

调中化湿汤通过p62信号通路恢复内质网自噬对胃食管反流病的改善作用机制^Δ

滕泽众^{1*}, 陈 南¹, 王宇青¹, 罗佐媚¹, 陈广文², 黎丽群², 刘礼剑², 赵雪苹³, 杨成宁^{2#} (1. 广西中医药大学研究生院, 南宁 530023; 2. 广西中医药大学第一附属医院脾胃病科, 南宁 530023; 3. 广西中医药大学第一附属医院治未病中心, 南宁 530023)

中图分类号 R969;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)19-2516-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.19.06



摘要 **目的** 探讨调中化湿汤通过p62信号通路调控大鼠食管Cajal间质细胞(ICC)内质网自噬,从而改善胃食管反流病(GERD)的分子机制。**方法** 通过弱酸灌胃法及饮食不节法构建大鼠GERD模型后,随机分为模型组、西药组[莫沙必利1.56 mg/(kg·d)、兰索拉唑3.125 mg/(kg·d)]及调中化湿汤低、中、高剂量[4.713、9.425、18.85 g/(kg·d)]组,另设空白组,每组8只。各组大鼠每日灌胃相应药液或生理盐水2次,连续14 d。干预期间,观察大鼠毛发、精神状态、饮水量、排便等一般情况。末次干预后,观察大鼠食管组织病理变化和ICC超微结构,检测食管组织中p62、自噬相关蛋白8(ATG8)、200 kDa FAK家族激酶相互作用蛋白(FIP200)、Unc-51样自噬激活激酶1(ULK1)蛋白相对表达量和阳性表达水平。**结果** 与空白组比较,模型组大鼠精神萎靡,食管基底层增厚、固有层乳头延长并伴炎症细胞浸润,内质网显著扩张呈圆泡状囊池,伴核糖体脱落,并见少量自噬小体积聚;p62、ATG8、FIP200、ULK1蛋白相对表达量和阳性表达水平均显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,调中化湿汤中、高剂量组大鼠上述病理损伤均有不同程度改善,受损内质网结构得以修复,未见自噬小体积聚,其中调中化湿汤中剂量组大鼠食管组织中p62、ATG8、FIP200、ULK1蛋白相对表达量和阳性表达水平均显著升高($P<0.05$)。**结论** 调中化湿汤可改善GERD大鼠食管黏膜损伤,其作用机制可能与激活p62信号通路、修复ICC内质网结构形态及自噬能力有关。

关键词 调中化湿汤;胃食管反流病;内质网自噬;p62信号通路;Cajal间质细胞

Mechanism of Tiaozhong huashi decoction in improving gastroesophageal reflux disease by restoring endoplasmic reticulum autophagy through p62 signaling pathway

TENG Zezhong¹, CHEN Nan¹, WANG Yuqing¹, LUO Zuomei¹, CHEN Guangwen², LI Liquan², LIU Lijian², ZHAO Xueping³, YANG Chengning² (1. School of Graduate, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China; 2. Dept. of Spleen and Stomach Disease, The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China; 3. Preventive Treatment Center, The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the molecular mechanism of Tiaozhong huashi decoction in improving gastroesophageal reflux disease (GERD) by regulating endoplasmic reticulum autophagy in rat esophageal interstitial cells of Cajal (ICC) through p62 signaling pathway. **METHODS** After establishing a rat GERD model via the weak acid intragastric administration and irregular diet, the rats were randomly divided into model group, western medicine group [1.56 mg/(kg·d) of mosapride, 3.125 mg/(kg·d) of lansoprazole] and low-, medium- and high-dose Tiaozhong huashi decoction [4.713, 9.425, 18.85 g/(kg·d)] groups. A blank group was also set up, with 8 rats in each group. The rats in each group were intragastrically administered with corresponding liquid or normal saline twice a day for 14 days. During the intervention period, the general conditions of rats' hair, spirit, diet and defecation were observed. After the last gavage, the pathological changes of esophageal tissue and the ultrastructure of ICC were observed. The relative expression and positive expression levels of p62, autophagy-related protein 8 (ATG8), 200 kDa FAK family kinase-interacting protein (FIP200) and Unc-51 like autophagy activating kinase 1 (ULK1) in esophageal tissue were detected. **RESULTS** Compared with the blank group, rats in the model group exhibited listlessness; thickening of the esophageal basal layer, elongation of lamina propria papillae with inflammatory cell infiltration; markedly dilated endoplasmic reticulum appearing as round vacuolar cisternae with ribosome detachment; and a small number of accumulated autophagosomes. The relative expression and positive expression levels of p62, ATG8, FIP200, and ULK1 were

^Δ 基金项目 国家自然科学基金项目(No.82460915);广西自然科学基金项目(No.2024GXNSFAA010153)

* 第一作者 硕士研究生。研究方向:中医脾胃病系防治。
E-mail:908724948@qq.com

通信作者 副主任医师,硕士生导师,硕士。研究方向:中医脾胃病系防治。E-mail:ychn1006@163.com

significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, the above pathological injuries in the medium- and high-dose Tiaozhong huashi decoction groups had all improved to varying degrees; the damaged endoplasmic reticulum structure was repaired, and no autophagosome accumulation was observed. In particular, the relative expression levels and positive expression levels of p62, ATG8, FIP200, and ULK1 in esophageal tissue of rats in the medium-dose Tiaozhong huashi decoction group were significantly increased ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Tiaozhong huashi decoction ameliorated esophageal mucosal injury in GERD rats, and its mechanism was possibly associated with activation of the p62 signaling pathway and restoration of the endoplasmic reticulum structure, morphology, and autophagic capacity of ICC.

KEYWORDS Tiaozhong huashi decoction; gastroesophageal reflux disease; endoplasmic reticulum autophagy; p62 signaling pathway; interstitial cells of Cajal

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是一种常见的消化系统疾病,临床以反酸、烧心为主要表现^[1]。近年来,亚太地区GERD的患病率已升至15%,其迁延难愈、反复发作的特点极大地降低了患者的生活质量,并加重了其经济及心理负担^[2]。目前,GERD的临床治疗方案仍以质子泵抑制剂为主,但长期使用会引起肠道菌群失调、骨质疏松等多种副作用^[3]。

中国传统医学中,GERD归属于“食管瘕”“吐酸病”等脾胃病系范畴,其核心病机便是胃失和降、胃气上逆^[4]。调中化湿汤为本课题组以中医理论为基础,参照李东垣《脾胃论》调中益气汤与朱丹溪《丹溪心法》左金丸,经加减化裁后所得。本课题组前期基础实验与临床研究证实,该方能够有效修复GERD所致的食管黏膜损伤,减轻局部炎症细胞浸润^[5],但其具体作用机制尚不明确。

Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)广泛存在于胃肠道之中。作为维持胃食管正常运动功能的“特殊起搏细胞”,其功能完整性对胃肠动力稳态至关重要。而自噬是细胞借助溶酶体降解胞内蛋白与细胞器、维持内环境稳态的保护性机制^[6]。生理状态下,自噬对ICC功能维持至关重要:其可清除受损细胞器与错误折叠蛋白,避免毒性物质蓄积损伤细胞;还能在营养匮乏、应激等条件下降解胞内组分,补充代谢能量与物质,维持细胞存活及生理功能稳定^[7]。内质网作为真核细胞中最大的膜细胞器,是蛋白质、脂质、类固醇等物质合成与修饰的主要场所;而内质网自噬作为清除受损内质网的主要方式,在维持内质网稳态及细胞正常功能方面发挥重要作用^[8]。p62作为内质网自噬核心受体,通过结合200 kDa FAK家族激酶相互作用蛋白(200 kDa FAK family kinase-interacting protein, FIP200)激活Unc-51样自噬激活激酶1(Unc-51 like autophagy activating kinase 1, ULK1)复合物、招募自噬相关蛋白8(autophagy-related protein 8, ATG8),特异性识别并介导受损内质网降解;p62-FIP200/ULK1-ATG8信号通路介导内质网选择性自噬有序启动,实现细胞器动态重塑与异常物质清除,是细胞维持结构完整、保障内部质量稳定的重要调控机制^[9]。本课题组前期临床研究证实,调中化湿汤治

疗难治性GERD并伴焦虑、抑郁患者的疗效确切,可有效改善患者临床症状、修复食管黏膜病理损伤^[10-11];此外,本课题组通过实验研究证实,GERD发病与内质网自噬不足导致的ICC功能缺陷密切相关^[12-13]。基于此,本研究拟构建大鼠GERD模型,从内质网超微结构、p62信号通路相关蛋白表达等多个维度,探讨调中化湿汤改善GERD的具体作用机制,以期为中医药精准防治GERD提供实验依据与理论参考。

1 材料

1.1 主要仪器

KD-TS3S1型组织脱水机购于浙江省金华市科迪仪器设备有限公司;HistoCore Arcadia型石蜡包埋机、HistoCore BIOCUT型切片机、HGZF-101-1型电热恒温鼓风干燥箱均购于上海跃进医疗器械有限公司;DHP-9054型电热恒温培养箱购于山东博科生物产业有限公司;CX43型显微镜购于日本Olympus公司;JEM-1400型透射电镜购于日本电子株式会社;EMUC7型超薄切片机购于德国Leica公司。

1.2 主要药品与试剂

黄芪、党参、木香、苍术、炙甘草、茯苓、升麻、白豆蔻、柴胡、桑枝、姜半夏、姜黄、陈皮、吴茱萸、黄连饮片(批号分别为20240701、20240701、20240702、24082702、2407035、20240601、20240401、20240601、20240501、240602603、D2404044、24080601、20240601、240707、20240401)均购于广西仙荣中药有限公司,经广西中医药大学第一附属医院药学中心主任药师曾超鉴定均为真品。

枸橼酸莫沙必利片(批号240405,规格5 mg)购于广东安诺药业股份有限公司;兰索拉唑肠溶片(批号20240509,规格15 mg)购于郑州瑞康制药有限公司;牛血清白蛋白V(货号A8020)购于北京索莱宝科技有限公司;DAB显色试剂盒、中性树脂胶(货号分别为CW0125M、CW0136)均购于康为世纪生物科技股份有限公司;2.5%戊二醛、1%锇酸、丙酮、环氧树脂、3%醋酸铀-枸橼酸铅(货号分别为18427、18456、10000418、18010、22400)均购于国药集团化学试剂有限公司;兔抗ATG8、FIP200抗体(货号分别为DF10158、DF12022)均

购于江苏亲科生物研究中心有限公司;兔抗ULK1抗体(货号R381887)购于成都正能生物技术有限责任公司;兔抗p62、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G(H+L)二抗(货号分别为GB15239、GB15004、GB23303)均购于武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.3 实验动物

健康SPF级SD大鼠52只,雌雄各半,体重200~220 g,购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为:SCXK(湘)2021-0002]。所有大鼠均饲养于广西中医药大学动物实验中心,饲养条件为:温度20~26℃,相对湿度40%~70%,12 h明/12 h暗交替。本实验方案经广西中医药大学实验动物福利伦理委员会批准,批准编号为DW20240507-127。

2 方法

2.1 调中化湿汤的制备

按调中化湿汤处方称取黄芪30 g、党参15 g、木香10 g、苍术15 g、炙甘草10 g、茯苓30 g、升麻10 g、柴胡10 g、桑枝15 g、姜半夏15 g、姜黄15 g、陈皮10 g、吴茱萸6 g、黄连5 g,加10倍量水浸泡30 min后,用自动煮药机常压下煎煮,头煎30 min,于头煎结束前5 min加入白豆蔻15 g;二煎20 min,过滤收集药液,减压浓缩药液,得到生药质量浓度为1.885 g/mL的高剂量药液;灭菌后分装,于4℃下保存。临用前,取高剂量药液加热摇匀后,用蒸馏水分别稀释2倍和4倍,即得中剂量(生药质量浓度0.942 5 g/mL)和低剂量(生药质量浓度0.471 3 g/mL)药液。

2.2 GERD模型构建

依据相关文献^[14-15]及前期研究,通过弱酸灌胃法及饮食不节法构建GERD模型,具体操作如下:第一阶段每只大鼠隔日灌胃0.1%碘乙酰胺蔗糖溶液(0.1 g碘乙酰胺溶于100 mL 50%蔗糖溶液中),剂量为每只0.3 mL,连续干预30 d;第二阶段改用pH5.0的胃蛋白酶溶液(0.1 g胃蛋白酶溶于100 mL生理盐水中,加0.5 mL盐酸调节溶液pH至5.0)隔日灌胃,剂量为每只0.6 mL,连续干预30 d;造模期间辅以饮食不节法(无规律、高脂高糖等)模拟临床GERD患者的胃动力异常状态。

2.3 分组与给药

本研究选取52只SD大鼠,在造模前称定体重,并按实际数值计算给药剂量。选取10只大鼠作为空白组,仅接受常规饲养及隔日灌胃等体积生理盐水;其余42只大鼠作为造模组,按“2.2”项下方法构建GERD模型。于末次造模灌胃后12 h,在空白组与造模组中分别随机选取2只大鼠进行模型验证:采用苏木精-伊红(HE)染色观察大鼠下段食管黏膜有无病理性损伤,若存在基层细胞层明显增厚、固有层乳头延长、大量炎症细胞浸润,即为造模成功^[16]。将造模成功的40只SD大鼠按随机数字表

法分为模型组、西药组及调中化湿汤低、中、高剂量组,每组8只。另外,空白组剩余大鼠8只。大鼠给药量根据动物与人体每公斤体重剂量折算系数进行换算,调中化湿汤低、中、高剂量组分别灌胃4.713、9.425、18.85 g/(kg·d)药液,西药组灌胃西药混悬液[按临床常用剂量换算后给予枸橼酸莫沙必利片1.56 mg/(kg·d)、兰索拉唑肠溶片3.125 mg/(kg·d),模拟临床治疗GERD时同时兼顾抑酸与促进胃肠动力],模型组灌胃等体积生理盐水,每日给药2次,连续14 d。

2.4 大鼠一般情况观察

造模及干预期间观察各组大鼠毛发、精神状态、饮水量、排便等一般情况。

2.5 样本采集

于末次干预后,所有大鼠禁食不禁水12 h,以2.0%异氟烷(氧气流量2 L/min)雾化吸入麻醉,随后采用放血法处死。无菌条件下取大鼠食管下段组织,一部分使用10%中性甲醛固定,常规石蜡包埋,用于HE染色及免疫组化观察;一部分在4℃下切成约2 mm³小块,使用2.5%戊二醛固定,用于透射电镜观察;一部分使用生理盐水冲洗后立刻投入液氮中速冻,随后转移至-80℃冰箱中保存,用于蛋白检测。

2.6 大鼠食管组织病理变化观察

采用HE染色观察食管组织病理变化。取“2.5”项下石蜡包埋的食管组织,切片(厚3 μm),经烤片、脱蜡及水化处理后,浸入苏木精染液中染色5 min;随后用1%盐酸乙醇分化,最后转入伊红染液中染色5 min,脱水后封片^[17],使用显微镜观察食管组织病理变化。

2.7 大鼠食管ICC超微结构观察

采用透射电镜观察食管ICC超微结构。取“2.5”项下2.5%戊二醛固定的食管组织,使用锇酸固定2 h,梯度乙醇脱水,树脂包埋,制备超薄切片,以醋酸铀染色15 min,枸橼酸铅染色5 min,晾干后于透射电镜下观察内质网扩张、圆泡状囊泡等ICC超微结构变化并拍照,用以判断内质网自噬的变化。

2.8 大鼠食管组织中p62信号通路相关蛋白表达检测

2.8.1 Western blot法检测

取“2.5”项下冻存的食管组织约50 mg,加入1 mL裂解液提取总蛋白,采用BCA法测定蛋白浓度。按4:1体积比向蛋白溶液中加入5×还原型蛋白上样缓冲液,95℃变性10 min,冷却至室温后,取蛋白样品,电泳分离后转膜,以无蛋白快速封闭液室温摇床封闭10 min;加入p62、ATG8、FIP200、ULK1、GAPDH一抗(稀释比例分别为1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:10 000),4℃孵育过夜;加入二抗(稀释比例为1:3 000),室温孵育1 h;ECL化学发光法显影。采用ImageJ软件分析条带灰度值,以目的蛋白与内参蛋白(GAPDH)的条带灰度值比值表示目的蛋白的相对表达量。

2.8.2 免疫组化法检测

取“2.5”项下石蜡包埋的食管组织,经切片、脱蜡、烤片后,用3%双氧水孵育10 min以阻断内源性过氧化物酶,5%牛血清白蛋白封闭非特异性位点;加入p62、ATG8、FIP200、ULK1一抗(稀释比例分别为1:100、1:100、1:100、1:100),4℃孵育过夜;加入二抗(稀释比例为1:300),室温孵育30 min。光镜下采集图像,采用Image-Pro Plus 7软件对食管肌肉层阳性染色进行定量分析,以阳性光密度值/组织待测面积表示蛋白阳性表达水平。

2.9 统计学分析

采用GraphPad Prism 9.0软件进行统计分析。计量资料符合正态分布且方差齐,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用Dunnett-*t*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 调中化湿汤对GERD大鼠一般情况的影响

空白组大鼠毛发顺滑且富有光泽,对外界刺激反应迅捷,自主活动协调自如,摄食、饮水节律正常,粪尿排泄无明显异常。模型组大鼠出现GERD典型病理表现:毛发枯槁失润,可见明显珠状结节;对外界刺激反应迟钝,神情萎靡,自主活动显著减少;口角常滞留反流的胃内容物;粪便燥结如栗。与模型组比较,各给药组大鼠毛发、精神、排便状态均有不同程度改善,摄食、饮水节律恢复正常。

3.2 调中化湿汤对GERD大鼠食管组织病理变化的影响

空白组大鼠食管各层结构完整,基底层厚度、固有层乳头长度以及炎症细胞浸润均处于正常范围。模型组大鼠食管组织结构紊乱,基底层异常增厚,固有层乳头明显延长,同时伴有炎症细胞浸润。与模型组比较,各给药组大鼠食管组织结构均有不同程度改善,基底层、固有层形态逐步趋向正常,炎症细胞浸润得到缓解,其中以调中化湿汤中剂量组修复效果最佳。结果见图1。

3.3 调中化湿汤对GERD大鼠食管ICC超微结构变化的影响

空白组大鼠食管ICC粗面内质网呈平行双层膜样规整排列,表面核糖体结合致密,未见自噬溶酶体,细胞核及线粒体结构正常。模型组大鼠食管ICC粗面内质网显著扩张并呈圆泡状囊池改变,伴核糖体广泛脱落,可见少量自噬小体,细胞核形态不规则且表面可见明显凹陷,提示GERD状态下食管ICC内质网结构发生严重损伤,内质网自噬过程受阻。与模型组比较,西药组大鼠食管ICC粗面内质网囊膜间距仅轻度增大,仍可见核糖体脱落,未见自噬小体及自噬溶酶体相关结构;调中

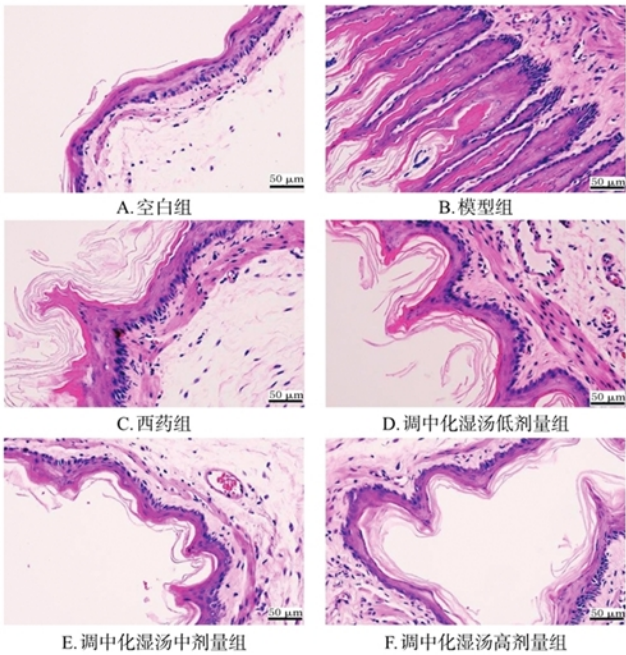
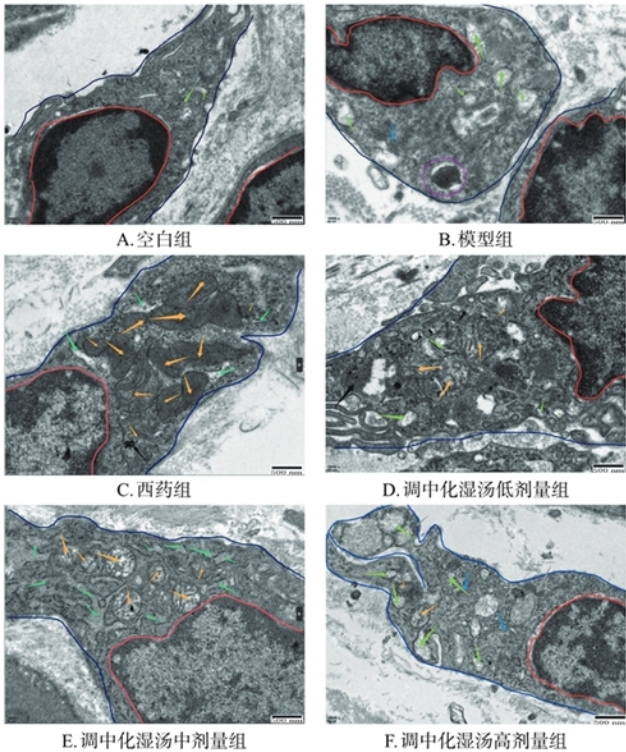


图1 各组大鼠食管组织病理染色图(HE染色)

化湿汤低、高剂量组大鼠食管ICC粗面内质网仅呈局部轻度扩张、囊池局部增宽,伴少量核糖体脱落;调中化湿汤中剂量组大鼠食管ICC粗面内质网膜结构无明显异常,未见自噬小体与自噬溶酶体结构,提示调中化湿汤可修复食管ICC内质网自噬功能,清除受损内质网,恢复ICC正常功能。结果见图2。



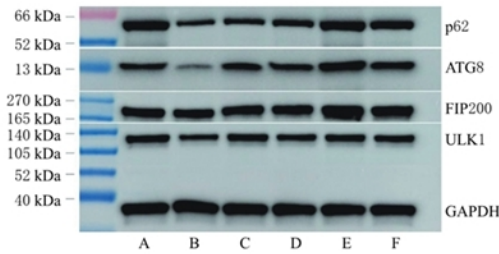
注:红色线条区域为细胞核;蓝色线条区域为细胞膜;紫色线条区域为自噬体;灰色箭头所指为溶酶体;橙色箭头所指为线粒体;绿色箭头所指为内质网;蓝色箭头所指为高尔基体。

图2 各组大鼠食管ICC超微结构的透射电镜图

3.4 调中化湿汤对GERD大鼠食管组织中p62信号通路相关蛋白表达的影响

3.4.1 蛋白相对表达量

与空白组比较,模型组大鼠食管组织中p62、ATG8、FIP200、ULK1蛋白相对表达量均显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,调中化湿汤中、高剂量组大鼠食管组织中p62、ATG8、FIP200、ULK1(调中化湿汤高剂量组除外)蛋白相对表达量均显著升高($P<0.05$)。与西药组比较,调中化湿汤中、高剂量组大鼠食管组织中p62、ATG8(调中化湿汤高剂量组除外)、FIP200蛋白相对表达量均显著升高($P<0.05$)。结果见图3、表1。



A:空白组;B:模型组;C:西药组;D:调中化湿汤低剂量组;E:调中化湿汤中剂量组;F:调中化湿汤高剂量组。

图3 各组大鼠食管组织中p62信号通路相关蛋白表达的电泳图

表1 各组大鼠食管组织中p62信号通路相关蛋白的相对表达量比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	p62/GAPDH	ATG8/GAPDH	FIP200/GAPDH	ULK1/GAPDH
空白组	0.90±0.02	0.58±0.03	0.84±0.03	0.65±0.02
模型组	0.40±0.01 ^a	0.20±0.03 ^a	0.68±0.07 ^a	0.45±0.04 ^a
西药组	0.47±0.01	0.53±0.04	0.65±0.02	0.65±0.02 ^b
调中化湿汤低剂量组	0.57±0.03	0.58±0.03	0.74±0.08	0.54±0.02 ^c
调中化湿汤中剂量组	0.89±0.02 ^{bc}	0.83±0.02 ^{bc}	1.12±0.14 ^{bc}	0.65±0.03 ^b
调中化湿汤高剂量组	0.73±0.10 ^{bc}	0.66±0.07 ^b	0.99±0.14 ^{bc}	0.58±0.01
F	189.30	238.30	32.37	92.65
P	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1

a:与空白组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与西药组比较, $P<0.05$ 。

3.4.2 蛋白阳性表达水平

与空白组比较,模型组大鼠食管组织中p62、ATG8、FIP200、ULK1蛋白阳性表达水平均显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,西药组和调中化湿汤低、中、高剂量组大鼠食管组织中p62、ATG8(西药组和调中化湿汤低剂量组除外)、FIP200(调中化湿汤低、高剂量组除外)、ULK1蛋白阳性表达水平均显著升高($P<0.05$)。与西药组比较,调中化湿汤中、高剂量组大鼠食管组织中p62、ATG8、FIP200(调中化湿汤高剂量组除外)蛋白阳性表达水平均显著升高($P<0.05$)。结果见图4(ATG8、FIP200、ULK1蛋白阳性表达的免疫组化图略)、表2。

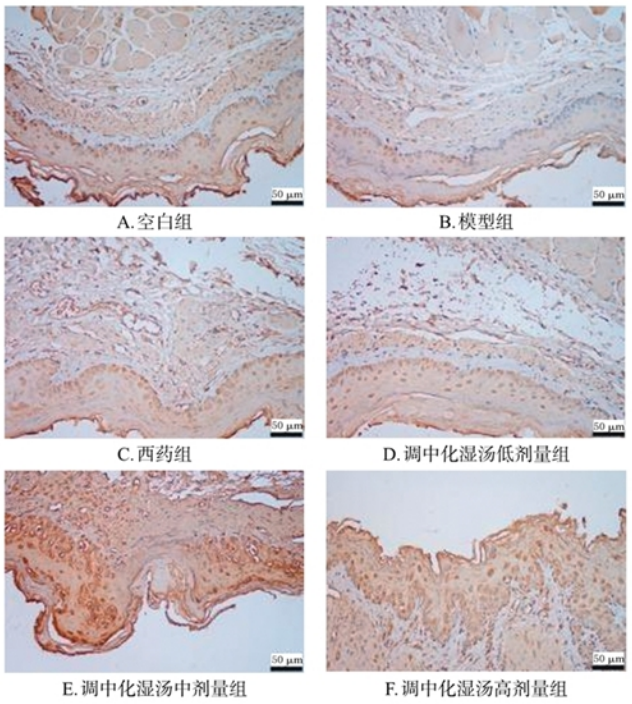


图4 各组大鼠食管组织中p62蛋白阳性表达的免疫组化图

表2 各组大鼠食管组织中p62信号通路相关蛋白阳性表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	p62	ATG8	FIP200	ULK1
空白组	0.48±0.04	0.05±0.01	1.27±0.36	1.24±0.37
模型组	0.24±0.02 ^a	0.03±0.01 ^a	0.77±0.27 ^a	0.67±0.15 ^a
西药组	0.30±0.02 ^b	0.05±0.01	1.22±0.12 ^b	1.36±0.17 ^b
调中化湿汤低剂量组	0.33±0.01 ^b	0.05±0.02	0.86±0.14 ^c	0.91±0.25 ^{bc}
调中化湿汤中剂量组	0.47±0.01 ^{bc}	0.08±0.01 ^{bc}	1.42±0.10 ^{bc}	1.42±0.18 ^b
调中化湿汤高剂量组	0.35±0.02 ^{bc}	0.06±0.01 ^{bc}	0.96±0.36	1.25±0.13 ^b
F	184.30	17.61	8.44	13.50
P	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1

a:与空白组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$;c:与西药组比较, $P<0.05$ 。

4 讨论

中医将GERD归于“食管瘕”“吐酸病”等脾胃病系范畴,其核心病机为中焦气机失常^[18]。《素问·经脉别论》言:“饮入于胃,游溢精气,上输于脾,脾气散精,上归于肺,通调水道,下输膀胱”,此段原文阐释了脾胃升清降浊的生理功能。而中焦气机失衡日久,可累及心肾、肝肺,扰动全身气机,易滋生以“阴火”为核心的火热之证^[19]。基于此,本课题组以调中益气汤合左金丸加减化裁,拟定调中化湿汤:方中黄芪、党参大补脾胃之气;茯苓、苍术健脾燥湿;柴胡、升麻条达气机;姜半夏、陈皮、木香、白豆蔻理气和胃、降逆止呕;黄连、吴茱萸共奏“辛开苦降”之效;桑枝、姜黄疏通经络;炙甘草调和诸药;全方升、降、清、补并用,共奏调畅中焦气机、清散阴火之功。前期临床研究证实,调中化湿汤治疗难治性GERD及GERD伴焦虑抑郁患者疗效确切^[10-11]。

本研究结果显示,GERD大鼠除出现一般状态改变及食管黏膜病理损伤外,食管ICC超微结构亦发生病理性质改变——粗面内质网显著扩张并囊泡化,核糖体脱落,提示存在内质网应激与结构损伤;且仅可见少量自噬小体,证实内质网自噬不足直接参与GERD的发病过程。经调中化湿汤干预后,大鼠一般情况及食管黏膜损伤明显改善,其中以中剂量组效果最为明显——扩张的内质网趋于恢复,未见自噬小体积聚,表明该方可有效修复受损的内质网结构。

p62作为一种多功能自噬受体,在选择性内质网自噬过程中发挥关键作用:其可识别并结合泛素化修饰的受损内质网片段,通过与ATG8结合,将待降解的内质网组分递送至自噬体;同时参与募集FIP200/ULK1复合物,启动自噬体形成,是衔接内质网损伤感知与自噬降解的重要分子枢纽^[9]。在分子机制层面,模型组大鼠p62、FIP200、ULK1、ATG8蛋白表达均显著下调,与电镜观察到的自噬启动障碍结果一致;调中化湿汤干预后可显著上调上述蛋白表达,提示该方可通过激活p62信号通路,重新招募FIP200/ULK1复合物与ATG8,重启受损内质网的选择性自噬、恢复ICC稳态。

综上所述,调中化湿汤可改善GERD大鼠的整体状态,其作用机制可能与激活p62信号通路、修复食管黏膜及ICC超微结构、恢复ICC内质网自噬能力相关。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Katz P O, Dunbar K B, Schnoll-Sussman F H, et al. ACG clinical guideline for the diagnosis and management of gastroesophageal reflux disease[J]. *Am J Gastroenterol*, 2022,117(1):27-56.

[2] 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 胃食管反流病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):217-229.

[3] Koyyada A. Long-term use of proton pump inhibitors as a risk factor for various adverse manifestations[J]. *Therapies*, 2021,76(1):13-21.

[4] 王萍,王凤云,蓝宇,等. 中医药临床优势病种探讨:胃食管反流病[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023,29(12):199-208.

[5] 杨成宁,王宇青,黎丽群,等. 调中化湿汤调控ACSL4/LPCAT3/POR通路对GERD大鼠食管细胞铁死亡的效应机制[J]. *时珍国医国药*, 2024,35(6):1328-1332.

[6] Saha S, Panigrahi D P, Patil S, et al. Autophagy in health and disease: a comprehensive review[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018,104:485-495.

[7] Levine B, Kroemer G. Autophagy in aging, disease and death: the true identity of a cell death impostor[J]. *Cell Death Differ*, 2009,16(1):1-2.

[8] Li J H, Gao E F, Xu C G, et al. ER-phagy and microbial infection[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021,9:771353.

[9] Mochida K, Nakatogawa H. ER-phagy: selective autophagy of the endoplasmic reticulum[J]. *EMBO Rep*, 2022,23(8):e55192.

[10] 刘礼剑,杨成宁,陈广文,等. 调中化湿汤治疗难治性胃食管反流病的临床疗效观察[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2019,27(12):910-915.

[11] 杨成宁,陈广文,黄晓燕,等. 调中化湿汤治疗胃食管反流病伴焦虑抑郁患者的疗效及对血清MTL、5-HT、DA的影响[J]. *时珍国医国药*, 2021,32(4):899-902.

[12] 谢胜,刘洪武,黎丽群,等. 背俞指针疗法对GERD大鼠食管下端组织的ICC内质网AMPK/mTOR自噬通路的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2021,39(2):4-8,259-260.

[13] 谭金晶,黎丽群,侯秋科,等. 背俞指针疗法对GERD大鼠胃起搏区Cajal间质细胞及SCF表达的影响[J]. *时珍国医国药*, 2021,32(6):1501-1504.

[14] 谢胜,韩冰洁,黄茂光,等. 基于脑肠轴探讨背俞指针疗法干预胃食管反流病大鼠的机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2025,36(14):2780-2786.

[15] 王强,王斌,张伟,等. 导尿管气囊扩张法构建胃食管反流病动物模型方法的改进[J]. *中华胃食管反流病电子杂志*, 2015,2(4):230-232[2026-08-07]. <http://doi.org/10.3877/cma.j.issn.1674-6899.2015.04.011>.

[16] 刘礼剑,梁凤萍,韦金秀,等. 基于AMPK/mTOR信号通路探讨调中化湿汤对GERD大鼠食管ICC自噬的影响[J]. *时珍国医国药*, 2024,35(12):2741-2747.

[17] 杨成宁,陈南,王宇青,等. 基于JAK2/STAT3信号通路探讨补坎益离汤改善GERD大鼠食管线粒体氧化损伤的机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2024,35(8):1818-1823.

[18] 中华中医药学会脾胃病分会. 胃食管反流病中医诊疗专家共识:2023[J]. *中医杂志*, 2023,64(18):1935-1944.

[19] 刘礼剑,谢胜,黄晓燕,等. 从虚火论治胃食管反流病[J]. *江西中医药*, 2019,50(6):18-20.

(收稿日期:2026-04-02 修回日期:2026-09-15)

(本文责编:邹丽娟)