

幽门螺杆菌致炎症微环境促进结肠癌 SW620细胞发生EMT

宋光永¹ 张晓荣² 李梦俊² 高艳萍^{2*}

(¹山西医科大学, 太原 030001; ²山西医科大学汾阳学院, 汾阳 032200)

摘要 该文探讨了幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, HP)炎症微环境对结肠癌SW620细胞发生上皮-间质转化(epithelial mesenchymal transformation, EMT)的影响。使用ELISA方法检测HP干预U937细胞后上清中炎症因子MIF、IL-1 β 等的变化;采用RT-PCR方法检测MIF、IL-1 β 、NF- κ B基因水平的变化;细胞划痕实验检测炎症上清处理SW620细胞后SW620细胞的侵袭迁移能力;CCK-8方法检测HP处理U937细胞后炎症上清对SW620细胞增殖活性的影响;免疫荧光实验检测炎症上清处理SW620细胞后SW620细胞EMT相关蛋白Vimentin的荧光变化;Western blot实验检测脂多糖(LPS)上清干预SW620细胞后EMT相关蛋白Vimentin、E-cadherin和N-cadherin的变化;Western blot实验检测HP干预U937细胞后NF- κ B蛋白,炎症上清处理SW620细胞后EMT相关蛋白Vimentin、E-cadherin和N-cadherin的变化。结果显示,HP干预U937细胞后引起巨噬细胞移动抑制因子(MIF)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)和NF- κ B等相关炎症因子及基因表达升高;CCK-8结果表明HP干预U937细胞后,U937细胞毒性增强;划痕实验结果表明在12 h、24 h、36 h时,随着时间点的推移,SW620细胞的侵袭迁移能力有所增强;免疫荧光实验结果显示SW620细胞Vimentin绿色点状聚集显著增加;Western blot结果显示在16 h、24 h时间点U937细胞NF- κ B蛋白表达明显升高;LPS上清干预SW620细胞后Vimentin蛋白表达无明显变化,N-cadherin蛋白24 h组表达减少,E-cadherin蛋白增多,HP炎症微环境上清干预SW620细胞后12 h、24 h、36 h时,随着时间点推移SW620细胞Vimentin蛋白表达显著增加,E-cadherin和N-cadherin蛋白表达显著减少。该实验研究结果表明,幽门螺杆菌致炎症微环境可以促进SW620细胞发生EMT。

关键词 幽门螺杆菌;炎症微环境;上皮-间质转化;SW620细胞

Helicobacter pylori-Induced Inflammation Microenvironment Promotes Colon Cancer SW620 Cell EMT

SONG Guangyong¹, ZHANG Xiaorong², LI Mengjun², GAO Yanping^{2*}

(¹Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; ²Fenyang College of Shanxi Medical University, Fenyang 032200, China)

Abstract This article explores the effects of HP inflammation microenvironment on EMT of colon cancer SW620 cells. The ELISA method was used to detect the changes of inflammatory factors MIF and IL-1 β in the supernatant after HP intervention in U937 cells. RT-PCR was used to detect the changes of MIF, IL-1 β , NF- κ B gene levels. Scratch assay was used to detect the invasion and migration ability of SW620 cells after treatment with in-

收稿日期: 2019-04-13 接受日期: 2019-09-03

山西省自然科学基金(批准号: 201601D102077)和山西省青年科技研究基金(批准号: 201601D021108)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13835801063, E-mail: gypbb@163.com

Received: April 13, 2019 Accepted: September 3, 2019

This work was supported by the Natural Science Foundation of Shanxi Province (Grant No.201601D102077) and the Youth Science and Technology Research Fund of Shanxi Province (Grant No.201601D021108)

*Corresponding author. Tel: +86-13835801063, E-mail: gypbb@163.com

网络出版时间: 2019-12-11 10:13:54

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20191211.1013.002.html>

flammatory supernatant. Effect of inflammatory supernatant on proliferation of SW620 cells after HP-treated U937 cells was observed by CCK-8 method. Changes of EMT-related proteins Vimentin, E-cadherin and N-cadherin in SW620 cells treated with LPS supernatant were detected by Western blot assay. Immunofluorescence assay was used to detect the fluorescence changes of EMT-related protein Vimentin in SW620 cells treated with inflammatory supernatant. Western blot was used to detect the changes of NF- κ B protein in U937 cells treated with HP, and EMT-related protein Vimentin, E-cadherin and N-cadherin in SW620 cells treated with inflammatory supernatant. The results showed that HP could increase the expression of MIF, IL-1 β and NF- κ B in U937 cells. Scratch test showed that the invasion and migration ability of SW620 cells increased with the passage of time points at 12 h, 24 h and 36 h. Immunofluorescence test showed that Vimentin green dot aggregation of SW620 cells increased significantly. Western blot analysis showed that the expression of NF- κ B protein in U937 cells was significantly increased at 16 h and 24 h. There was no significant change in the expression of Vimentin protein after intervention of SWPS cells in LPS supernatant, the expression of N-cadherin protein in 24 h group was decreased and E-cadherin protein was increased. The expression of Vimentin protein in SW620 cells increased significantly and the expression of E-cadherin and N-cadherin protein decreased significantly at 12 h, 24 h and 36h after intervention of HP inflammatory micro-environment supernatant. The results of this experimental study indicated that *H. pylori*-induced microenvironment can promote the occurrence of EMT in SW620 cells .

Keywords *Helicobacter pylori*; inflammatory microenvironment; epithelial -mesenchymal transformation; SW620 cells

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, HP)是一种在世界范围内感染率较高的病原菌, 主要生长于人体的胃部及十二指肠的各区域内, 世界卫生组织将其定义为I级致癌物质, 约有世界一半的人口在一生中发生过感染, 并引起慢性胃炎及促进消化性溃疡和相关消化道肿瘤的发生发展^[1-2]。HP在感染人体后引起的损伤及后续的不可预知的危害是极其严重的, 因此目前迫切需要深入研究, 以便寻找更加有效的预防和诊治HP所致相关疾病的措施。

结肠癌是严重威胁人类健康的恶性肿瘤之一, 近几年来全球结肠癌的发病率呈上升趋势。结肠癌与遗传、环境和生活方式等因素有关, 目前结肠癌的病因尚未完全清楚, 因此探索结肠癌的病因具有重要临床意义。结肠癌在世界范围内是癌症死亡的主要原因, 且其不良预后主要归因于高复发率^[3]。本研究旨在探讨HP感染所致炎症微环境对SW620细胞的作用及机制, 试图阐明炎症微环境参与HP对结肠损伤或结肠癌发生、转移及治疗中的作用和机制, 为结肠癌的发生发展及诊疗提供新的依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株与HP菌株 巨噬细胞系U937细胞和

结肠癌细胞(SW620)购于武汉博士德生物技术有限公司, 本课题组培养; 培养条件: 含有10%的新鲜胎牛血清的RPMI-1640培养基和L-15培养基, 37 °C、5% CO₂培养箱中进行培养。幽门螺杆菌HPJ99标准致病株由兰州大学免疫实验室馈赠。

1.1.2 主要试剂 MIF、IL-1 β ELISA、免疫荧光FITC二抗、CCK-8试剂盒购于武汉博士德生物技术有限公司; MIF、IL-1 β 、NF- κ B引物购于生工生物工程(上海)股份有限公司; 实时荧光定量试剂盒购于北京天根生物技术有限公司; LPS购于北京索莱宝生物技术有限公司; NF- κ B、Vimentin、E-cadherin和N-cadherin兔抗人抗体及GAPDH抗体购于BioWorld公司。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 HP培养7天收集菌体, 紫外可见分光光度计测其660 nm *D*值, HP菌液 $D_{660}=1$ 约相当于 1×10^8 cfu/mL; 设置HP干预巨噬细胞系U937细胞实验组(MOI HP:U937=100:1, 8 h、16 h、24 h组)和对照组, LPS干预巨噬细胞系U937细胞实验对照组(100 ng/mL, 查询相关文献100 ng/mL LPS与细菌:细胞数=100:1); 收集上述HP和LPS干预的U937细胞炎症上清和对照组上清分别干预SW620细胞, 分为实验组(上清体积:SW620培养基体积=1:50, 12 h、24 h、36 h

组)和对照组;结合相关文献LPS处理组选择100 ng/mL浓度干预SW620细胞可作为体外炎症微环境的一个对照实验。实验比例浓度确定:结合相关文献及前期结果显示,在HP:U937=100:1、上清:SW620培养基=1:50时细胞的各种变化较为明显。

1.2.2 ELISA检测相关炎症因子 U937细胞处理方法同1.2.1,设置对照组和实验组。U937细胞在细胞培养箱中分别培养8 h、16 h、24 h后检测上清中验证因子MIF、IL-1 β 变化。

1.2.3 RT-PCR方法检测相关炎症因子基因表达 U937细胞处理方法同1.2.1,设置对照组和实验组。U937细胞在细胞培养箱中分别培养8 h、16 h、24 h离心收集细胞提取RNA后,用RT-PCR实验检测细胞中炎症因子MIF、IL-1 β 、NF- κ B基因表达变化,MIF、IL-1 β 、NF- κ B基因引物在生工生物工程(上海)股份有限公司设计,依次分别为F: 5'-GCA GAA CCG CTC CTA CAG CA-3', R: 5'-GGC TCT TAG GCG AAG GTG GA-3'; F: 5'-CTT CGA GGC ACA AGG CAC AA-3', R: 5'-TTC ACT GGC GAG CTC AGG TA-3'; F: 5'-CAC TTA TGG ACA ACT ATG AGG TCT CTG G-3', R: 5'-CTG TCT TGT GGA CAA CGC AGT GGA ATT TTA GG-3'。

1.2.4 CCK-8实验检测HP对U937细胞的毒性 U937细胞处理方法同1.2.1,设置对照组和实验组。选取对数期且活性大于90%的细胞进行实验;在450 nm下检测各孔的D值然后算出D均值,计算出各孔的细胞存活量从而获得其毒性的强弱。实验重复3次。

1.2.5 Western blot实验检测相关蛋白变化 分别收集对照组和干预组的两种细胞,加入总蛋白裂解提取液80 μ L置于冰上裂解30 min,BCA试剂盒检测蛋白浓度,SDS-PAGE进行电泳后转膜至PVDF膜上;用5%脱脂牛奶常温孵育PVDF膜2 h,随后分别孵育NF- κ B、Vimentin、E-cadherin、N-cadherin和GAPDH抗体,4 $^{\circ}$ C过夜后常温下孵育HRP标记的二抗2 h;加入ECL发光液,使用蛋白曝光仪进行蛋白显影。

1.2.6 Immunofluorescence实验检测Vimentin蛋白荧光强度变化 收集对照组和干预组的SW620细胞,提取蛋白(方法同1.2.5);12孔板进行铺板,干预完成后洗出原来的培养基后加入1 mL PBS洗涤3次,5 min/次,倒掉洗液,每孔加入在冰上预冷后的1 mL 4%多聚甲醛,然后放置在4 $^{\circ}$ C冰箱20 min,弃去多

聚甲醛,加入PBS洗涤3 min/次,每孔添加1 mL 0.5% Triton X-100,室温下孵育10 min后弃去,加PBS洗涤如上,每孔添加1 mL 5% BSA封闭溶液,常温下封闭40 min,吸出封闭液(不用洗涤);每孔滴加150 μ L Vimentin一抗(1:2 000),4 $^{\circ}$ C过夜,然后滴加FITC标记的荧光二抗室温避光孵育1 h,最后加入DAPI染液进行染色,放置在荧光倒置显微镜下分析记录结果。

1.2.7 细胞划痕实验检测SW620细胞侵袭迁移能力 6孔板培养细胞,待其长到板底面积的95%时换液进行干预细胞同时用枪头垂直划痕(细胞干预方法同1.2.1),然后分别在12 h、24 h、36 h时间点观察细胞的生长愈合程度。

1.2.8 数据分析 使用SPSS 21.0数据软件进行数据分析及Graphpad Prism 5作图;*t*检验用于两两比较,多组资料采用多因素方差分析(One-Way ANOVA),*P*<0.05表示在统计学上有意义。

2 结果

2.1 HP激活NF- κ B通路诱导炎症微环境形成

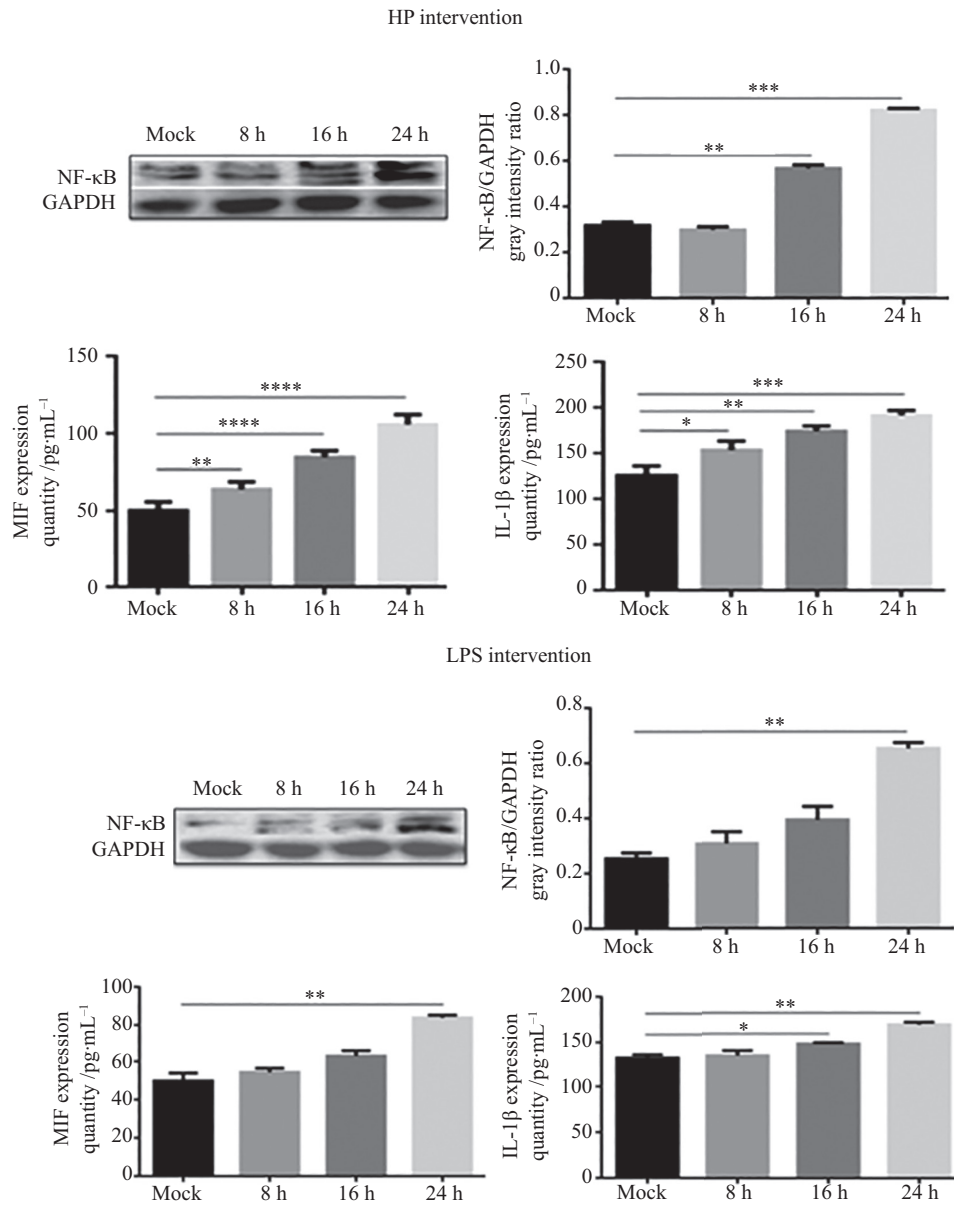
HP干预U937细胞后,Western blot结果显示,HP干预组(16 h、24 h组)NF- κ B蛋白表达量较对照Mock组都有着明显的升高(*P*<0.01),LPS干预组(24 h组)NF- κ B蛋白表达量较对照Mock组明显升高(*P*<0.01);ELISA结果显示,HP干预组MIF、IL-1 β 炎症因子的分泌量与对照Mock组相比有着显著的升高(*P*<0.05),LPS干预组(24 h组)MIF、IL-1 β 炎症因子的分泌量也较对照Mock组升高但是与HP干预组相比程度较弱。结果表明,HP干预U937细胞后可以在一定程度上活化NF- κ B通路,进而诱导炎症因子分泌量的增多从而形成一个相对的炎症微环境(图1)。

2.2 HP干预U937增强其毒性及诱导相关炎症因子基因表达量的升高

CCK-8结果显示HP处理U937细胞后,干预组(8 h、16 h、24 h组)U937细胞毒性与对照Mock组相比都有明显的增强;RT-PCR结果显示干预组细胞中(8 h、16 h、24 h组)MIF、IL-1 β 、NF- κ B基因表达量较对照Mock组有着显著的升高。以上结果揭示,HP干预U937细胞后增强了细胞毒性,诱导了U937细胞中MIF、IL-1 β 、NF- κ B炎症因子的基因表达(图2)。

2.3 LPS干预U937细胞的炎症上清对SW620细胞EMT相关蛋白的影响

LPS上清干预SW620细胞后,Western blot结果



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

图1 HP干预U937细胞后, Western blot实验检测NF-κB蛋白的表达和ELISA实验检测上清中炎症因子MIF、IL-1β的分泌
Fig.1 Western blot assay was used to detect the expression of NF-κB protein and ELISA was used to detect the secretion of inflammatory cytokines MIF and IL-1β in supernatant

显示, 干预组(24 h组) N-cadherin蛋白较对照Mock组明显减少, E-cadherin较对照Mock组有着明显的增多, 但是干预组(12 h、24 h、36 h组) Vimentin蛋白与对照Mock组相比没有明显的变化。以上结果揭示, LPS干预SW620细胞无法促进SW620细胞发生EMT(图3)。

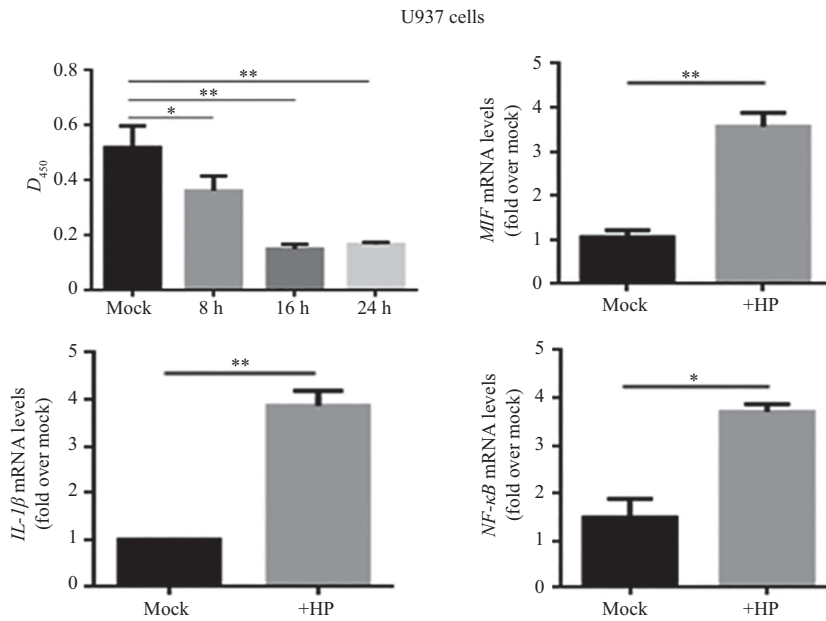
2.4 HP干预U937细胞的炎症上清对SW620细胞EMT相关蛋白的影响

HP炎症上清干预SW620细胞后, Western blot结果显示, 干预组(24 h、36 h组) Vimentin蛋白的表

达较对照Mock组有着明显的增加, E-cadherin、N-cadherin蛋白的表达与对照Mock组相比有着显著的减少; 免疫荧光实验结果显示, 干预组(12 h、24 h、36 h组) Vimentin蛋白的荧光点状聚集数量较对照Mock组有着显著的增加。以上结果表明, HP干预U937细胞诱导的炎症上清可以促进SW620细胞发生EMT(图4)。

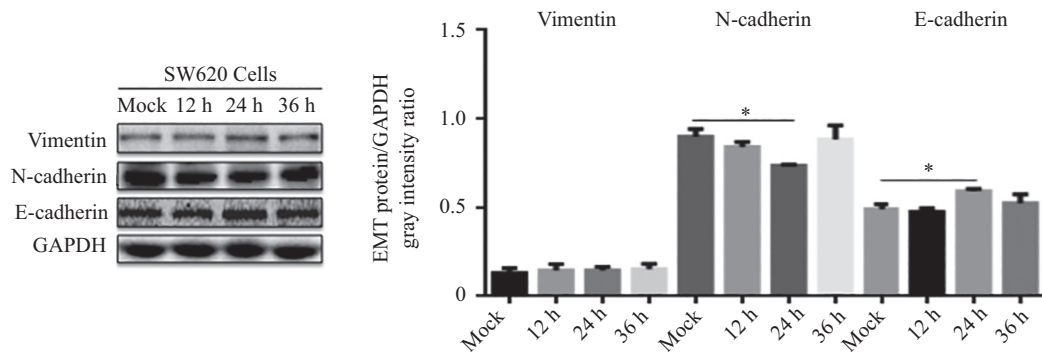
2.5 HP干预诱导的炎症上清对SW620细胞侵袭迁移的影响

HP炎症上清干预SW620细胞后, 细胞划痕实验



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

图2 HP干预U937细胞后, CCK-8实验检测HP对U937细胞的毒性和RT-PCR实验检测MIF、IL-1 β 、NF- κ B基因表达
Fig.2 CCK-8 assay was used to detect the toxicity of HP to U937 cells and RT-PCR was used to detect the expression of MIF, IL-1 β and NF- κ B mRNA



* $P < 0.05$.

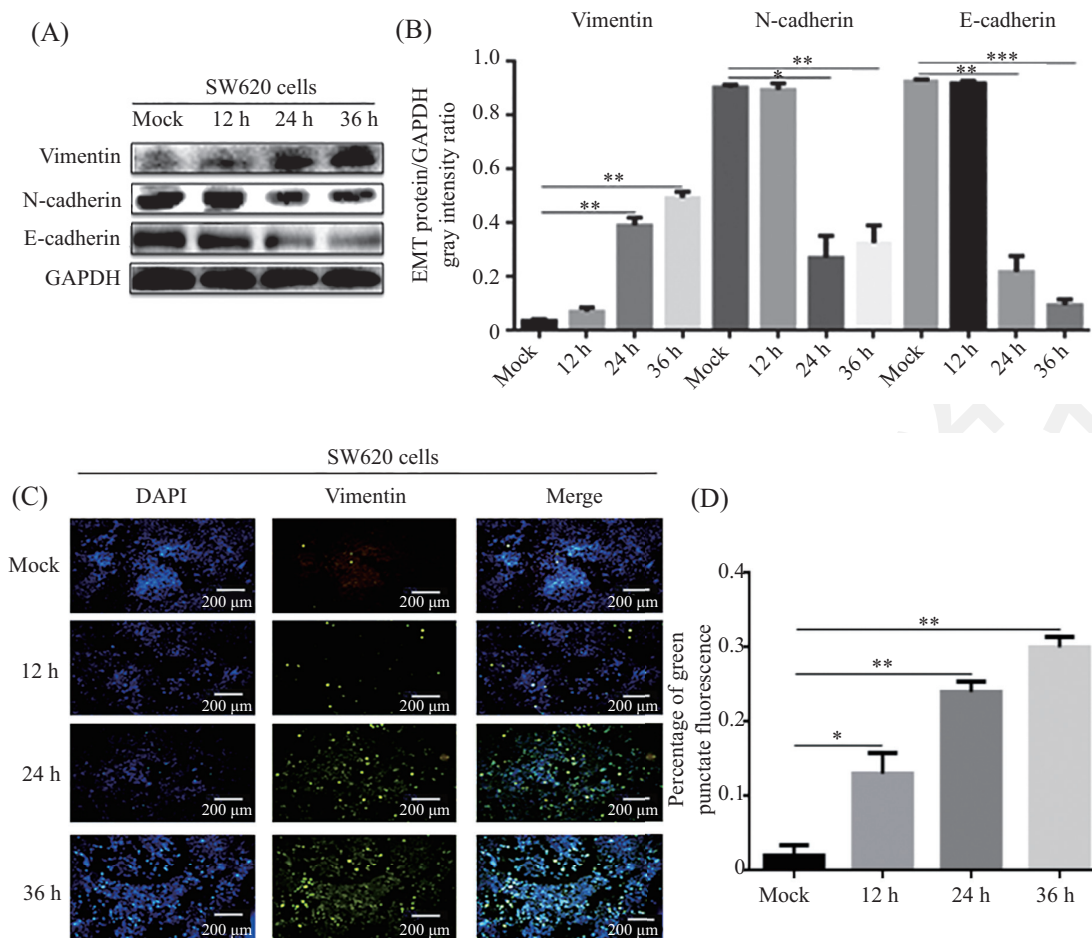
图3 LPS上清干预SW620细胞后, Western blot实验检测Vimentin、E-cadherin、N-cadherin蛋白表达
Fig.3 Western blot assay was used to detect the expression of Vimentin, E-cadherin, N-cadherin protein

显示, 炎症上清干预组与对照Mock组相比, SW620细胞的侵袭迁移能力明显增强。上述结果表明, HP干预诱导的炎症上清可以促进SW620细胞的侵袭迁移(图5)。

3 讨论

HP是一种螺旋形、微需氧、对生长条件要求十分苛刻的细菌, 大约有世界一半的人口一生中曾发生过HP感染^[2]。有研究证明, 在HP阳性胃癌患者疾病发生发展中高水平的炎症因子分泌明显与HP之

间存在中度阳性关联^[4]。同时来自人类志愿者试验、抗菌药物治疗试验和动物模型试验的最新研究表明, HP在B型胃炎的发病机制中起着病因学作用, 这与HP感染会引起炎症因子高分泌是相对应的^[5]。炎症微环境亦指肿瘤炎症微环境, 是指与肿瘤的发生和转移密切相关的慢性炎症环境; 流行病学和许多实验证据支持慢性炎症促进癌症发展和进展的观点, 炎症作为一个涉及效应细胞和介质的复杂过程很可能通过炎症多发性病变促进肿瘤进展^[6-7]。Stephanie等^[8]的文章中提到慢性炎症常与恶性肿瘤生长有



A、B: Western blot检测结果; C、D: immunofluorescence检测结果。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

A,B: the results of Western blot; C,D: the results of immunofluorescence. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

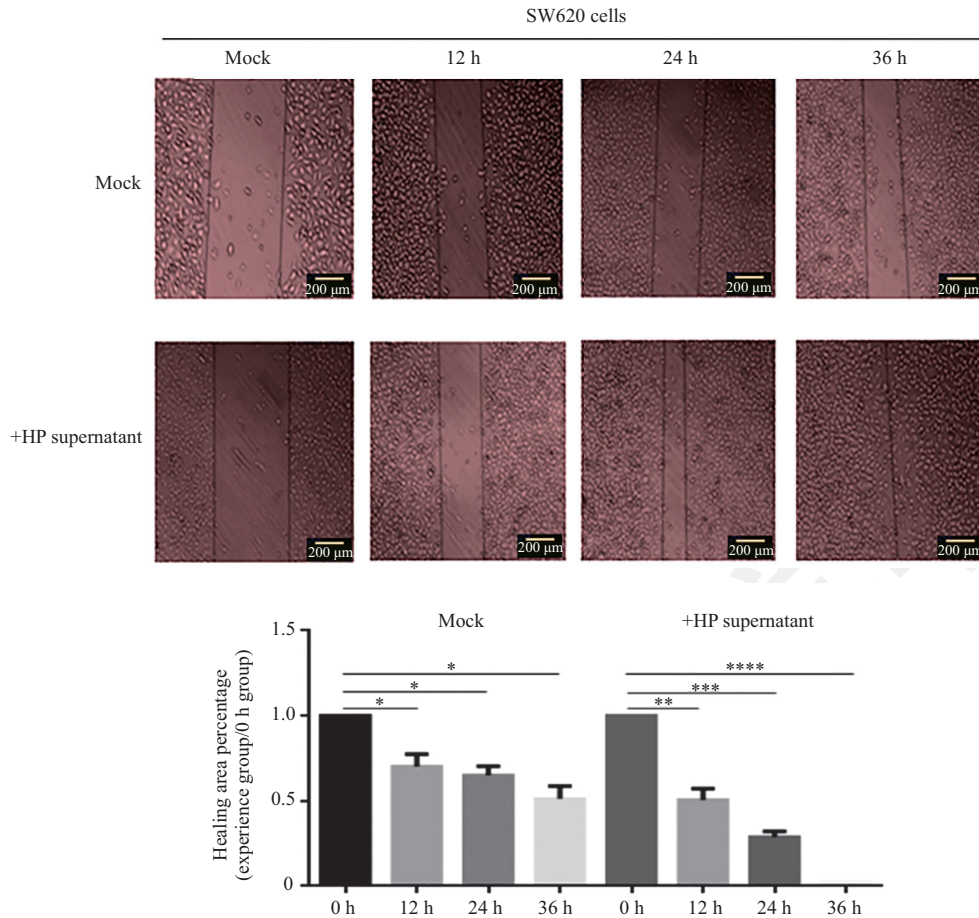
图4 HP上清干预SW620细胞后, Western blot实验检测Vimentin、E-cadherin、N-cadherin蛋白表达和 immunofluorescence实验检测Vimentin蛋白荧光强度变化

Fig.4 Western blot assay was used to detect the expression of Vimentin, E-cadherin, N-cadherin protein and immunofluorescence assay was used to detect the fluorescence intensity change of Vimentin protein

关,且在文章中报道过白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)通过增强骨髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSC)的积累来促进肿瘤进展,这与本文中HP诱导的高水平IL-1 β 能够促进SW620细胞发生EMT有着一定的类似性。本实验中用HP以100:1的比例感染U937细胞后, NF- κ B信号通路的活性被激活诱导了炎症因子MIF、IL-1 β 分泌明显增加,然而在以100 ng/mL浓度的LPS处理U937细胞后(24 h组)虽然NF- κ B信号通路的活性也有一定的激活,但是炎症因子分泌能力却没有HP处理强烈;所以本实验在HP感染U937细胞后可以形成一个炎症因子浓度比较高的炎症微环境。Spaeth等^[9]的研究指出,间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)对组织损伤部位和肿瘤微环境具有定向性,限制间充质干细

胞向肿瘤微环境的迁移可能阻止肿瘤基质形成,从而阻碍肿瘤的生长,这也在一定程度上指出了肿瘤炎症微环境对肿瘤生长的重要意义。

炎症微环境可以促进肿瘤的发生发展,但是其对肿瘤发生发展的具体机制仍有待进一步研究。有研究指出HP定植胃上皮可直接激活NF- κ B信号通路^[10];同时也有实验证明, IL-1和IL-6可以促进NF- κ B信号通路的活性从而诱导炎症^[11]。这与本研究中HP诱导的炎症可以促进NF- κ B信号通路的激活是相一致的,这就为HP感染活化NF- κ B通路提供了更有力的实验证据。在癌症前期及后续的发展中, EMT有着至关重要的作用,在Jose等^[12]的研究中也支持慢性炎症微环境是引发病理性EMT的一个至关重要的因素。转移是癌症相关死亡的主要原因,通过严格的组织



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

图5 HP上清干预SW620细胞后,细胞划痕实验检测SW620细胞侵袭迁移能力
Fig.5 Detection of invasion and migration of SW620 cells by cell scratch assay

学分析检测到在发生明显的恶性肿瘤之前,慢性炎症刺激的细胞可以早期侵入并进入血流,这种行为与EMT广泛相关^[13];这与本文中炎症微环境能够促进SW620细胞侵袭转移有着一定的研究相关性。本文用HP炎症微环境上清干预SW620细胞后,结果显示12 h、24 h、36 h时,随着时间推移SW620细胞Vimentin蛋白表达显著增加,E-cadherin和N-cadherin蛋白表达显著减少,Vimentin绿色点状聚集显著增加并可以促进其发生侵袭迁移;结合体外LPS对照实验结果显示:LPS干预U937细胞后的上清处理SW620细胞后Vimentin蛋白表达无明显变化,N-cadherin蛋白24 h组表达减少,E-cadherin蛋白增多。由结果可以得知,在LPS干预U937细胞后虽然也能诱导炎症因子的分泌但与HP干预相比明显减少,在此低浓度的炎症因子下不足以形成一个相对稳定的炎症微环境,所以在炎症因子分泌较少的情况下不能

促进SW620细胞发生EMT。上述结果说明,HP诱导的炎症微环境是可以促进SW620细胞发生EMT的。HP CagA蛋白可以以磷酸化依赖方式诱导受感染胃上皮细胞中EMT相关因子进而发生EMT和胃癌的发生^[14]。Chen等^[15]的实验揭示肿瘤坏死因子 α -诱导蛋白(tumor necrosis factor α inducing protein, Tip α)是HP分泌的一种新的致癌因子,尽管已经证实Tip α 是EMT的强诱导物,但其确切的分子机制尚不清楚^[15],且HP诱导的其他炎症因子也可能作为结直肠癌中EMT的强力诱导物^[16]。因此我们推测,HP诱导炎症微环境可以促进SW620细胞发生EMT,在我们的实验中以一定浓度的HP炎症因子上清干预SW620细胞后确实验证了能够促进EMT发生这一结论,从而进一步验证了我们的推测。

综上所述,我们用HP感染U937细胞,运用ELISA、RT-PCR、Western blot等实验方法验证了HP感

染U937细胞可以诱导炎症微环境的形成; 而后又用炎症上清干预SW620细胞, 运用免疫荧光、Western blot、划痕实验等实验方法验证了炎症微环境上清可以促进SW620细胞发生EMT以及侵袭迁移。以上实验结果表明, HP诱导的复杂的炎症微环境能够促进SW620细胞发生EMT, 接下来我们将进一步对其诱导机制作更深层次的探讨研究, 以从炎症微环境的角度为结肠癌的临床诊疗提供更多的参考。

参考文献 (References)

- 1 Pandey R, Misra V, Misra SP, Dwivedi M, Kumar A, Tiwari BK. *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2010; 11(3): 583-8.
- 2 Crowe SE. Helicobacter infection, chronic inflammation, and the development of malignancy. *Curr Opin Gastroen* 2005; 21(1): 32-8.
- 3 Yang H, Wang S, Kang YJ, Wang C, Xu YZ, Zhang Y, *et al*. Long non-coding RNA SNHG1 predicts a poor prognosis and promotes colon cancer tumorigenesis. *Oncol Rep* 2018; 40: 261-71.
- 4 Vancil A, Hillyard J, Criswell S. *Helicobacter pylori*, stains and association between, *H. pylori*, and inflammation in gastric specimens. *J Histotechnol* 2018; 41(1): 18-23.
- 5 Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. *J Pediatr Inf Dis Soc* 1990; 161(4): 626-33.
- 6 Tohme S, Sukato D, Chalhoub D, McDonald K, Zajko A, Amesur N, *et al*. Neutrophil-lymphocyte ratio is a simple and novel biomarker for prediction of survival after radioembolization for metastatic colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2015; 22(5): 1701-7.
- 7 Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002; 420: 860-7.
- 8 Bunt SK, Yang L, Sinha P, Clements VK, Leips J, Ostrand S. Reduced inflammation in the tumor microenvironment delays the accumulation of myeloid-derived suppressor cells and limits tumor progression. *Cancer Res* 2007; 67(20): 10019-26.
- 9 Spaeth E, Klopp A, Dembinski J, Andreeff M, Marini F. Inflammation and tumor microenvironments: defining the migratory itinerary of mesenchymal stem cells. *Gene Ther* 2008; 15(10): 730-8.
- 10 Feige MH, Sokolova O, Pickenhahn A, Maubach G, Naumann M. HopQ impacts the integrin $\alpha 5\beta 1$ -independent NF- κ B activation by *Helicobacter pylori* in CEACAM expressing cells. *Int J Medical Microbiol* 2018; 308(5): 527-33.
- 11 Ray A, Prefontaine KE. Physical association and functional antagonism between the p65 subunit of transcription factor NF- κ B and the glucocorticoid receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(2): 752-6.
- 12 Guo L, Li S, Zhao Y, Qian P, Ji F, Qian L, *et al*. Silencing angiotensin-like protein 4 (ANGPTL4) protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury via regulating SIRT1/NF- κ B pathway. *J Cell Physiol* 2015: 2390-402.
- 13 Yilmaz M, Christofori G. EMT, the cytoskeleton, and cancer cell invasion. *Cancer Metast Rev* 2009; 28(1/2): 15-33.
- 14 Sougleri IS, Papadakos KS, Zadik MP, Mavri M, Mentis AF, Sgouras DN. *Helicobacter pylori* CagA protein induces factors involved in the epithelial to mesenchymal transition (EMT) in infected gastric epithelial cells in an EPIYA-phosphorylation-dependent manner. *FEBS J* 2016; 283(2): 206-20.
- 15 Chen G, Tang N, Wang C, Xiao L, Yu M, Zhao L. TNF- α -inducing protein of *Helicobacter pylori* induces epithelial-mesenchymal transition (EMT) in gastric cancer cells through activation of IL-6/STAT3 signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2017; 484(2): 311-7.
- 16 Kapetanakis N, Kountouras J, Zavos C, A Stergios, George P, Venizelos I. *Helicobacter pylori* infection and colorectal carcinoma: pathologic aspects. *J Gastroin Oncol* 2012; 3(4): 377-9.