程中发挥着关键作用,在CAG乃至胃癌的胃黏膜中均存在过表达,且随着CAG炎癌转化的过程中表达递增<sup>[13-16]</sup>。Smad2蛋白和Smad3蛋白是TGF- $\beta_1$ 蛋白的下游蛋白,受TGF- $\beta_1$ 蛋白调控。TGF- $\beta_1$ 蛋白与TGF- $\beta$  I型受体(TGF- $\beta$ R I)和TGF- $\beta$  II型受体(TGF- $\beta$ R II)结合,激活下游Smad2/3蛋白,调控细胞周期、增殖、凋亡、免疫等生物学过程<sup>[17-18]</sup>。Smad2蛋白和Smad3蛋白的结构上高度相似,然而Smad2蛋白的氨基端比Smad3蛋白多了2个氨基酸片段,这就造成了Smad2蛋白和Smad3蛋白在功能和表达上的差异<sup>[19]</sup>。Smad3蛋白的表达可以抑制细胞增殖及TGF- $\beta_1$ 蛋白的活化<sup>[20-21]</sup>,而Smad2蛋白的表达可通

过促进TGF- $\beta$ 信号通路及细胞增殖<sup>[22]</sup>。

在CAG的发病机制中细胞周期异常调控、过度增殖是一个重要的环节。MCM2作为Mcm家族的一员,是细胞增殖的标志物<sup>[23]</sup>。中成药胃复春片可以通过MCM2等靶点治疗肠上皮化生,异型增生等胃癌前病变,且MCM2高表达,会使胃癌患者生存期缩短<sup>[24-25]</sup>。TGF- $\beta_1$ 可以通过阻止MCM2等Mcm家族成员的产生来阻断G<sub>1</sub>期(间期)进展,而Smad3的缺失可以抑制TGF- $\beta_1$ 对MCM2/7的抑制<sup>[26]</sup>。同时TGF- $\beta$ 、Smad2、Smad3、MCM均为细胞周期信号通路的组成部分,与细胞周期密切相关,见增强出版附加材料。

有丝分裂细胞分裂分为4个时期,G<sub>1</sub>、S(DNA合成期)、G<sub>2</sub>和M(有丝分裂期),G<sub>2</sub>/M期是增殖的重要时段<sup>[27-28]</sup>。geminin是一种具有DNA复制抑制功能的核蛋白,仅存在于细胞周期的S/G<sub>2</sub>/M期,是S/G<sub>2</sub>/M期的标志物,通过与复制起始因子Cdt 1相互作用并阻止MCM2-7等许可因子加载到染色质上来抑制复制起始,表达水平与细胞的增殖活性相关,反映了细胞的异常增殖状态<sup>[29-30]</sup>。geminin和MCM2的组合可以作为增殖的标志物<sup>[31]</sup>。见增强出版附加材料。

本研究表明CAG大鼠胃黏膜中的TGF- $\beta_1$ 、Smad2、geminin和MCM2的蛋白含量明显高于正常组,Smad3的蛋白含量明显低于正常组,在CAG胃黏膜组织中增殖活跃,大多处于S/G<sub>2</sub>/M期;Spearman相关性分析表明Smad3和其余指标均呈负相关,其余指标之间均呈正相关,与既往研究一致。Smad3和MCM2的相关性系数为-0.94,TGF- $\beta_1$ 和MCM2的相关性系数为0.78,Smad3对MCM2的“保护”作用强于TGF- $\beta_1$ 对MCM2的“抑制”作用,与既往研究相符。香连化浊方可以通过抑制TGF- $\beta_1$ /Smads信号通路调控细胞周期,抑制增殖改善胃黏膜状况。

综上所述,本研究通过生物信息学技术发现TGF- $\beta_1$ /Smads通路为CAG潜在治疗信号通路,并使用复合造模大鼠,进一步探究了香连化浊方对TGF- $\beta_1$ /Smads通路和增殖标志物MCM2和S/G<sub>2</sub>/M期标志物geminin的影响,明确了CAG胃黏膜组织大多处于S/G<sub>2</sub>/M期,然而并未探究TGF- $\beta_1$ /Smads通路对geminin和MCM2的调控作用。后续可开展细胞实验和动物实验对细胞周期进行更具体的检测、探究抑制和过表达TGF- $\beta_1$ /Smads通路对于geminin和MCM2的影响及香连化浊方是否可以逆转其

影响。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 何友成. 基于病理的慢性萎缩性胃炎不同癌变风险的证素分布差异性研究[D]. 福州:福建中医药大学, 2022. .  
HE Y C. Differences in the distribution of syndrome elements based on pathology in chronic atrophic gastritis with different cancer risks [D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2022
- [2] 唐旭东,张泰,卞立群,等. 萎缩性胃炎与胃癌前病变诊疗研究的关键问题及其对策[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2023,31(5):317-322.  
TANG X D, ZHANG T, BIAN L Q, et al. Diagnosis and treatment of atrophic gastritis and gastric precancerous lesions: Key issues and countermeasures [J]. Chin J Integr Tradit Western Med Digest, 2023, 31(5):317-322.
- [3] 王艺灿,程祎睿,刘紫薇,等. 基于浊毒理论运用化浊解毒法治疗慢性萎缩性胃炎研究进展[J]. 河北中医, 2022, 44(1): 152-156.  
WANG Y C, CHENG Y R, LIU Z W, et al. Research progress on the treatment of chronic atrophic gastritis based on the theory of turbid-poison and the method of resolving turbid-poison[J]. Hebei J Tradit Chin Med, 2022, 44(1):152-156.
- [4] 王杰,高云霄,马虹宇,等. 基于网络药理学和实验验证探讨香连化浊方对慢性萎缩性胃炎的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(18): 161-168.  
WANG J, GAO Y X, MA H Y, et al. Mechanism of Xianglian Huazhuo prescription against chronic atrophic gastritis based on network pharmacology and experimental verification [J] Chin J Exp Tradit Med Form, 2022, 28(18): 161-168.
- [5] 刘晓萌,刘建平,郎晓猛,等. 基于网络药理学及实验验证探讨香连化浊方治疗慢性萎缩性胃炎大鼠作用机制[J]. 中药药理与临床, 2022, 38(4): 21-28.  
LIU X M, LIU J P, LANG X M, et al. Mechanism of Xianglian Huazhuo recipe (香连化浊方) in the treatment of chronic atrophic gastritis in rats based on network pharmacology and experimental verification [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2022, 38(4): 21-28.
- [6] 高云霄,王杰,马虹宇,等. 香连化浊方对慢性萎缩性胃炎大鼠凋亡信号通路相关因子的影响[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(3): 1050-1057.  
GAO Y X, WANG J, MA H Y, et al. Effects of Xianglian Huazhuo recipe on apoptosis signal pathway related factors in rats with chronic atrophic gastritis [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2023, 38(3): 1050-1057.
- [7] 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.  
YANG Y W, CHENG N, LIU L R, et al. Effect of Xianglian Huazhuo formula on EGFR/MAPK/ERK signaling pathway in gastric mucosa in chronic atrophic gastritis model rats [J]. J Tradit Chin Med, 2023, 64(14): 1483-1490.
- [8] 于春月,刘婷,刘凯歌,等. 慢性萎缩性胃炎病证结合动物模型的建立与评价[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(5): 2140-2144.  
YU C Y, LIU T, LIU K G, et al. Establishment and evaluation of disease and syndrome integrated animal model on chronic atrophic gastritis [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2018, 33(5): 2140-2144.
- [9] Guidelines for diagnosis and treatment of chronic gastritis in China (2022, Shanghai) [J]. J Dig Dis, 2023, 24 (3) : 150-180.
- [10] 王龙华,李萍,张福文,等. 中医药治疗慢性萎缩性胃炎的研究进展[J]. 世界中西医结合杂志, 2023, 18(6): 1261-1265.  
WANG L H, LI P, ZHANG F W, et al. Research progress in TCM treatment for chronic atrophic gastritis [J]. World J Integr Tradit West Med, 2023, 18(6): 1261-1265.
- [11] 刘远婷,李慧,丁甜甜,等. 基于 TGF- $\beta_1$ /PI3K/Akt 通路探讨加味沙参麦冬汤对慢性萎缩性胃炎大鼠的影响[J]. 实用临床医药杂志, 2023, 27(14): 82-89.  
LIU Y T, LI H, DING T T, et al. Effects of modified Shashen Maidong decoction in rats with chronic atrophic gastritis based on TGF- $\beta_1$ /PI3K/Akt pathway [J]. Clin Med Practice J, 2023, 27(14): 82-89.
- [12] HARIYANTO N I, YO E C, WANANDI S I. Regulation and signaling of TGF- $\beta$  autoinduction [J]. Int J Mol Cell Med, 2021, 10(4): 234-247.
- [13] 李玉凤,陈亮亮,李学军. 基于 TGF- $\beta_1$ /Smad3 通路探讨脾胃培源方对慢性萎缩性胃炎大鼠干预作用[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(2): 173-177.  
LIU Y F, CHEN L L, LI X J. Intervention effect of Piwei Peiyuan decoction on rats with chronic atrophic gastritis: An analysis based on the TGF- $\beta_1$ /Smad3 signaling pathway [J]. J Hunan Univ Chin Med, 2019, 39(2): 173-177.
- [14] 林宗粤,程宇星,吴剑纯,等. 一贯煎对慢性萎缩性胃炎癌前病变大鼠甲状腺功能和 TGF- $\beta_1$ /Smad 通路的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2022, 31(19): 2640-2646.  
LIN Z Y, CHENG Y X, WU J C, et al. Effect of Yiguanjian decoction on thyroid function and TGF- $\beta_1$ /Smad pathway in rats with precancerous lesion of chronic atrophic gastritis [J]. Mod J Integr Tradit Chin Western Med, 2022, 31(19): 2640-2646.
- [15] 王莉兰,徐中驰,凌云,等. 三物白散含药血清通过 TGF- $\beta_1$ /Smad 通路抑制 TGF- $\beta_1$  诱导的人胃癌 SGC-7901 细胞上皮间质转化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(21): 66-73.
- [16] WANG L L, XU Z C, LING Y, et al. Sanwubai San inhibits TGF- $\beta_1$  induced epithelial mesenchymal transition of human gastric cancer SGC-7901 cells through TGF- $\beta$ /Smad pathway [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2022, 28(21): 66-73.
- KIM S H, LEE S H, CHOI Y L, et al. Extensive alteration in the expression profiles of TGF- $\beta$  pathway signaling components and TP53 is observed along the gastric dysplasia-

- carcinoma sequence [J]. *Histol Histopathol*, 2008, 23 (12): 1439-1452.
- [17] CHEN W. TGF- $\beta$  regulation of T cells [J]. *Annu Rev Immunol*, 2023, 41:483-512.
- [18] ZHANG B, YE H, REN X, et al. Macrophage-expressed CD51 promotes cancer stem cell properties via the TGF- $\beta_1$ /smad2/3 axis in pancreatic cancer [J]. *Cancer Lett*, 2019, 459: 204-215.
- [19] 陈峰, 郑敏, 陈智. Smad2和Smad3在TGF- $\beta_1$ 信号转导中的作用 [J]. *国际流行病学传染病学杂志*, 2006 (3): 187-189, 206.
- CHEN F, ZHENG M, CHEN Z. The mechanism of Smad2 and Smad3 in TGF- $\beta_1$  signaling [J]. *Int J Epidemiol Infect Dis*, 2006(3):187-189, 206.
- [20] 杨宗保, 葛来安, 何晓晖, 等. 双蒲散对慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜细胞TGF- $\beta_1$ /Smad3信号通路的影响 [J]. *江西中医药*, 2016, 47(1):34-37.
- YANG Z B, GE L A, HE X H, et al. The effect of Shuangpusan on the TGF- $\beta_1$ /Smad3 signaling pathway in gastric mucosa cells of rats with chronic atrophic gastritis [J]. *Jiangxi J Tradit Chin Med*, 2016, 47(1):34-37.
- [21] 霍耀辉, 张静, 周立蓉, 等. TGF- $\beta$ /Smads信号通路在心力衰竭心肌纤维化中的作用及中医药干预研究现状 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(3):444-448.
- HUO Y H, ZHANG J, ZHOU L R, et al. Role of TGF- $\beta$ /Smads signaling pathway in myocardial fibrosis of heart failure and research status of traditional Chinese medicine intervention [J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2024, 40 (3):444-448.
- [22] 齐文博. SMAD2转录激活BUB1增强TGF $\beta$ 信号途径促进肝癌DNA损伤、增殖以及迁移 [D]. 兰州:兰州大学, 2023.
- QI W B. SMAD2 transcriptional activation of BUB1 enhances TGF- $\beta$  signaling pathway and promotes DNA damage, proliferation and migration in liver cancer [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2023
- [23] SUN Y, CHENG Z, LIU S. MCM2 in human cancer: Functions, mechanisms, and clinical significance [J]. *Mol Med*, 2022, 28(1):128.
- [24] 许晶, 李冬云, 吴洁雅, 等. 基于数据挖掘及生物信息学探讨中医药治疗晚期胃癌的用药规律和作用机制 [J]. *中医药导报*, 2023, 29(4):132-142.
- XU J, LI D Y, WU J Y, et al. Study on the medication rule and mechanism of traditional Chinese medicine in the treatment of advanced gastric cancer based on datamining and bioinformatics [J]. *Guiding J Tradit Chin Med Pharm*, 2023, 29(4):132-142.
- [25] 朱秀芳, 邱硕程, 杨兰, 等. 胃复春片治疗胃癌前病变作用机制的网络药理学研究 [J]. *中国药业*, 2022, 31(14):64-71.
- ZHU X F, QIU S C, YANG L, et al. Mechanism of Weifuchun tablets in the treatment of precancerous lesions of gastric cancer based on network pharmacology [J]. *China Pharmaceut*, 2022, 31(14):64-71.
- [26] NEPON-SIXT B S, ALEXANDROW M G. TGF $\beta_1$  cell cycle arrest is mediated by inhibition of MCM assembly in Rb-deficient conditions [J]. *Mol Cancer Res*, 2019, 17 (1): 277-288.
- [27] GIOTTI B, CHEN S H, BARNETT M W, et al. Assembly of a parts list of the human mitotic cell cycle machinery [J]. *J Mol Cell Biol*, 2019, 11(8):703-718.
- [28] 邓显光, 陈睿旖, 赵丹, 等. “乳香-没药”药对对雌二醇诱导的人乳腺细胞在细胞增殖、细胞周期及细胞周期相关调控因子表达的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(6):1318-1321.
- DENG X G, CHEN R Y, ZHAO D, et al. The influence of "Ruxiang-Moyao" medicinal pair on cell proliferation, cell cycle, and expression of cell cycle-related regulatory factors in estradiol-induced human breast cancer cells [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2019, 17(1):277-288.
- [29] 田薇, 章建国, 刘益飞, 等. Geminin在胃癌组织中的表达及临床意义 [J]. *江苏医药*, 2017, 43(15):1093-1095.
- TIAN W, ZHANG J G, LIU Y F, et al. Expression and clinical significance of geminin in gastric carcinoma [J]. *Jiangsu Med J*, 2017, 43(15):1093-1095.
- [30] 王孝安, 陈一楠, 程传东, 等. Geminin表达水平与脑胶质瘤病人预后的关系 [J]. *中国临床神经外科杂志*, 2021, 26(8): 600-602.
- WANG X A, CHEN Y N, CHENG C D, et al. Relationship between Geminin expression and survival outcome of glioma patients [J]. *Chin J Clin Neurosurg*, 2021, 26 (8): 600-602.
- [31] SHOMORI K, NISHIHARA K, TAMURA T, et al. Geminin, Ki67, and minichromosome maintenance 2 in gastric hyperplastic polyps, adenomas, and intestinal-type carcinomas: Pathobiological significance [J]. *Gastric Cancer*, 2010, 13(3):177-185.

[责任编辑 顾雪竹]