【基础研究】

柴芍六君子汤对肝胃不和型胃溃疡小鼠氧化应激损伤及胃黏膜屏障的影响

贺海峰[1]，熊 鹏[2,3]，王登坤[3]，宁昌美[2]，周 浩[2]，于 姣[1]*
（1. 陕西省中医医院脾胃病二科，陕西西安 710000；2. 陕西中医药大学中医学院，陕西咸阳 712046；
3. 陕西中医药大学附属医院老年病科，陕西咸阳 712000）

摘要：目的 研究柴芍六君子汤对肝胃不和型胃溃疡（gastric ulcer，GU）小鼠胃黏膜屏障的保护作用，以及对氧化应激损伤和 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1（Kelch-like ECH-associated protein，Keap）1/ 核因子 E2 相关因子（nuclear factor erythroid 2-related factor，Nrf）2/ 血红素加氧酶（heme oxygenase，HO）-1 信号通路的影响。**方法** 40 只昆明小鼠随机分为空白组、模型组、奥美拉唑组及柴芍六君子汤组，每组各 10 只，雌雄各半。采用“情志刺激干预法＋无水乙醇灌胃法”建立肝胃不和型 GU 模型，造模成功后以相应药物灌胃 2 周。苏木精 - 伊红染色观察胃黏膜病理变化；AB-PAS 染色观察胃黏膜黏多糖分布情况；扫描电镜观察胃黏膜超微形态结构；DHE 荧光探针法检测胃黏膜中活性氧（reactive oxygen species，ROS）水平，胃组织丙二醛（malondialdehyde，MDA）、谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase，GSH-Px）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）及白介素（interleukin，IL）-6、肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α 水平；免疫荧光法观察胃黏膜中黏蛋白（mucin，MUC）5AC、环氧化酶（cyclooxygenase，COX）-2 蛋白阳性表达，免疫印迹法检测胃组织 Keap1、Nrf2、HO-1 及闭合蛋白（occludin）、上皮型钙黏蛋白（epithelial cadherin，E-cadherin）、MUC1 蛋白相对表达。**结果** 与模型组比较，奥美拉唑组、柴芍六君子汤组胃黏膜病理损伤均减轻，黏多糖含量均增加，胃黏膜超微结构损伤程度均减轻，ROS 水平及 MDA、IL-6、TNF-α 水平均降低（$P < 0.01$），SOD、GSH-Px 水平均升高（$P < 0.01$），MUC5AC 平均荧光强度及 Nrf2、HO-1、occludin 蛋白相对表达量均增加（$P < 0.01$），COX-2 平均荧光强度及 Keap1 相对表达量均下降（$P < 0.01$）；与奥美拉唑组比较，柴芍六君子汤组 SOD、GSH-Px 水平及 Keap1 表达量降低（$P < 0.01$），Nrf2、HO-1 及 occludin、E-cadherin、MUC1 蛋白表达量，以及 MUC5AC 平均荧光强度升高（$P < 0.05$）。**结论** 柴芍六君子汤可减轻肝胃不和型 GU 小鼠胃黏膜病理及超微结构损伤，减少胃黏膜 ROS 生成与脂质过氧化，增强抗氧化酶活性，下调炎症因子水平，并通过上调 occludin、E-cadherin 及 MUC1、MUC5AC 蛋白表达，增加黏多糖以保护胃黏膜屏障。其保护作用机制可能与调控 Keap1/Nrf2/HO-1 信号通路，进而介导抗氧化、抗炎及黏膜屏障修复密切相关，且在部分指标上优于奥美拉唑。

关键词：柴芍六君子汤；胃溃疡；肝胃不和证；氧化应激；胃黏膜屏障；Kelch 样 ECH 相关蛋白 1/ 核因子 E2 相关因子 2/ 血红素加氧酶 -1

中图分类号：R-33 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188（2026）05-0468-011

引用：贺海峰, 熊鹏, 王登坤, 等. 柴芍六君子汤对肝胃不和型胃溃疡小鼠氧化应激损伤及胃黏膜屏障的影响[J]. 世界临床药物, 2026, 47（5）: 468-478. DOI：10.13683/j.wph.2026.05.003

收稿日期：2025-12-16

作者简介：贺海峰，主治医师，研究方向：中西医结合治疗消化系统疾病。
通信作者：于姣，副主任医师，研究方向：中西医结合治疗消化系统疾病。

基金项目：陕西省自然科学基础研究计划-面上项目（2025JC-YBMS-874）；陕西省自然科学基础研究计划-青年项目（2025JC-YBQN-1191）

Effect of Chaishao Liujunzi decoction on oxidative stress injury and gastric mucosal barrier in mice with liver-stomach disharmony type gastric ulcer

HE Haifeng[1], XIONG Peng[2,3], WANG Dengkun[3], NING Changmei[2], ZHOU Hao[2], YU Jiao[1]*

(*1. Department of Gastroenterology II, Shaanxi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710000, Shaanxi Province, China;*

2. College of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, Shaanxi Province, China;

3. Department of Geriatrics, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, Shaanxi Province, China)

Abstract: ***Objective*** To investigate the protective effect of Chaishao Liujunzi decoction on the gastric mucosal barrier in mice with liver-stomach disharmony type gastric ulcer (GU), as well as its influence on oxidative stress injury and the Kelch-like ECH-associated protein (Keap) 1/nuclear factor erythroid 2-related factor (Nrf2) /heme oxygenase (HO) -1 signaling pathway. ***Methods*** Forty Kunming mice, half male and half female, were randomly divided into the blank control group, model group, omeprazole group, and Chaishao Liujunzi Decoction group, with 10 mice in each group. The liver-stomach disharmony type GU model was established by using the "emotional stimulation intervention method＋intragastric administration of anhydrous ethanol method". After successful establishment of the model, the corresponding drugs were administered by gavage for 2 weeks. Hematoxylin-eosin staining was used to observe the pathological changes of the gastric mucosa. AB-PAS staining was employed to examine the distribution of mucopolysaccharides in the gastric mucosa. Scanning electron microscopy was used to observe the ultrastructural morphology of the gastric mucosa. The DHE fluorescence probe method was used to detect the level of reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD), interleukin (IL) -6, tumor necrosis factor (TNF) -α in the gastric tissue. Immunofluorescence was performed to observe the positive expression of mucin (MUC) 5AC and cyclooxygenase (COX) -2 proteins in the gastric mucosa. Immunoblotting was conducted to detect the relative expression of Keap1, Nrf2, HO-1, occludin, epithelial cadherin (E-cadherin), and MUC1 proteins in the gastric tissue. ***Results*** Compared with the model group, both the omeprazole group and the Chaishao Liujunzi decoction group showed reduced pathological damage of gastric mucosa, increased mucopolysaccharide content, and alleviated ultrastructural damage. The levels of ROS, MDA, IL-6, and TNF-α decreased ($P<0.01$), the levels of SOD and GSH-Px increased ($P<0.01$), the average fluorescence intensity of MUC5AC and the relative expression levels of Nrf2, HO-1, and occludin proteins increased ($P<0.01$), and the average fluorescence intensity of COX-2 and the relative expression level of Keap1 decreased ($P<0.01$). Compared with the omeprazole group, the Chaishao Liujunzi Decoction group exhibited lower levels of SOD and GSH-Px and the expression level of Keap1 ($P<0.01$), while the expression levels of Nrf2, HO-1, occludin, E-cadherin, MUC1 proteins and the average fluorescence intensity of MUC5AC increased ($P<0.05$). ***Conclusion*** Chaishao Liujunzi decoction can alleviate gastric mucosal pathology and ultrastructural damage, reduce ROS production and lipid peroxidation, enhance the activity of antioxidant enzymes, down-regulate the levels of inflammatory factors, and up-regulate the protein expressions of occludin, E-cadherin, MUC1 and MUC5AC to increase mucopolysaccharide content in liver-stomach disharmony type GU mice to protect gastric mucosal barrier. Its protective mechanism may be related to regulating the Keap1/Nrf2/HO-1 signaling pathway, thereby mediating antioxidant, anti-inflammatory and mucosal barrier repair. Moreover, Chaishao Liujunzi decoction is superior to omeprazole in some indicators.

Key words: Chaishao Liujunzi decoction; gastric ulcer; liver-stomach disharmony syndrome; oxidative stress; gastric mucosal barrier; Kelch-like ECH-associated protein 1/nuclear factor erythroid 2-related factor 2/heme oxygenase-1

胃溃疡（gastric ulcer，GU）以慢性周期性上腹痛为典型临床表现，严重时可并发胃出血、穿孔等，甚至会癌变[1]。其发病与胃黏膜屏障功能失衡有关，高胃酸环境、炎症、幽门螺杆菌（helicobacter pylori，Hp）感染及药物等均可导致黏膜损伤，临床治疗以促胃黏膜愈合为目的，抑酸及根除 Hp 感染为核心[2-3]。Kelch 样 ECH 相关蛋白（Kelch-like ECH-associated protein，Keap）1/ 核因子 E2 相关因子（nuclear factor erythroid 2-related factor，Nrf）2/ 血红素加氧酶（heme oxygenase，HO）-1 通路与胃黏膜氧化应激及炎症密切相关，激活该通路可减轻胃黏膜氧化损伤并下调炎症因子水平，保护胃黏膜及其屏障功能[4-6]。GU 属中医“胃脘痛”疾病范畴，其中肝胃不和证是其常见证型之一，以疏肝和胃、健脾化湿为核心治法。柴芍六君子汤基于“六君子汤”健脾理气化湿，加柴胡、芍药以疏肝柔肝，针对肝胃不和型 GU 疗效较好[7-8]。本研究拟建立肝胃不和型 GU 小鼠模型，基于 Keap1/Nrf2/HO-1 通路，初步探讨柴芍六君子汤对胃黏膜氧化损伤及黏膜屏障的保护作用机制，为后续机制研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

5 周龄 SPF 级昆明小鼠 40 只，体质量 18 ～ 22 g，雌雄各半，购买于湖南斯莱克景达实验动物有限公司，实验动物生产许可证号：SCXK（湘）2019-0004；饲养于陕西省中医药研究院动物实验中心，实验动物使用许可证号：SYXK（陕）2024-002。饲养条件：雌雄分笼，12/12 h 明暗交替，室温 22 ～ 28 ℃，相对湿度 50% ～ 60%，噪音≤ 80 dB。本研究经陕西省中医药研究院实验动物伦理委员会审批通过（ZYYJY- 20241211-031）。

柴芍六君子汤由人参 10 g、炒白术 10 g、茯苓 15 g、甘草 6 g、陈皮 10 g、法半夏 10 g、柴胡 10 g 以及炒白芍 15 g 组成，购于陕西省中医医院门诊中药房。浸泡 20 min 后煎煮；一煎武火煮沸，文火慢煎 30 min，滤出药液；二煎加适量饮用水煮沸，文火再煎 20 min，滤出药液，与一煎之药液混合，遂水浴锅浓缩至 50 mL，即浓缩药液含生药浓度为 1.72 g/mL，密封，4 ℃冷藏保存备用。

奥美拉唑肠溶片（每片 10 mg，2024041301，阿斯利康制药公司）；伊红染液、苏木素染液（WL0002a、WL0018a，Servicebio 公司）；阿尔辛蓝染色液、过碘酸希夫染色液（202405001SH、202405001SH，上海宝叶生物科技公司）；丙二醛（malondialdehyde，MDA）、谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase，GSH-Px）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）及白介素（interleukin，IL）-6、肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α 的酶联免疫吸附试验（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）kit 检测试剂盒（Z0356712、P0732841、Z0823562、Z0348912 以及 P0725631，武汉华美生物工程公司）；兔黏蛋白 5AC（mucin 5AC，MUC5AC）单克隆抗体、兔 HO-1 单克隆抗体以及兔 MUC1 单克隆抗体（ab272692、ab68477 以及 ab214445，英国 Abcam 公司）；兔环氧化酶（cyclooxygenase-2，COX）-2 单克隆抗体、兔 Nrf2 单克隆抗体、兔闭合蛋白（occludin）单克隆抗体以及兔 E-cadherin 单克隆抗体（12282S、12721S、91131S 以及 3195S，美国 CST 公司）；辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase，HRP）标记羊抗兔二抗、羊抗兔 CY3 标记二抗（G6241、GB38612，Servicebio 公司）；兔 Keap1 单克隆抗体（PT10240501，美国 Proteintech 公司）；兔 β- 肌动蛋白（β-actin）多克隆抗体（bsm33036M，北京博奥森生物公司）。

玻片扫描影像系统（SQS-600P，深圳市生强科技有限公司）；石蜡切片机（RM2235，德国徕卡）；BX43 光学显微镜（IX73-U，日本 Olympus 公司）；多功能酶标仪（SpectraMAX Plus384，美国 Molecular Devices 公司）；高速冷冻离心机、场发

射扫描电子显微镜（CR22G Ⅱ、SU8100，日本日立公司）；蛋白电泳仪（DYCZ-24DN，北京六一生物科技公司）；化学发光成像系统（ChemiDoc XRS+，美国 Bio-Rad 公司）。

1.2 分组与造模

40 只小鼠随机分为空白组、模型组、奥美拉唑组及柴芍六君子汤组，每组各 10 只，雌雄各半。根据 GU 中医证候动物模型相关文献[9]，采用情志刺激干预法＋无水乙醇灌胃法建立肝胃不和型 GU 模型，空白组正常饲养，剩余组进行造模操作。造模周期共 15 d。D1 ～ 14 为情志刺激干预阶段，每日仅进行 1 次下述刺激，D1 禁水不禁食，持续 24 h；D2 禁食不禁水，持续 24 h；D3 夹尾 10 min；D4 摇晃 30 min；D5 冰水游泳 5 min；D6 电击足底 10 次，每次随机间隔 5 ～ 20 min；D7 束缚 4 h。D8 ～ 14 继续按照上述顺序干预刺激，一日 1 次。D15 除空白组外，其余各组小鼠行 85% 无水乙醇灌胃（10 mL/kg），空白组灌胃等量生理盐水。灌胃后 2 h，从造模三组中随机取 2 只小鼠脱颈处死，剖腹取胃，沿胃大弯切开胃体，肉眼观察胃黏膜，若见胃黏膜出现糜烂、出血灶，即可判定造模成功。

判定造模成功后开始灌胃给药。根据人与小鼠等效剂量换算公式计算得出[10]，柴芍六君子汤组给予含生药一日 1 次，每次 3.53 g/kg，奥美拉唑组一日 1 次，每次 10 mg/kg 灌胃，空白组与模型组以等量生理盐水灌胃，一日 1 次，均持续灌胃 2 周。末次灌胃结束后的次日，各组小鼠眼球取血后脱颈处死，分离血清于 −80 ℃保存备用。遂剖腹取胃，沿胃大弯切开后观察胃体一般情况并拍照，生理盐水冲洗后用吸水纸拭干，无菌眼科剪分成两部分，一部分剪成适当大小，−80 ℃保存用于蛋白或基因检测，一部分固定后用于切片镜检。

1.3 胃组织病理形态变化及胃黏膜糖类物质分布情况

取各组小鼠胃组织，4% 多聚甲醛溶液固定，不同梯度乙醇脱水，二甲苯透明，石蜡包埋，4 ℃保存，临用时切片，厚 3 μm。苏木精 - 伊红（hematoxylin eosin，HE）染色及阿尔辛蓝 - 过碘酸 - 希夫（Alcian blue-periodic acid-Schiff，AB-PAS）染色，光学显微镜下观察胃组织病理形态变化及胃黏膜糖类物质分布情况，用 ImageJ v1.8.0 软件进行半定量分析。

1.4 胃黏膜超微形态结构

各小鼠取合适大小胃组织，电镜固定液固定 2 h，PBS 漂洗，用 1% 锇酸避光固定 1.5 h，PBS 漂洗，梯度无水乙醇脱水，再乙酸异戊酯浸泡 15 min，干燥仪干燥。导电碳膜双面胶样品黏贴样本，再喷金 30 s 提升样本导电性。扫描电子显微镜观察胃黏膜超微形态特征并采集图像。

1.5 二氢乙锭（dihydroethidium，DHE）荧光探针法检测胃黏膜中 ROS 水平

取各组小鼠的胃组织石蜡切片，脱蜡、水化，PBS 溶液漂洗 3 次，加入 DHE 探针溶液，避光孵育 30 min，PBS 漂洗后再加 DAPI 染液孵育 5 min，再次漂洗，暗室内切片加入抗荧光淬灭封片剂，盖玻片覆盖以封片，10 min 后在荧光显微镜下观察 DHE 探针荧光强度，DHE 荧光强度与 ROS 水平正相关，所得荧光图片用 Image-Pro Plus 6.0 软件进行荧光强度定量分析。

1.6 ELISA 法测定胃组织 MDA、GSH-Px、SOD、IL-6 及 TNF-α 水平

取各组小鼠适量胃组织样本，液氮冷冻研磨，加 PBS 缓冲液，然后 4 ℃离心（13 823×*g*）10 min，取上清，按照 ELISA 试剂盒说明书操作，使用酶标仪在 450 nm 处读取各孔吸光度，通过标准曲线计算每个样品 MDA、GSH-Px、SOD、IL-6 及 TNF-α 水平。

1.7 免疫荧光法检测胃黏膜中 MUC5AC、COX-2 蛋白表达情况

取各组小鼠的胃组织石蜡切片，脱蜡，水化，抗原修复，10%BSA 封闭 30 min，加一抗，4 ℃孵育过夜，次日加 HRP 标记的二抗，孵育 1 h，滴加

TSA 溶液，避光孵育 10 min。最后 DAPI 复染细胞核，孵育 10 min，再自发荧光淬灭剂处理 5 min，封片。暗室中用倒置荧光数码显微镜观察 MUC5AC、COX-2 阳性表达并摄片，用 Image-Pro Plus 6.0 软件进行平均荧光强度定量分析。

1.8 免疫印迹法（western blotting，WB）检测 Keap1、Nrf2、HO-1、Occludin、E-cadherin 及 MUC1 蛋白相对表达

各小鼠取适量胃组织样本，液氮冷冻研磨，裂解 30 min，BCA 法蛋白定量。水浴锅 95 ℃使蛋白变性，取适量蛋白样品电泳分离，5% 浓缩胶电压 60 V，10% 分离胶电压 90 V。电泳分离结束后，电流 280 mA 湿转 1.5 h，转模后，5% 脱脂牛奶封闭 1 h，加一抗，4 ℃孵育过夜，次日加二抗孵育 1 h，暗室中添加 ECL 发光液曝片拍摄。采用 ImageJ v1.8.0 软件分析各条带灰度值，以 β-actin 为内参计算 Keap1、Nrf2、HO-1，以及 occludin、E-cadherin 及黏蛋白 1（Mucin 1，MUC1）蛋白相对表达量。

1.9 统计学方法

采用 SPSS29.0 统计软件进行分析，数据以（$\bar{x}\pm s$）表示。采用 Shapiro-Wilk 法进行正态性检验，Levene 法行方差齐性检验。若数据符合正态分布且方差齐，则采用单因素方差分析（one-way ANOVA），随后进行最小显著差异（least significant difference，LSD）检验进行两两比较；若不满足正态分布或方差不齐，采用 Kruskal-Wallis H 非参数检验，两两比较采用 Dunnett's T3 法，以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 胃大体情况

空白组胃黏膜未见明显溃疡损伤；模型组胃黏膜损伤严重，可见充血水肿，伴有暗红色线状、片状出血。奥美拉唑组和柴芍六君子汤组胃黏膜可见轻微充血水肿，无明显出血，黏膜损伤情况均有不同程度的改善。见图 1。

2.2 胃黏膜组织病理变化情况

空白组胃黏膜无明显病理损伤；模型组胃黏膜上皮细胞明显脱落，伴有广泛变性坏死，固有层可见炎性细胞浸润，黏膜下层可见充血或出血，肌层可见平滑肌束排列紊乱。相较于模型组，奥美拉唑组及柴芍六君子汤组胃黏膜病理损伤减轻，黏膜分层清晰，黏膜上层、固有层及肌层结构基本完整，彼此连接较紧密。见图 2。

2.3 胃黏膜中黏多糖分布情况及阳性区域面积占比情况

空白组胃黏膜 AB-PAS 染色阳性区域面积大，强度高，黏多糖含量较高。相较于空白组，模型组相对阳性区域面积占比明显下降（$P < 0.01$）。相较于模型组，奥美拉唑组及柴芍六君子组 AB-PAS 染色相对阳性区域面积占比均增加（$P < 0.01$），表

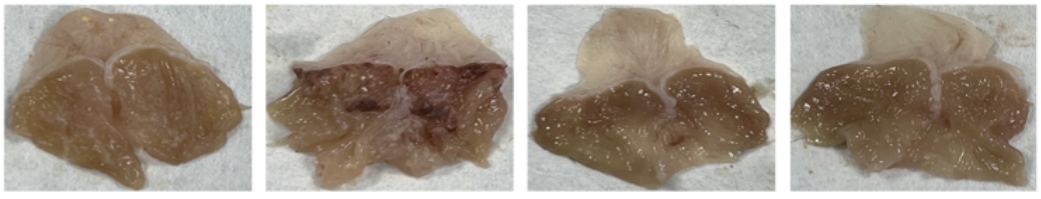


图 1 各组小鼠胃大体情况

Figure 1 General situation of stomach in each group of mice

明其黏多糖水平相对较高，黏液屏障有所恢复。奥美拉唑组与柴芍六君子组比较，差异无统计学意义（$P > 0.05$）。见图 3 及表 1。

2.4 胃黏膜超微形态变化情况

扫描电镜显示空白组小鼠胃黏膜超微结构无明显损伤。模型组小鼠胃黏膜表面超微结构受损明显。奥美拉唑组及柴芍六君子汤组胃黏膜超微结构损伤程度减轻，表面胃小凹形变相对较轻，未见明显断裂，黏液细胞可见部分脱落坏死，排列紧密但稍显紊乱，相对于模型组有显著改善。见图 4。

2.5 胃黏膜中 ROS 水平比较

与空白组比较，模型组小鼠胃黏膜 ROS 平均荧光强度增加（$P < 0.01$）。相较于模型组，奥美拉唑组及柴芍六君子组胃黏膜 ROS 平均荧光强度降低（$P < 0.01$）。奥美拉唑组与柴芍六君子组比较，差异无统计学意义（$P > 0.05$）。见图 5 及表 2。

表 1 各组小鼠胃黏膜 AB-PAS 染色相对阳性区域面积占比情况比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 1 Comparison of the proportion of AB-PAS staining positive areas in gastric mucosa of mice in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	相对阳性区域面积占比/%
空白组（$n=8$）	49.42±6.14
模型组（$n=8$）	7.19±1.54**
奥美拉唑组（$n=8$）	16.47±2.25$^{\#\#}$
柴芍六君子汤组（$n=8$）	19.18±3.45$^{\#\#}$
F值	117.60
P值	0.001

注：与空白组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$；与模型组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$。

Note: vs. the blank group, *$P<0.05$, **$P<0.01$; vs. the model group, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$.

2.6 各组小鼠 MDA、SOD、GSH-Px 及 IL-6、TNF-α 水平比较

与空白组比较，模型组 MDA、IL-6、TNF-α

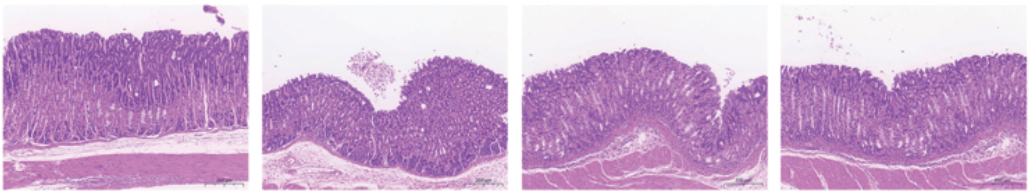
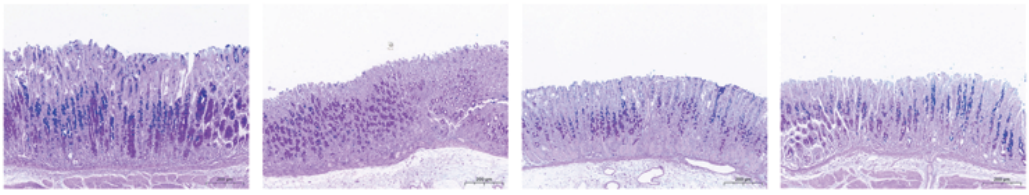


图 2 各组小鼠胃黏膜组织病理学（HE，×200）

Figure 2 Histopathology of gastric mucosa of mice in each group（HE，×200）



注：AB 染色阳性区域呈蓝色，PAS 染色阳性区域呈紫红色。

Note: The positive area of AB staining is blue, and the positive area of PAS staining is mauve.

图 3 各组小鼠胃黏膜黏多糖阳性表达（AB-PAS，×200）

Figure 3 Positive expression of mucopolysaccharides in gastric mucosa of mice in each group（AB-PAS，×200）

表 2 各组小鼠胃黏膜 ROS 平均荧光强度比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 2 Comparison of the average fluorescence intensity of ROS in the gastric mucosa of mice in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	ROS平均荧光强度
空白组（n=8）	19.94±2.40
模型组（n=8）	51.47±4.22**
奥美拉唑组（n=8）	34.49±3.94$^{\#\#}$
柴芍六君子汤组（n=8）	32.23±3.56$^{\#\#}$
F值	65.04
P值	0.001

注：与空白组比较，*P<0.05，**P<0.01；与模型组比较，$^{\#}P$<0.05，$^{\#\#}P$<0.01。

Note: vs. the blank group, *P<0.05, **P<0.01; vs. the model group, $^{\#}P$<0.05, $^{\#\#}P$<0.01.

水平均升高（P < 0.01），SOD、GSH-Px 水平降低（P < 0.01）。与模型组比较，奥美拉唑组及柴芍六君子汤组 MDA、IL-6 以及 TNF-α 水平均降低（P < 0.01），SOD、GSH-Px 水平升高（P < 0.01）。与奥美拉唑组比较，柴芍六君子汤组 SOD、GSH-Px 水平降低（P < 0.01）。见表 3。

2.7 胃组织 MUC5AC、COX-2 蛋白阳性表达比较

与空白组比较，模型组小鼠胃组织中 MUC5AC 平均荧光强度下降（P < 0.01），COX-2 平均荧光强度增加（P < 0.01）。与模型组比较，奥美拉唑组及柴芍六君子汤组 MUC5AC 平均荧光强度增加（P < 0.01），COX-2 平均荧光强度下降（P < 0.01）。与奥

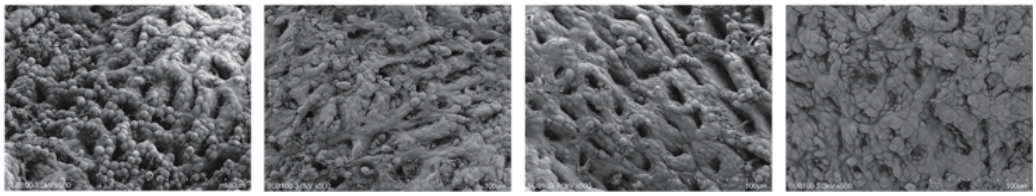


图 4 各组小鼠胃黏膜超微结构的影响（×500）

Figure 4 Effects on the ultrastructural morphology of the gastric mucosa in each group of mice（×500）

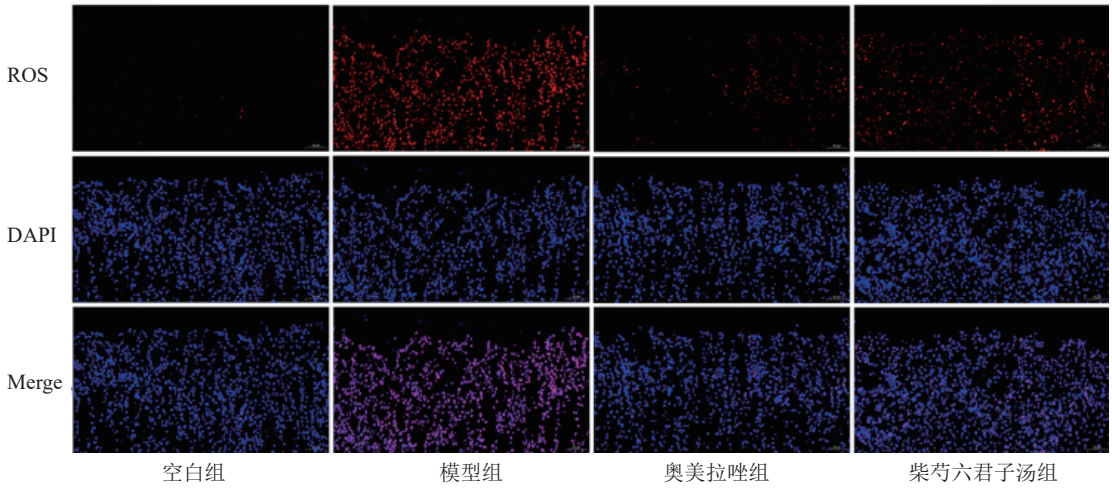


图 5 各组小鼠胃黏膜 ROS 表达情况（×200）

Figure 5 ROS expression in gastric mucosa of mice in each group（×200）

表 3 各组小鼠 MDA、SOD、GSH-Px 及 IL-6、TNF-α 水平比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 3 Comparison of MDA, SOD, GSH-Px, IL-6 and TNF-α levels of mice in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	MDA/mmol·mg^{-1}	SOD/U·mg^{-1}	GSH-Px/U·mg^{-1}	IL-6/pg·mL^{-1}	TNF-α/pg·mL^{-1}
空白组（n=8）	2.99±0.91	145.61±10.52	267.12±15.84	53.44±10.26	386.80±15.85
模型组（n=8）	13.67±1.39**	44.18±6.74**	49.58±10.00**	122.68±12.58**	689.29±15.06**
奥美拉唑组（n=8）	5.54±1.21$^{\#\#}$	106.78±11.49$^{\#\#}$	207.37±15.48$^{\#\#}$	70.45±6.83$^{\#\#}$	464.43±39.09$^{\#\#}$
柴芍六君子汤组（n=8）	7.05±1.25$^{\#\#}$	84.87±12.44$^{\#\#\blacktriangle}$	179.60±9.08$^{\#\#\blacktriangle}$	61.60±13.89$^{\#\#}$	457.13±48.25$^{\#\#}$
F值	72.12	81.07	250.42	38.72	79.59
P值	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

注：与空白组比较，*P<0.05，**P<0.01；与模型组比较，$^{\#}P$<0.05，$^{\#\#}P$<0.01；与奥美拉唑组比较，$^{\blacktriangle}P$<0.05，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$<0.01。

Note: vs. the blank group, *P<0.05, **P<0.01; vs. the model group, $^{\#}P$<0.05, $^{\#\#}P$<0.01; vs. the omeprazole group, $^{\blacktriangle}P$<0.05, $^{\blacktriangle\blacktriangle}P$<0.01.

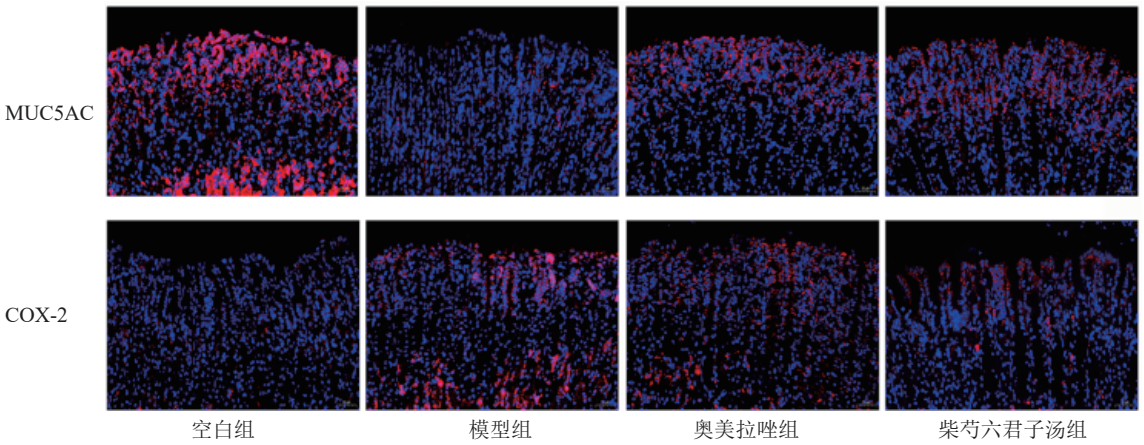


图 6 各组小鼠免疫荧光 MUC5AC 和 COX-2 表达影响（×200）

Figure 6 Effect of immunofluorescence expression of MUC5AC and COX-2 in each group（×200）

美拉唑组比较，柴芍六君子汤组 MUC5AC 平均荧光强度增加（P < 0.05），而 COX-2 平均荧光强度两组间差异无统计学意义（P > 0.05）。见图 6 及表 4。

2.8 各组 Keap1、Nrf2、HO-1 及 occludin、E-cadherin、MUC1 蛋白相对表达量比较

与空白组比较，模型组小鼠 Keap1 表达增加（P < 0.01），而 Nrf2、HO-1 及 Occludin、E-cadherin、MUC1 表达降低（P < 0.01）。与模型组比较，奥美拉唑组 Keap1 表达下降（P < 0.01），Nrf2、HO-1 及 occludin 表达升高（P < 0.01）。与模型组比较，柴芍六君子汤组 Keap1 表达下降（P < 0.01），Nrf2、HO-1 及 occludin、E-cadherin、MUC1 表达均升高（P < 0.01）。柴芍六君子汤组 Keap1 表达低于奥

表 4 各组小鼠 MUC5AC 和 COX-2 平均荧光强度比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 4 Comparison of average fluorescence intensity of MUC5AC and COX-2 in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	平均荧光强度	
	MUC5AC	COX-2
空白组（n=8）	81.14±5.94	5.51±1.40
模型组（n=8）	10.17±1.96**	63.66±5.92**
奥美拉唑组（n=8）	22.24±3.38$^{\#\#}$	38.99±9.31$^{\#\#}$
柴芍六君子汤组（n=8）	28.01±4.56$^{\#\#\blacktriangle}$	31.47±6.10$^{\#\#}$
F值	276.09	71.29
P值	0.001	0.001

注：与空白组比较，*P<0.05，**P<0.01；与模型组比较，$^{\#}P$<0.05，$^{\#\#}P$<0.01；与奥美拉唑组比较，$^{\blacktriangle}P$<0.05，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$<0.01。

Note: vs. the blank group, *P<0.05, **P<0.01; vs. the model group, $^{\#}P$<0.05, $^{\#\#}P$<0.01; vs. the omeprazole group, $^{\blacktriangle}P$<0.05, $^{\blacktriangle\blacktriangle}P$<0.01.

美拉唑组（$P < 0.01$），Nrf2、HO-1 及 occludin、E-cadherin、MUC1 表达均高于奥美拉唑组（$P < 0.05$）。见图 7、8 和表 5、6。

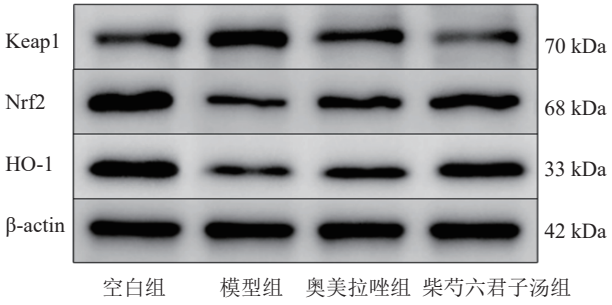


图 7 各组 Keap1、Nrf2 以及 HO-1 蛋白 WB 图

Figure 7 WB images of Keap1, Nrf2 and HO-1 proteins in each group

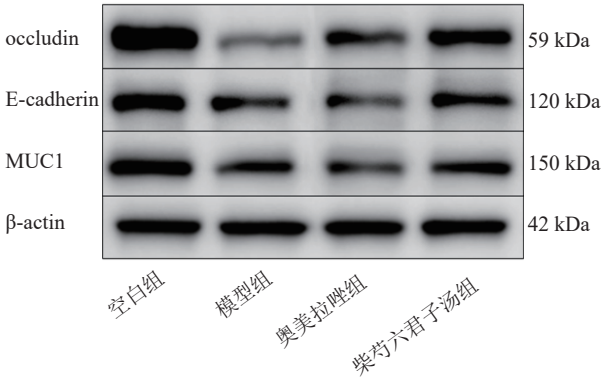


图 8 各组小鼠胃组织 occludin、E-cadherin 及 MUC1 蛋白 WB 图

Figure 8 WB images of occludin, E-cadherin and MUC1 proteins in the gastric tissues of mice in each group

表 5 各组 Keap1、Nrf2 以及 HO-1 相对表达量比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 5 Comparison of relative expression levels of Keap1, Nrf2 and HO-1 in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	Keap1/β-actin	Nrf2/β-actin	HO-1/β-actin
空白组（n=8）	0.42±0.05	1.31±0.10	1.10±0.09
模型组（n=8）	1.11±0.09**	0.30±0.03**	0.31±0.06**
奥美拉唑组（n=8）	0.87±0.07$^{\#\#}$	0.44±0.06$^{\#\#}$	0.54±0.09$^{\#\#}$
柴芍六君子汤组（n=8）	0.50±0.10$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	0.54±0.06$^{\#\#\blacktriangle}$	0.74±0.07$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$
F值	80.81	217.93	94.18
P值	0.001	0.001	0.001

注：与空白组比较，*P<0.05，**P<0.01；与模型组比较，$^{\#}P$<0.05，$^{\#\#}P$<0.01；与奥美拉唑组比较，$^{\blacktriangle}P$<0.05，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$<0.01。

Note: vs. the blank group, *P<0.05, **P<0.01; vs. the model group, $^{\#}P$<0.05, $^{\#\#}P$<0.01; vs. the omeprazole group, $^{\blacktriangle}P$<0.05, $^{\blacktriangle\blacktriangle}P$<0.01.

表 6 各组小鼠胃组织 occludin、E-cadherin 及 MUC1 相对表达量比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 6 Comparison of the relative expression levels of occludin, E-cadherin and MUC1 in the gastric tissues of mice in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	occludin/β-actin	E-cadherin/β-actin	MUC1/β-actin
空白组（n=8）	1.93±0.11	1.15±0.13	1.00±0.09
模型组（n=8）	0.25±0.04**	0.44±0.07**	0.38±0.07**
奥美拉唑组（n=8）	0.79±0.08$^{\#\#}$	0.42±0.08	0.43±0.06
柴芍六君子汤组（n=8）	1.07±0.06$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	0.58±0.07$^{\#\blacktriangle}$	0.59±0.10$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$
F值	410.17	74.19	60.14
P值	0.001	0.001	0.001

注：与空白组比较，*P<0.05，**P<0.01；与模型组比较，$^{\#}P$<0.05，$^{\#\#}P$<0.01；与奥美拉唑组比较，$^{\blacktriangle}P$<0.05，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$<0.01。

Note: vs. the blank group, *P<0.05, **P<0.01; vs. the model group, $^{\#}P$<0.05, $^{\#\#}P$<0.01; vs. the omeprazole group, $^{\blacktriangle}P$<0.05, $^{\blacktriangle\blacktriangle}P$<0.01.

3 讨论

GU 属中医“胃脘痛”“胃疡”[11]。其发病与外邪客胃、情志失调等相关，其中情志失调致肝气郁结、横逆犯胃，是肝胃不和证 GU 的主要病因[11]。研究[12-13]表明，长期精神高压及抑郁症与 GU 存在双向关联，与中医情志抑郁致肝失疏泄、气机郁滞、木旺克土理论相符[14]，肝气犯胃则引发胃脘痛、呃逆等症状。此外，脾虚运化无力、升清失职，会导致胃的降浊功能受阻，进一步恶化病情[15]。故肝胃不和型 GU 当以疏肝和胃、健脾化湿为治法。柴芍六君子汤实为 GU 肝胃不和证之代表方。

本研究采用“情志刺激＋无水乙醇灌胃”法建立肝胃不和型 GU 小鼠模型，通过多种外源性情志刺激诱导小鼠“肝郁气滞”，无水乙醇直接破坏胃黏膜屏障，模拟“胃失和降、胃络受损”病机[16-17]。模型组小鼠出现毛发暗淡杂乱，易激惹，大便色黑干结，胃黏膜充血水肿，伴暗红色线状、片状出血，病理损伤明显，黏多糖减少，超微结构破坏，与前人报道的相关表征一致[9]，表明造模成功。柴芍六君子汤干预后，小鼠胃黏膜病理及超微结构损伤减轻、黏多糖水平升高，明确其对肝胃不和型 GU 小鼠胃黏膜的保护作用。

氧化应激损伤及炎症反应是 GU 发生发展的核心病理机制[18-19]。MDA 是脂质过氧化反应的产物，是机体遭受氧化损伤的核心标志；而 SOD 和 GSH-Px 是重要的抗氧化酶，可有效清除 ROS，减少 MDA 的生成。炎症反应与氧化应激二者关系密切。研究[20-21]表明，在 GU 模型中胃黏膜 ROS、MDA 水平及 TNF-α、IL-1β 等促炎因子水平均显著增加，而抗氧化酶活性下降。通过提高抗氧化酶 SOD、GSH-Px 活性，抑制 MDA 水平，可降低 COX-2、IL-6 等促炎因子水平，减轻 GU 胃黏膜损伤[22]。本研究中，模型组小鼠胃黏膜 ROS、MDA 及 IL-6、TNF-α 水平升高，SOD、GSH-Px 水平降低，提示存在明显氧化应激损伤及炎症反应，与前人研究结果一致[23]。柴芍六君子汤干预后上述指标均显著改善，且 COX-2 表达降低，表明其可有效抗炎、抗氧化。

胃黏膜屏障失衡是 GU 发病的关键。MUC5AC 是一种分泌性黏蛋白，可通过二硫键交联在胃腔表面形成黏液凝胶层，形成黏液屏障[24]；MUC1 是膜结合型黏蛋白，锚定于黏膜上皮细胞的胞膜表面，形成功能性黏液层。Occludin 是胃黏膜上皮细胞紧密连接的核心跨膜蛋白，与 Claudin 家族蛋白及闭合小环蛋白协同组装以构建细胞间密封结构；E-cadherin 是黏附连接的核心蛋白，其通过钙依赖方式将相邻上皮细胞紧密黏附以形成连续的层状结构，构建稳定的物理屏障。本研究发现，模型组小鼠胃黏膜中黏多糖减少，且 MUC5AC、occludin、E-cadherin、MUC1 表达降低，提示胃黏膜屏障受损。柴芍六君子汤干预后黏多糖水平相对升高，MUC5AC 荧光强度增加，occludin、E-cadherin、MUC1 表达升高，表明其可能对胃黏膜屏障具有保护作用。

Keap1/Nrf2/HO-1 通路是调控 GU 胃黏膜氧化应激及炎症的关键途径[25]。当受到刺激时，Keap1 失活使 Nrf2 入核启动 HO-1 转录，HO-1 进一步降解血红素生成胆红素、一氧化碳及螯合游离铁，减少 ROS 的生成或直接清除 ROS 以减轻氧化损伤，并抑制过度炎症反应[26-27]。本研究中，柴芍六君子汤组小鼠胃组织 Keap1 表达下降，Nrf2、HO-1 表达升高，提示其可能通过调控该通路发挥作用。

4 结论

综上所述，柴芍六君子汤可减轻肝胃不和型 GU 小鼠胃黏膜病理损伤，抑制氧化应激及炎症反应，同时上调黏蛋白及紧密连接相关蛋白表达修复胃黏膜屏障，其机制可能与调控 Keap1/Nrf2/HO-1 通路有关。

参考文献：

[1] 张敏敏. 消化性溃疡诊断与治疗共识意见(2022年, 上海)[J]. 胃肠病学, 2023, 28(4): 208-225.

[2] TaRNAWSKI AS, AHLUWALIA A. The critical role of growth factors in gastric ulcer healing: the cellular and molecular mechanisms and potential clinical implications[J]. Cells, 2021, 10(8): 1964.

[3] 王俊, 唐莉, 杜明珊. 三联方案联合温胃舒胶囊对Hp阳性胃溃疡患者血清PG及TFF1水平的影响[J]. 世界临床药物, 2016, 37(1): 42-45.

[4] LIANG H, LIANG Y, WU L, *et al*. Pretreatment with citrus reticulata 'Chachi' polysaccharide alleviates alcohol-induced gastric ulcer by inhibiting NLRP3/ASC/Caspase-1 and Nrf2/HO-1 signaling pathways[J]. Nutrients, 2025, 17(13): 2062.

[5] SALLAM AM, DARWISH SF, EL-DAKROURY WA, *et al*. Olmesartan niosomes ameliorates the indomethacin-induced gastric ulcer in rats: insights on MAPK and Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. Pharm Res, 2021, 38(11): 1821-1838.

[6] 张攀攀, 林静瑜, 周凡, 等. 足三里穴位注射对胃溃疡大鼠Gsh-Px、EGF、Gas及Nrf2、GSTm1基因的影响[J]. 陕西中医药大学学报, 2023, 46(1): 87-93.

[7] 黄国欣, 王静滨, 舒晓霞, 等. 柴芍六君子汤治疗肝郁脾虚型消化性溃疡的临床研究[J]. 中国中医药科技, 2021, 28(1): 14-16.

[8] 李雪红. 基于网络药理学和分子对接探讨柴芍六君子汤治疗消化性溃疡的作用机制[J]. 广东化工, 2025, 52(11): 145-147.

[9] 王雯, 侯雨君, 王路, 等. 胃溃疡中医证候动物模型研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(10): 1351-1360.

[10] 邓文龙. 动物中人体剂量换算遵循的原则[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(3): 196-197.

[11] 张声生, 王垂杰, 李玉锋, 等. 消化性溃疡中医诊疗专家共识意见(2017)[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(9): 4089-4093.

[12] LIU RL, SONG QC, LIU LM, *et al*. Mood instability and risk of gastrointestinal diseases - a univariable and multivariable mendelian randomization study[J]. Ann Gen Psychiatry, 2024, 23(1): 50.

[13] KIM SY, MIN C, OH DJ, *et al*. Reciprocal association between depression and peptic ulcers: Two longitudinal follow-up studies using a national sample cohort[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 1749.

[14] 王伟明, 柳昕坤, 施嘉祥, 等. 基于脑—肠轴理论从肝论治消化性溃疡的中医治要探析[J]. 环球中医药, 2025, 18(4): 764-768.

[15] 李思思, 苏薇洁, 崔孔蛟, 等. 基于“肝脾调和法”论治幽门螺杆菌阳性胃溃疡的研究进展[J]. 中医药导报, 2025, 31(1): 125-129.

[16] 孙剑端, 任路, 李静, 等. 电针对胃溃疡肝郁证模型大鼠镇痛作用研究[J]. 中国针灸, 2015, 35(4): 361-366.

[17] 陈力铭, 刘国政, 杨硕, 等. 胃溃疡中西医临床病证结合动物模型分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2025, 27(8): 40-48.

[18] 王楚盈, 张晶, 黄梓骏, 等. 白矾及其不同炮制品对急性胃溃疡小鼠的作用机制[J]. 中草药, 2025, 56(14): 5086-5097.

[19] 田华, 李晓利, 王金叶, 等. 美沙拉嗪对乙醇所致大鼠急性胃溃疡的保护作用及机制探讨[J]. 世界临床药物, 2023, 44(6): 547-551.

[20] FERAH OKKAY I, OKKAY U, CICEK B, *et al*. Syringic acid guards against indomethacin-induced gastric ulcer by alleviating inflammation, oxidative stress and apoptosis[J]. Biotech Histochem, 2024, 99(3): 147-156.

[21] GELEN V, GEDIKLI S, GELEN SU, *et al*. Probiotic bacteria protect against indomethacin-induced gastric ulcers through modulation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis[J]. Mol Biol Rep, 2024, 51(1): 684.

[22] 杨雅琴, 卢素宏, 潘华山, 等. 足三里-中脘合募配穴针刺对运动应激性胃溃疡大鼠胃黏膜功能、氧化应激及炎症反应的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2024, 41(9): 2401-2409.

[23] 徐寅, 喻斌. 肝胃百合汤对慢性应激胃溃疡模型小鼠Th1/Th2细胞平衡及HPA轴的影响[J]. 中医药学报, 2019, 47(4): 32-36.

[24] 贾晓雨, 张建军. 基于黏液和黏膜屏障探究楹树皂苷对乙醇致大鼠急性胃溃疡的保护作用机制[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(12): 3340-3347.

[25] 范明明, 刘烨玄, 李敬孝, 等. 中药调控NF-κB信号通路干预胃溃疡研究进展[J]. 医学研究杂志, 2024, 53(3): 1-6..

[26] YUAN L, WANG Y, LI N, *et al*. Mechanism of action and therapeutic implications of Nrf2/HO-1 in inflammatory bowel disease[J]. Antioxidants (Basel), 2024, 13(8): 1012.

[27] 张静, 张庆, 郑金龙. 三七总皂苷通过调节Nrf2/HO-1/NQO1通路改善胃溃疡大鼠胃黏膜氧化应激损伤的机制研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2025, 31(5): 833-837.

(编辑：沈佳婕)