

丹酚酸 B 调控 *miR* - 106b - 5p/BTG3 分子轴 对大鼠胃癌前病变的胃保护作用研究

Study on the gastric protective effects of salvianolic acid B on gastric precancerous lesions in rats by regulating the *miR* - 106b - 5p/BTG3 molecular axis

黄 静, 李雅琼, 姜晓花,
孙允芹, 刘 涛

(新乡医学院 三全学院 临床学院, 河南 新乡
453000)

HUANG Jing, LI Ya-qiong,
JIANG Xiao-hua, SUN Yun-qin,
LIU Tao

(Clinical College of Sanquan, College of
Xinxiang Medical University, Xinxiang
453000, Henan Province, China)

作者简介: 黄静(1977-), 女, 硕士, 讲师, 主要
从事消化内科方面的研究工作

通信作者: 黄静

MP: 13513717377

E-mail: 532904673@qq.com

摘要:目的 探讨丹酚酸 B(Sal B)调控微小 RNA(miR) - 106b - 5p/B 细胞易位基因 3(BTG3)分子轴对大鼠胃癌前病变(PLGC)的胃保护作用的具体机制。
方法 除 NC 组外,其余各组建立 PLGC 大鼠模型。将大鼠随机分为 NC 组(不做任何处理,0.9% NaCl 灌胃)、模型组(造模成功后,0.9% NaCl 灌胃)、实验组(基于模型组,Sal B 灌胃)、NC mimic 组(基于实验组,尾静脉注射 NC mimic 质粒)和 miR - 106b - 5p mimic 组(基于实验组,尾静脉注射 miR - 106b - 5p mimic 质粒)、pcDNA3.1 - NC 组(基于 miR - 106b - 5p mimic 组,腹腔注射 pcDNA3.1 - NC 质粒)和 pcDNA3.1 - BTG3 组(基于 miR - 106b - 5p mimic 组,腹腔注射 pcDNA3.1 - BTG3 质粒)。用实时荧光定量聚合酶链反应检测胃黏膜组织 *miR* - 106b - 5p、*BTG3* 及炎症因子 mRNA 表达水平;用酶联免疫吸附试验检测血清中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH - Px)、丙二醛(MDA)和胃泌素 - 17(G - 17)水平;用蛋白质印迹法检测胃黏膜组织中磷脂酰肌醇 - 3 - 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)信号通路相关蛋白和黏蛋白 2(MUC2)的表达水平。**结果** NC 组、模型组和实验组 *miR* - 106b - 5p 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.08 、 1.76 ± 0.35 和 1.33 ± 0.26 , *BTG3* mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.05 、 0.39 ± 0.06 和 0.81 ± 0.15 。模型组的上述指标与 NC 组比较、实验组的上述指标与模型组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);NC 组、模型组、实验组、NC mimic 组、miR - 106b - 5p mimic 组、pcDNA3.1 - NC 组和 pcDNA3.1 - BTG3 组 SOD 水平分别为 (197.81 ± 47.15)、(118.54 ± 20.49)、(172.29 ± 34.34)、(176.78 ± 35.57)、(127.65 ± 21.23)、(119.41 ± 20.50) 和 (158.28 ± 31.07) U · mL⁻¹, MDA 水平分别为 (3.44 ± 0.67)、(8.08 ± 1.32)、(3.92 ± 0.75)、(3.84 ± 0.70)、(6.50 ± 1.21)、(6.34 ± 1.17) 和 (4.22 ± 0.79) nmol · mL⁻¹, G - 17 水平分别为 (221.57 ± 40.26)、(155.62 ± 28.43)、(201.13 ± 37.35)、(194.85 ± 35.24)、(162.72 ± 31.65)、(160.04 ± 29.37) 和 (189.32 ± 32.15) pg · mL⁻¹, PI3K 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14 、 1.81 ± 0.36 、 1.23 ± 0.21 、 1.19 ± 0.20 、 1.65 ± 0.32 、 1.70 ± 0.35 和 1.38 ± 0.28 , 磷酸化 AKT/AKT 分别为 1.00 ± 0.09 、 1.94 ± 0.39 、 1.27 ± 0.23 、 1.21 ± 0.18 、 1.77 ± 0.37 、 1.73 ± 0.33 和 1.42 ± 0.26 。miR - 106b - 5p mimic 组的上述指标与 NC mimic 组比较,pcDNA3.1 - BTG3 组的上述指标与 pcDNA3.1 - NC 组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** Sal B 可能通过下调 *miR* - 106b - 5p 靶向负调控 BTG3 表达,从而抑制 PI3K/AKT 信号通路的激活来减轻 PLGC 大鼠氧化应激与炎症反应,改善胃黏膜状况,从而发挥胃保护作用。

关键词: 丹酚酸 B;微小 RNA - 106b - 5p;胃癌前病变;B 细胞易位基因 3;胃黏膜;胃保护作用

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.11.015

中图分类号: R28

文献标志码: A

文章编号: 1001 - 6821 (2025) 11 - 1582 - 07

Abstract: Objective To explore the specific mechanism of the gastric protective effect of salvianolic acid B (Sal B) on precancerous lesions of the stomach (PLGC) in rats by regulating the microRNA (miR) - 106b - 5p/B - cell translocation gene 3 (BTG3) molecular axis. **Methods** Except for the NC group, the rat models of PLGC were established. The rats were randomly divided into the NC group (without any treatment, intragastric administration of normal saline), the model group (after successful modeling, intragastric administration of normal saline), the experimental group (intragastric administration of Sal B based on the model group), the NC mimic group (based on the experimental group, injection of NC mimic plasmid *via* the tail vein), the miR - 106b - 5p mimic group (based on the experimental group, injection of miR - 106b - 5p mimic plasmid *via* the tail vein), the pcDNA3.1 - NC group (based on the miR - 106b - 5p mimic group, intraperitoneal injection of pcDNA3.1 - NC plasmid) and the pcDNA3.1 - BTG3 group (based on the miR - 106b - 5p mimic group, intraperitoneal injection of pcDNA3.1 - BTG3 plasmid). Quantitative real - time polymerase chain reaction experiments were carried out to detect the mRNA expression levels of *miR - 106b - 5p*, *BTG3* and inflammatory factors in the gastric mucosa tissues. Enzyme - linked immunosorbent assays were performed to detect the levels of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH - Px), malondialdehyde (MDA) and gastrin - 17 (G - 17) in the serum. Western blot experiments were used to detect the levels of proteins related to the phosphatidylinositol - 3 - kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT) signaling pathway and mucin 2 (MUC2) in the gastric mucosa tissues. **Results** The relative expression levels of *miR - 106b - 5p* in the NC group, the model group and the experimental group were 1.00 ± 0.08 , 1.76 ± 0.35 and 1.33 ± 0.26 , respectively, and the relative expression levels of *BTG3* mRNA were 1.00 ± 0.05 , 0.39 ± 0.06 and 0.81 ± 0.15 , respectively. There were statistically significant differences in the above - mentioned indicators between the model group and the NC group, as well as between the experimental group and the model group (all $P < 0.05$). The levels of SOD in the NC group, the model group, the experimental group, the NC mimic group, the miR - 106b - 5p mimic group, the pcDNA3.1 - NC group and the pcDNA3.1 - BTG3 group were (197.81 ± 47.15), (118.54 ± 20.49), (172.29 ± 34.34), (176.78 ± 35.57), (127.65 ± 21.23), (119.41 ± 20.50) and (158.28 ± 31.07) $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the levels of MDA were (3.44 ± 0.67), (8.08 ± 1.32), (3.92 ± 0.75), (3.84 ± 0.70), (6.50 ± 1.21), (6.34 ± 1.17) and (4.22 ± 0.79) $\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the levels of G - 17 were (221.57 ± 40.26), (155.62 ± 28.43), (201.13 ± 37.35), (194.85 ± 35.24), (162.72 ± 31.65), (160.04 ± 29.37) and (189.32 ± 32.15) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the levels of PI3K were 1.00 ± 0.14 , 1.81 ± 0.36 , 1.23 ± 0.21 , 1.19 ± 0.20 , 1.65 ± 0.32 , 1.70 ± 0.35 and 1.38 ± 0.28 , respectively; the ratios of phosphorylated AKT/AKT were 1.00 ± 0.09 , 1.94 ± 0.39 , 1.27 ± 0.23 , 1.21 ± 0.18 , 1.77 ± 0.37 , 1.73 ± 0.33 and 1.42 ± 0.26 , respectively. There were statistically significant differences in the above - mentioned indicators between the miR - 106b - 5p mimic group and the NC mimic group, and between the pcDNA3.1 - BTG3 group and the pcDNA3.1 - NC group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Sal B may exert a gastric protective effect by down - regulating the targeted negative regulation of BTG3 expression by *miR - 106b - 5p*, inhibiting the activation of the PI3K/AKT signaling pathway, thereby alleviating the oxidative stress and inflammatory response in PLGC rats and improving the condition of the gastric mucosa.

Key words: salvianolic acid B; microRNA - 106b - 5p; precancerous lesions of the stomach; B - cell translocation gene 3; gastric mucosa; gastric protective effect

胃癌是临床最常见的肿瘤之一,慢性萎缩性胃炎基础上伴肠上皮化生和异型增生,是“炎 - 癌”链的关键阶段,被列为胃癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)^[1]。西医对于 PLGC 尚无确切有效的药物,而中医药对于延缓胃黏膜病变进展,降低胃癌前病变癌变率有明确的疗效^[2]。丹参为常见传

统中药,研究表明,丹参及其提取物具有抗肿瘤、调节免疫、抗心肌缺血等作用。丹酚酸 B (salvianolic acid B, Sal B) 是丹参重要的活性成分之一^[3]。既往研究发现, Sal B 可以通过干预微小 RNA - 128 - 3p (microRNA - 128 - 3p, *miR - 128 - 3p*)/NAD - 依赖性去乙酰化酶 Sirtuin - 1 轴来提高细胞自噬活性,保护

关节软骨免于损伤^[4]。但 Sal B 调控 miR - 106b - 5p/B 细胞易位基因 3 (B - cell translocation gene 3, BTG3) 轴影响 PLGC 的研究报道较少。本研究旨在探讨 Sal B 对大鼠 PLGC 胃保护作用的分子机制。

材料与方法

1 材料

动物 SD 雄性大鼠 70 只, 鼠龄 4 ~ 6 周, 体质量 140 ~ 180 g, 购自河南斯克贝斯生物科技有限公司。动物生产许可证号: SCXK (豫) 2020 - 0005。本实验经新乡医学院三全学院伦理委员会批准 (伦理批号: 2024 - 36)。

细胞 人胚肾细胞 (293T 细胞), 购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

药品与试剂 Sal B, 规格: 每瓶 10 mg, 纯度: 99.29 %, 批号: 20640, 美国 MedChemExpress 公司生产; 1 - 甲基 - 3 - 硝基 - 1 - 亚硝基胍 (1 - methyl - 3 - nitro - 1 - nitrosoguanidine, MNNG), 规格: 每瓶 100 mg, 纯度: 98 %, 批号: E015702, 美国 Selleck 公司生产。苏木精 - 伊红 (hematoxylin - eosin, HE) 染色试剂盒、反转录试剂盒、双荧光素酶报告基因检测试剂盒, 均由北京索莱宝科技有限公司生产; Lipofectamine 3000 转染试剂, 上海科夷生物科技有限公司生产; BTG3 抗体、黏蛋白 2 (mucin2, MUC2) 抗体、磷脂酰肌醇 - 3 - 激酶 (phosphatidylinositol - 3 - kinase, PI3K) 抗体、蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 抗体、磷酸化蛋白激酶 B (phosphorylated - protein kinase B, p - AKT) 抗体、荧光二抗、辣根过氧化物酶标记的二抗, 均由英国 Abcam 公司生产; 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH - Px)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、胃泌素 - 17 (gastrin - 17, G - 17) 酶联免疫吸附试验 (enzyme - linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒, 均由武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司生产; 4', 6 - 联脒 - 2 苯基吡啶试剂、放射免疫沉淀法缓冲液, 均由北京普利莱基因技术有限公司生产。miR - 106b - 5p 模拟物 (miR - 106b - 5p mimic) 质粒及其阴性对照 (NC mimic) 质粒、miR - 106b - 5p 抑制剂 (miR - 106b - 5p inhibitor) 质粒及其阴性对照 (NC inhibitor) 质粒, 均由美国 MedChemExpress 生产; pcDNA3.1 - BTG3 质粒及 pcDNA3.1 - NC 质粒, 均由苏州泓迅生物科技股份有限公司提供; 引物, 由上海生工生物有限公司合成。

仪器 CM1860 切片机, 德国徕卡公司产品; ASTREO® 300 光学显微镜, 德国蔡司集团产品; FV4000 激光共聚焦显微镜, 日本奥林巴斯株式会社产品; JS94H 电泳仪, 上海中晨数字技术设备有限公司产品。

2 实验方法

2.1 模型构建、动物分组与给药方法

构建 PLGC 大鼠模型: 用 $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ MNNG 自由饮用加隔日禁食法, 持续 16 周, 建立 PLGC 大鼠模型, 大鼠出现嗜睡疲倦、反应迟缓、皮毛稀疏失泽, 便质稀软, 体质量减轻, 则表示模型制备成功^[5]。

将大鼠分为 NC 组、模型组、实验组、NC mimic 组、miR - 106b - 5p mimic 组、pcDNA3.1 - NC 组和 pcDNA3.1 - BTG3 组, 每组 10 只。NC 组: 给予等量 0.9% NaCl 灌胃; 模型组: 造模成功后, 给予等量 0.9% NaCl 灌胃; 实验组: 基于模型组, 给予 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Sal B 灌胃, 均每天 1 次, 持续 2 周。NC mimic 组: 基于实验组, 尾静脉注射 $60 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NC mimic 质粒; miR - 106b - 5p mimic 组: 基于实验组, 尾静脉注射 $60 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ miR - 106b - 5p mimic 质粒; pcDNA3.1 - NC 组: 基于 miR - 106b - 5p mimic 组, 腹腔注射 pcDNA3.1 - NC 质粒 $10 \mu\text{L}$ ($50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); pcDNA3.1 - BTG3 组: 基于 miR - 106b - 5p mimic 组大鼠, 腹腔注射 pcDNA3.1 - BTG3 质粒 $10 \mu\text{L}$ ($50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 均每天 1 次, 持续 3 d。293T 细胞共分为 NC inhibitor 组 ($50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NC inhibitor 处理) 和 miR - 106b - 5p inhibitor 组 ($50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ miR - 106b - 5p inhibitor 处理)。严格按照试剂盒要求用 Lipofectamine 3000 转染试剂进行质粒转染。

2.2 HE 染色观察大鼠胃黏膜组织^[6]

取出胃黏膜组织, 将组织固定、脱水和透明化处理后, 进行石蜡包埋、切片 ($3 \mu\text{m}$ 厚), 脱蜡后, 按照染色试剂盒的说明书操作 HE 染色, 封片剂封片, 在显微镜下观察并拍照。

2.3 实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real - time polymerase chain reaction, qRT - PCR) 实验法检测各组胃黏膜组织 miR - 106b - 5p、BTG3 和炎症因子 mRNA 表达^[7]

提取大鼠胃黏膜组织总 RNA, 检测总 RNA 的浓度和纯度, 用反转录试剂盒合成 cDNA, 以 cDNA 为模板进行实时荧光定量 PCR, 以 U6 和甘油醛 - 3 - 磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde - 3 - phosphate dehydrogenase, GAPDH) 为内参, 用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 mRNA 表达水平。引物序列为 miR - 106b - 5p 上游引物: 5' - CTGCT -

GGGACTAAAGTGCTGAC - 3', 下游引物: 5' - GCAG-CAAGTACCCACAGTGC - 3'; *BTG3* 上游引物: 5' - TGCTGCCGGTATGGAGAGAA - 3', 下游引物: 5' - GGTACCTTATCCAGAGCCC - 3'; 肿瘤坏死因子 - α (tumor necrosis factor - α , *TNF* - α) 上游引物: 5' - CCTCACCCACACCGTCAG - 3', 下游引物: 5' - GCAG-GTCCCCCTTCTCCA - 3'; 白细胞介素 - 1 β (interleukin - 1 beta, *IL* - 1 β) 上游引物: 5' - GAGCTGAAAGCTCTC-CACCT - 3', 下游引物: 5' - TTCCATCTTCTCTTT-GGGT - 3'; 白细胞介素 - 18 (interleukin - 18, *IL* - 18) 上游引物: 5' - TCGTAAACCAGGCTTCACTTCT - 3', 下游引物: 5' - CAGGCAGCTAGGATTACGGAAAG - 3'; *U6* 上游引物: 5' - GCTTCGGCAGCACATATACTA-AAAT - 3', 下游引物: 5' - CGCTTCAGAATTTGCGT-GTCAT - 3'; *GAPDH* 上游引物: 5' - TGCACCAC-CAACTGCTTAGC - 3', 下游引物: 5' - GGCATGGACT-CTGCTCATGAG - 3'。

2.4 双荧光素酶报告基因实验法验证 *miR* - 106b - 5p 和 *BTG3* 的靶向关系

通过 TargetScanHuman 8.0 在线网站预测发现 *miR* - 106b - 5p 和 *BTG3* 存在结合位点。构建 *BTG3* 野生型 (wild type, WT) 和突变型 (mutant, MUT) 质粒, 将 *BTG3* WT 和 *BTG3* MUT 用 Lipofectamine 3000 转染试剂与 NC inhibitor 或 *miR* - 106b - 5p inhibitor 共转染至 293T 细胞, 转染 48 h, 用双荧光素酶报告基因检测系统进行荧光素酶报告基因检测。

2.5 免疫荧光法检测 293T 细胞中 *BTG3* 阳性表达

取处理后的 293T 细胞培养 24 h, 弃细胞上清液, 清洗后, 用 4% 的多聚甲醛细胞固定 10 min, 0.1% Triton X - 100 室温通透, 用 *BTG3* 一抗 (1:2 000) 在 4 °C 下孵育过夜, 再次清洗, 次日加入荧光二抗 (1:5 000)

室温避光孵育 1 h。滴加 4',6 - 联脒 - 2 苯基吡啶液反应 3 min, 甘油封片, 在激光共聚焦显微镜下观察并拍照, 用 Image J 处理数据, 分析 *BTG3* 阳性区域面积。

2.6 ELISA 检测各组大鼠血清中 SOD 和 GSH - Px 活性、MDA 含量及 G - 17 水平

麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 以 2 500 r $\cdot$ min⁻¹ 离心 15 min 后, 收集血清, 按照 ELISA 试剂盒说明书要求检测血清中 SOD 水平、GSH - Px 活性、MDA 含量及 G - 17 水平。

2.7 蛋白质印迹法检测各组大鼠胃黏膜组织中 MUC2、PI3K 和 p - AKT/AKT 水平

取大鼠胃黏膜组织, 将组织剪碎后加入放射免疫沉淀法缓冲液提取总蛋白并测定蛋白浓度。取少量蛋白, 将蛋白上样至聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分离, 转移到聚偏二氟乙烯膜上。用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h, 加入 MUC2 (1:500)、PI3K (1:300)、p - AKT/AKT (1:600/1:500) 一抗, 在 4 °C 下过夜孵育, 加辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:2 000) 室温孵育 2 h, 化学发光试剂显影, 分析蛋白条带灰度值。

3 统计学处理

用 SPSS 24.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用独立样本 *t* 检验。

结 果

1 Sal B 改善 PLGC 模型大鼠胃黏膜组织病理学损伤

如图 1 所示, HE 染色结果显示: NC 组大鼠胃黏膜组织细胞结构清晰完整, 无明显病理改变; 模型组大鼠胃黏膜腺体结构排列紊乱, 数量减少, 间质内有淋巴细胞浸润; 实验组较模型组腺体排列相对较整齐规则, 淋巴细胞浸润明显减少, NC mimic 组较实验组

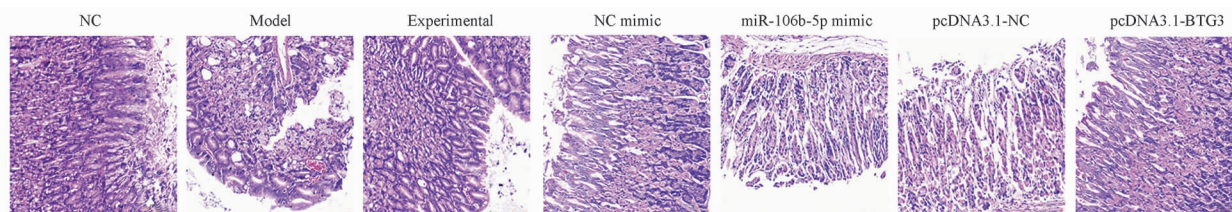


图 1 大鼠胃黏膜组织样本苏木精 - 伊红 (HE) 染色 (光学显微镜, $\times 100$)

Figure 1 Hematoxylin - eosin (HE) staining of the gastric mucosa tissue samples from rats (optical microscope, $\times 100$)

NC group: No treatment was done; Model group: A precancerous lesions of gastric cancer model was constructed using 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 1 - methyl - 3 - nitro - 1 - nitrosoguanidine; Experimental group: Based on the model group, 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ salvianolic acid B (Sal B) was gavaged; NC mimic group: Based on the experimental group, 60 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NC mimic plasmid was injected *via* the tail vein; *miR* - 106b - 5p mimic group: Based on the experimental group, 60 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ *miR* - 106b - 5p mimic plasmid was injected *via* the tail vein; pcDNA3.1 - NC group: Based on the *miR* - 106b - 5p mimic group, 10 μL of pcDNA3.1 - NC plasmid was injected intraperitoneally; pcDNA3.1 - *BTG3* group: Based on the rats in the *miR* - 106b - 5p mimic group, 10 μL of pcDNA3.1 - *BTG3* plasmid was injected intraperitoneally.

无明显差异,miR-106b-5p mimic 组较 NC mimic 组上述病理特征明显加重,pcDNA3.1-NC 组较 pcDNA3.1-NC 组无明显差异。

2 Sal B 影响 PLGC 模型大鼠 miR-106b-5p 和 BTG3 mRNA 的表达水平

NC 组、模型组、实验组的 miR-106b-5p 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.08 、 1.76 ± 0.35 和 1.33 ± 0.26 , BTG3 mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.05 、 0.39 ± 0.06 和 0.81 ± 0.15 。模型组的上述指标与 NC 组和实验组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。

3 miR-106b-5p 和 BTG3 mRNA 靶向关系的验证

通过 TargetScanHuman 8.0 在线网站对 miR-106b-5p 和 BTG3 的靶向关系进行预测分析,发现 miR-106b-5p 与 BTG3 存在结合位点,见图 2。NC inhibitor 组和 miR-106b-5p inhibitor 组的 miR-106b-5p 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.07 和 0.32 ± 0.05 ,转染 BTG3 WT 质粒的 293T 细胞荧光素酶活性分别为 1.00 ± 0.09 和 1.71 ± 0.30 ,转染 BTG3 MUT 质粒的 293T 细胞荧光素酶活性分别为 1.00 ± 0.06 和 0.97 ± 0.15 ,BTG3 相对荧光强度分别为 1.00 ± 0.10 和 2.34 ± 0.41 。miR-106b-5p inhibitor 组的上述指标(除转染 BTG3 MUT 质粒的 293T 细胞荧光素酶活性外)与 NC inhibitor 组相比,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$)。

4 Sal B 通过 miR-106b-5p/BTG3 轴影响 PLGC 模型大鼠氧化应激和炎症因子水平

模型组与 NC 组相比;实验组与模型组相比;

miR-106b-5p mimic 组与 NC mimic 组相比;pcDNA3.1-BTG3 组与 pcDNA3.1-NC 组相比,血清 SOD、GSH-Px、MDA 水平和胃黏膜组织 IL-18、IL-1 β 、TNF- α mRNA 表达水平,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$);NC mimic 组的上述指标与实验组相比,pcDNA3.1-NC 组的上述指标与 miR-106b-5p mimic 组相比,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表 1。

5 Sal B 通过 miR-106b-5p/BTG3 轴影响 PLGC 模型大鼠胃泌素的分泌和胃黏膜相关蛋白的表达

NC 组、模型组、实验组、NC mimic 组、miR-106b-5p mimic 组、pcDNA3.1-NC 组和 pcDNA3.1-BTG3 组的 G-17 含量分别为(221.57 ± 40.26)、(155.62 ± 28.43)、(201.13 ± 37.35)、(194.85 ± 35.24)、(162.72 ± 31.65)、(160.04 ± 29.37)和(189.32 ± 32.15) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, MUC2 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.07 、 2.04 ± 0.48 、 1.21 ± 0.23 、 1.25 ± 0.21 、 1.77 ± 0.34 、 1.70 ± 0.32 和 1.37 ± 0.27 ,见图 3。模型组的上述指标与 NC 组相比,实验组的上述指标与模型组相比,miR-106b-5p mimic 组的上述指标与 NC mimic 组相比,pcDNA3.1-BTG3 组的

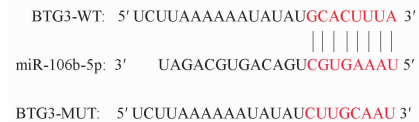


图2 微小RNA(miR)-106b-5p与B细胞易位基因3(BTG3)的结合位点预测

Figure 2 Prediction of the binding sites between microRNA (miR)-106b-5p and B-cell translocation gene 3 (BTG3)

表1 各组大鼠氧化应激和炎症因子相关指标水平($\bar{x} \pm s$)

Table 1 The levels of indexes related to oxidative stress and inflammatory factors in rats of each group($\bar{x} \pm s$)

Group	n	SOD ($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	GSH-Px ($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	MDA ($\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$)	IL-18 mRNA	IL-1 β mRNA	TNF- α mRNA
NC	10	197.81 ± 47.15	399.68 ± 75.14	3.44 ± 0.67	1.00 ± 0.12	1.00 ± 0.11	1.00 ± 0.15
Model	10	$118.54 \pm 20.49^{***}$	$301.37 \pm 53.02^{**}$	$8.08 \pm 1.32^{***}$	$3.49 \pm 0.64^{***}$	$2.18 \pm 0.43^{***}$	$2.67 \pm 0.51^{***}$
Experimental	10	$172.29 \pm 34.34^{###}$	$375.43 \pm 62.76^{\#}$	$3.92 \pm 0.75^{###}$	$1.76 \pm 0.36^{###}$	$1.22 \pm 0.23^{###}$	$1.42 \pm 0.32^{###}$
NC mimic	10	176.78 ± 35.57	377.16 ± 61.22	3.84 ± 0.70	1.85 ± 0.39	1.17 ± 0.20	1.51 ± 0.28
miR-106b-5p mimic	10	$127.65 \pm 21.23^{\Delta\Delta}$	$316.92 \pm 58.03^{\Delta}$	$6.50 \pm 1.21^{\Delta\Delta\Delta}$	$3.13 \pm 0.55^{\Delta\Delta\Delta}$	$1.95 \pm 0.37^{\Delta\Delta\Delta}$	$2.23 \pm 0.44^{\Delta\Delta\Delta}$
pcDNA3.1-NC	10	119.41 ± 20.50	310.35 ± 55.64	6.34 ± 1.17	3.05 ± 0.47	1.98 ± 0.41	2.30 ± 0.49
pcDNA3.1-BTG3	10	$158.28 \pm 31.07^{\Delta\Delta}$	$369.81 \pm 64.83^{\Delta}$	$4.22 \pm 0.79^{\Delta\Delta\Delta}$	$2.31 \pm 0.53^{\Delta\Delta}$	$1.57 \pm 0.30^{\Delta}$	$1.79 \pm 0.38^{\Delta}$

SOD: Superoxide dismutase; GSH-Px: Glutathione peroxidase; MDA: Malondialdehyde; IL-18: Interleukin-18; IL-1 β : Interleukin-1 beta; TNF- α : Tumor necrosis factor- α ; Compared with the NC group, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$; Compared with the model group, $^{\#}P < 0.05$, $^{###}P < 0.001$; Compared with the Sal B + NC mimic group, $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$, $^{\Delta\Delta\Delta}P < 0.001$; Compared with the pcDNA3.1-NC group, $^{\Delta}P < 0.05$, $^{\Delta\Delta}P < 0.01$, $^{\Delta\Delta\Delta}P < 0.001$.

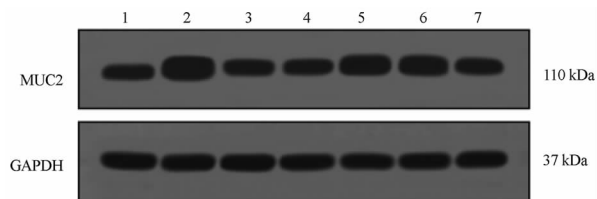


图3 用蛋白迹印迹法检测各组大鼠胃黏膜组织中黏蛋白2 (MUC2)蛋白表达水平

Figure 3 Detection of the expression level of mucin2 (MUC2) protein in the gastric mucosal tissues of rats in each group by Western blotting

MUC2: Mucin2; 1: NC group; 2: Model group; 3: Experimental group; 4: NC mimic group; 5: miR-106b-5p mimic group; 6: pcDNA3.1-NC group; 7: pcDNA3.1-BTG3 group.

上述指标与 pcDNA3.1-NC 组相比,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);NC mimic 组与实验组相比,pcDNA3.1-NC 组与 miR-106b-5p mimic 组相比,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

6 Sal B 通过 miR-106b-5p/BTG3 轴影响 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白的表达水平

如图4所示:NC组、模型组、实验组、NC mimic组、miR-106b-5p mimic组、pcDNA3.1-NC组和pcDNA3.1-BTG3组的PI3K蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14 、 1.81 ± 0.36 、 1.23 ± 0.21 、 1.19 ± 0.20 、 1.65 ± 0.32 、 1.70 ± 0.35 和 1.38 ± 0.28 , p-AKT/AKT水平分别为 1.00 ± 0.09 、 1.94 ± 0.39 、 1.27 ± 0.23 、 1.21 ± 0.18 、 1.77 ± 0.37 、 1.73 ± 0.33 和

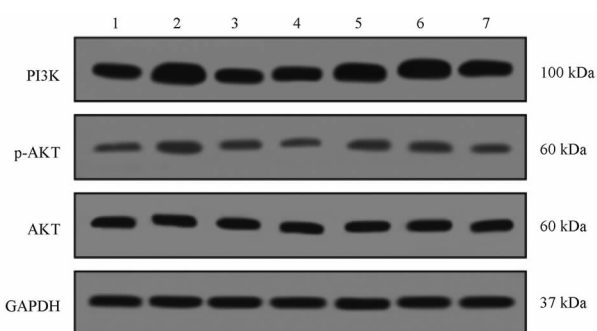


图4 用蛋白质印迹法检测各组大鼠胃黏膜组织中磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)、磷酸化蛋白激酶B/蛋白激酶B (p-AKT/AKT)水平

Figure 4 Detection of the levels of phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) and phosphorylated-protein kinase B/protein kinase B (p-AKT/AKT) in the gastric mucosal tissues of rats in each group by Western blotting

1-7 refer to figure 3; PI3K: Phosphatidylinositol-3-kinase; AKT: Protein kinase B; p-AKT: Phosphorylated-AKT.

1.42 ± 0.26 。模型组的上述指标与 NC 组相比,实验组的上述指标与模型组相比,miR-106b-5p mimic 组的上述指标与 NC mimic 组相比,pcDNA3.1-BTG3 组的上述指标与 pcDNA3.1-NC 组相比,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);NC mimic 组的上述指标与实验组相比,pcDNA3.1-NC 组的上述指标与 miR-106b-5p mimic 组相比,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

讨 论

PLGC 的治疗目标是延缓或阻断病变的发展,降低癌变风险,改善临床症状。现代临床医学认为 PLGC 的发生与幽门螺杆菌感染、胆汁反流有关,主要采取根除幽门螺杆菌、抗氧化等综合疗法,但缺乏针对 PLGC 的有效方法^[8]。研究表明,传统中医药疗法可显著改善 PLGC 患者的症状和胃镜病理变化,预防肿瘤的发展^[9]。

Sal B 由常见中药丹参的根及根茎提取而得,被广泛用于动脉粥样硬化、慢性阻塞性肺疾病、缺氧心肌损伤、恶性肿瘤等多种疾病^[10]。SHAO 等^[11]研究显示,Sal B 可促进肺细胞增殖、迁移,抑制氧化应激诱导的细胞死亡以保护肺泡结构。另有研究发现 Sal B 能够抑制结肠癌细胞的增殖,诱导癌细胞的死亡。在本研究中构建 PLGC 大鼠模型,经 Sal B 处理后,大鼠胃黏膜腺体排列整齐,淋巴细胞浸润明显减少,与南亚强等^[6]研究发现 Sal B 对肠功能紊乱小鼠的胃肠功能障碍具有明显改善作用的研究结果相似,提示 Sal B 可能是治疗 PLGC 的有效药物,其具体作用机制还需探究。

miRNA 通过将 mRNA 降解或者阻断其靶基因转录的过程而参与基因调控。研究表明,miR-106b-5p 在肾细胞癌中高表达,可能通过靶向 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源物基因表达参与调控癌细胞增殖、迁移及凋亡^[7]。GUO 等^[12]研究发现,miR-106b-5p 在神经病理性疼痛模型小鼠的脊髓中异常表达,靶向苯氯素 1 影响自噬,下调其表达可抑制脊髓组织中的细胞凋亡,增强自噬作用。本研究中发现,miR-106b-5p 在 PLGC 大鼠中表达明显升高,提示 miR-106b-5p 与 PLGC 的发生有关,可能促进 PLGC 进程。BTG3 是一种抑制细胞增殖的蛋白,其编码的蛋白可调控多种细胞的周期进程和分化。本研究通过预测分析发现 BTG3 是 miR-106b-5p 的靶基因,已有研究发现 BTG3 抑制胃癌细胞的增殖与恶

化^[13]。本研究中发现 BTG3 在 PLGC 大鼠中低表达,加入 *miR-106b-5p* 模拟物后 BTG3 表达升高,提示 *miR-106b-5p* 靶向负调控 BTG3 表达。另有研究发现,在 PLGC 阶段,氧化应激可触发 DNA 损伤和基因突变来促进疾病进展,激活巨噬细胞和嗜中性粒细胞等多种炎症细胞,导致炎症及黏膜上皮细胞损害,胃泌素分泌异常及胃黏膜损害^[14]。本研究发现,经 Sal B 处理后氧化应激指标 SOD、GSH-Px 水平升高,MDA 含量降低,炎症因子 IL-18、IL-1 β 、TNF- α 水平降低,与胃黏膜相关的 G-17 含量升高,MUC2 蛋白表达水平降低,加入 *miR-106b-5p* 模拟物则出现相反的结果,过表达 BTG3 后则逆转 *miR-106b-5p* 的作用。由上述结论推测 Sal B 可能通过下调 *miR-106b-5p* 表达从而上调 BTG3 表达来减轻氧化应激与炎症反应,改善胃泌素的分泌,促进胃黏膜恢复。既往研究显示,PI3K/AKT 通路是胃癌发生发展关键通路,苦参通过该通路影响多个与转移相关蛋白表达和信号转导^[15]。本研究发现,Sal B 处理后 PI3K、p-AKT/AKT 水平明显降低,过表达 *miR-106b-5p* 后 PI3K、p-AKT/AKT 水平升高,在此基础上过表达 BTG3,PI3K、p-AKT/AKT 水平再次降低,猜测 Sal B 通过 *miR-106b-5p*/BTG3 轴影响 PLGC 发展可能与抑制 PI3K/AKT 信号通路激活相关,未来还需进一步研究。

本研究提示:Sal B 减少 PLGC 大鼠体内炎症发生和氧化应激反应、改善胃黏膜、发挥胃保护作用可能是通过调控 *miR-106b-5p* 靶向调控 BTG3 从而抑制 PI3K/AKT 信号通路激活来实现的。

参考文献:

- [1] 陈翀,徐力. 基于网络药理学的藤梨根治胃癌前病变机制[J]. 世界中医药,2021,16(14):2077—2081.
- [2] 田依冰,李中玉,温艳东,等. 胃癌前病变与“脾主卫”关系探讨[J]. 山东中医药大学学报,2024,48(1):37—40.
- [3] 柴争妍,彭新,杨琦帆,等. 丹参及其药对的研究进展[J/OL]. 安徽中医药大学学报,2024:e1—e8. 2024-10-24 [2025-07-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1324.R.20241023.1157.002.html>.
- [4] 傅永升,王卫国,张城铭. 丹参活性成分抗膝关节炎的药理研究进展[J]. 中药新药与临床药理,2024,35(2):299—306.
- [5] 闫巧,崔方,李文,等. 党参低聚糖通过抑制 PI3K/AKT/HIF-1 α 通路改善胃癌前病变大鼠胃黏膜损伤[J]. 中药药理与临床,2024,40(3):49—59.
- [6] 南亚强,陶计委,周杰,等. 丹酚酸 B 对帕金森病小鼠肠功能紊乱的保护作用及机制研究[J]. 中国免疫学杂志,2024,40(1):103—109.
- [7] 顾鹏,陶维雄,彭伟,等. IL-37 调控 *miR-106b-5p*/PTEN 抑制肾细胞癌细胞生物学行为[J]. 中国免疫学杂志,2023,39(8):1694—1699.
- [8] QING X U, YANG W, ZHONGYU L I, et al. Therapeutic mechanisms of integrated traditional Chinese and conventional medicine underlying its treatment of precancerous lesions of gastric cancer[J]. *J Tradit Chin Med*,2022,42(6):1023—1028.
- [9] DENG Y Q, GAO M, LU D, et al. Compound-composed Chinese medicine of Huachansu triggers apoptosis of gastric cancer cells through increase of reactive oxygen species levels and suppression of proteasome activities[J/OL]. *Phytomedicine*,2024,123:e155169. 2023-10-28 [2024-11-13]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37992493/>.
- [10] 姚希,黄轶,李响生,等. 丹酚酸 B 通过激活 PI3K/AKT 通路促进人牙龈间充质干细胞增殖、迁移和成骨分化[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2021,37(9):815—820.
- [11] SHAO Y, ZHOU F, HE D, et al. Overexpression of CXCR7 promotes mesenchymal stem cells to repair phosgene-induced acute lung injury in rats[J/OL]. *Biomed Pharmacother*,2019,109:e1233—e1239. 2018-11-07 [2024-11-13]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30551373/>.
- [12] GUO S, CHEN J, YANG Y, et al. Electroacupuncture-modulated *miR-106b-5p* expression enhances autophagy by targeting beclin-1 to promote motor function recovery after spinal cord injury in rats[J]. *Neurospine*,2023,20(3):1011—1027.
- [13] ZHANG XY, ZHUANG HW, WANG J, et al. Long noncoding RNA CA3-AS1 suppresses gastric cancer migration and invasion by sponging *miR-93-5p* and targeting BTG3[J]. *Gene Ther*,2022,29(9):566—574.
- [14] 张茂福,李欣钰,沈雁云等. 中医药干预胃癌前病变相关信号通路的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2025,31(4):297—306.
- [15] 赵焕,李志飞,任永静,等. 苦参抗胃癌和逆转耐药作用机制进展[J]. 中国医学前沿杂志(电子版),2024,(10):67—75.

(收稿日期 2024-12-20)