

黄芩苷对幽门螺杆菌诱导人胃黏膜上皮 GES-1 细胞损伤的保护作用及机制

邓志燕¹, 万强^{2*}

(1. 金华市中医医院, 浙江 金华 321017; 2. 江西中医药大学附属医院, 南昌 330006)

[摘要] **目的:**探讨黄芩苷(baicalin)对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)诱导人胃黏膜上皮 GES-1 细胞(human gastric epithelial GES-1 cells)损伤的保护作用及机制研究。**方法:**采用 Hp 感染 GES-1 细胞,加入 baicalin (15, 30, 60 mg·L⁻¹)和 p38 分裂原激活蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)抑制剂 SB203580 20 μmol·L⁻¹共培养。噻唑蓝(MTT)比色法测细胞增殖、流式细胞术测细胞凋亡、酶联免疫吸附法(ELISA)测细胞白细胞介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)及 IL-8 水平、比色法测细胞乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)活性、蛋白免疫印迹法(Western blot)测细胞 B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)相关 X 蛋白(Bax), Bcl-2, p-p38 MAPK 及 total-p38 MAPK(T-p38 MAPK)蛋白表达。**结果:**与空白组比较, Hp 可抑制 GES-1 细胞增殖, 促进 GES-1 细胞凋亡, 诱导 GES-1 细胞分泌 IL-1β 及 IL-8 并增加 LDH 活性, 增加 GES-1 细胞内 p-p38 MAPK, Bax 蛋白表达并降低 Bcl-2 蛋白表达($P < 0.01$); 与 Hp 感染组比较, 中、高浓度 baicalin 组可促进 GES-1 细胞增殖, 减少 GES-1 细胞凋亡, 减少 GES-1 细胞分泌 IL-1β 及 IL-8 水平并降低 LDH 活性, 降低 GES-1 细胞内 p-p38 MAPK, Bax 蛋白表达并增加 Bcl-2 蛋白表达($P < 0.01$); 与高浓度 baicalin 组比较, SB203580 可进一步促进 GES-1 细胞增殖, 减少 GES-1 细胞凋亡, 减少 GES-1 细胞分泌 IL-1β 及 IL-8 水平并降低 LDH 活性, 降低 GES-1 细胞内 p-p38 MAPK, Bax 蛋白表达并增加 Bcl-2 蛋白表达($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:**baicalin 可通过抗炎、促增殖并抗凋亡减轻 Hp 诱导的 GES-1 细胞损伤, 其机制可能与抑制 p38 MAPK 通路有关。

[关键词] 黄芩苷; 幽门螺杆菌; p38 分裂原激活蛋白激酶; 人胃黏膜上皮 GES-1 细胞; 炎症

[中图分类号] R285.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)19-0145-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2017190145

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170711.1352.030.html>

[网络出版时间] 2017-07-11 13:52

Protective Effect and Mechanism of Baicalin in Alleviating *Helicobacter Pylori*-induced Human Gastric Epithelial GES-1 Cells Injury

DENG Zhi-yan¹, WAN Qiang^{2*}

(1. Jinhua Hospital of Traditional Chinese Medicine (TCM), Jinhua 321017, China; 2. Affiliated Hospital of Jiangxi University of TCM, Nanchang 330006, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect and mechanism of baicalin in alleviating *Helicobacter pylori* (Hp) -induced human gastric epithelial GES-1 cells injury. **Method:** baicalin (15, 30, 60 mg·L⁻¹) or a specific inhibitor of p38 MAPK pathway SB203580 20 μmol·L⁻¹ was added into Hp-infected GES-1 cells. Proliferation and apoptosis, levels of interleukin-1β (IL-1β) and IL-8, lactic dehydrogenase (LDH) activities, protein expressions of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) associated X protein (Bax), Bcl-2, p-p38 MAPK and total-p38 MAPK (T-p38 MAPK) in GES-1 cells were determined by MTT assay, flow cytometry, ELISA, colorimetry and

[收稿日期] 20170512(008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81660770); 江西省自然科学基金项目(20161BAB215256); 江西省卫生计生委中医药科研项目(2016A083); 江西省卫生计生委科技计划项目(201711105)

[第一作者] 邓志燕, 硕士, 主治医师, 从事脾胃病的临床及基础研究, Tel:13566772815, E-mail: jzyjsdzy@163.com

[通讯作者] *万强, 博士, 主治医师, 从事内科疾病的实验及临床研究, Tel:15521119606, E-mail: wanqiang109559140@163.com

Western blot, respectively. **Result:** Compared with control group, Hp significantly inhibited proliferation of GES-1 cells, increased apoptosis, LDH activities, IL-1 β and IL-8 levels, Bax and p-p38 MAPK expressions, but decreased Bcl-2 expression in GES-1 cells ($P < 0.01$). Compared with Hp-infected GES-1 cells, medium-dose and high-dose baicalin significantly increased proliferation of GES-1 cells, decreased apoptosis, LDH activities, IL-1 β and IL-8 levels, Bax and p-p38 MAPK expressions, but increased Bcl-2 expression in GES-1 cells ($P < 0.01$). Compared with the high-dose baicalin group, SB203580 significantly increased proliferation of GES-1 cells, decreased apoptosis, LDH activities, IL-1 β and IL-8 levels, Bax and p-p38 MAPK expressions, but increased Bcl-2 expression in GES-1 cells ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** baicalin alleviated Hp-induced human gastric epithelial GES-1 cells injury through anti-inflammation, proliferation promotion and anti-apoptosis. The mechanism may be correlated with the inhibition of p38 MAPK signaling pathway.

[**Key words**] baicalin; helicobacter pylori; p38 mitogen-activated protein kinase; human gastric epithelial GES-1 cells; inflammation

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 感染介导慢性炎症诱发胃黏膜上皮细胞损伤在慢性胃炎的形成过程中起了关键作用。Hp 是生存于胃部及十二指肠的各区域内的革兰氏阴性微需氧菌, Hp 感染可引起胃黏膜慢性炎症, 继而导致慢性活动性胃炎、胃和十二指肠溃疡、胃淋巴瘤与胃癌的发生^[1]。现代医学对于 Hp 感染多使用两种抗生素如阿莫西林、甲硝唑加质子泵抑制剂如奥美拉唑的三联疗法, 但长期使用可以引起 Hp 耐药的发生率显著上升, 导致 Hp 根除率的下降。中医药对于慢性胃炎疗效确切, 且有副作用低的特点。因此, 积极研究并开发能够抑制 Hp 的中药单体或其提取物, 具有重要的医学价值。黄芩苷 (baicalin) 是从唇形科双子叶植物黄芩的干燥根部提取分离出的异黄酮类化合物, 具有抑菌、利尿、抗炎、抗变态、解痉、抗癌等药理用途。近来研究表明 baicalin 可以作为 Hp 尿素酶抑制剂, 抑制由 Hp 感染导致的胃肠道功能紊乱及慢性胃炎的发生^[2], 但其具体分子机制尚有待进一步深入研究。p38 分裂原激活蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK) 信号通路是 MAPK 通路家族调控炎症反应最重要的成员, 并参与了细胞应激和凋亡等多种生理及病理进程^[3]。为进一步探讨 baicalin 在慢性胃炎中的可能作用靶点, 本研究采用 Hp 感染人胃黏膜上皮 GES-1 细胞 (human gastric epithelial GES-1 cells) 后, 加入 baicalin 及 p38 MAPK 信号通路特异性阻滞剂 SB203580 干预, 探讨 baicalin 对 Hp 诱导 GES-1 损伤的保护作用及可能机制, 从而为 baicalin 的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 细胞 GES-1 细胞株购于上海生博生物医药

科技有限公司, 批号 pSC1021。

1.2 试剂 Hp 菌株 (美国 ATCC 细胞库, 批号 700835); 噻唑蓝 (MTT) 干粉 (美国 Sigma 公司, 批号 298-93); baicalin (大连美仑生物技术有限公司, 批号 21967, 纯度 $\geq 98\%$); 胎牛血清 (美国 Gibco 公司, 批号 16437); PRMI 1640 培养基 (美国 Invitrogen 公司, 批号 22400); B 细胞淋巴瘤-2 (Bcl-2) 相关 X 蛋白 (Bax), Bcl-2, 总 p38 (T-p38) MAPK, 磷酸化 p38 (p-p38) MAPK, β -actin 及山羊抗兔抗体 (美国 Abcam 公司, 批号分别为 53154, 59348, 37619, 21771, 82127); SB203580 (英国 Tocris Bioscience 公司, 批号 1502); 乳酸脱氢酶 (lactic dehydrogenase, LDH) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号 A020); 白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β), IL-8 试剂盒 (美国 eBioscience 公司, 批号分别为 7114, 2043); Annexin V-FITC 细胞凋亡试剂盒 (中国 Beyotime 公司, 批号 C1662)。

1.3 仪器 MK3 型酶标仪, 2401 型二氧化碳细胞培养箱, ST16 型冷冻高速离心机 (美国 Thermo 公司); 164-5050 型电泳仪, GIS 型全自动凝胶成像系统 (美国 Bio-Rad 公司); DMI3000B 型荧光倒置显微镜 (德国 Leica 公司); FACSCalibur 型流式细胞仪 (美国 BD 公司)。

2 方法

2.1 Hp 与 GES-1 细胞共培养及干预制备 GES-1 细胞接种至培养皿, 加含 10% 胎牛血清的 PRMI 1640 培养基, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 5% CO_2 培养箱内, 融合 80% 时传代。以无菌 PBS 液重悬 Hp, 2 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min (离心半径 6.5 cm), 弃上清液后再以 PBS 液洗 2 次, 加含 2% 胎牛血清的 PRMI 1640 培养基调整至 Hp 菌液浓度为 1×10^9 CFU $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

GES-1 细胞按以下分组:①空白组只加 PRMI 1640 培养基;②Hp 感染组加入 Hp 菌液,按细菌-细胞为 200:1 共培养 24 h;③~⑤分别为 baicalin 低、中、高质量浓度组,分别以 baicalin(15,30,60 mg·L⁻¹)^[2] 预处理 GES-1 细胞 1 h 后再加入 Hp 菌液按细菌-细胞为 200:1(预实验结果)的比例共培养 24 h;⑥ SB203580 组以 baicalin 60 mg·L⁻¹ 预处理 GES-1 细胞 1 h 后,加 SB203580 20 μmol·L⁻¹^[4] 处理细胞 1 h 再加 Hp 菌液按细菌-细胞为 200:1 的比例共培养 24 h。

2.2 噻唑蓝比色法(MTT)法检测细胞增殖 以每孔 1×10⁴ 个将 GES-1 细胞接种至 96 孔板,每组设 6 个复孔,24 h 后撤去血清。加入 MTT 液(5 g·L⁻¹) 20 μL,置于细胞培养箱中继续培养 4 h,弃上清液后每孔加 DMSO 150 μL 振荡 10 min 溶解,酶标仪以 570 nm 为测定波长检测吸光度 A。

细胞增殖抑制率 = [1 - (A_{实验组} / A_{空白组})] × 100%

2.3 流式细胞术检测细胞凋亡 以每孔 2×10⁵ 个/mL 的密度将 GES-1 细胞接种至 12 孔板,24 h 后换无血清 PRMI 1640 培养基培养 24 h,收集细胞以 1 000 r·min⁻¹ 离心 5 min(离心半径 6.5 cm),加 Annexin V-FITC 及 PI,1 h 内流式细胞仪检测,计算 GES-1 细胞凋亡率。

2.4 细胞 LDH 活性及 IL-1β, IL-8 水平测定 以 1×10⁴ 个/mL 的密度将 GES-1 细胞接种至培养皿,收集上清液,比色法测 LDH 活性,酶联免疫吸附测试(ELISA)测 IL-1β 及 IL-8 水平,操作按照试剂盒说明书。

2.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)法检测 Bax, Bcl-2, T-p38 MAPK, p-p38 MAPK 蛋白表达 提取 GES-1 细胞总蛋白,BCA 法检测蛋白浓度,100 °C 变性 5 min,凝胶电泳并半干转印蛋白至 PVDF 膜,5% 无脂牛奶封闭 2 h,分别以一抗(1:1 000)于 4 °C,二抗(1:2 000)于室温孵育,ECL 发光显影。Quantity One 分析灰度值,β-actin 做内参。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,单因素方差 one-way ANOVA 进行方差分析,方差齐时采用 LSD 法进行组间多重数据比较,方差不齐时以 Dunnett's T3 法进行组间多重数据比较,以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 baicalin 及 SB203580 对 GES-1 细胞增殖的影响 与空白组比较, Hp 感染后可显著抑制 GES-1

细胞增殖(P < 0.01); 与 Hp 感染组比较,加入 baicalin 中、高质量浓度干预后均可显著降低 Hp 对 GES-1 细胞增殖的抑制(P < 0.01); 与 baicalin 不同质量浓度组比较,加入 SB203580 干预可进一步降低 Hp 对 GES-1 细胞增殖的抑制(P < 0.05, P < 0.01)。见表 1。

表 1 baicalin 及 SB203580 对 GES-1 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 1 Effect of baicalin and SB203580 on proliferation of GES-1 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度	增殖抑制率/%
空白	-	-
Hp 感染	-	41.37 ± 6.27 ¹⁾
baicalin	15 mg·L ⁻¹	40.25 ± 5.98 ¹⁾
	30 mg·L ⁻¹	27.84 ± 5.22 ^{1,2)}
	60 mg·L ⁻¹	20.76 ± 4.31 ^{1,2)}
SB203580	60 mg·L ⁻¹ + 20 μmol·L ⁻¹	14.63 ± 4.08 ^{1,2,3,4)}

注:与空白组比较¹⁾ P < 0.01; 与 Hp 感染组比较²⁾ P < 0.01; 与 baicalin 30 mg·L⁻¹ 组比较 P < 0.05; 与 baicalin 15, 60 mg·L⁻¹ 组比较⁴⁾ P < 0.01(图 1 同)。

3.2 baicalin 及 SB203580 对 GES-1 细胞凋亡的影响 与空白组比较, Hp 感染后可显著诱导 GES-1 细胞凋亡(P < 0.01); 与 Hp 感染组比较,加入 baicalin 中、高质量浓度干预后均可显著减少由 Hp 诱导的 GES-1 细胞凋亡(P < 0.01) 与 baicalin 不同质量浓度组比较,加入 SB203580 干预可进一步减少由 Hp 诱导的 GES-1 细胞凋亡(P < 0.05, P < 0.01)。见表 2。

表 2 baicalin 及 SB203580 对 GES-1 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 2 Effect of baicalin and SB203580 on apoptosis of GES-1 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度	凋亡率/%
空白	-	10.26 ± 2.06
Hp 感染	-	35.69 ± 5.87 ²⁾
baicalin	15 mg·L ⁻¹	34.85 ± 5.27 ²⁾
	30 mg·L ⁻¹	26.73 ± 4.82 ^{2,3)}
	60 mg·L ⁻¹	21.86 ± 4.29 ^{2,3)}
SB203580	60 mg·L ⁻¹ + 20 μmol·L ⁻¹	15.71 ± 3.63 ^{1,3,4,5)}

注:与空白组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01; 与 Hp 感染组比较³⁾ P < 0.01; 与 baicalin 30 mg·L⁻¹ 组比较⁴⁾ P < 0.05; 与 baicalin 15, 60 mg·L⁻¹ 组比较⁵⁾ P < 0.01。

3.3 baicalin 及 SB203580 对 GES-1 细胞 LDH 活性及 IL-1β, IL-8 水平的影响 与空白组比较, Hp 感染后可显著增加 GES-1 细胞 IL-1β 及 IL-8 水平并增加 LDH 活性(P < 0.01); 与 Hp 感染组比较,加入 baicalin 中、高质量浓度干预后均可显著降低 GES-1

细胞 IL-1 β 及 IL-8 水平并降低 LDH 活性 ($P < 0.01$); 与 baicalin 高质量浓度组比较, 加入

SB203580 干预可进一步降低 GES-1 细胞 IL-1 β 及 IL-8 水平并降低 LDH 活性 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 baicalin 及 SB203580 对 LDH 活性及 IL-1 β , IL-8 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of baicalin and SB203580 on LDH activities, IL-1 β and IL-8 levels of GES-1 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度	LDH /U·L ⁻¹	IL-1 β /ng·L ⁻¹	IL-8/ng·L ⁻¹
空白	-	474.87 \pm 48.65	4.52 \pm 1.24	19.47 \pm 5.76
Hp 感染	-	1469.52 \pm 131.76 ¹⁾	87.61 \pm 8.74 ¹⁾	201.38 \pm 21.07 ¹⁾
baicalin	15 mg·L ⁻¹	1455.79 \pm 138.28 ^{1,3)}	85.29 \pm 9.21 ^{1,3)}	199.26 \pm 19.48 ^{1,3)}
	30 mg·L ⁻¹	1186.71 \pm 106.52 ^{1,2,3)}	54.92 \pm 7.65 ^{1,2,3)}	148.49 \pm 14.86 ^{1,2)}
	60 mg·L ⁻¹	833.68 \pm 92.62 ^{1,2,3)}	42.63 \pm 5.79 ^{1,2,3)}	92.87 \pm 15.84 ^{1,2)}
SB203580	60 mg·L ⁻¹ + 20 μ mol·L ⁻¹	631.75 \pm 71.05 ^{1,2)}	26.64 \pm 4.67 ^{1,2)}	52.73 \pm 9.67 ^{1,2,3)}

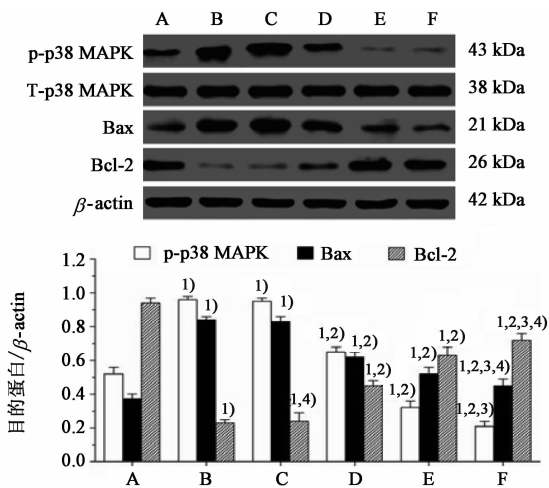
注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$;与 Hp 感染组比较²⁾ $P < 0.01$;与 baicalin 30, 60 mg·L⁻¹ 组比较³⁾ $P < 0.01$ 。

3.4 baicalin 及 SB203580 对 GES-1 细胞中 Bax, Bcl-2, T-p38 MAPK, p-p38 MAPK 蛋白表达的影响
与空白组比较, Hp 感染后可显著增加 GES-1 细胞中 Bax 及 p-p38 MAPK 蛋白表达, 并降低 Bcl-2 蛋白表达 ($P < 0.01$); 与 Hp 感染组比较, 加入 baicalin 中、高质量浓度干预后均可显著降低 GES-1 细胞中 Bax 及 p-p38 MAPK 蛋白表达, 并增加 Bcl-2 蛋白表达 ($P < 0.01$); 与 baicalin 高质量浓度组比较, 加入 SB203580 干预可进一步降低 GES-1 细胞中 Bax 及 p-p38 MAPK 蛋白表达, 并增加 Bcl-2 蛋白表达 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见图 1。

演化过程中, Hp 感染引起的慢性活动性胃炎是胃癌发生的启动因素。Hp 于 1983 年由 Marshall 利用螺杆菌培养技术从慢性活动性胃炎患者的胃黏膜活检组织中首次成功分离, 是目前所知能在人胃中生存的唯一微生物种类^[5]。正常胃黏膜的黏膜上层分泌的黏液与上皮细胞及细胞联结形成的具有保护作用的胃黏膜黏液屏障, 可抵御各类微生物、细菌的入侵。Hp 感染后可产生尿素酶、黏液酶、脂酶和磷脂酶、过氧化物歧化酶、蛋白酶、脂多糖等多种致病因子, 降低黏液中黏蛋白含量, 破坏黏液离子完整性从而破坏胃黏膜屏障, 导致慢性胃炎的发生^[6]。

Hp 感染还可破坏胃黏膜上皮的完整性, 增殖与凋亡间的平衡对维护胃黏膜上皮细胞的完整性起了关键的作用, 因此 Hp 感染后导致胃黏膜上皮细胞增殖与凋亡二者间平衡紊乱, 可引起慢性胃炎、消化性溃疡等相关疾病甚至胃癌的发生。Bax 和 Bcl-2 是 Bcl-2 基因家族中的重要成员, 对于细胞凋亡起了重要的调控作用。Bax 是促凋亡基因, 位于细胞质中, 可直接结合到线粒体膜上, 改变细胞膜通透性, 引起细胞色素 C 释放并激活 Caspase 家族从而促进细胞凋亡。Bcl-2 是抑凋亡基因, 可通过抑制细胞线粒体膜电位的下降, 减少细胞色素 C 释放进入细胞质从而抑制细胞凋亡^[7]。本研究中 MTT 检测结果显示, Hp 感染可显著抑制 GES-1 细胞增殖; 流式细胞术检测结果显示, Hp 感染后 GES-1 细胞凋亡增加; Western blot 检测结果显示 Hp 感染后 GES-1 细胞内 Bax 蛋白表达增加, Bcl-2 蛋白表达下降, 证实 Hp 感染可通过抑制增殖, 并影响 Bax 及 Bcl-2 的表达而促进 GES-1 细胞凋亡。

Hp 感染后可诱导胃黏膜上皮炎症细胞的浸润, 释放 IL-1 β , IL-8 等炎症介质。IL-1 β , IL-8 产生的级联反应可导致上皮细胞黏附因子 (epithelial cell



A. 空白组; B. Hp 感染组; C ~ E. baicalin 低、中、高 (15, 30, 60 mg·L⁻¹) 质量浓度组; F. SB203580 组

图 1 baicalin 及 SB203580 对 GES-1 细胞 Bax, Bcl-2 和 p-p38 MAPK 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig.1 Effect of baicalin and SB203580 on protein expression of Bax, Bcl-2 and p-p38 MAPK in GES-1 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

慢性胃炎的发病率在我国正呈上升趋势, 由其导致的胃癌可严重危害人类健康。在“慢性活动性胃炎-萎缩性胃炎-肠上皮化生-异型增生-胃癌”这一

adhesion molecule, EP-CAM)) 和细胞间黏附因子-1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 的活化,引起胃黏膜固有层淋巴细胞、中性粒细胞、单核细胞等聚集从而促进慢性炎症的发生^[8]。LDH 是一种糖酵解酶,存在于机体所有组织细胞的细胞质内,当细胞受到损伤时细胞膜结构以及细胞质内氧依赖性酶发生改变,导致细胞膜的通透性增加,细胞外液中 LDH 漏出量随之增加,因此 LDH 活性的高低可反映细胞损伤的程度^[9]。本研究中 ELISA 及比色法检测结果显示, Hp 感染可诱导 GES-1 细胞分泌 IL-1 β 及 IL-8 并增加 LDH 活性,证实 Hp 可诱导炎症导致 GES-1 细胞损伤。

baicalin 是从黄芩的干燥根部提取分离出的异黄酮类化合物,既往研究证实 baicalin 具有较强的抗 Hp 诱导的慢性胃炎的作用。随着抗生素在根除 Hp 治疗中被广泛应用, Hp 耐药的发生率显著上升, Hp 根除率则逐年下降。研究表明主动外排系统 hefA 基因的高表达可导致体外人工诱导 Hp 多重耐药的发生^[10], baicalin 可通过下调 hefA mRNA 表达,显著减轻阿莫西林和四环素等抗生素引起的 Hp 多重耐药的发生^[11]。p38 MAPK 信号通路是 MAPK 通路家族调控炎症反应最重要的成员,并参与了细胞应激和凋亡等多种生理及病理进程^[3], p38 MAPK 信号通路的激活可提高环氧酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 和一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, iNOS) 表达,造成大鼠胃黏膜损伤^[12]。啞唞咪唑化合物 SB203580 是常用的 p38 MAPK 特异性阻滞剂,可通透细胞抑制 p38 MAPK, 并抑制后续的 MAPKAP Kinase-2 和 MAPKAP Kinase-3 的激活^[13]。本研究结果表明,与空白组细胞比较, Hp 感染后可显著增加 GES-1 细胞中 p-p38 MAPK 蛋白表达;与 Hp 感染组细胞比较,加入 baicalin 干预后均可显著降低 Hp 对 GES-1 细胞增殖的抑制,减少由 Hp 诱导的 GES-1 细胞凋亡,降低 GES-1 细胞 IL-1 β 及 IL-8 水平并降低 LDH 活性,增加 GES-1 细胞中 Bax 及 p-p38 MAPK 蛋白表达,并降低 Bcl-2 蛋白表达;与 baicalin 高质量浓度组细胞比较,加入 SB203580 干预可进一步降低 Hp 对 GES-1 细胞增殖的抑制,减少由 Hp 诱导的 GES-1 细胞凋亡,降低 GES-1 细胞 IL-1 β 及 IL-8 水平并降低 LDH 活性,增加 GES-1 细胞中 Bax 及 p-p38 MAPK 蛋白表达,并降低 Bcl-2 蛋白表达,提示 baicalin 可通过抗炎、促增殖并抗凋亡减轻 Hp 诱导的 GES-1 细胞损伤,其机制可能与抑制 p38 MAPK 通路有关。baicalin 对 Hp 诱导 GES-1 细胞损

伤的保护作用及可能机制仍需进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] Parsonnet J, Hansen S, Rodriguez L, et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma [J]. *N Engl J Med*, 1994, 330(18): 1267-1271.
- [2] YU X D, ZHENG R B, XIE J H, et al. Biological evaluation and molecular docking of baicalin and scutellarin as *Helicobacter pylori* urease inhibitors [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 162(31): 69-78.
- [3] Molkenin J D, Bugg D, Ghearing N, et al. Fibroblast-specific genetic manipulation of p38 MAPK *in vivo* reveals its central regulatory role in fibrosis [J]. *Circulation*, 2017, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.026238.
- [4] WANG Y, LIU J, CUI J, et al. ERK and p38 MAPK signaling pathways are involved in ochratoxin A-induced G₂ phase arrest in human gastric epithelium cells [J]. *Toxicol Lett*, 2012, 209(2): 186-192.
- [5] Melamud B, Keller S, Mahamid M, et al. Clarithromycin-induced mania after triple therapy for the eradication of *Helicobacter pylori* [J]. *Isr Med Assoc J*, 2016, 18(8): 499-500.
- [6] Sugano K, Tack J, Kuipers E J, et al. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis [J]. *Gut*, 2015, 64(9): 1353-1367.
- [7] Levy M A, Claxton D F. Therapeutic inhibition of BCL-2 and related family members [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2017, 26(3): 293-301.
- [8] Panpetch W, Spinler J K, Versalovic J, et al. Characterization of *Lactobacillus salivarius* strains B37 and B60 capable of inhibiting IL-8 production in *Helicobacter pylori*-stimulated gastric epithelial cells [J]. *BMC Microbiol*, 2016, doi: 10.1186/s12866-016-0861-x.
- [9] DONG X, FAN Y, ZHANG H, et al. Inhibitory effects of ionic liquids on the lactic dehydrogenase activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 86: 155-161.
- [10] LIU Z Q, ZHENG P Y, YANG P C. Efflux pump gene hef A of *Helicobacter pylori* plays an important role in multidrug resistance [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(33): 5217-5222.
- [11] HUANG Y Q, HUANG G R, WU M H, et al. Inhibitory effects of emodin, baicalin, schizandrin and berberine on hefA gene; treatment of *Helicobacter pylori*-induced multidrug resistance [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(14): 4225-4231.
- [12] Lee J S, Oh T Y, Kim Y K, et al. Protective effects of green tea polyphenol extracts against ethanol-induced gastric mucosal damages in rats; stress-responsive transcription factors and MAP kinases as potential targets [J]. *Mutat Res*, 2005, 579(1/2): 214-224.
- [13] CHEN N N, WEI F, WANG L, et al. Tumor necrosis factor alpha induces neural stem cell apoptosis through activating p38 MAPK pathway [J]. *Neurochem Res*, 2016, 41(11): 3052-3062.

[责任编辑 邹晓翠]