

基于SOCS3/TLR4/NF- κ B通路探讨健脾清化汤 对幽门螺杆菌诱导的胃黏膜上皮细胞损伤的影响

贺子雄¹ 孙美玉² 颜悦蓉^{3*}

(¹监利市人民医院中医科, 荆州 434000; ²监利市人民医院康复科, 荆州 434000;

³湖北文理学院附属襄阳市中心医院消化内科, 襄阳 441021)

摘要 该研究基于细胞信号转导抑制因子3(suppressor of cytokine signaling 3, SOCS3)/Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)/核因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)通路探讨健脾清化汤(Jianpi Qinghua Tang, CM)对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)诱导的胃黏膜上皮细胞损伤的影响。将正常培养的胃黏膜上皮细胞GES-1记为Control组、Hp诱导细胞损伤模型, 并根据不同处理方式将其分为Model组、CM组(120 μ g/mL CM)、CM+sh-NC组(120 μ g/mL CM+转染sh-NC)、CM+sh-SOCS3组(120 μ g/mL CM+转染sh-SOCS3)。qRT-PCR及Western blot检测SOCS3转染效率。MTT和克隆形成实验检测各组细胞增殖情况; ELISA检测各组细胞中白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的表达情况; 流式细胞仪检测各组细胞凋亡情况; Western blot检测各组细胞中Bcl-2、Bax、TLR4、NF- κ B、SOCS3蛋白的表达情况。结果显示, 与Control组相比, Model组细胞的存活率、克隆数、Bcl-2和SOCS3表达水平降低, 而细胞凋亡率以及Bax、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达水平升高($P<0.05$); 与Model组相比, CM组细胞的存活率、克隆数、Bcl-2和SOCS3表达水平升高, 而细胞凋亡率以及Bax、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达水平降低($P<0.05$); 与CM组或CM+sh-NC组相比, H-CM+sh-SOCS3组细胞的存活率、克隆数、Bcl-2和SOCS3表达水平降低, 而细胞凋亡率以及Bax、TLR4、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达水平升高($P<0.05$)。总之, CM可以抑制Hp诱导的GES-1细胞中炎症因子的分泌, 从而抑制细胞凋亡的发生, 进而减轻胃黏膜上皮细胞损伤, 其机制可能与激活SOCS3/TLR4/NF- κ B通路有关。

关键词 细胞信号转导抑制因子3/Toll样受体4/核因子- κ B通路; 健脾清化汤; 幽门螺杆菌; 胃黏膜上皮细胞; 细胞损伤

Exploring the Effect of Jianpi Qinghua Tang on *Helicobacter pylori*-Induced Damage to Gastric Mucosal Epithelial Cells based on the SOCS3/TLR4/NF- κ B Pathway

HE Zixiong¹, SUN Meiyu², YAN Yuerong^{3*}

(¹Department of Traditional Chinese Medicine, Jianli People's Hospital, Jingzhou 434000, China;

²Department of Rehabilitation, Jianli People's Hospital, Jingzhou 434000, China;

³Department of Gastroenterology, Xiangyang Central Hospital Affiliated to Hubei University of Arts and Sciences, Xiangyang 441021, China)

收稿日期: 2024-11-21

接受日期: 2025-04-30

湖北省自然科学基金(批准号: WJ2019AB008)资助的课题

*通信作者。Tel: 17786777720, E-mail: 547742681@qq.com

Received: November 21, 2024

Accepted: April 30, 2025

This work was supported by the Natural Science Foundation of Hubei Province (Grant No. WJ2019AB008)

*Corresponding author. Tel: +86-17786777720, E-mail: 547742681@qq.com

Abstract This study explores the effect of CM (Jianpi Qinghua Tang) on Hp (*Helicobacter pylori*)-induced damage to gastric mucosal epithelial cells based on the SOCS3 (suppressor of cytokine signaling 3)/TLR4 (Toll-like receptor 4)/NF- κ B (nuclear factor kappa-B) pathway. Normal cultured gastric mucosal epithelial cells GES-1 were designated as the control group, and Hp-induced cell damage model was established. They were assigned into model group, CM group (120 μ g/mL CM), CM+sh-NC group (120 μ g/mL CM+transfection of sh-NC), and CM+sh-SOCS3 group (120 μ g/mL CM+transfection of sh-SOCS3) according to different treatment methods. qRT-PCR and Western blot were applied to detect the transfection efficiency of SOCS3. MTT and colony formation assays were applied to detect cell proliferation in each group. ELISA was applied to detect the expression of IL-1 β (interleukin-1 β), IL-6, and TNF- α (tumor necrosis factor- α) of cells in various groups. Flow cytometry was applied to detect apoptosis of cells in various groups. Western blot was applied to detect the expression of Bcl-2, Bax, TLR4, NF- κ B, and SOCS3 proteins of cells in each group. The results showed that compared with the control group, the survival rate, clone number, the expression of Bcl-2, and SOCS3 in the model group reduced, and the apoptosis rate, the expression of Bax, TLR4, NF- κ B, IL-1 β , IL-6, and TNF- α increased ($P<0.05$). Compared with the model group, the survival rate, clone number, the expression of Bcl-2, and SOCS3 in the CM group increased, and the apoptosis rate, the expression of Bax, TLR4, NF- κ B, IL-1 β , IL-6, and TNF- α reduced ($P<0.05$). Compared with the CM group or CM+sh-NC group, the survival rate, clone number, the expression of Bcl-2, and SOCS3 in the H-CM+sh-SOCS3 group reduced, and the apoptosis rate, the expression of Bax, TLR4, NF- κ B, IL-1 β , IL-6, and TNF- α increased ($P<0.05$). In conclusion, CM can inhibit the secretion of inflammatory factors in Hp-induced GES-1 cells, suppress cell apoptosis, and thereby alleviate damage to gastric mucosal epithelial cells. Its mechanism may be related to the activation of the SOCS3/TLR4/NF- κ B pathway.

Keywords suppressor of cytokine signaling 3/Toll-like receptor 4/nuclear factor kappa-B pathway; Jianpi Qinghua Tang; *Helicobacter pylori*; gastric mucosal epithelial cells; cell damage

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 感染不仅直接引起胃上皮细胞 DNA 双链断裂和遗传损伤, 还通过引发持续性慢性炎症对细胞造成进一步伤害^[2]。在机体免疫应答过程中, Hp 感染可诱导白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 表达, 进而激活核因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B), 并促进 IL-6 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的产生, 导致胃部发生病理生理学变化^[3]。因此, 抑制 Hp 诱导的促炎介质和细胞因子的生成, 是减轻胃黏膜上皮细胞损伤的有效策略。一方面, Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 是胃肠道固有免疫的关键受体, 其激活能够触发 NF- κ B 信号转导, 从而加剧炎症反应^[4]。同时, Hp 感染还可导致细胞信号转导抑制因子 3 (suppressor of cytokine signaling 3, SOCS3) 表达异常, 促使胃黏膜上皮细胞持续处于炎症状态^[5]。SOCS3 作为 SOCS 家族的一员, 具有 TLR4 抑制剂的功能, 是一种重要的负调节因子, 可抑制 IL-1、TNF- α 和 IL-6 的表达, 同时也能抑制 TLR4 表达及其介导的炎症反应^[6]。因此, 调节 SOCS3/TLR4/NF- κ B 通路是

减轻胃黏膜上皮细胞损伤的一个有效途径。另一方面, 健脾清化汤 (Jianpi Qinghua Tang, CM) 的主要中药成分包括党参、茯苓、白术、黄连、大黄、蒲公英、丹参、甘草等, 对 Hp 感染具有显著的治疗效果^[7]。研究报道, CM 可以通过调控 HSP70/NF- κ B 信号通路, 抑制 NF- κ B 表达及炎症反应, 从而减轻胃组织损伤, 保护胃黏膜^[6]。此外, CM 还能降低 TLR4、NF- κ B 水平, 同时升高 SOCS3 表达水平, 共同改善胃组织炎症微环境, 减少细胞凋亡, 减缓胃炎疾病进程^[8]。然而, CM 是否可以通过调节 SOCS3/TLR4/NF- κ B 通路, 抑制 Hp 诱导的 GES-1 细胞中炎症因子的分泌, 从而抑制细胞凋亡的发生, 进而减轻胃黏膜上皮细胞损伤, 仍需进一步验证。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

GES-1 细胞 (货号: IM-H084) 购自厦门逸漠生物科技有限公司; RPMI 1640 培养基 (货号: SH30011) 购自美国 HyClone 公司; CM 购自首都医科大学附属北京中医

医院药剂科, CM煎煮浓缩至含生药2.45 g/mL, 4 °C保存; Hp(菌种编号: ATCC 43526)购自美国ATCC生物资源中心; Annexin V Alexa Fluor488/PI凋亡检测试剂盒(货号: CA1040)购自北京索莱宝科技有限公司; SDS-PAGE凝胶制备试剂盒(货号: CW0022M)和高灵敏度ECL化学发光检测试剂盒(货号: CW0049S)购自江苏康为世纪生物科技有限公司; 人IL-1β ELISA试剂盒(货号: CB10347-Hu)、IL-6 ELISA试剂盒(货号: CB10373-Hu)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α) ELISA试剂盒(货号: CB11762-Hu)购自上海科艾博生物技术有限公司; Bcl-2二抗(货号: AF6139)、Bax二抗(货号: AF0120)、TLR4二抗(货号: AF7017)、NF-κB二抗(货号: AF5006)、SOCS3二抗(货号: DF6133)、GAPDH二抗(货号: AF7021)、山羊抗兔二抗(货号: S0001)及山羊抗鼠二抗(货号: S0002)购自美国Affinity公司; 多功能酶标仪(型号: SpectraMax M)购自上海美谷分子仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 CM浓度的筛选 本研究已经过湖北文理学院附属襄阳市中心医院伦理委员会审批(2024-071091), 并在获得卫生行政部门认证后在襄阳市中心医院动物实验中心开展实验。复苏GES-1细胞, 并添加RPMI 1640完全培养基, 在细胞培养箱(37 °C、5% CO₂)中培养。取对数生长期的GES-1细胞接种于6孔板(3×10⁵/孔)中, 以感染复数100向细胞中加入Hp活菌悬液^[9], 同时加入0、15、30、60、120、240 μg/mL CM, 处理48 h。采用MTT实验检测不同浓度CM对Hp诱导后的GES-1细胞存活率的影响。每孔加入10 μL MTT溶液, 37 °C孵育4 h, 二甲基亚砷终止反应, 在多功能酶标仪490 nm处检测吸光度(D₄₉₀)值, 计算细胞存活率。

1.2.2 细胞分组 将常规培养的GES-1细胞记为Control组, 以感染复数100向细胞中加入Hp活菌悬液诱导细胞损伤, 并将其记为Model组, 在细胞损伤后再使用含终浓度120 μg/mL的CM培养液处理, 将

其记为CM组; 在GES-1细胞融合30%~40%时, 加入含sh-NC、sh-SOCS3的无血清培养液, 48 h后进行细胞损伤模型构建, 并使用含120 μg/mL的CM培养液培养, 分别将其记为CM+sh-NC组、CM+sh-SOCS3组。

1.2.3 qRT-PCR检测SOCS3 mRNA的表达情况 提取细胞中总RNA, 并进行qRT-PCR。引物见表1。采用2^{-ΔΔCt}方法计算SOCS3 mRNA的相对表达水平。

1.2.4 MTT和克隆形成实验检测Hp诱导后的GES-1细胞的增殖情况 MTT: 在96孔板中接种GES-1细胞(3×10⁴/孔), 并根据前述的1.2.2中细胞分组进行操作。使用1.2.1的MTT实验技术来估算细胞的存活率。

克隆形成实验: 在6孔板中接种GES-1细胞(1×10³/孔), 观察到克隆后, 在室温条件下使用细胞固定液进行固定(4%多聚甲醛, 20 min)和0.1%结晶紫染色(20 min)观察。进行拍照记录, 并对细胞克隆数量进行统计。

1.2.5 ELISA法检测Hp诱导后的GES-1细胞中IL-1β、IL-6、TNF-α的表达情况 使用6孔板培养各组GES-1细胞, 并在细胞密度约为10⁶/mL时收集各组细胞培养液1.5 mL, 4 °C、1 000 ×g离心10 min, 保存上清液。按照ELISA说明书进行测试, 并计算细胞中IL-1β、IL-6、TNF-α浓度。

1.2.6 流式细胞仪检测Hp诱导后的GES-1细胞的凋亡 将GES-1细胞接种到6孔板(3×10⁵/孔)上进行培养。应用试剂盒进行检测, 并在流式细胞仪上对细胞凋亡率进行分析。

1.2.7 Western blot检测Hp诱导后的GES-1细胞中Bcl-2、Bax、TLR4、NF-κB、SOCS3蛋白的表达情况 使用裂解液提取GES-1细胞中的总蛋白, 并利用蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。使用SDS-PAGE电泳、分离, 并将其转移到PVDF膜上。在用5%的脱脂奶粉进行1 h的室温封闭后, 使用Bcl-2(1:1 000)、Bax(1:2 000)、TLR4(1:1 000)、NF-κB(1:1 000)、SOCS3(1:1 000)和GAPDH(1:2 000)一抗4 °C孵育过

表1 qRT-PCR引物序列
Table 1 Sequences of qRT-PCR primers

基因	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
Gene	Upstream primers (5'→3')	Downstream primer (5'→3')
SOCS3	GTC ACC CAC AGC AAG TTT CC	TCA CTG CGC TCC AGT AGA AG
GAPDH	GCA CCG TCA AGG CTG AGA A	ATG ACG AAC ATG GGG GCA TC

夜。在常温条件下,与二抗(1:5 000)进行1 h的孵育后,使用ECL化学发光液避光显影(25 °C、1 min),然后通过凝胶成像系统进行曝光和记录,使用ImageJ软件分析条带灰度值,以GAPDH进行归一化处理,计算蛋白质的相对表达量。

1.3 统计与分析

采用SPSS 26.0软件进行数据统计分析,结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用单因素方差分析进行多组比较,采用SNK-*q*检验进一步两两比较。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CM浓度的筛选

与0 $\mu\text{g/mL}$ CM对Hp诱导后的GES-1细胞的存活率相比,15 $\mu\text{g/mL}$ CM对Hp诱导后的GES-1细胞存活率影响不明显;30、60、120、240 $\mu\text{g/mL}$ CM依次提高Hp诱导后的GES-1细胞存活率($P < 0.05$)。而

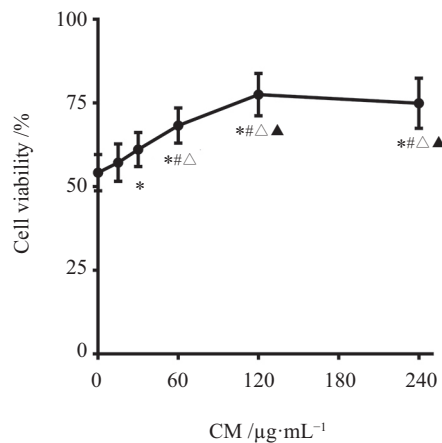
与120 $\mu\text{g/mL}$ CM对Hp诱导后的GES-1细胞的存活率相比,240 $\mu\text{g/mL}$ CM对Hp诱导后的GES-1细胞存活率影响不明显。见图1。因此,选取120 $\mu\text{g/mL}$ 为后续实验CM组使用浓度。

2.2 SOCS3的转染效率

qRT-PCR及Western blot结果显示,与Control组相比,Model组细胞中SOCS3 mRNA及蛋白表达水平降低($P < 0.05$);与Model组相比,CM组细胞中SOCS3 mRNA及蛋白表达水平升高($P < 0.05$);与CM组或CM+sh-NC相比,CM+sh-SOCS3组细胞中SOCS3 mRNA及蛋白表达水平降低($P < 0.05$)。见表2和图2。

2.3 CM对Hp诱导后的GES-1细胞增殖的影响

与Control组相比,Model组细胞的存活率、克隆数减少($P < 0.05$);与Model组相比,CM组细胞的存活率、克隆数增加($P < 0.05$);与CM组或CM+sh-NC相比,CM+sh-SOCS3组细胞的存活率、克隆数减少($P < 0.05$)。见图3和表3。



$n=6$; * $P < 0.05$, 与0 $\mu\text{g/mL}$ 相比; # $P < 0.05$, 与15 $\mu\text{g/mL}$ 相比; $\Delta P < 0.05$, 与30 $\mu\text{g/mL}$ 相比; $\blacktriangle P < 0.05$, 与60 $\mu\text{g/mL}$ 相比。

$n=6$; * $P < 0.05$ compared with 0 $\mu\text{g/mL}$; # $P < 0.05$ compared with 15 $\mu\text{g/mL}$; $\Delta P < 0.05$ compared with 30 $\mu\text{g/mL}$; $\blacktriangle P < 0.05$ compared with 60 $\mu\text{g/mL}$.

图1 不同浓度CM处理对Hp诱导后的GES-1细胞存活率的影响

Fig.1 Effect of different concentrations of CM on the survival rate of GES-1 cells after Hp induction

表2 SOCS3的转染效率

Table 2 Transfection efficiency of SOCS3

组别 Groups	SOCS3 mRNA	SOCS3蛋白 SOCS3 protein
Control	1.01±0.10	1.16±0.12
Model	0.48±0.05*	0.57±0.05*
CM	0.74±0.07 [#]	0.85±0.09 [#]
CM+sh-NC	0.72±0.08	0.84±0.08
CM+sh-SOCS3	0.53±0.05 Δ $\blacktriangle$	0.70±0.07 Δ $\blacktriangle$

$n=6$; * $P < 0.05$, 与control组相比; # $P < 0.05$, 与model组相比; $\Delta P < 0.05$, 与CM组相比; $\blacktriangle P < 0.05$, 与CM+sh-NC组相比。

$n=6$; * $P < 0.05$ compared with control group; # $P < 0.05$ compared with model group; $\Delta P < 0.05$ compared with CM group; $\blacktriangle P < 0.05$ compared with CM+sh-NC group.

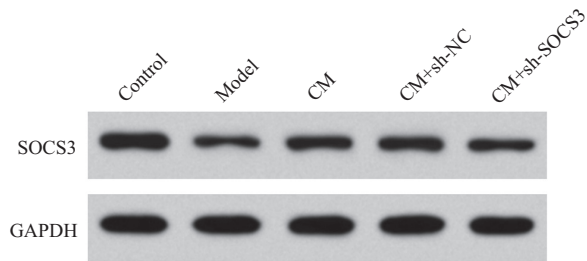


图2 Western blot检测SOCS3蛋白表达

Fig.2 Western blot assay for SOCS3 protein expression

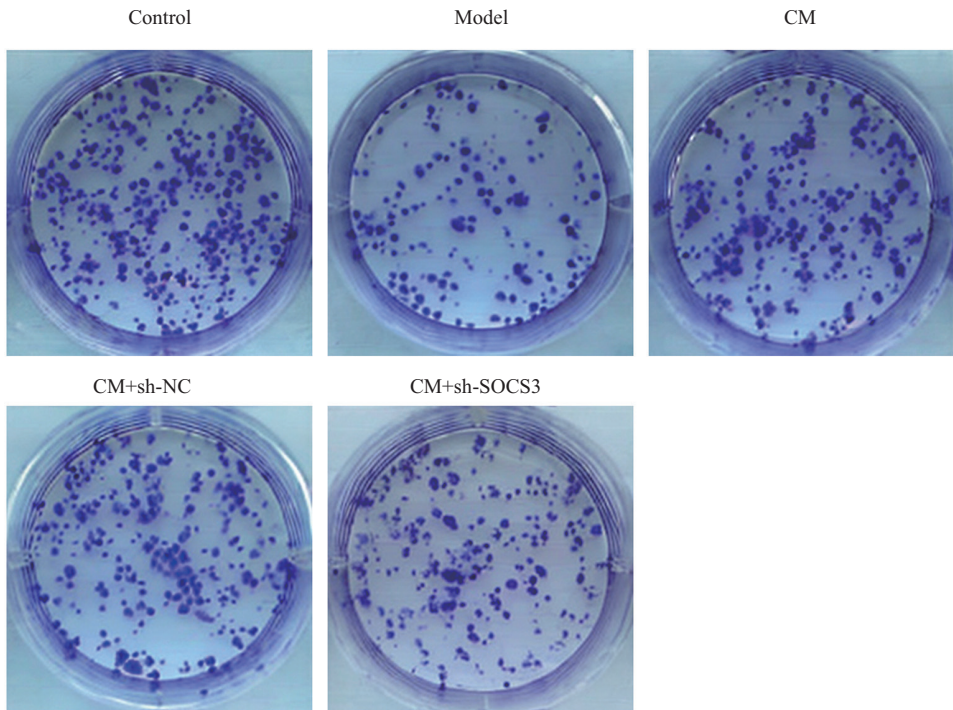


图3 克隆形成实验检测细胞的增殖

Fig.3 Clonogenic assay for detecting cell proliferation

表3 CM对Hp诱导后的GES-1细胞增殖的影响

Table 3 The effect of CM on the proliferation of GES-1 cells induced by Hp

组别 Groups	存活率/% Survival rate /%	克隆数 Number of clones
Control	100.00±0.00	141.36±10.14
Model	50.46±4.78*	71.59±8.01*
CM	79.87±6.99 [#]	115.47±8.55 [#]
CM+sh-NC	78.34±7.80	113.54±9.33
CM+sh-SOCS3	64.87±6.4 [△] ▲	92.47±8.55 [△] ▲

n=6; **P*<0.05, 与control组相比; [#]*P*<0.05, 与model组相比; [△]*P*<0.05, 与CM组相比; ▲*P*<0.05, 与CM+sh-NC组相比。
n=6; **P*<0.05 compared with control group; [#]*P*<0.05 compared with model group; [△]*P*<0.05 compared with CM group; ▲*P*<0.05 compared with CM+sh-NC group.

2.4 CM对Hp诱导后的GES-1细胞中IL-1β、IL-6、TNF-α表达的影响

与Control组相比, Model组细胞中IL-1β、IL-6、

TNF-α表达水平升高(*P*<0.05); 与Model组相比, CM组细胞中IL-1β、IL-6、TNF-α表达水平降低(*P*<0.05); 与CM组或CM+sh-NC相比, CM+sh-SOCS3组细胞中

表4 CM对Hp诱导后的GES-1细胞中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达水平的影响Table 4 The effects of CM on the expression of IL-1 β , IL-6, and TNF- α in GES-1 cells induced by Hp

组别 Groups	白细胞介素-1 β /ng·L ⁻¹ IL-1 β /ng·L ⁻¹	白细胞介素-6/ng·L ⁻¹ IL-6 /ng·L ⁻¹	肿瘤坏死因子- α /ng·L ⁻¹ TNF- α /ng·L ⁻¹
Control	11.53 $\pm$ 1.15	26.76 $\pm$ 2.68	33.78 $\pm$ 3.36
Model	80.21 $\pm$ 7.34*	150.52 $\pm$ 9.06*	212.63 $\pm$ 15.26*
CM	43.88 $\pm$ 3.39 [#]	90.11 $\pm$ 5.97 [#]	126.51 $\pm$ 7.65 [#]
CM+sh-NC	45.76 $\pm$ 4.58	87.28 $\pm$ 6.31	125.76 $\pm$ 8.88
CM+sh-SOCS3	64.88 $\pm$ 6.39 Δ [▲]	123.11 $\pm$ 9.97 Δ [▲]	171.51 $\pm$ 12.65 Δ [▲]

$n=6$; * $P<0.05$, 与control组相比; [#] $P<0.05$, 与model组相比; Δ $P<0.05$, 与CM组相比; [▲] $P<0.05$, 与CM+sh-NC组相比。

$n=6$; * $P<0.05$ compared with control group; [#] $P<0.05$ compared with model group; Δ $P<0.05$ compared with CM group; [▲] $P<0.05$ compared with CM+sh-NC group.

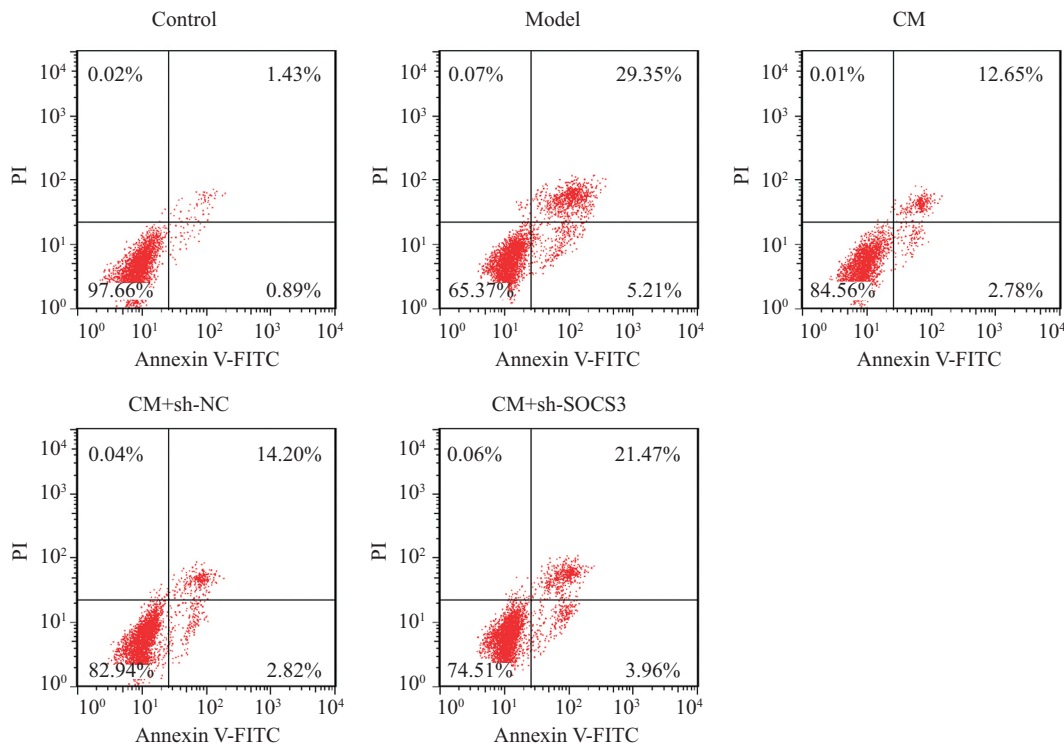


图4 流式细胞仪检测细胞凋亡

Fig.4 Flow cytometry detection of cell apoptosis

IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达水平升高($P<0.05$)。见表4。

2.5 CM对Hp诱导后的GES-1细胞凋亡的影响

与Control组相比, Model组细胞的凋亡率升高($P<0.05$); 与Model组相比, CM组细胞的凋亡率降低($P<0.05$); 与CM组或CM+sh-NC相比, CM+sh-SOCS3组细胞的凋亡率升高($P<0.05$)。见图4和表5。

2.6 CM对Hp诱导的GES-1细胞中Bcl-2、Bax、TLR4、NF- κ B、SOCS3表达水平的影响

与Control组相比, Model组细胞中Bcl-2、SOCS3表达水平降低, 而Bax、TLR4、NF- κ B表达水平升高($P<0.05$); 与Model组相比, CM组细胞

中Bcl-2、SOCS3表达水平升高, 而Bax、TLR4、NF- κ B表达水平降低($P<0.05$); 与CM组CM+sh-NC组相比, CM+sh-SOCS3组细胞中Bcl-2、SOCS3表达水平降低, 而Bax、TLR4、NF- κ B表达水平升高($P<0.05$)。见图5和表6。

3 讨论

大多数关于Hp致病性及其分子机制的证据是在胃癌细胞系研究获得的, 虽然这些细胞系有诸多优点, 但它们不能完全代表Hp感染的胃黏膜中发生的情况^[10]。传统的细胞系仍被视为一种方便的应用系

表5 CM对Hp诱导后的GES-1细胞凋亡率的影响

Table 5 The effect of CM on the apoptosis rate of GES-1 cells induced by Hp

组别 Groups	凋亡率/% Apoptosis rate /%
Control	2.32±0.23
Model	34.56±3.26*
CM	15.43±1.54 [#]
CM+sh-NC	17.02±1.85
CM+sh-SOCS3	25.43±2.54 ^{△▲}

$n=6$; * $P<0.05$, 与control组相比; [#] $P<0.05$, 与model组相比; [△] $P<0.05$, 与CM组相比; [▲] $P<0.05$, 与CM+sh-NC组相比。
 $n=6$; * $P<0.05$ compared with control group; [#] $P<0.05$ compared with model group; [△] $P<0.05$ compared with CM group; [▲] $P<0.05$ compared with CM+sh-NC group.

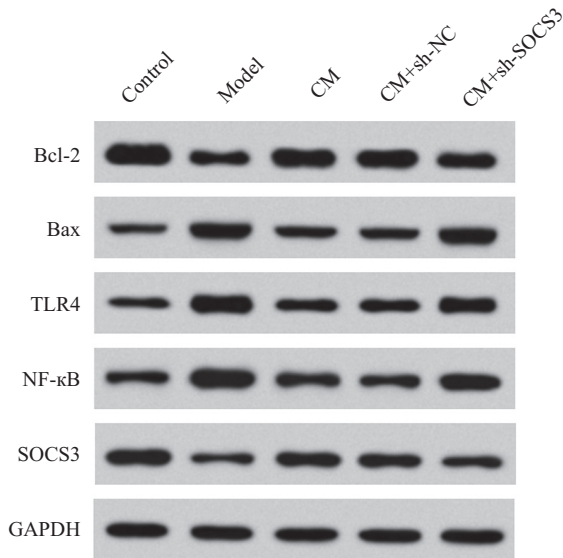


图5 Western blot检测细胞中Bcl-2、Bax、TLR4、NF-κB、SOCS3蛋白表达情况

Fig.5 Western blot was used to detect the protein expression levels of Bcl-2, Bax, TLR4, NF-κB and SOCS3 in the cells

表6 CM对Hp诱导后的GES-1细胞中Bcl-2、Bax、TLR4、NF-κB、SOCS3表达水平的影响

Table 6 The effects of CM on the expression of Bcl-2, Bax, TLR4, NF-κB and SOCS3 in GES-1 cells induced by Hp

组别 Groups	Bcl-2	Bax	TLR4	NF-κB	SOCS3
Control	1.51±0.15	0.47±0.05	0.59±0.07	0.82±0.08	1.27±0.13
Model	0.64±0.06*	1.18±0.12*	1.43±0.14*	1.65±0.17*	0.48±0.06*
CM	1.30±0.12 [#]	0.55±0.06 [#]	0.67±0.07 [#]	0.89±0.09 [#]	1.10±0.11 [#]
CM+sh-NC	1.27±0.13	0.56±0.07	0.69±0.06	0.90±0.10 ^{#△}	1.12±0.12 ^{#△}
CM+sh-SOCS3	0.82±0.08 ^{△▲}	1.00±0.10 ^{△▲}	1.27±0.13 ^{△▲}	1.39±0.14 ^{△▲}	0.75±0.08 ^{△▲}

$n=6$; * $P<0.05$, 与control组相比; [#] $P<0.05$, 与model组相比; [△] $P<0.05$, 与CM组相比; [▲] $P<0.05$, 与CM+sh-NC组相比。
 $n=6$; * $P<0.05$ compared with control group; [#] $P<0.05$ compared with model group; [△] $P<0.05$ compared with CM group; [▲] $P<0.05$ compared with CM+sh-NC group.

统, 例如用来筛选具有潜在治疗活性的化合物和对发病机制的概念验证, GES-1细胞已被用于测试潜在的抗胃炎药物^[11]。此外, 有报道在GES-1细胞中研究了Hp对基因组不稳定性 and 癌基因表达的影响^[12-13]。然

而, 对于该细胞系在炎症刺激和病原体反应中所触发通路的研究还不够完善。
CM是以辨证论治为基本准则配伍而成, 并以各种药材配合而发挥疗效的方剂。其中, 白术可健

脾燥湿、益气生血并加强巨噬细胞吞噬作用以促进机体抗感染;茯苓则有健脾利湿之功;甘草能补气健脾,解毒,且对诸药均有调和作用,同时发挥保护胃黏膜屏障功效;丹参具有行气活血的作用,可改善胃黏膜血运,促进胃壁创伤的修复和加强黏膜屏障功能;黄连、大黄、蒲公英则有清热解毒的作用^[14]。这几味药的配伍,共奏健脾益气,扶正祛邪之功。研究报道,CM不仅可以抑制Hp的生长,还可通过干预HSP70/NF- κ B信号通路,抑制炎症反应,减轻Hp相关性胃炎大鼠胃黏膜的损伤^[7,15]。在本研究中,CM对Hp诱导的GES-1细胞的炎症反应、凋亡均有明显的改善作用。但CM可以抑制Hp诱导的GES-1炎症反应及凋亡的作用机制尚不清楚。

TLR4属于模式识别受体的成员,在识别入侵的病原微生物和诱导宿主防御的固有免疫应答中发挥关键作用^[16]。其不仅可以导致树突状细胞的成熟以及辅助性T细胞1(helper T cells 1, Th1)和Th2的分化,还可以诱导巨噬细胞向M1表型分化,激活下游NF- κ B,产生促炎细胞因子^[17]。然而,NF- κ B是一种核转录因子,在炎症损伤、免疫反应和细胞凋亡中发挥重要作用^[18]。此外,SOCS3可负性调控TLR4信号通路,从而抑制NF- κ B活化,最终抑制细胞凋亡^[6]。王优等^[19]研究证明,SOCS3可通过促进TLR4/NF- κ B信号通路的激活,上调高糖诱导的大鼠系膜细胞炎症因子表达,加重炎症反应。此外,临床研究显示,在Hp阳性胃炎患者中,TLR4、NF- κ B及促炎因子表达水平升高^[20]。然而,上调SOCS3的表达,能够直接降低TLR4水平,减轻相关的炎症反应^[21]。正如本研究中,Hp诱导的GES-1细胞中,SOCS3表达量减少,TLR4、NF- κ B表达量增多,促炎因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 分泌增多。进一步实验,CM可上调SOCS3表达,降低TLR4、NF- κ B水平,减少炎症因子分泌,抑制细胞凋亡,减轻Hp诱导的细胞损伤,而敲低SOCS3可逆转上述变化。与ATWA等^[22]报道相似,顺铂可致大鼠产生氧化应激、炎症反应和肺损伤,但坎地沙坦通过上调SOCS3表达,抑制TLR4/NF- κ B信号通路,抑制氧化应激反应的发生以及炎症标志物的表达,从而减轻顺铂诱导的肺损伤。结果提示,CM可能是通过上调SOCS3表达,抑制TLR4/NF- κ B表达,从而抑制Hp诱导的GES-1细胞中炎症因子的分泌及细胞凋亡的发生,进而减轻胃黏膜上皮细胞损伤。

综上所述,CM可抑制Hp诱导的胃黏膜上皮细

胞炎症反应及细胞凋亡,其机制可能与上调SOCS3表达,进而降低TLR4、NF- κ B表达水平有关。虽然细胞层面的验证提供了重要的初步数据,但生物体内的复杂环境可能会对研究结果产生不同影响。因此,为了进一步深入了解这一机制的实际效果和潜在应用价值,仍需要在动物模型或临床试验中进行探讨。

参考文献 (References)

- [1] LIM N R, CHUNG W C. *Helicobacter pylori*-associated chronic atrophic gastritis and progression of gastric carcinogenesis [J]. Korean J Gastroenterol, 2023, 82(4): 171-9.
- [2] SALVATORI S, MARAFINI I, LAUDISI F, et al. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: pathogenetic mechanisms [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(3): 2895.
- [3] MAUBACH G, VIETH M, BOCCCELLATO F, et al. *Helicobacter pylori*-induced NF- κ B: trailblazer for gastric pathophysiology [J]. Trends Mol Med, 2022, 28(3): 210-22.
- [4] GUO Y, ZHOU K, ZHUANG X, et al. CDCA7-regulated inflammatory mechanism through TLR4/NF- κ B signaling pathway in stomach adenocarcinoma [J]. Biofactors, 2021, 47(5): 865-78.
- [5] JAFARZADEH A, JAFARZADEH Z, NEMATI M, et al. The interplay between *Helicobacter pylori* and suppressors of cytokine signaling (SOCS) molecules in the development of gastric cancer and induction of immune response [J]. Helicobacter, 2024, 29(3): e13105.
- [6] ZHU G Q, JEON S H, LEE K W, et al. Electric stimulation hyperthermia relieves inflammation via the suppressor of cytokine signaling 3-toll like receptor 4 pathway in a prostatitis rat model [J]. World J Mens Health, 2020, 38(3): 359-69.
- [7] 刘婉琼, 董礼刚, 尤佳, 等. 健脾清化汤对幽门螺杆菌相关性胃炎大鼠胃黏膜HSP70/NF- κ B信号通路的影响[J]. 中华中医药杂志(LIU W Q, DONG L J, YOU J, et al. Effects of Jianpi Qinghua Decoction on HSP70/NF- κ B signal pathway of gastric mucosa in rats with *Helicobacter pylori*-associated gastritis [J]. China J Tradit Chin Med Pharm), 2021, 36(8): 4969-72.
- [8] 郑晓佳, 陈苹苹, 刘阳, 等. 加味当归芍药散对慢性萎缩性胃炎大鼠SOCS3/TLR4信号通路的影响[J]. 中国中药杂志(ZHENG X J, CHEN P P, LIU Y, et al. Effect of modified Danggui Shaoyao Powder on SOCS3/TLR4 signaling pathway in rats with chronic atrophic gastritis [J]. China J Chin Mater Med), 2022, 47(15): 4128-35.
- [9] 刘璇, 耿乐, 冯小可, 等. 猪苓多糖对Hp诱导胃黏膜上皮细胞炎症的保护作用[J]. 医学研究生学报(LIU X, GENG L, FENG X K, et al. Protective effect and mechanism of *Polyporus umbellatus* polysaccharide on Hp-induced gastric mucosal epithelial cell inflammation [J]. J Med Postgrad), 2022, 35(6): 568-74.
- [10] SEIDLITZ T, KOO B K, STANGE D E. Gastric organoids: an *in vitro* model system for the study of gastric development and road to personalized medicine [J]. Cell Death Differ, 2021, 28(1): 68-83.
- [11] MARTINELLI G, FUMAGALLI M, PIAZZA S, et al. Investigating the molecular mechanisms underlying early response to inflammation and *Helicobacter pylori* infection in human gastric

- epithelial cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(20): 15147.
- [12] ZHAO S, THAKUR M, KLATTENHOFF A W, et al. Aberrant DNA polymerase beta enhances *H. pylori* infection induced genomic instability and gastric carcinogenesis in mice [J]. *Cancers*, 2019, 11(6): 843.
- [13] WANG J, YAO Y, ZHANG Q, et al. Inflammatory responses induced by *Helicobacter pylori* on the carcinogenesis of gastric epithelial GES 1 cells [J]. *Int J Oncol*, 2019, 54(6): 2200-10.
- [14] 董礼刚, 张会存, 姬莉, 等. 健脾清化汤对甲硝唑耐药幽门螺杆菌体外生长及菌体内甲硝唑积聚影响研究[J]. 北京中医药(DONG L G, ZHANG H C, JI L, et al. Effect of Jianpi Qinghua Decoction on the growth of metronidazole-resistant *Helicobacter pylori* in vitro and the accumulation of metronidazole [J]. *Beijing J Tradit Chin Med*), 2021, 40(4): 374-7.
- [15] 董礼刚, 汪红兵, 张会存, 等. 健脾清化汤对甲硝唑耐药幽门螺杆菌外排基因 $hefABC$ 表达的影响[J]. 西部中医药(DONG L G, WANG H B, ZHANG H C, et al. Effects of Jianpi Qinghua Tang on the expressions of metronidazole resistance *Helicobacter pylori* genes $hefABC$ [J]. *West J Tradit Chin Med*), 2022, 35(12): 56-9.
- [16] KHANMOHAMMADI S, REZAEI N. Role of toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19 [J]. *J Med Virol*, 2021, 93(5): 2735-9.
- [17] YU C, WANG D, YANG Z, et al. Pharmacological effects of polyphenol phytochemicals on the intestinal inflammation via targeting TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(13): 6939.
- [18] JIMI E, FEI H, NAKATOMI C. NF- κ B signaling regulates physiological and pathological chondrogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(24): 6275.
- [19] 王优, 肖玲, 尹青桥, 等. SOCS3通过TLR4/NF- κ B通路促进高糖诱导的大鼠系膜细胞炎症因子表达[J]. 现代免疫学(WANG Y, XIAO L, YIN Q Q, et al. SOCS3 promotes the high glucose-induced inflammatory factors expression in rat mesangial cells through TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *Curr Immunol*), 2024, 44(4): 316-22.
- [20] ZHANG H, LIU H. Mechanism of Weiwei granules in the treatment of chronic active *Helicobacter pylori* gastritis with atrophy based on the TLR4/NF- κ B/COX-2 inflammatory signaling pathway [J]. *Histol Histopathol*, 2024, 39(6): 761-9.
- [21] LIU Y, ZHANG M, ZENG L, et al. Wogonin upregulates SOCS3 to alleviate the injury in diabetic nephropathy by inhibiting TLR4-mediated JAK/STAT/AIM2 signaling pathway [J]. *Mol Med*, 2024, 30(1): 78.
- [22] ATWA A M, ABD EL-GHAFAR O A M, HASSANEIN E H M, et al. Candesartan attenuates cisplatin-induced lung injury by modulating oxidative stress, inflammation, and TLR-4/NF- κ B, JAK1/STAT3, and Nrf2/HO-1 signaling [J]. *Pharmaceuticals*, 2022, 15(10): 1222.