

# 新加黄芪建中汤通过FoxO3/ROS调控线粒体功能 缓解小鼠胃癌前状态

文跃强<sup>1</sup>, 周黎<sup>1</sup>, 罗丹<sup>1</sup>, 赵茂源<sup>3</sup>, 韩军<sup>1</sup>, 李雪怡<sup>1</sup>,  
李建国<sup>5</sup>, 贺哲林<sup>4</sup>, 沈涛<sup>1</sup>, 曾进浩<sup>2\*</sup>

(1. 成都中医药大学基础医学院, 成都 611137; 2. 成都中医药大学附属医学院, 成都 610075;  
3. 北京中医药大学药学院, 北京 102488; 4. 广安市中医院, 四川 广安 638600;  
5. 巴中市中医院, 四川 巴中 636099)

**【摘要】** 目的:探讨新加黄芪建中汤(HQJZ)缓解胃癌前状态(GPC)的作用及其机制。方法:在体外实验中,使用N-甲基-N'-硝基-N-亚硝-基胍(MNNG)诱导人胃黏膜上皮细胞发生恶性转化,建立GPC细胞模型(MC细胞)。体外实验分为4组:正常组,模型组,新加黄芪建中汤低剂量组(HQJZ-L)、高剂量组(HQJZ-H),正常组和模型组给予完全培养基培养,HQJZ-L和HQJZ-H组在此基础上分别给予新加黄芪建中汤低剂量(0.5 g·L<sup>-1</sup>)、高剂量(1.0 g·L<sup>-1</sup>)进行干预。采用细胞增殖与活性检测-8(CCK-8)法评估新加黄芪建中汤对细胞的增殖抑制作用,Transwell实验检测MC细胞侵袭能力,采用Annexin V-FITC/PI法检测MC细胞凋亡情况,免疫荧光法分析活性氧的水平及线粒体自噬情况变化,并采用蛋白免疫印迹法(Western blot)验证关键通路中的蛋白表达。在体内实验中,采用MNNG诱导健康BALB/c小鼠建立GPC动物模型,将24只小鼠分为4组:正常组、模型组、HQJZ-L、HQJZ-H,正常组和模型组的小鼠给予生理盐水(10 mL·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)灌胃,HQJZ-L和HQJZ-H组分别给予新加黄芪建中汤低剂量(6.24 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、高剂量(12.48 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)灌胃,给药结束后,用苏木素-伊红(HE)染色、AB-PAS染色观察各组小鼠胃组织病理学变化。通过免疫荧光检测小鼠胃黏膜中活性氧(ROS)、微管相关蛋白1轻链3(LC3)的水平,原位末端标记法(TUNEL)染色检测胃黏膜细胞的凋亡率。通过Western blot和免疫组织化学法(IHC)分析增殖细胞相关抗原(Ki67)、黏膜增殖细胞核抗原(PCNA)、叉头框蛋白O3(FoxO3)的表达水平。**结果:**细胞活力实验结果显示,与正常组比较,HQJZ以浓度依赖的方式降低MC的细胞活力( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。Transwell实验结果显示,与正常组比较,模型组细胞侵袭能力明显增强( $P<0.05$ );与模型组比较,HQJZ各组细胞侵袭能力明显减弱( $P<0.05$ )。小鼠胃黏膜病理结果显示,肉眼观察胃黏膜可见,与正常组比较,模型组小鼠HE和AB-PAS病理评分上升( $P<0.05$ );与模型组比较,HE和AB-PAS病理评分下降( $P<0.05$ )。透射电子显微镜观察小鼠胃黏膜上皮线粒体形态,与正常组比较,模型组小鼠胃黏膜线粒体数量增多,体积变大;与模型组比较,HQJZ各组小鼠胃黏膜线粒体结构异常,粗面内质网形态、分布均显著改变,表现为扩张型、空心状。线粒体检测、细胞凋亡检测显示,与正常组比较,模型组细胞线粒体绿色荧光(Mito-Tracker Green)信号增强( $P<0.05$ ),DCFH-DA荧光信号没有显著变化,线粒体红色荧光(Mito Tracker Red CMXRos)信号没有显著变化,ROS免疫荧光染色没有显著变化,GSH水平明显上升( $P<0.05$ ),MDA水平没有显著变化,LC3荧光信号明显增强( $P<0.05$ ),细胞凋亡率没有显著变化,细胞和小鼠血清ATP含量明显上升( $P<0.05$ );与模型组比较,HQJZ各组线粒体绿色荧光信号明显降低( $P<0.05$ ),DCFH-DA荧光信号、红色荧光信号、MDA水平、LC3荧光信号、细胞凋亡率明显增加( $P<0.05$ ),细胞ATP含量明显降低( $P<0.05$ ),HQJZ-L组ROS免疫荧光染色、GSH水平没有显著变化,HQJZ-H组ROS免疫荧光信号、GSH水平明显增强( $P<0.05$ )。免疫组化与Western blot结果显示,与正常组比较,模型组PCNA、Ki67阳性细胞数量明显增高( $P<0.05$ ),FoxO3、SIRT1和B细胞淋巴瘤因子-6(Bcl-6)的蛋白水平上升( $P<0.05$ );与模型组比较,HQJZ各组中PCNA、Ki67阳性细胞数量明显减少( $P<0.05$ ),FoxO3、SIRT1和Bcl-6蛋白水平明显降低( $P<0.05$ )。**结论:**HQJZ可通过FoxO3/ROS途径调控线粒体功能、促进GPC恶变细胞的凋亡,从而缓解胃癌前病变的发展。

**【关键词】** 胃癌前病变; 新加黄芪建中汤; 叉头框蛋白O3(FoxO3); 活性氧(ROS); 线粒体

**【中图分类号】** R289;R259;R285 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2026)14-0216-10

**【doi】** 10.13422/j.cnki.syfjx.20251307

**【网络出版地址】** <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.r.20250724.1040.004>

**【网络出版日期】** 2025-07-25 09:05:56 **【增强出版附件】** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>



**【收稿日期】** 2025-05-27

**【基金项目】** 四川省科技厅项目(2023ZDYF1090);宜宾市科技局项目(2024ZYY002);巴中市中医院院基金项目(202401)

**【第一作者】** 文跃强,博士,副教授,从事胃肠道疾病研究,E-mail:wenyueqiang@cdutem.edu.cn

**【通信作者】** \*曾进浩,博士,副教授,从事胃肠道疾病研究,E-mail:zengjinhao@cdutem.edu.cn

## Modified Huangqi Jianzhong Decoction Alleviates Gastric Precancerous Conditions in Mice by Regulating Mitochondrial Function via FoxO3/ROS Signaling Pathway

WEN Yueqiang<sup>1</sup>, ZHOU Li<sup>1</sup>, LUO Dan<sup>1</sup>, ZHAO Maoyuan<sup>3</sup>, HAN Jun<sup>1</sup>, LI Xueyi<sup>1</sup>,  
LI Jianguo<sup>5</sup>, HE Zhelin<sup>4</sup>, SHEN Tao<sup>1</sup>, ZENG Jinhao<sup>2\*</sup>

(1. School of Basic Medical Sciences, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 611137, China; 2. Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China; 3. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China; 4. Guang'an Hospital of TCM, Guang'an 638600, China; 5. Bazhong Hospital of TCM, Bazhong 636099, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the therapeutic effects and mechanisms of modified Huangqi Jianzhong decoction (HQJZ) on gastric precancerous conditions (GPC). **Methods:** In the cell experiment, human gastric mucosal epithelial cells underwent malignant transformation induced by *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) for the modeling of GPC (MC cells). The cells were allocated into four groups: control, model, low-dose HQJZ (HQJZ-L), and high-dose HQJZ (HQJZ-H). The control and model groups were cultured with the complete medium, while HQJZ-L and HQJZ-H groups received additional interventions with HQJZ at low (0.5 g·L<sup>-1</sup>) and high (1.0 g·L<sup>-1</sup>) doses, respectively. Cell counting kit-8 (CCK-8) assay was used to evaluate cytotoxicity, Transwell assay to assess cell invasion, Annexin V-FITC/PI staining to detect apoptosis, immunofluorescence assay to analyze reactive oxygen species (ROS) expression and mitochondrial autophagy, and Western blot to verify expression of proteins in key pathways. In the animal experiment, the GPC model was established in healthy BALB/c mice through MNNG induction. Twenty-four mice were allocated into four groups: control, model, HQJZ-L, and HQJZ-H. Control and model groups received normal saline (10 mL·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) orally, while HQJZ-L and HQJZ-H groups were administrated with low-dose (6.24 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) and high-dose (12.48 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) HQJZ, respectively. After treatment, hematoxylin-eosin (HE) staining and AB-PAS staining were performed to observe histopathological changes in the gastric tissue. Immunofluorescence assay was used to detect reactive oxygen species (ROS) and microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3) levels in the gastric mucosa, TdT-mediated dUTP nick-end labeling (TUNEL) staining to assess apoptosis rates, and Western blotting and immunohistochemistry (IHC) to analyze the expression levels of Ki67, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), and foxhead box O3 (FoxO3). **Results:** Cell viability assays showed that HQJZ dose-dependently reduced MC cell viability compared with the control group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Transwell assays revealed that the model group exhibited enhanced cell invasion compared with the control group ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, HQJZ treatment attenuated the cell invasion ( $P < 0.05$ ). Gastric mucosal pathology in mice demonstrated that compared with the control group, the model group showed elevated HE and AB-PAS pathological scores ( $P < 0.05$ ), while HQJZ treatment reduced these scores ( $P < 0.05$ ). Transmission electron microscopy revealed increased mitochondrial number and volume in the model group compared with the control group. HQJZ treatment resulted in abnormal mitochondrial structure and significant alterations in rough endoplasmic reticulum morphology and distribution, presenting as dilated and hollow forms. Mitochondrial and apoptosis assessments indicated that compared with the control group, the model group exhibited enhanced Mito Tracker Green fluorescence ( $P < 0.05$ ), no significant change in DCFH-DA fluorescence, Mito Tracker Red CMXRos fluorescence, ROS immunofluorescence, or malondialdehyde (MDA) level, increased GSH level ( $P < 0.05$ ), enhanced LC3 fluorescence ( $P < 0.05$ ), no significant change in apoptosis rate, and elevated ATP content in cells and mouse serum ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, HQJZ treatment reduced Mito Tracker Green fluorescence ( $P < 0.05$ ), increased DCFH-DA fluorescence, Mito Tracker Red fluorescence, MDA level, LC3 fluorescence, and apoptosis rate ( $P < 0.05$ ), and decreased cellular ATP content ( $P < 0.05$ ). The HQJZ-L group showed no significant change in ROS immunofluorescence or GSH level, whereas the HQJZ-H group demonstrated enhanced ROS immunofluorescence and glutathione (GSH) level ( $P < 0.05$ ). Immunohistochemistry and Western blotting revealed that compared with the control group, the model group exhibited increased numbers of PCNA- and Ki67-positive cells ( $P < 0.05$ ) and elevated protein levels of FoxO3, sirtuin 1 (SIRT1), and B-cell lymphoma 6 (Bcl-6) ( $P < 0.05$ ). HQJZ treatment reduced the numbers of PCNA- and Ki67-positive cells ( $P < 0.05$ ) and lowered the protein levels of FoxO3, SIRT1, and Bcl-6 ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** HQJZ alleviates the progression of gastric precancerous lesions by regulating mitochondrial function via the FoxO3/ROS pathway and promoting apoptosis of GPC-malignant cells.

**[Keywords]** gastric precancerous lesion; modified Huangqi Jianzhong decoction; foxhead box O3 (FoxO3); reactive oxygen species (ROS); mitochondrion

胃癌前状态(GPC)以胃黏膜固有腺体萎缩,伴或不伴有肠上皮化生为主要表现<sup>[1-2]</sup>,是胃癌发生的

高危状态<sup>[3-4]</sup>。其致病因素包括幽门螺杆菌(Hp)感染、自身免疫反应、遗传、饮食、环境等<sup>[5]</sup>。其中, Hp所产生的毒素和相关酶能直接引起胃黏膜损伤, 诱发炎症反应, 致使胃黏膜腺体萎缩<sup>[6-7]</sup>。感染性疾病导致自身免疫反应, 患者体内生成针对胃黏膜成分的自身抗体也会损伤胃黏膜<sup>[8-9]</sup>。另外, 胃癌前病变患者呈现出的家族聚集现象<sup>[10]</sup>, 或许与遗传因素相关。已证实长期服用非甾体类抗炎药、饮酒、吸烟等也是本病发生的重要因素<sup>[11]</sup>。胃癌前病变发病范围广, 在全世界范围内均有发病<sup>[12]</sup>。随着人口老龄化, 胃癌前病变的发病率也逐步上升, 而现有治疗手段缺乏针对胃癌前病变的特异性治疗效果<sup>[13]</sup>。因此, 寻找有效的治疗方法已成为治疗该疾病的研究重点。

叉头框蛋白 O3(FoxO3)作为一种多功能转录因子, 在肿瘤抑制、代谢调控、氧化应激等方面发挥重要作用<sup>[14]</sup>, 他可以调控活性氧(ROS)来影响线粒体功能, 从而抑制胃癌细胞增殖达到肿瘤抑制的作用<sup>[15]</sup>。线粒体已被证明是细胞中氧化损伤的主要目标, 并在肿瘤发生中起关键作用<sup>[16]</sup>。癌前细胞通常具有更高的代谢需求<sup>[17]</sup>, 线粒体通过增强氧化磷酸化作用来满足这种需求, 产生更多的三磷酸腺苷(ATP), 支持癌前细胞的快速增殖<sup>[18]</sup>。另外, 线粒体可以通过抑制凋亡信号通路来促进癌前细胞生长<sup>[19]</sup>。而ROS是一种由线粒体产生的含氧化合物, 参与分化、增殖、坏死、自噬和细胞凋亡等生理过程<sup>[20]</sup>, 在调节细胞生长中起着重要作用。在细胞自我更新过程中, 较低水平的ROS可以促进细胞生长。相反, 较高水平的ROS可引起线粒体损伤, 诱导癌前细胞凋亡<sup>[21]</sup>。综上所述, FoxO3与GPC的发生发展密切相关, 调控FoxO3表达有望成为治疗GPC的新靶点。

四川盆地气候潮湿, 再加上饮食不节、过食生冷、劳倦内伤等因素容易导致机体的脾胃虚寒。川派名医蒲辅周、唐宗海等名师大家极为重视脾胃, 善用黄芪建中汤加减治疗慢性胃炎、胃溃疡、胃出血等疾病。本研究的新加黄芪建中汤(HQJZ)是由黄芪、人参、白术、茯苓、枳实、莪术、桂枝、白芍、甘草组成, 具有益气、化痰、解毒的功效, 是川派医家临床治疗萎缩性胃炎的常用方剂。现代药理研究表明方中黄芪能有效逆转黏膜萎缩、肠化和异型增生<sup>[22]</sup>。而茯苓及其提取物能够调控FoxO3及其相关蛋白的表达, 在肿瘤治疗中发挥作用<sup>[23]</sup>。另外, 方中人参、白术、茯苓、莪术及这些药物的提取物能

够调节线粒体中ROS的积累及线粒体自噬<sup>[24-28]</sup>。因此, 本研究拟从FoxO3/ROS调控线粒体功能角度探讨HQJZ治疗胃癌前病变的作用机制。

## 1 材料

**1.1 细胞和动物** 人胃黏膜上皮细胞系购自上海富衡公司(目录号20180315-01), 均传至第6代。24只BALB/c小鼠, SPF级, 4周龄, 体质量(20±2)g, 购自成都达硕实验动物有限公司, 合格证号SCXK(川)2025-0030, 饲养于成都中医药大学实验动物研究中心, 实验动物使用许可证号SYXK(川)2024-0049, 室温(25±0.5)℃, 相对湿度(55±5)%, 采用12h/12h明暗光照, 自由摄食饮水。本实验经成都中医药大学动物研究伦理委员会批准(批号2024021)。

**1.2 药物** HQJZ由黄芪9g、人参9g、白术9g、茯苓9g、枳实9g、莪术9g、桂枝9g、白芍18g、甘草6g组成, 全方饮片均购自北京同仁堂有限公司(批号分别为230801、343250203、224250302、045250208、389250101、2303002、285241202、223250304、272250102), 由成都中医药大学药学院龙飞副教授进行鉴定, 均符合2020年版《中华人民共和国药典》要求。将全方饮片浸泡在10倍植物药物体积(v/w)的纯水中30min, 加热至沸腾并保持30min, 然后过滤并收集液体。如上所述再次煮沸汤剂, 收集2次液体, 过滤后, 恒温水浴浓缩至1g·mL<sup>-1</sup>, 并储存在4℃冰箱备用。对上述溶液进行2次回提取, 每次持续1h, 该过程重复3次。随后, 提取液在减压状态下浓缩并冷冻干燥。在体内实验过程中, 用纯水将其稀释至相应的质量浓度(g·mL<sup>-1</sup>)。在体外实验中, 用DMSO稀释至所需质量浓度(g·L<sup>-1</sup>), 并通过0.22μm聚醚砜(PES)注射器滤膜过滤后, 作用于人胃黏膜上皮细胞(GES-1)细胞。

**1.3 试剂** 戊巴比妥、N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)(上海MedChemExpress公司, 纯度95%, 货号分别为4390-16-3、70-25-7)。细胞增殖与活性检测-8(CCK-8)检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司, 批号2501101); 凋亡检测试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, 批号WO0664441942); ROS检测试剂盒、结晶紫染色液(上海Solarbio公司, 批号分别为2500040003、240003002); 苏木素-伊红(HE)染色试剂、AB-PAS染色试剂(武汉赛维尔生物科技股份有限公司, 批号分别为G1005、G1049); Matrigel基质胶(上海Corning

公司,批号01525002);FoxO3抗体、抗沉默调节蛋白1(SIRT1)抗体、抗B细胞淋巴瘤-6(Bcl-6)抗体、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(华安生物科技有限公司,批号分别为ER1706-79、ER130811、ER1901-74、R1210-1)。

**1.4 仪器** DM 2500型正置显微镜(德国Leica公司);IX83型荧光倒置显微镜(日本Olympus公司);MD SpectraMax iD5型多功能酶标仪(上海美谷分子仪器有限公司);Mini-PROTEAN® Tetra型电泳系统(美国Bio-Rad公司);Touch Imager型接触式化学发光成像系统(上海易亨特生命科学公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞培养** GES-1将细胞置于10 cm的培养皿中,在含有10%胎牛血清(FBS)和1%Penicillin-Streptomycin的DMEM高糖培养基中进行培养,同时保持培养环境在37℃的恒温条件下,并维持5%CO<sub>2</sub>的浓度及95%的空气湿度。待细胞贴壁之后,依照之前建立MC细胞的方法<sup>[29-30]</sup>,加入造模剂MNNG(25 μmol·L<sup>-1</sup>)干预GES-1细胞24 h后,诱导其转变为MC细胞,再用10%FBS含量的1640培养基继续培养细胞,约1周后可观察到部分死亡和漂浮细胞。待剩余细胞生物性状稳定,且生长至70%~80%的密度时,进行正常的传代培养。随后,用不同浓度的HQJZ干预MC细胞,观察HQJZ对MC细胞的表型及生物学行为的干预效应并进行分析。

**2.2 检测HQJZ干预前后MC细胞活力、侵袭、凋亡、线粒体结构、ROS和FoxO3相关蛋白的改变**

**2.2.1 CCK-8实验** 以每孔5×10<sup>4</sup>个细胞接种至96孔板中,将96孔板置于37℃、5%CO<sub>2</sub>的培养箱中培养24 h使细胞贴壁。随后,用不同浓度的HQJZ干预24 h。培养结束后,每孔加入CCK-8工作液10 μL,轻轻振荡混匀后,再次置于培养箱孵育1~4 h,直至正常组孔内颜色明显变化。最后,使用酶标仪在450 nm波长处测量各孔吸光度A,并进行数据分析和统计学处理,筛选细胞存活率在50%以上的2个不同质量浓度的HQJZ(0.5 g·L<sup>-1</sup>, 1.0 g·L<sup>-1</sup>)用于后续实验。

**2.2.2 Transwell实验** 观察细胞生长状态,取生长状态良好的细胞去培养基,加入无血清培养基饥饿24 h,将基质胶置于冰上并在4℃过夜融化,将移液管或枪头放入4℃预冷过夜。准备Transwell小室,将Matrigel基质胶以1:8的比例稀释成混合液后均匀铺在Transwell上室底部,形成人工基底膜,然后

置于37℃培养箱中干燥成胶。接着,制备细胞悬液,将细胞消化后用无血清培养基重悬,调整细胞密度至1×10<sup>5</sup>个/mL。将细胞悬液加入Transwell上室,同时在下室加入含血清的培养基作为趋化因子。然后,将Transwell小室放入培养箱中,在37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下培养48 h,使细胞侵袭穿过基底膜。培养结束后,用棉签轻轻擦去上室未侵袭的细胞,对已侵袭至下室的细胞进行固定和染色,使用4%多聚甲醛固定液固定30 min,再用结晶紫染色液染色20 min。染色后,用清水洗去多余染液,晾干。最后,在显微镜下随机选取3个视野计数侵袭细胞数,并进行统计学分析。

**2.2.3 细胞凋亡检测** 将MC细胞接种于6孔板中,待细胞贴壁后,用HQJZ干预细胞24 h。随后,收集细胞,制备凋亡细胞悬液,加入Annexin-FITC混合液10 μL避光孵育细胞15 min,加入缓冲液300 μL,之后,在1 h内通过流式细胞仪上机检测并分析细胞凋亡比例。

**2.2.4 线粒体结构分析** 使用MitoTracker Green Kit确定细胞内线粒体完整性。将细胞接种在6孔板中,黏附在表面,然后用HQJZ处理24 h。随后收集细胞,并用200 nm的MitoTracker Green在黑暗中培养30 min。之后,清洁细胞3次,使用倒置荧光显微镜测量线粒体完整性。

**2.2.5 ATP水平检测** 使用ATP试剂盒测量细胞内ATP水平的变化。将MC细胞接种在12孔板中,附着在表面,然后用HQJZ处理24 h。随后,使用4℃的ATP裂解液完全裂解细胞。离心后收集澄清的上清液,并将ATP工作溶液添加到不透明的96孔板中。作用5 min后,加入上清液50 μL,并使用酶标仪测定细胞内ATP含量。

**2.2.6 ROS测量** 使用ROS试剂盒测定细胞内ROS。将细胞接种在6孔板中,使其黏附在表面,然后用HQJZ处理24 h。随后,收集细胞并用10 μmol·L<sup>-1</sup> 2', 7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)在黑暗中培养30 min,然后洗涤3次。使用倒置荧光显微镜测量细胞内ROS水平。使用MitoTracker Red CMXRos Red染料测定ROS的线粒体内水平。

**2.2.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测相关蛋白表达** 用HQJZ处理细胞24 h,并按照说明书提取细胞裂解物。将样品上样到10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶上,并在受控的恒定压力下分离蛋白质。将凝胶中的蛋白

质移动到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。用封闭缓冲液封闭PVDF膜1 h。用磷酸盐缓冲液(PBS)和聚山梨醇酯-20洗涤膜5次,每次5 min,然后与一抗(1:1 000)在4 °C下孵育过夜。用PBS和聚山梨醇酯-20洗涤膜5次,每次5 min,在室温下与山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)H&L(1:50 000)孵育2 h,再次用PBS和聚山梨醇酯-20洗涤膜5次,每次5 min。最后用增强的化学发光底物测量蛋白质。在2种蛋白质分子量相似的情况下,先测定第1种蛋白质,然后洗涤膜并与第2种抗体重新孵育过夜,再进行蛋白质检测。使用Image J软件进行光密度分析。

### 2.3 构建小鼠GPC模型评价HQJZ在体内对GPC的影响和机制

**2.3.1 分组造模、给药** 体内实验选用24只SPF级BALB/c小鼠,将小鼠随机分为4组,每组6只,分别为正常组、模型组、模型+HQJZ低剂量组(HQJZ-L)、模型+HQJZ高剂量组(HQJZ-H)。按照现有GPC小鼠模型建造方法<sup>[31]</sup>,使用致癌剂MNG建立GPC小鼠模型,模型小鼠被给予自由饮用MNG(300 ppm)总共14周。同时,模型+HQJZ低剂量组小鼠灌胃HQJZ,6.24 g·kg<sup>-1</sup>,每日1次;模型+HQJZ高剂量组小鼠灌胃HQJZ,12.48 g·kg<sup>-1</sup>,每日1次。正常组和模型组的小鼠灌胃生理盐水(10 mL·kg<sup>-1</sup>),每日1次。在第14周末禁食12 h后,通过腹腔内注射戊巴比妥钠(70 mg·kg<sup>-1</sup>)麻醉小鼠。颈椎脱臼对小鼠实施安乐死,立即摘取胃。实验流程见增强出版附加材料。

**2.3.2 伦理** 本实验由成都中医药大学动物研究伦理委员会批准(批号2024021)。

**2.3.3 胃组织形态学观察** 小鼠禁食12 h后,使用戊巴比妥钠溶液(70 mg·kg<sup>-1</sup>)腹腔内注射麻醉小鼠,从下腔静脉抽血,并收取胃组织,观察并拍照胃组织形态。通过在4 °C下以3 500×g离心血液样本15 min获得血清样本。将胃组织在10%多聚甲醛中固定过夜,然后用乙醇和二甲苯脱水,制备3 μm石蜡包埋切片。按照说明进行HE染色,对染色的组织进行显微镜检查,并获取图像进行分析。根据说明,使用AB-PAS染色法进行测定。具有中性黏蛋白的正常黏膜被染成品红色,具有酸性黏蛋白的病变黏膜被染成蓝色。以×200放大倍数在光学显微镜下观察切片的形态学变化。

**2.4 免疫组织化学染色** 将胃组织切片包埋在石蜡中,并切成3 μm厚的切片用于免疫组织化学分析。将组织切片在97 °C加热20 min,浸入3%过氧

化物溶液中15 min,然后用5%含氧血清白蛋白封闭30 min。用抗FoxO3和增殖细胞核抗原(PCNA)、增殖细胞相关抗原(Ki67)的抗体(1:200)在4 °C过夜。然后用氨基联苯胺染色,并用苏木精再染色。使用光学显微镜拍摄3个随机选择区域,以×200放大倍数观察切片的形态学变化。使用积分光密度法和Image J软件对蛋白质表达水平进行定量。

**2.5 免疫荧光染色** 组织切片用水脱蜡,并通过96 °C微波加热15 min进行抗原修复。然后将组织切片冷却至室温,用正常绵羊血清封闭,并在4 °C孵育一抗(1:100)过夜。随后,与荧光素标记的二抗(1:100)在37 °C避光孵育1 h。然后用抗淬灭密封器密封,并用荧光显微镜拍照。

**2.6 胃黏膜上皮细胞超微结构改变** 动物组织取出后,立即浸入预冷的2.5%戊二醛固定液中固定2 h。固定后,用PBS冲洗组织以去除残留的固定液和杂质。随后,将组织转移到1%锇酸溶液中进行后固定1 h,以进一步增强细胞结构。然后,将组织包埋在石蜡中,并使用超薄切片机精确切成超薄切片(50~100 nm)。切片用醋酸铀和柠檬酸铅溶液染色。最后,将染色的切片置于透射电子显微镜下进行详细观察和分析。

**2.7 统计学方法** 采用SPSS 26.0进行统计学分析,采用Image J进行图像分析,图表制作采用GraphPad Prism 8.0,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 的形式展现。3组或3组以上进行单因素方差分析,两两比较在数据正态分布和方差齐性的前提下采用 $t$ 检验;否则采用非参数检验,设定显著性水平为 $\alpha=0.05$ , $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 HQJZ可抑制MC细胞增殖** CCK-8检测结果表明,HQJZ在药物质量浓度2 g·L<sup>-1</sup>及以下对GES-1细胞活力均无明显抑制作用,HQJZ对MC细胞的敏感度更高。与正常组比较,HQJZ以浓度依赖的方式降低MC的细胞活力( $P<0.05$ , $P<0.01$ ),见表1。Transwell实验结果显示,与正常组比较,模型组细胞侵袭能力明显增强( $P<0.05$ );与模型组比较,HQJZ各组细胞侵袭能力明显减弱( $P<0.05$ ),见表2、图1。

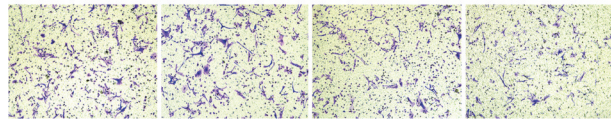
**3.2 HQJZ损伤线粒体诱导MC细胞凋亡** 与正常组比较,模型组细胞线粒体绿色荧光(Mito-Tracker Green)信号增强( $P<0.05$ ),DCFH-DA荧光信号变化差异无统计学意义,线粒体红色荧光(Mito Tracker

表1 不同浓度的HQJZ对MC细胞存活率和GES-1细胞存活率的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 1 Effect of different concentrations of HQJZ on survival rates of MC cells and GES-1 cells ( $\bar{x}\pm s, n=3$ ) %

组别	质量浓度/g·L <sup>-1</sup>	GES-1存活率	MC存活率
正常组		98.34±2.58	99.54±2.04
HQJZ组	0.1	98.23±2.70	98.26±2.45
	0.25	100.60±4.08	88.46±5.76 <sup>1)</sup>
	0.5	96.75±4.53	78.79±2.04 <sup>2)</sup>
	0.75	98.98±3.48	69.10±3.10 <sup>2)</sup>
	1.0	95.35±4.94	60.43±3.82 <sup>2)</sup>
	1.25	98.62±1.40	48.24±4.34 <sup>2)</sup>
	1.5	99.75±1.81	40.41±5.56 <sup>2)</sup>
	2.0	99.24±3.56	35.11±1.46 <sup>2)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup>P<0.05,<sup>2)</sup>P<0.01



注:A.正常组;B.模型组;C.HQJZ-L组;D.HQJZ-H组(图2-图8同)

图1 HQJZ对MC细胞侵袭能力的影响(结晶紫,×200)

Fig. 1 Effect of HQJZ on invasive ability of MC cells (crystal violet, ×200)

Red CMXRos)信号变化差异无统计学意义,ATP含量明显升高(P<0.05);与模型组比较,HQJZ各组细胞线粒体绿色荧光信号明显降低(P<0.05),DCFH-DA荧光信号及红色荧光信号明显增加(P<0.05),ATP含量明显降低(P<0.05),见图2、图3、表3。流式细胞术结果显示,与正常组比较,模型变化差异无统计学意义;与模型组比较,HQJZ各组MC细胞发生早期凋亡的比例明显增加(P<

表3 不同浓度HQJZ对MC细胞线粒体损伤、ROS、ATP含量及凋亡水平的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 3 Effect of different concentrations of HQJZ on mitochondrial damage, ROS, ATP content, and apoptosis levels in MC cells ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	质量浓度/g·L <sup>-1</sup>	MC细胞线粒体完整性	细胞内ROS	线粒体内ROS	ATP	凋亡率/%
正常组		1.02±0.03	1.02±0.07	0.97±0.06	1.00±0.04	9.70±0.77
模型组		1.69±0.07 <sup>1)</sup>	1.06±0.08	0.88±0.02	1.78±0.03 <sup>1)</sup>	11.06±0.42
HQJZ-L组	0.5	0.92±0.12 <sup>2)</sup>	1.43±0.12 <sup>2)</sup>	1.31±0.04 <sup>2)</sup>	1.52±0.02 <sup>2)</sup>	18.78±1.47 <sup>2)</sup>
HQJZ-H组	1.0	0.58±0.03 <sup>2)</sup>	1.63±0.04 <sup>2)</sup>	1.43±0.03 <sup>2)</sup>	1.00±0.12 <sup>2)</sup>	30.41±0.59 <sup>2)</sup>

3.3 HQJZ改善并部分逆转小鼠GPC 肉眼观察胃黏膜可见,正常组胃黏膜外观完整,具有规则、界限清晰的皱褶且呈现健康的粉红色;与正常组比较,模型组小鼠胃黏膜表面轮廓不规则,黏膜皱褶界限

表2 不同浓度的HQJZ对MC细胞侵袭能力的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 2 Effect of different concentrations of HQJZ on invasive ability of MC cells ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	质量浓度/g·L <sup>-1</sup>	细胞侵袭率/%
正常组		100.90±2.99
模型组		155.70±6.58 <sup>1)</sup>
HQJZ-L组	0.5	84.79±5.36 <sup>2)</sup>
HQJZ-H组	1.0	68.93±3.63 <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(表3-表8同)

0.05),见表3。Western blot结果显示,与正常组比较,模型组SIRT1、Bcl-6蛋白表达明显升高(P<0.05);与模型组比较,HQJZ各组FoxO3及其下游SIRT1和Bcl-6蛋白在MC细胞中的表达明显下调(P<0.05),见图4、表4。

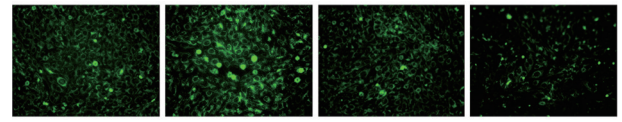


图2 HQJZ损伤MC细胞的线粒体完整性的影响(免疫荧光,×100)

Fig. 2 Effect of HQJZ on mitochondrial integrity of injured MC cells (IF, ×100)

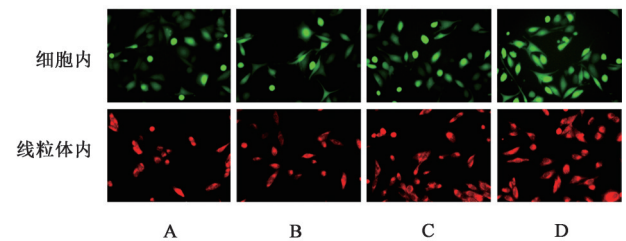


图3 HQJZ对MC细胞及线粒体ROS水平的影响(免疫荧光,×200)

Fig. 3 Effect of HQJZ on ROS levels in MC Cells and Mitochondria (IF, ×200)

模糊,黏膜苍白且伴有水肿;与模型组比较,HQJZ各组小鼠胃黏膜皱褶更为清晰,黏膜的苍白外观及水肿减轻,见图5。HE染色评结果显示,正常组小鼠的胃黏膜显示出基本正常的形态,腺体和细胞排

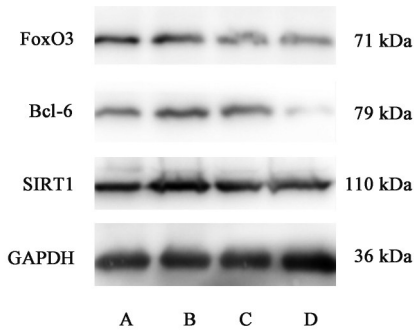


图4 各组MC细胞中FoxO3、Bcl-6和SIRT1蛋白表达电泳  
Fig. 4 Electrophoresis of FoxO3, Bcl-6 and SIRT1 protein expression in MC cells of each group

表4 不同浓度HQJZ对MC细胞内FoxO3相关蛋白表达的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 4 Effect of different concentrations of HQJZ on expression of FoxO3-related proteins in MC cells ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	质量浓度 /g·L <sup>-1</sup>	FoxO3 /GAPDH	Bcl-6 /GAPDH	SIRT1 /GAPDH
正常组		1.02±0.06	1.02±0.04	1.00±0.07
模型组		1.21±0.13	1.42±0.10 <sup>1)</sup>	1.54±0.04 <sup>1)</sup>
HQJZ-L组	0.5	0.95±0.08 <sup>2)</sup>	1.14±0.06 <sup>2)</sup>	0.97±0.10 <sup>2)</sup>
HQJZ-H组	1.0	0.86±0.07 <sup>2)</sup>	0.51±0.06 <sup>2)</sup>	0.88±0.06 <sup>2)</sup>

列完整;与正常组比较,模型组小鼠的胃黏膜显示腺体扭曲拥挤,细胞核增大,染色强烈,核质比增加,HE病理评分上升( $P<0.05$ );与模型组比较,HQJZ各组小鼠的异常形态有所改善,HE病理评分下降( $P<0.05$ ),见图5、表5。AB-PAS染色结果显示,与正常组比较,模型组小鼠的胃黏膜上能观察到大量的蓝色或紫色斑块,AB-PAS病理评分上升( $P<0.05$ );与模型组比较,HQJZ各组小鼠表现出不太明显的蓝色或紫色斑块,AB-PAS病理评分下降( $P<0.05$ )。透射电子显微镜观察小鼠胃黏膜上皮线粒体形态,与正常组比较,模型组小鼠胃黏膜线粒体数量增多,体积变大;与模型组比较,HQJZ各组小鼠胃黏膜线粒体结构异常,粗面内质网形态、分布均显著改变,表现为扩张型、空心状,见图5。与正常组比较,模型组ATP信号明显上升( $P<0.05$ );

表6 不同浓度HQJZ对GPC小鼠组织内线粒体ROS、自噬、凋亡、GSH、MDA水平的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 6 Effect of different concentrations of HQJZ on mitochondrial ROS, autophagy, apoptosis, MDA, GSH levels in GPC mice tissues ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	ROS	LC3	凋亡率/%	GSH/μmol·L <sup>-1</sup>	MDA/μg·L <sup>-1</sup>
正常组		1.00±0.56	0.90±0.19	10.67±1.84	1.92±1.10	8.27±1.79
模型组		1.80±0.44	2.51±0.44 <sup>1)</sup>	2.99±0.77	5.54±1.56 <sup>1)</sup>	11.20±1.55
HQJZ-L组	6.24	3.72±1.12	6.59±0.56 <sup>2)</sup>	25.58±5.42 <sup>2)</sup>	4.06±1.83	16.07±2.75 <sup>2)</sup>
HQJZ-H组	12.48	6.16±1.13 <sup>2)</sup>	8.47±0.64 <sup>2)</sup>	29.85±3.04 <sup>2)</sup>	2.97±1.56 <sup>2)</sup>	22.08±2.27 <sup>2)</sup>

与模型组比较,HQJZ-L组ATP信号没有显著变化,HQJZ-H组ATP信号明显下降( $P<0.05$ ),见表5。

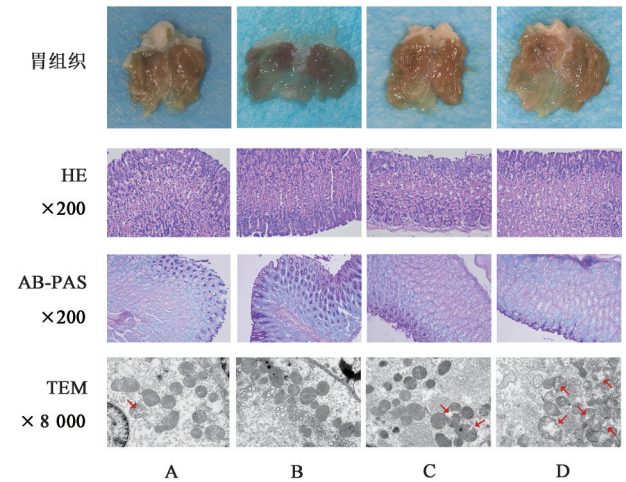


图5 HQJZ对小鼠GPC情况的影响

Fig. 5 Effect of HQJZ on GPC in mice

表5 不同浓度HQJZ对GPC小鼠组织内病理改变、ATP含量的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 5 Effect of different concentrations of HQJZ on pathological changes and ATP content in GPC mice tissues ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	HE评分/级	AB-PAS评分/级	ATP
正常组		0.26±0.06	0.16±0.08	0.96±0.10
模型组		3.12±0.21 <sup>1)</sup>	3.32±0.25 <sup>1)</sup>	1.73±0.06 <sup>1)</sup>
HQJZ-L组	6.24	1.66±0.17 <sup>2)</sup>	1.87±0.25 <sup>2)</sup>	0.50±0.04
HQJZ-H组	12.48	1.16±0.05 <sup>2)</sup>	0.96±0.21 <sup>2)</sup>	1.02±0.19 <sup>2)</sup>

3.4 HQJZ诱导GPC小鼠ROS积累 与正常组比较,模型组ROS免疫荧光染色变化差异无统计学意义,GSH水平明显上升( $P<0.05$ ),MDA水平变化差异无统计学意义,LC3荧光信号增强,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),细胞凋亡率变化差异无统计学意义;与模型组比较,HQJZ-L组ROS免疫荧光染色、GSH水平变化差异无统计学意义,HQJZ-H组ROS免疫荧光信号、GSH水平明显增强( $P<0.05$ ),HQJZ各组MDA水平、LC3荧光信号、细胞凋亡率明显增加,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表6、图6。

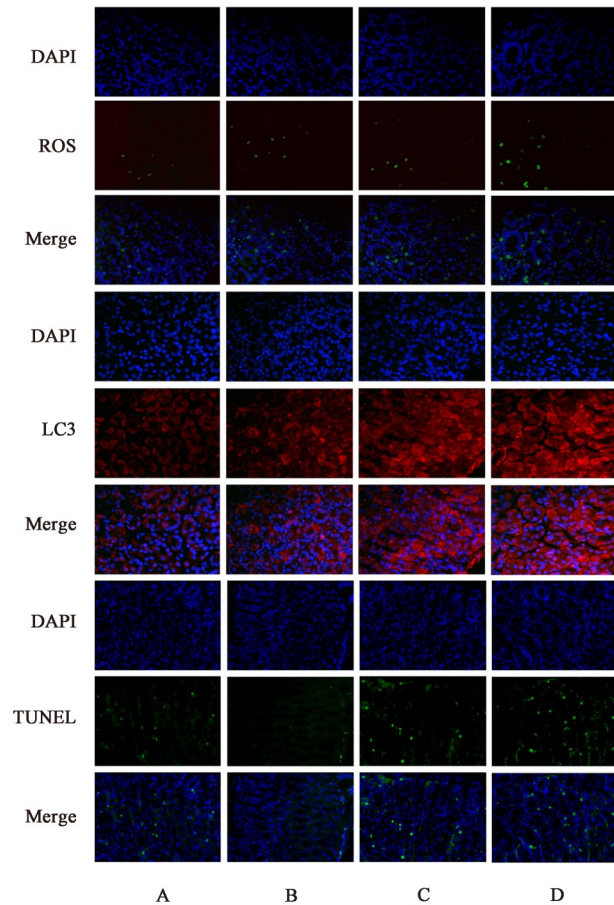


图6 HQJZ对GPC小鼠ROS积累的影响(免疫荧光,×400)  
Fig. 6 Effect of HQJZ on ROS accumulation in GPC mice (IF,×400)

3.5 HQJZ通过FoxO3通路治疗GPC 与正常组比较,模型组小鼠胃黏膜中PCNA、Ki67阳性细胞数量明显增高( $P<0.05$ ),FoxO3、SIRT1和Bcl-6的蛋白水平上升( $P<0.05$ );与模型组比较,HQJZ各组中Ki67阳性细胞数量、FoxO3蛋白水平明显降低( $P<0.05$ ),HQJZ-L组PCNA阳性细胞数量、SIRT1和Bcl-6蛋白水平没有显著变化,HQJZ-H组PCNA阳性细胞数量、SIRT1和Bcl-6蛋白水平明显降低( $P<0.05$ ),见图7、表7、图8、表8。

#### 4 讨论

胃癌是全世界范围内死亡率前五的疾病<sup>[32]</sup>,Correa级联反应指出胃癌前病变是其关键阶段<sup>[33]</sup>。胃癌前病变的治疗方法主要包括抗Hp感染、抗氧化剂、胃黏膜保护剂、抗炎药物等<sup>[34-35]</sup>。然而,这些治疗方法缺乏针对胃癌前病变的特异性效果,并且存在其他局限性。研究表明现有治疗方法对于Hp的根除率不高,部分患者存在依从性较差及抗生素耐药等问题,导致部分患者治疗后仍存在Hp感染<sup>[36]</sup>。抗氧化剂、胃黏膜保护剂虽然是临床常用药

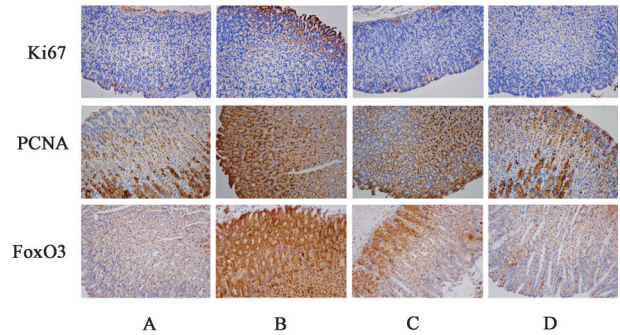


图7 HQJZ对GPC小鼠胃黏膜中Ki67、PCNA、FoxO3蛋白表达水平的影响(免疫组化,×200)

Fig. 7 Effect of HQJZ on Ki67, PCNA, FoxO3 proteins expression level in gastric mucosa of GPC mice (IHC,×200)

表7 不同浓度HQJZ对GPC小鼠组织内Ki67、PCNA、FoxO3表达水平的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 7 Effect of different concentrations of HQJZ on expression levels of Ki67, PCNA, and FoxO3 in GPC mice tissues ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	Ki67	PCNA	FoxO3
正常组		1.00±0.31	1.00±0.41	1.00±0.15
模型组		7.02±1.09 <sup>1)</sup>	8.94±1.92 <sup>1)</sup>	4.88±0.58 <sup>1)</sup>
HQJZ-L组	6.24	2.03±0.56 <sup>2)</sup>	5.71±1.00	2.67±0.48 <sup>2)</sup>
HQJZ-H组	12.48	0.86±0.29 <sup>2)</sup>	2.72±0.98 <sup>2)</sup>	1.67±0.50 <sup>2)</sup>

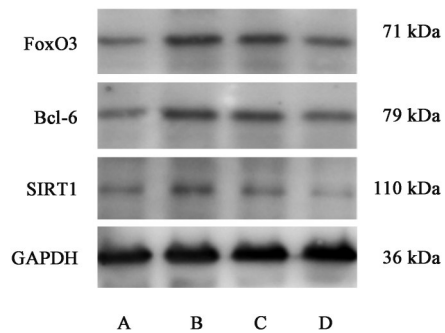


图8 各组小鼠胃黏膜中FoxO3、Bcl-6和SIRT1蛋白表达电泳  
Fig. 8 Electrophoresis of FoxO3, Bcl-6 and SIRT1 protein expression in gastric mucosa of mice in each group

表8 不同浓度HQJZ对GPC小鼠组织内FoxO3、Bcl-6和SIRT1蛋白表达水平的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 8 Effect of different concentrations of HQJZ on expression levels of FoxO3, Bcl-6, SIRT1 proteins in GPC mice tissues ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	FoxO3 /GAPDH	Bcl-6 /GAPDH	SIRT1 /GAPDH
正常组		1.00±0.03	0.96±0.06	1.00±0.29
模型组		1.42±0.03 <sup>1)</sup>	1.28±0.02 <sup>1)</sup>	1.79±0.02 <sup>1)</sup>
HQJZ-L组	6.24	1.29±0.06 <sup>2)</sup>	1.19±0.03	1.28±0.24
HQJZ-H组	12.48	1.08±0.05 <sup>2)</sup>	1.04±0.03 <sup>2)</sup>	0.71±0.12 <sup>2)</sup>

物,但其远期疗效较为有限,且长期使用不良反应较大<sup>[37]</sup>。因此,针对有效且安全的GPC治疗手段值

得进一步探索。

成熟的胃癌前病变模型为该项研究提供可行性<sup>[38]</sup>。本研究表明, HQJZ能够显著改善GPC病理表现, 包括肠上皮化生和异型增生。ROS由线粒体生成, 对于细胞生长有着双向作用<sup>[39]</sup>。在GPC的进展中, GPC恶变细胞可以通过抗氧化系统维持细胞内ROS的动态平衡, 促进GPC恶变细胞的增殖和更新<sup>[40]</sup>。而积累过多的ROS可损伤线粒体, 加速线粒体的凋亡, 从而引起GPC恶变细胞的凋亡<sup>[41]</sup>。自噬是线粒体自我更新的主要途径<sup>[42]</sup>, LC3是其重要指标, 其水平反映了体内线粒体受损的程度<sup>[43]</sup>。在GPC小鼠胃黏膜恶性细胞中, 升高的自噬水平提示损伤的线粒体增多。本研究发现HQJZ线粒体ROS增加、LC3水平升高, 最终诱导GPC恶变细胞凋亡, 这些发现表明, HQJZ有望成为靶向ROS的抗GPC的药物。

当前, FoxO3作为肿瘤治疗的潜在靶点已受到业界广泛关注。已有研究表明FoxO3可阻碍癌前病变的发展并抑制胃黏膜上皮的恶性转化<sup>[44]</sup>。对于FoxO3蛋白的抑制, 可以促进线粒体ROS的积累以损伤线粒体, 导致GPC细胞的凋亡, 从而抑制GPC的发展。因此, FoxO3的抑制在GPC治疗中起着关键作用。该研究中观察到, 与正常组比较, GPC模型小鼠组织中FoxO3蛋白表达显著上调, 而HQJZ显著抑制了GPC体内模型中FoxO3的表达。这些发现证明HQJZ通过抑制FoxO3表达来引起GPC恶变细胞凋亡(增强出版附加材料)。

综上所述, HQJZ可以改善胃黏膜GPC病理表现, 降低GPC小鼠胃黏膜恶性细胞增殖水平、增加体内模型ROS水平、诱导体内外模型线粒体损伤和触发体内模型GPC恶变细胞凋亡的能力。其作用机制可能是通过抑制FoxO3及其下游蛋白的表达来促进ROS积累, 从而损伤线粒体并诱导GPC恶变细胞凋亡, 达到抑制GPC恶变细胞增殖, 从而实现逆转GPC, 由此显现出其在临床应用中的潜在价值。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

[1] ZHENG S Y, ZHU L, WU L Y, et al. *Helicobacter pylori*-positive chronic atrophic gastritis and cellular senescence [J]. *Helicobacter*, 2023, 28(1): e12944.

[2] 方慧, 刘俊宏, 符博雅, 等. 胃癌前状态的中西医研究进展[J]. *中医临床研究*, 2022, 14(25): 43-46.

FANG H, LIU J H, FU B Y, et al. A review on traditional Chinese medicine and Western medicine research on gastric cancer precancerous state [J]. *Clin J Chin Med*, 2022, 14(25): 43-46.

[3] EUSEBI L H, TELESE A, MARASCO G, et al. Gastric cancer

prevention strategies: A global perspective [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2020, 35(9): 1495-1502.

[4] 杜奕奇, 蔡全才, 廖专, 等. 中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案)(2017年, 上海) [J]. *胃肠病学*, 2018, 23(2): 92-97.

DU Y Q, CAI Q C, LIAO Z, et al. Expert consensus on the screening process for early gastric cancer in China (Draft) (2017, Shanghai) [J]. *Chin J Gastroenterol*, 2018, 23(2): 92-97.

[5] JIA J, ZHAO H, LI F, et al. Research on drug treatment and the novel signaling pathway of chronic atrophic gastritis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 176: 116912.

[6] WENG J, WU X F, SHAO P, et al. Medicine for chronic atrophic gastritis: A systematic review, Meta- and network pharmacology analysis [J]. *Ann Med*, 2023, 55(2): 2299352.

[7] 默雪梅, 刘建平, 张晓玉, 等. 化浊解毒汤对Hp相关性慢性萎缩性胃炎伴肠上皮化生疗效的临床研究 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2021, 29(5): 320-324.

MO X M, LIU J P, ZHANG X Y, et al. Clinical study of Huazhuo Jiedu decoction on Hp associated chronic atrophic gastritis with intestinal metaplasia [J]. *Chin J Integr Tradit West Med Dig*, 2021, 29(5): 320-324.

[8] FAASS L, HAUKE M, STEIN S C, et al. Innate immune activation and modulatory factors of *Helicobacter pylori* towards phagocytic and nonphagocytic cells [J]. *Curr Opin Immunol*, 2023, 82: 102301.

[9] 吕宾, 王彦刚, 胡玥, 等. 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.

LYU B, WANG Y G, HU Y, et al. Expert consensus on integrated traditional Chinese and western medicine diagnosis and treatment of chronic atrophic gastritis (2025) [J]. *Chin J Integr Tradit West Med Dig*, 2025, 33(3): 230-241.

[10] MOAYYEDI P, LACY B E, ANDREWS C N, et al. ACG and CAG clinical guideline: Management of dyspepsia [J]. *Am J Gastroenterol*, 2017, 112(7): 988-1013.

[11] COVER T L, PEEK R M. Diet, microbial virulence, and *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer [J]. *Gut Microbes*, 2013, 4(6): 482-493.

[12] LI J, PAN J, XIAO D, et al. Chronic atrophic gastritis and risk of incident upper gastrointestinal cancers: A systematic review and Meta-analysis [J]. *J Transl Med*, 2024, 22(1): 429.

[13] TONG Q Y, PANG M J, HU X H, et al. Gastric intestinal metaplasia: Progress and remaining challenges [J]. *J Gastroenterol*, 2024, 59(4): 285-301.

[14] ZHU X, LIN Q, YANG Y, et al.  $\alpha$ Klotho modulates BNIP3-mediated mitophagy by regulating FoxO3 to decrease mitochondrial ROS and apoptosis in contrast-induced acute kidney injury [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2024, 81(1): 454.

[15] WANG F, WANG Y, ZHANG S, et al. YTHDF2-dependent m(6) A modification of FoxO3 mRNA mediates TIMP1 expression and contributes to intervertebral disc degeneration following ROS stimulation [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2024, 81(1): 477.

[16] BORCHERDING N, BRESTOFF J R. The power and potential of mitochondria transfer [J]. *Nature*, 2023, 623(7986): 283-291.

[17] ZONG W X, RABINOWITZ J D, WHITE E. Mitochondria and

- cancer[J]. *Mol Cell*, 2016, 61(5):667-676.
- [18] WALLACE D C. Mitochondria and cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(10):685-698.
- [19] MISSIROLI S, PERRONE M, GENOVESE I, et al. Cancer metabolism and mitochondria: Finding novel mechanisms to fight tumours[J]. *EBioMedicine*, 2020, 59: 102943.
- [20] ZOROV D B, JUHASZOVA M, SOLLOTT S J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release [J]. *Physiol Rev*, 2014, 94(3):909-950.
- [21] WANG B, WANG Y, ZHANG J, et al. ROS-induced lipid peroxidation modulates cell death outcome: Mechanisms behind apoptosis, autophagy, and ferroptosis[J]. *Arch Toxicol*, 2023, 97(6):1439-1451.
- [22] TAN Y, WANG H, XU B, et al. Chinese herbal medicine combined with oxaliplatin-based chemotherapy for advanced gastric cancer: A systematic review and Meta-analysis of contributions of specific medicinal materials to tumor response [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 977708.
- [23] GONG L, HOU J, YANG H, et al. Kuntai capsule attenuates premature ovarian insufficiency by activating the FoxO3/SIRT5 signaling pathway in mice: A comprehensive study using UHPLC-LTQ-Orbitrap and integrated pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 322: 117625.
- [24] LIU M, WANG R B, XING J H, et al. Atractylenolide inhibits apoptosis and oxidative stress of HTR-8/SVneo cells by activating MAPK/ERK signalling in preeclampsia [J]. *Phytomedicine*, 2021, 93: 153773.
- [25] ZHOU J, WANG J, WANG J, et al. An inulin-type fructan CP-A from *Codonopsis pilosula* attenuates experimental colitis in mice by promoting autophagy-mediated inactivation of NLRP3 inflammasome[J]. *Chin J Nat Med*, 2024, 22(3):249-264.
- [26] KANG K A, YAO C W, PIAO M J, et al. Anticancer effect of Korean red ginseng via autophagy- and apoptosis-mediated cell death[J]. *Nutrients*, 2022, 14(17):125.
- [27] HE J, LI M, BAO J, et al.  $\beta$ -Elemene promotes ferroptosis and reverses radioresistance in gastric cancer by inhibiting the OTUB1-GPX4 interaction [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1469180.
- [28] 刘爱华, 冷锦红, 刘子英, 等. 加味桂枝茯苓汤通过PINK1/Parkin信号通路调控线粒体自噬途径减轻PDPN大鼠坐骨神经损伤的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(21):42-51.
- LIU A H, LENG J H, LIU Z Y, et al. Mechanism of Jiawei Guizhi Fuling decoction in alleviating sciatic nerve injury in PDPN rats by regulating mitophagy through PINK1/Parkin signaling pathway[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2024, 30(21):42-51.
- [29] LIU J, LI M, CHEN G, et al. Jianwei Xiaoyan granule ameliorates chronic atrophic gastritis by regulating HIF-1 $\alpha$ -VEGF pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 334: 118591.
- [30] WANG Y, CHU F, LIN J, et al. Erianin, the main active ingredient of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl, inhibits precancerous lesions of gastric cancer (PLGC) through suppression of the HRAS-PI3K-Akt signaling pathway as revealed by network pharmacology and *in vitro* experimental verification [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 279: 114399.
- [31] ZHAO M, WEN Y, YANG Y, et al. (-)-Asarinin alleviates gastric precancerous lesions by promoting mitochondrial ROS accumulation and inhibiting the STAT3 signaling pathway[J]. *Phytomedicine*, 2024, 126: 155348.
- [32] SMYTH E C, NILSSON M, GRABSCH H I, et al. Gastric cancer [J]. *Lancet*, 2020, 396(10251):635-648.
- [33] KUANG W, XU J, XU F, et al. Current study of pathogenetic mechanisms and therapeutics of chronic atrophic gastritis: A comprehensive review [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2024, 12: 1513426.
- [34] LIU Y, HUANG T, WANG L, et al. Traditional Chinese Medicine in the treatment of chronic atrophic gastritis, precancerous lesions and gastric cancer [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 337(Pt 1):118812.
- [35] 王萍, 李鹏, 陈紫暄, 等. 中国整合胃癌前病变临床管理指南[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2022, 30(3):163-183.
- WANG P, LI P, CHEN Y X, et al. Clinical management guidelines for premalignant lesions of gastric cancer in China[J]. *Chin J Integr Tradit West Med Dig*, 2022, 30(3):163-183.
- [36] WATARI J, CHEN N, AMENTA P S, et al. *Helicobacter pylori* associated chronic gastritis, clinical syndromes, precancerous lesions, and pathogenesis of gastric cancer development [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(18):5461-5473.
- [37] CHEN L, WEI S, HE Y, et al. Treatment of chronic gastritis with traditional Chinese medicine: Pharmacological activities and mechanisms [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, doi:10.3390/ph16091308.
- [38] 林琨洋. 健脾化痰解毒方介导Akt/Nrf2/HO-1信号通路逆转胃癌前病变机制研究[J]. 广州: 广州中医药大学, 2021.
- LIN K Y. Study on the mechanism of the Jianpihuayuujiedu decoction on reversing gastric cancer pre lesions via Akt/Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2021.
- [39] WALTON E L. The dual role of ROS, antioxidants and autophagy in cancer [J]. *Biomed J*, 2016, 39(2):89-92.
- [40] LIN T Y, LAN W H, CHIU Y F, et al. Statins' regulation of the virulence factors of *Helicobacter pylori* and the production of ROS may inhibit the development of gastric cancer [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(8):1293.
- [41] KIM H S, LEE J H, PARK H S, et al. *Schizandra chinensis* extracts induce apoptosis in human gastric cancer cells via JNK/p38 MAPK activation and the ROS-mediated/mitochondria-dependent pathway [J]. *Pharm Biol*, 2015, 53(2):212-219.
- [42] WILHELM L P, GANLEY I G. Mitochondria and peroxisomes: Partners in autophagy [J]. *Autophagy*, 2023, 19(7):2162-2163.
- [43] TALABER G, MIKLOSSY G, OAKS Z, et al. HRES-1/Rab4 promotes the formation of LC3<sup>+</sup> autophagosomes and the accumulation of mitochondria during autophagy [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1):e84392.
- [44] TSUJI T, MAEDA Y, KITA K, et al. FoxO3 is a latent tumor suppressor for FoxO3-positive and cytoplasmic-type gastric cancer cells [J]. *Oncogene*, 2021, 40(17):3072-3086.

[责任编辑 周冰冰]