

· 实验研究 ·

安胃汤干预肝郁脾虚证胃溃疡大鼠胃窦组织蛋白质组学研究

朱梓铭¹ 唐友明² 吴德坤² 陈夏² 韩叶芬² 牛豫杰² 郑景辉²¹广西中医药大学(南宁 530001);²广西中医药大学附属瑞康医院(南宁 530011)

【摘要】目的 研究肝郁脾虚证胃溃疡大鼠经安胃汤治疗后胃窦组织蛋白质组学的变化,探讨肝郁脾虚证胃溃疡发病及安胃汤可能的作用机制。**方法** 将45只大鼠随机分为正常组、模型组和安胃汤组,每组各15只,以多因素复合模拟中医病因并结合乙酸法建立肝郁脾虚证胃溃疡大鼠模型,造模成功后安胃汤组大鼠以成人等效剂量的6.17倍灌服,正常组与模型组大鼠予等量生理盐水,21 d后处死大鼠,取大鼠的胃窦组织行病理检查;采用大鼠胃窦组织样本通过同位素标记相对和绝对定量(iTRAQ)方法分析得到差异蛋白,探索差异蛋白表达。**结果** 共鉴定出90种差异蛋白,经生物信息学分析共显著富集出40个生物学过程,10个细胞组分,9个分子功能,62条通路,其中,本次结果预测出的PI3K-AKT通路及其下游信号通路与安胃汤前期研究机制存在部分切合。**结论** 安胃汤对肝郁脾虚证胃溃疡大鼠具有明显的治疗作用,其机制可能通过调控差异表达的蛋白及信号通路发挥作用,本次实验为后续进一步探究提供了理论基础。

【关键词】 安胃汤; 胃溃疡; 肝郁脾虚; 蛋白质组学; 生物信息学

A proteomic research in gastric ulcer rats with syndrome of liver constraint and spleen deficiency treated by Anwei decoction ZHU Ziming*, TANG Youming, WU Dekun, CHEN Xia, HAN Yefen, NIU Yujie, ZHENG Jinghui. *Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China
Corresponding author: TANG Youming E-mail: tang530011@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the mechanism of Anwei decoction (AWD) in treating gastric ulcer rats with liver depression and spleen deficiency syndrome based on proteomics and bioinformatics study. **Methods** Forty-five rats were randomly divided into the normal group, model group and AWD group, with 15 rats in each group. And the method of multi-factor compositing analog the TCM etiology and acetic acid injection were used to set up a rat model of liver depression and spleen deficiency syndrome. After that, rats in the AWD group were fed with 6.17 times of the adult equivalent dose, while rats in the normal group and in the model group were given the same amount of physiological saline. 21 days later, rats were sacrificed and the antral tissue of rats was used for pathological examination. Finally, differentially expressed proteins in rat gastric antrum tissue were identified by isobaric tags for the relative and the absolute quantification (iTRAQ) method. **Results** A total of 90 differentially expressed proteins were identified, and 40 were involved in biological processes, 10 were involved in cell components, 9 were involved in molecular functions, and 62 pathways were significantly enriched by bioinformatics analysis. In addition, the PI3K-AKT pathway and its downstream signaling pathways were partly consistent with the previous researches of AWD. **Conclusions** AWD has obvious therapeutic effect on gastric ulcer rats with liver depression and spleen deficiency syndrome. The mechanism may be associated with the regulation of differentially expressed proteins and signaling pathways. This study provides a theoretical basis for further investigation.

【Key words】 Anwei decoction; gastric ulcer; liver constraint and spleen deficiency; proteomics; bioinformatics

胃溃疡,属于中医腹痛、胃脘痛、痞满的范畴,其中气郁伤肝,肝失条达,横逆犯胃为主要病机的

肝郁脾虚型胃溃疡是其中常见的证型。安胃汤是在全国名老中医林沛湘教授治疗慢性胃病的验方基础上组方而成,方中白芍柔肝健脾止痛,配以柴胡、乌药疏肝解郁止痛,合半夏入胃,更能和胃降逆,燥湿开结,通降气机;薏苡仁健脾除湿;少佐黄连泻火解毒,干姜温中逐寒,寒热同施,辛开苦降;配合百合、炙甘草,则养津护胃,酸甘化阴以生津

doi: 10.3969/j.issn.1006-5725.2018.21.011

基金项目:广西自然科学基金项目(编号:2014GXNSFAA118140)

通信作者:唐友明 E-mail: tang530011@163.com

液,临床疗效显著。但是,现阶段中医药治疗胃溃疡的研究仍存在研究深度不够,缺乏对指标间相互关联探索的问题^[1]。为此,本课题组采用蛋白质组学与生物信息学分析的手段,从机体、组织或细胞等不同层次的“整体”蛋白质活动的角度,揭示安胃汤治疗肝郁脾虚型胃溃疡大鼠的分子机制,力求更深入地探究中药多靶点在生物分子层面的作用与联系。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 Wistar 雄性大鼠 45 只,体质量 130~170 g。实验过程中对动物处置符合科学技术部关于发布《关于善待实验动物的指导性意见》(国科发财字[2006]398号)的要求。动物许可证号:SCXK(桂)2014-0002。

1.1.2 药物 安胃汤药物组成:半夏(*Pinellia ternata*) 13 g,黄连(*Coptis chinensis*) 5 g,干姜(*Zingiber officinale*) 5 g,乌药(*Lindera aggregata*) 7 g,丹参(*Salvia miltiorrhiza*) 15 g,百合(*Lilium brownii*) 20 g,白芍(*Paeonia lactiflora pall*) 20 g,薏苡仁(*Semen coicis*) 10 g,炙甘草(*Glycyrrhiza uralensis*) 5 g。其制剂制备由广西中医药大学附属瑞康医院中药制剂室提供。鉴定人为唐友明(主任医师,广西中医药大学附属瑞康医院)。

1.1.3 主要试剂 M-PER 蛋白提取试剂盒(批号 KGP2100 南京凯基生物有限公司),Bradford 蛋白浓度测定试剂盒(货号 WB013 西安赫特生物科技有限公司),蛋白分子量 Marker(批号 DM111-01 北京全式金生物有限公司),质谱级胰蛋白酶(P8101-22S 美国 Pierce),iTRAQ 4-plex 标记试剂盒及缓冲液(批号 4381557 美国 AB Sciex)。

1.1.4 主要仪器 Agilent 1100 series II 色谱分离系统(美国 Agilent),Tempo™ LC MALDI 高效液相色谱仪(美国 SCIEX),5800 Plus MALDI TOF/TOF 串联质谱分析仪(美国 SCIEX),Zorbax Bio-SCX Series II 强阳性离子交换柱(美国 Agilent),C18 spin column 除盐柱(The Nest Group 公司),Magic C18 AQ 反相柱(美国 Michrom Bioresources),Protein Pilot 2.0 软件(美国 SCIEX)。

1.2 方法

1.2.1 模型建立及切片制备

1.2.1.1 模型的建立及分组给药 将 45 只清洁型大鼠随机分为正常组、模型组和安胃汤组,每组 15 只,正常组每日上午 3 mL 生理盐水灌服,自由饮食,共 14 d;模型组与安胃汤组大鼠以多因素复合模拟中医病因并结合乙酸法建立模型^[2]:(1)每

日上午以每只 3 mL 灌服大黄制剂液;(2)每日上午以木夹夹大鼠尾中部每只 30 min;(3)每日下午将动物负重:于大鼠尾根部缠绕重量为该大鼠体质量 10% 的保险丝,放入水深 50 cm,水温 28 °C 的水槽中游泳,以力竭为度,即大鼠鼻尖没入水面 10 s。共 14 d。自由饮食;(4)第 15 天禁食,于禁食 24 h 后,水合氯醛麻醉下施行剖腹术,打开腹腔,暴露胃体,在富有腺体的部位注射 50% 的冰乙酸 0.05 mL,针头与注射部位呈 15°,回纳胃体,关闭腹腔。禁食,不禁水。造模成功后第 3 天开始给药治疗。安胃汤组大鼠以成人等效剂量的 6.17 倍灌服^[2]。正常组与模型组大鼠予等量生理盐水灌胃。给药 21 d 后,予以处死大鼠取胃窦组织。

1.2.1.2 样本病理切片制备 将胃窦组织经甲醛固定,逐级脱水、石蜡浸蜡包埋、连续切片和脱蜡,HE 染色,封片,进行组织形态学观察,作病理学诊断。

1.2.2 组织样本同位素标记相对和绝对定量(isobaric tags for relative and absolute quantification, iTRAQ)蛋白质组学检测

1.2.2.1 蛋白制备及蛋白浓度测定 在两组离心管中各加入 1 mg/mL BSA 蛋白标准溶液各 0、2.5、5、7.5、10、12.5、15 μL,然后再分别加入无离子水分别为 100、97.5、95、92.5、90、87.5、85 μL,混匀,配制成一系列不同浓度的 BSA 溶液。各管均加入 Bradford 工作液 1 mL,混匀,静置 3 min 后测定 A_{595} 值,重复 3 次,取其平均值。以 BSA 蛋白量 0~15 μL 为纵坐标,所测的相应 A_{595} 值的平均值为横坐标,绘制标准曲线。标本蛋白浓度测定:取适量的待测蛋白溶液,加实验用缓冲液至 100 μL,再加入 1 mL Bradford 工作液,静置 3 min 后测定 A_{595} 值,重复 3 次,取其平均值。根据标准曲线,计算蛋白样品的浓度。必要时需稀释样品,使其浓度在所测标准曲线的范围内。

1.2.2.2 蛋白的酶解和 iTRAQ 标记 将蛋白样品加入胰蛋白酶消化过夜,将酶解样品真空干燥后,溶于 iTRAQ 溶液缓冲液中。iTRAQ 试剂 114、115 标记模型组,116、117 标记安胃汤组,将标记后的所有肽段混合,标记后的样品经过 C18 spin column 除盐柱除盐,冻干。

1.2.2.3 强阳离子柱色谱分离及反相液质联用分析 干燥标记后的肽段用缓冲液 A (10 mmol/L KH_2PO_4 , 25% ACN, pH 2.7) 复溶,进到 SCX 强阳离子预装柱(5 μm, 2.1 mm × 200 mm),以 200 μL/min 的速率进行梯度洗脱,缓冲液 B (10 mmol/L KH_2PO_4 , 350 mmol/L KCl, 25% ACN, pH 2.7) 洗脱 5 min,随后将缓冲液 B 的比例由 5%,对应 5 min,至 25%对

应 40 min 按 20 个梯度上升,收集不同梯度浓度条件下洗脱的多肽。收集到的各组份样品稀释后进行反相 C18 柱 (5 μm , 77 μm \times 150 mm) 用缓冲液 B 以 5 min 由 5% 到 70 min 上至 35% 梯度淋洗和点靶。

1.2.2.4 质谱分析与数据处理 质谱鉴定和相对定量分析采用 5800 Plus MALDI TOF/TOF 串联质谱分析仪,用 Protein Pilot 2.0 联合 Uniprot 数据库进行检索鉴定蛋白,物种类别选择大鼠,以满足 $P < 0.05$, Unused Score > 1.3 且至少有 1 个肽段 (peptides > 1) 为鉴定标准报告 Confidence Interval $> 95\%$ 的蛋白,以组间表达差异大于 20% 区分差异蛋白^[3],用 114、115、116、117 试剂报告离子的峰面积积分进行相对定量分析,以 114、115 为对照,按照 116 和 117: 114 和 115 的比值,即上调 > 1.2 ,下调 < 0.8 ,且 $P < 0.05$ 的结果为差异蛋白。

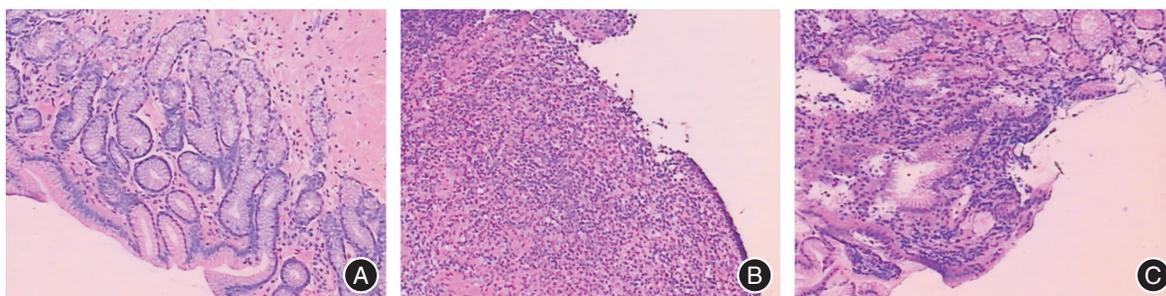
1.2.3 差异蛋白生物信息学分析 蛋白的功能分析通过 DAVID 6.8 在线数据库结合 GO 数据库进行搜索注释和富集分析。提交 90 个差异蛋白作为

进一步分析的蛋白集合,同时选择相对应的标识符为“UNIPROT ACCESSION”,勾选大鼠全基因组作为背景基因,用“Convert Tool”对基因标识一体化,然后选择“Functional Annotation Tool”作为分析工具,连接 KEGG 数据库搜索进行信号传导通路分析。

1.2.4 蛋白-蛋白互作 (protein-protein interaction, PPI) 分析 String 是研究蛋白与蛋白相互作用的在线生物信息学网站,将本研究表达差异显著蛋白信息导入,最低相互作用分值设置中度置信档,利用 Cytoscape 构建相互作用拓扑结构图。

2 结果

2.1 胃窦组织形态学变化 HE 染色结果显示,正常大鼠胃窦组织细胞排列正常,黏膜内腺体分布均匀,形状规整;模型对照组黏膜层腺体减少,炎性细胞大量浸润,肉芽组织及纤维组织增生;安胃汤组黏膜腺体分布广泛,形状欠规整,炎性细胞散在浸润。见图 1。



注:A,正常组;B,模型组;C,安胃汤组

图 1 大鼠胃窦组织 HE 染色 ($\times 100$)

Fig.1 The rat gastric tissue stained by HE ($\times 100$)

2.2 差异蛋白表达筛选结果 安胃汤组与模型组比较,质谱分析结果共鉴定出 453 个差异表达的蛋白。经筛选共有 90 个蛋白表达差异具有统计学意义,表达上调的蛋白有 60 个,表达下调的蛋白有 30 个 (表 1)。

2.3 差异蛋白 GO 富集分析结果 经分析共有 40

种生物学过程,10 种细胞成分,9 种分子功能 GO 分析显著富集 ($P < 0.05$),见图 2 (生物学过程仅列出前 10 种)。

2.4 差异蛋白富集信号转导通路分析结果 差异蛋白主要集中在 80 条信号转导通路上,其中经 Benjamini 校正 $P < 0.05$ 的有包括 PI3K-AKT (图 3)、

表 1 安胃汤对胃溃疡肝郁脾虚大鼠胃窦组织作用的上下调蛋白

Tab.1 Up-regulation and down-regulation of proteins in gastric ulcer rats with syndrome of liver constraint and spleen deficiency treated by Anwei decoction

	蛋白质名称
上调蛋白	EEF1AKMT1, STAM2, ACTR3, IFNA4, SARI1A, IL2, CPSF7, FABP1, RGD1559459, GH1, NTH1, ATP5D, COX3, SLFN14, WNT2, SLC7A1, PPHLN1, ODF2, MYLK3, TOR1AIP2, AQP4, LPAR3, NDUFS4, NDUFB10, IL2RA, PPA1, LMO7, CAV1, MAPK15, PLCB1, CAB39, PIK3CG, NXF1, LOC683313, AKT2, OLR286, CCKBR, TAC3, GH1, CALM1, ASPDH, CRHBP, CNTNAP3B, CYP2C13, OLR282, PRKAA1, PIM3, DYNLL2, NCBP1, PELI1, RNMT, SYT8, ATP5G2, RBM8A, RAF1, COL16A1, ADAP2
下调蛋白	SLCO4A1, RWDD3, WNT5A, ATP5G2, VTN, ENTPD1, PDGFC, SMARCA5, IL3RA, SMN1, GNAS, FGD6, SP140, COX3, SDHC, PLCB1, MYLK2, SOS1, MLLT3, EPS15L1, AKT1, ITGB3, EIF4A3, Cox7a1, NDUFS1, AGAP3, RALBP1, ATP5G1

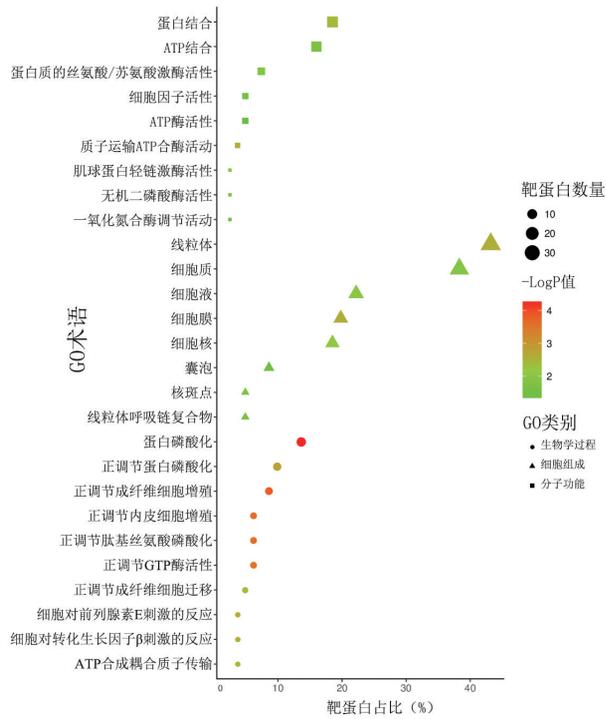


图2 差异蛋白的GO富集分析结果
 Fig.2 Results of GO enrichment analysis of differential proteins

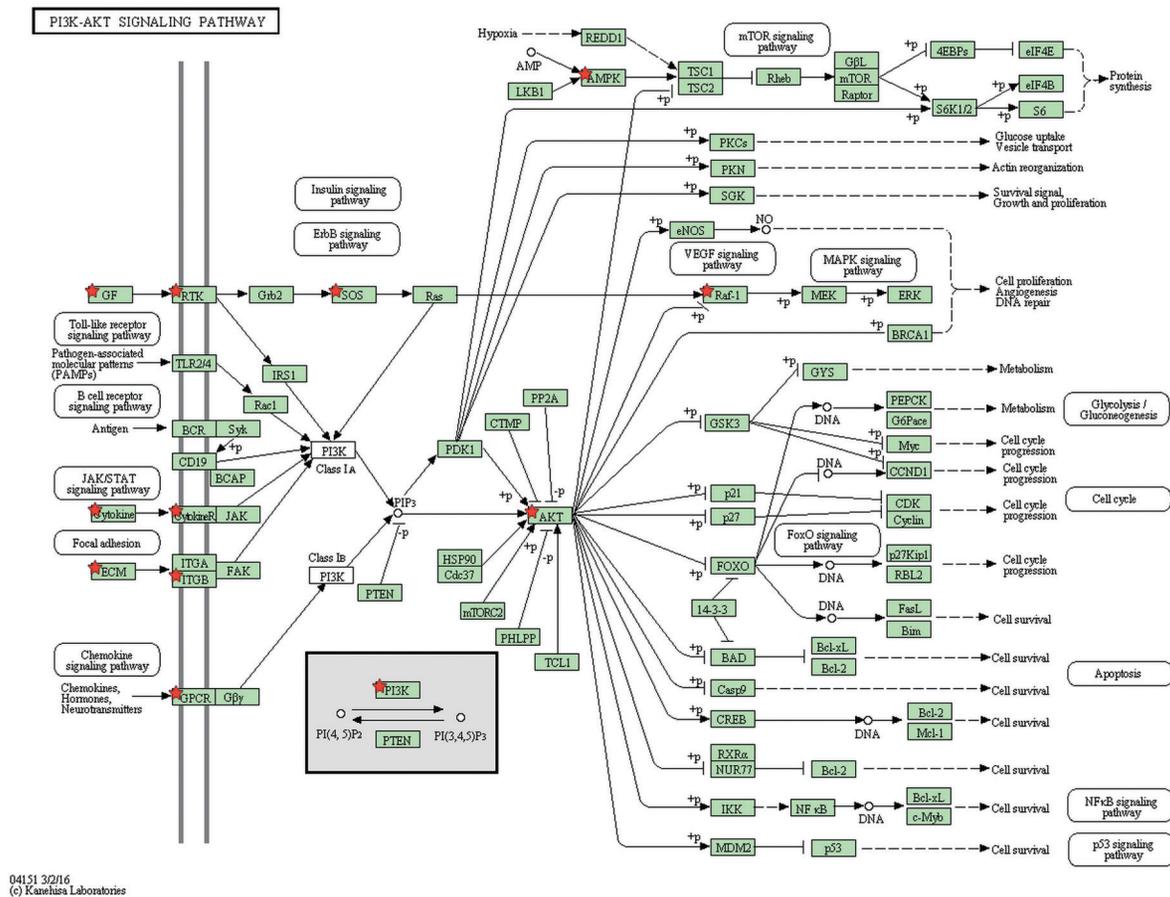
JAK-STAT、Alzheimer’s Disease 等在内的62条通路(图4)。

2.5 PPI分析结果 差异表达蛋白相互作用拓网络线路清晰,中心性较强,分散中心及孤立结点较少,作用相关性较强,其中AKT1、AKT2、PRKAA1、PIK3CG等蛋白为网络图的互作焦点(图5)。

3 讨论

安胃汤具有修复胃溃疡组织,改善幽门螺杆菌感染,降低远期复发率^[4-5],并减少萎缩性胃炎胃黏膜萎缩程度^[6]的作用。本研究基于蛋白质组学分析不同层次的“整体”的蛋白质动态变化揭示和阐明疾病与证候的形成,药物与机体相作用的生物学过程,是探讨安胃汤干预肝郁脾虚证胃溃疡机制的一个新切入点。

差异蛋白中富集分析发现:(1)蛋白质磷酸化、氨基酸合成以及多种能量代谢相关的生物学过程方面较为突出,细胞成分较多集中在能量供应的细胞器;(2)通路分析结果共得出PI3K-AKT、JAK-STAT、Alzheimer’s Disease 等在内的62条通路,涉及不同系统,提示部分蛋白作用位可能恰好



04151 3/2/16
 (c) Kanehisa Laboratories

图3 PI3K-AKT信号转导通路示意图(标注五星的位置为本研究中差异蛋白)
 Fig.3 PI3K-AKT signaling pathway (the five-star marked indicates differential proteins in our study)

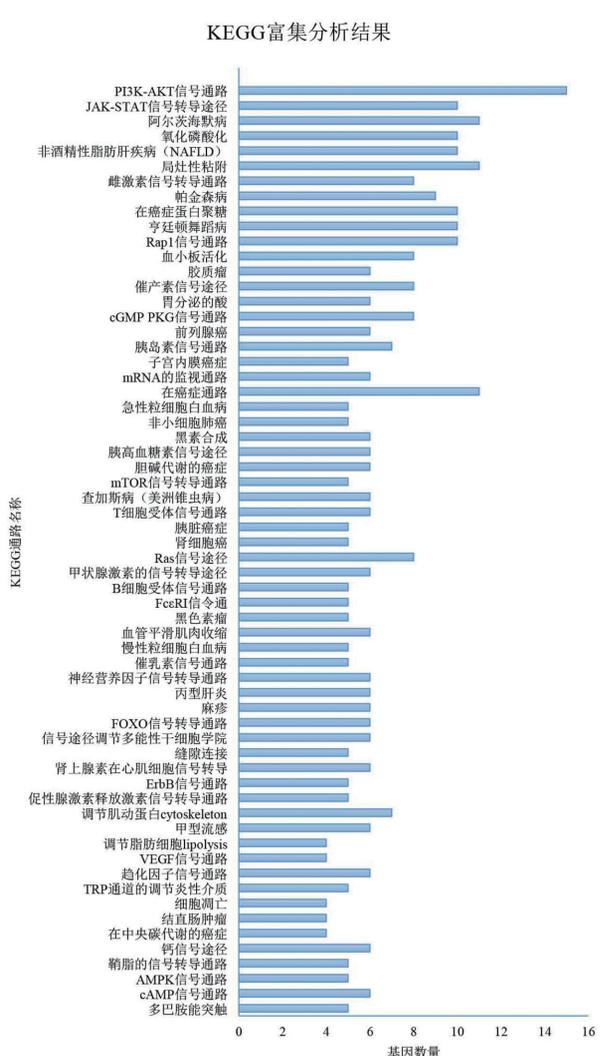


图4 差异蛋白KEGG通路富集条形图(条形图表示本研究中差异蛋白在该通路中的数量)

Fig.4 KEGG enrichment analysis bar chart of differential protein (bar chart represents the counts of our differential protein in each pathways)

处于多条信号通路的重要交叉点或部分通路的亚级通路,有可能存在串扰机制;(3)PPI分析发现各节点联系较强,分散中心及孤立结点较少。

胃溃疡发生的病因复杂,在病理形成阶段,组织黏膜细胞大量破坏,发生能量代谢障碍是其共同特点^[7]。其中通过提供必需的氨基酸原料或降低代谢消耗,可以支持胃黏膜的修复并促进愈合^[8-11]。富集分析表明多种能量代谢过程被进一步增强和激活,安胃汤有可能具备了类似机制。

值得注意的是PI3K-AKT信号通路,该通路能调节细胞增殖、分化、凋亡和葡萄糖转运等多种机制,其中PI3K及AKT的激活可以抑制多种细胞凋亡,相反抑制其表达常用于促进肿瘤细胞凋亡^[12-13]。前期研究发现安胃汤可通过抑制PI3K-AKT表

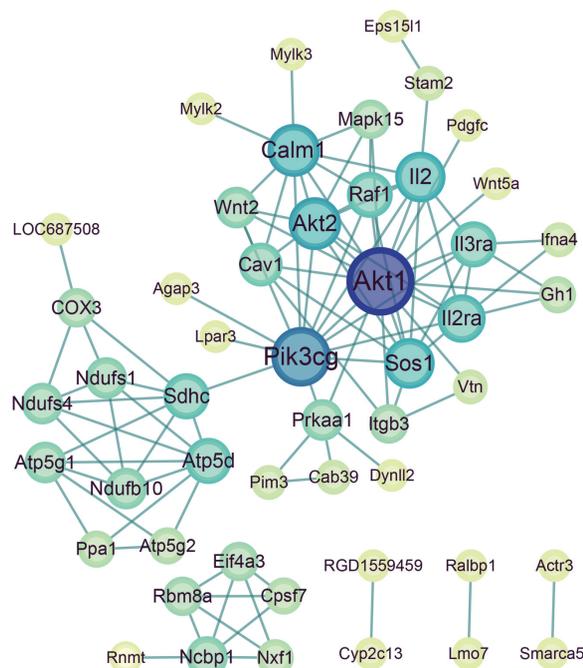


图5 PPI网络拓扑结构图

Fig.5 Protein-protein interaction and topological structure diagram of differential proteins

达从而对慢性萎缩性胃炎发挥疗效^[14]。本次结果中PRKAA1、PIK3CG、AKT2上调与治疗萎缩性胃炎的调控方向相反,可能与预防胃溃疡组织细胞凋亡、防治胃黏膜损伤有关。另外,SUN等^[15]和SHEN等^[16]的研究也发现肠三叶因子、康复新液等的胃黏膜保护作用与PI3K-AKT通路激活有关。

另外,该通路下游的Ras通路、VEGF通路、ErbB通路也显著富集,EGF和VEGF表达量增加是促进黏膜血管再生修复并恢复胃溃疡损伤组织功能的机制之一^[17-18]。桃叶珊瑚甙、龙胆苦甙、石斛多糖等在修复不同证型的胃溃疡中,与EGF、VEGF表达的变化也有明显关联^[19-22]。前期研究已证实安胃汤能促进胃黏膜EGF的表达^[5],本次实验中该通路的RAF1、SOS1等蛋白的差异表达,与前期研究有一定吻合。

PI3K-AKT下游mTOR通路也被富集,许多肿瘤细胞中存在有编码mTOR信号通路内相关蛋白的突变基因并且存在该通路蛋白的过度激活^[23],因此抑制该通路表达对治疗癌变有一定价值^[24],中药在治疗功能性消化不良、癌前病变上通过调控该通路发挥疗效^[25-26]。安胃汤在治疗慢性萎缩性胃炎上有一定疗效^[4],该结果对后续进一步研究起到前瞻性作用。

综上,本研究基于蛋白质组学分析了安胃汤治疗胃溃疡的机制,可能与调节代谢、抑制细胞凋

亡、促进黏膜再生等有关,其中PI3K-AKT通路及其下游信号通路与安胃汤前期研究机制存在部分切合,值得后续进一步探究。

参考文献

- [1] 虎喜成, 田文荣, 刘敬霞, 等. 中医药治疗胃溃疡的临床研究进展[J]. 辽宁中医杂志, 2015(1):208-210.
- [2] 陈奇. 中药药理学研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2011.
- [3] XU D, LI Y, LI X, et al. Serum protein S100A9, SOD3, and MMP9 as new diagnostic biomarkers for pulmonary tuberculosis by iTRAQ-coupled two-dimensional LC-MS/MS[J]. Proteomics, 2015, 15(1):58.
- [4] 朱永苹, 林寿宁, 韦维. 安胃汤对慢性萎缩性胃炎模型大鼠EGF EGFR mRNA表达的影响[J]. 四川中医, 2012(6): 45-48.
- [5] 刘大为. 安胃汤与泮托拉唑治疗幽门螺旋杆菌感染胃溃疡的临床研究[J]. 中国医药指南, 2016, 14(23):193-194.
- [6] 朱永钦, 朱永苹, 林寿宁, 等. 安胃汤防治慢性萎缩性胃炎的方药机制探讨[J]. 辽宁中医杂志, 2017(3):644-647.
- [7] GRAHAM D Y. History of Helicobacter pylori, duodenal ulcer, gastric ulcer and gastric cancer [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(18): 5191.
- [8] 尤艳芳, 纪博硕, 毕悦, 等. 温中益气胶囊对幽门结扎型胃溃疡大鼠的治疗作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(14):137-140.
- [9] 张雨, 周晓伟, 徐瑞明, 等. 楤树提取物对大鼠胃溃疡的作用及可能机制[J]. 国际药学研究杂志, 2017, 44(8):783-789.
- [10] BI W P, MAN H B, MAN M Q. Efficacy and safety of herbal medicines in treating gastric ulcer: A review [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(45): 17020.
- [11] ZHANG S L, LI H, HE X, et al. Alkaloids from Mahonia bealei possess anti-H⁺/K⁺-ATPase and anti-gastrin effects on pyloric ligation-induced gastric ulcer in rats[J]. Phytomedicine, 2014, 21(11): 1356-1363.
- [12] YI T, ZHUANG L, SONG G, et al. Akt signaling is associated with the berberine-induced apoptosis of human gastric cancer cells[J]. Nutr Cancer, 2015, 67(3):523-531.
- [13] 黄晖婷, 李劲高, 肖定璋, 等. 手霉素通过阻断PI3K/Akt信号通路诱导U937白血病细胞凋亡[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(7):1066-1069.
- [14] 韦维, 林寿宁, 汪波, 等. 安胃汤对慢性萎缩性胃炎大鼠PI3K/Akt信号传导通路的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2018(5): 1088-1091.
- [15] SUN Z, LIU H, YANG Z, et al. Intestinal trefoil factor activates the PI3K/Akt signaling pathway to protect gastric mucosal epithelium from damage[J]. Int J Oncol, 2014, 45(3):1123-1132.
- [16] SHEN Y, SUN J, NIU C, et al. Mechanistic evaluation of gastroprotective effects of Kangfuxin on ethanol-induced gastric ulcer in mice[J]. Chem Biol Interact, 2017, 273: 115-124.
- [17] ANTONISAMY P, ARASU M V, DHANASEKARAN M, et al. Protective effects of trigonelline against indomethacin-induced gastric ulcer in rats and potential underlying mechanisms [J]. Food Funct, 2016, 7(1): 398-408.
- [18] SATO T, AMANO H, ITO Y, et al. Vascular endothelial growth factor receptor 1 signaling facilitates gastric ulcer healing and angiogenesis through the upregulation of epidermal growth factor expression on VEGFR1+ CXCR4+ cells recruited from bone marrow[J]. J Gastroenterol, 2014, 49(3): 455-469.
- [19] YANG Y, YIN B, LV L, et al. Gastroprotective effect of aucubin against ethanol-induced gastric mucosal injury in mice [J]. Life Sci, 2017, 189: 44-51.
- [20] YANG Y, WANG Z, ZHANG L, et al. Protective effect of gentiopicroside from Gentiana macrophylla Pall. in ethanol-induced gastric mucosal injury in mice [J]. Phytother Res, 2018, 32(2): 259-266.
- [21] ZHANG Y, WANG H, MEI N, et al. Protective effects of polysaccharide from Dendrobium nobile against ethanol-induced gastric damage in rats[J]. Int J Biol Macromol, 2018, 107: 230-235.
- [22] ZHU B, ZHANG W, LU Y, et al. Network pharmacology-based identification of protective mechanism of Panax Notoginseng Saponins on aspirin induced gastrointestinal injury [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 105: 159-166.
- [23] SAXTON R A, SABATINI D M. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease[J]. Cell, 2017, 168(6): 960-976.
- [24] RIQUELME I, TAPIA O, ESPINOSA J A, et al. The gene expression status of the PI3K/AKT/mTOR pathway in gastric cancer tissues and cell lines. [J]. Pathol Oncol Res, 2016, 22(4):797-805.
- [25] 郭璇, 阳松威, 姜苏南, 等. 舒胃汤对FD肝郁脾虚证模型大鼠胃肠平滑肌Beclin-1、mTOR、Cx43蛋白与mRNA表达的影响[J]. 中成药, 2018(2): 270-275.
- [26] WANG H, TAO L, NI T, et al. Anticancer efficacy of the ethyl acetate extract from the traditional Chinese medicine herb Celastrol orbiculatus against human gastric cancer [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 205: 147-157.

(收稿:2018-02-27 编辑:袁宁)