

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2023 年 4 月 28 日 第 31 卷 第 8 期 (Volume 31 Number 8)



8 / 2023

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议、开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。



文献综述

- 299 HBV慢性感染诱导的染色体超倍化及靶向治疗策略

施旭佳, 尧晨光, 李涵砾, 魏艳红, 胡康洪

基础研究

- 307 长链非编码RNA PVT1诱导直肠癌细胞增殖、抑制凋亡并通过上调Atg5诱导其自噬

朱渊东, 刘海源, 雷鑫明, 彭雪强

临床研究

- 316 代谢相关脂肪性肝病基于中国居民膳食指南的个体化干预研究

贺登花, 张勇湛, 徐亮, 张颖, 裴佳佳, 闫忠芳

- 326 微生态制剂联合二甲双胍在T2DM伴IBS中的应用效果分析

陈秀梅, 雷旭伟, 吴筱芬

临床实践

- 334 芍药苷通过调控巨噬细胞活性抗幽门螺杆菌作用及其机制研究

徐微, 徐建光, 何雪云, 林小花

- 340 国产内镜新光学染色技术对直径小于2 cm结直肠息肉病变的临床应用价值

岳倩茹, 林芳

消 息

- 315 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
325 《代谢相关脂肪性肝病肝外并发症》书讯
333 《世界华人消化杂志》正文要求
346 《世界华人消化杂志》修回稿须知

封面故事

朱传武, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 苏州市第五人民医院(苏州大学附属传染病医院)感染、肝病科。江苏省肝病临床重点专科、苏州市传染病重点学科、苏州市肝炎重点专科学术带头人。主要从事各类肝病、感染病的临床、教学和科研工作。在国家、省、市级肝病和感染病学学会、协会担任一定的学术职务。主持国家自然科学基金、省级和市级科研课题20余项, 获得20余项省、市级科技奖励, 在国内外学术期刊发表论文140余篇, 其中SCI论文40篇。

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 郭旭; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2023-04-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

共同主编

党双锁, 博士, 教授, 研究员, 主任医师, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

郭晓钟, 博士, 教授, 110840, 辽宁省沈阳市, 北部战区总医院消化内科

霍丽娟, 博士, 主任医师, 030001, 山西省太原市, 山西医科大学第一医院消化内科

江学良, 博士, 教授, 250001, 山东省济南市, 山东中医药大学第二附属医院消化中心

田艳涛, 博士, 教授, 主任医师, 100021, 北京市, 国

家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院胰胃外科

王小众, 博士, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 博士, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 博士, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

[https://www.wjgnet.com/1009-3079/
editorialboard.htm](https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm)

编辑部

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室
电话: +86-10-85381901

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2023 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



Contents

Volume 31 Number 8 April 28, 2023

REVIEW

- 299 Chromosome hyperploidy induced by chronic hepatitis B virus infection and its targeted therapeutic strategy
Shi XJ, Yao CG, Li HL, Wei YH, Hu KH

BASIC RESEARCH

- 307 Long non-coding RNA PVT1 induces proliferation, inhibits apoptosis, and induces autophagy by up-regulating Atg5 in rectal cancer cells
Zhu YD, Liu HY, Lei XM, Peng XQ

CLINICAL RESEARCH

- 316 Individualized intervention for metabolic fatty liver disease based on Dietary Guidelines for Chinese Residents
He DH, Zhang YZ, Xu L, Zhang Y, Pei JJ, Yan ZF
- 326 Therapeutic effects of microecological agents combined with metformin in type 2 diabetes mellitus with irritable bowel syndrome
Chen XM, Lei XW, Wu XF

CLINICAL PRACTICE

- 334 Paeoniflorin exhibits anti-*Helicobacter pylori* activity by regulating macrophage activity
Xu W, Xu JG, He XY, Lin XH
- 340 Diagnostic value of a novel endoscopic optical staining technique for colorectal polyps less than 2 cm in diameter
Yue QR, Lin F

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 31 Number 8 April 28, 2023

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Chuan-Wu Zhu, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, The Fifth People's Hospital of Suzhou (The Affiliated Infectious Diseases Hospital of Soochow University), No. 10 Guangqian Road, Xiangcheng District, Suzhou 215131, Jiangsu Province, China. zhuchw@126.com

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*

Review Editor: *Yan-Liang Zhang*

Production Editor: *Yan-Liang Zhang*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Xu Guo*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date April 28, 2023

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

CO-EDITORS-IN-CHIEF

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, The Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xiao-Zhong Guo, Professor, Department of Gastroenterology, North Theater General Hospital, Shenyang 110840, Liaoning Province, China

Li-Juan Huo, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Digestive Center of The Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250001, Shandong Province, China

Yan-Tao Tian, Professor, Chief Physician, National Cancer Center/Department of Pancreatic and Gastric Surgery, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing

100021, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Jin-Lei Wang, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381901

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2023 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

芍药苷通过调控巨噬细胞活性抗幽门螺杆菌作用及其机制研究

徐微, 徐建光, 何雪云, 林小花

徐微, 徐建光, 何雪云, 林小花, 衢州市人民医院(衢州四省边际中心医院)消化内科 浙江省衢州市 324000

徐微, 主治医师, 主要从事消化内科。

作者贡献分布: 徐微负责论文的设计、实施和撰写; 徐建光、何雪云负责提供试剂盒仪器; 林小花负责数据分析。

通讯作者: 徐微, 本科, 主治医师, 324000, 衢州市柯城区闽江大道100号, 衢州市人民医院(衢州四省边际中心医院)消化内科. 627944856@qq.com

收稿日期: 2022-11-14

修回日期: 2023-02-17

接受日期: 2023-04-23

在线出版日期: 2023-04-28

Paeoniflorin exhibits anti-*Helicobacter pylori* activity by regulating macrophage activity

Wei Xu, Jian-Guang Xu, Xue-Yue He, Xiao-Hua Lin

Wei Xu, Jian-Guang Xu, Xue-Yue He, Xiao-Hua Lin, Department of Gastroenterology, Quzhou People's Hospital, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Wei Xu, Bachelor, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Quzhou People's Hospital, No. 100 Minjiang Avenue, Kecheng District, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China. 627944856@qq.com

Received: 2022-11-14

Revised: 2023-02-17

Accepted: 2023-04-23

Published online: 2023-04-28

Abstract

BACKGROUND

Helicobacter pylori (*H. pylori*) often causes gastritis, gastric ulcer, and other stomach diseases. At present, there are many drugs available to kill *H. pylori*, but they are mainly

Western medicines, not suitable for long-term use, and often associated with relapse. Traditional Chinese medicines have few side effects, but their mechanism of action is not completely clear.

AIM

To analyze the anti-*H. pylori* activity and mechanisms of action of paeoniflorin (PF).

METHODS

Six Kunming mice and four New Zealand rabbits were selected to prepare PF-containing serum. Mouse peritoneal macrophages were collected and divided into a study group, a control group, and a blank group. The study group was supplemented with 5% drug-containing serum, and the control group was supplemented with drug-free serum. Both groups were treated with *H. pylori* 11637, and the cells was collected 6 h after treatment. The contents of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), interleukin-1 β (IL-1 β), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in macrophages of each group were detected by ELISA. The expression of heat shock protein 70 (HSP70), inducible nitric oxide synthase (iNOS), Toll-like receptor-2 (TLR2), and Toll-like receptor-4 (TLR4) was detected by Western blot analysis. The relative mRNA expression of HSP70, TLR2, and TLR4 in mouse macrophages was detected by quantitative polymerase chain reaction.

RESULTS

The contents of MCP-1, IL-1 β , and TNF- α in the control group were significantly higher than those in the blank group, and the contents of MCP-1, IL-1 β , and TNF- α in the study group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). The protein expression of iNOS, TLR4, and TLR2 in macrophages of the control group was significantly higher than that in the blank group, and the expression of iNOS, TLR4, and TLR2 in the macrophages of the study group was significantly lower than that in the control group

($P < 0.05$). The relative expression of TLR4 and TLR2 mRNA in macrophages of the control group was higher than that of the blank group, and the relative expression of TLR4 and TLR2 mRNA in the macrophages of the study group was lower than that of the control group ($P < 0.05$). The expression of HSP70 mRNA and protein in macrophages of the control group was higher than that of the blank group, and the expression of HSP70 mRNA and protein in macrophages of the study group was lower than that of the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Paeoniflorin can inhibit the secretion of inflammatory cytokines and HSP70 by macrophages by regulating their activity. The anti-inflammatory effect may be related to the inhibition of the TLR2/4 signaling pathway.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Macrophage; *Helicobacter pylori* infection; Paeoniflorin; Inflammatory factor

Citation: Xu W, Xu JG, He XY, Lin XH. Paeoniflorin exhibits anti-*Helicobacter pylori* activity by regulating macrophage activity. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(8): 334-339

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i8/334.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i8.334>

摘要

背景

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)容易造成胃炎、胃溃疡等胃部疾病, 目前有很多杀灭*H. pylori*的药物, 多以西药为主, 不宜长期服用, 且易复发. 中药灭菌副作用小, 但是作用机制并不完全清楚.

目的

分析芍药苷(paeoniflorin, PF)通过调控巨噬细胞活性抗*H. pylori*作用及相关机制.

方法

选取昆明小鼠6只, 新西兰家兔4只, 制备含PF血清, 提取小鼠腹腔巨噬细胞, 含药血清作用于小鼠腹腔巨噬细胞, 实验组加入5%含药血清, 对照组加入无药血清, 各组同时在加入*H. pylori* 11637, 含药血清在作用6 h后收集细胞. ELISA法检测各组小鼠巨噬细胞的单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、白介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)含量, Western-Blot检测热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、Toll样受体2(toll-like receptor-2, TLR2)及Toll样受体4(toll-like receptor-4, TLR4)蛋白表达, 荧光定量多聚合

酶链式反应检测小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA、TLR2 mRNA及TLR4 mRNA相对表达.

结果

对照组小鼠MCP-1、IL-1 β 及TNF- α 含量较空白组升高, 实验组小鼠MCP-1、IL-1 β 及TNF- α 含量较对照组降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 对照组巨噬细胞iNOS、TLR4及TLR2蛋白表达较空白组升高; 实验组巨噬细胞iNOS、TLR4及TLR2蛋白表达较对照组降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 对照组小鼠巨噬细胞TLR4、TLR2 mRNA相对表达量较空白组升高, 实验组小鼠巨噬细胞TLR4、TLR2 mRNA相对表达量较对照组降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 对照组小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA及蛋白表达较空白组升高, 实验组小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA及蛋白表达较对照组降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$).

结论

芍药苷经过调节巨噬细胞活性起到抗*H. pylori*感染作用, 可抑制巨噬细胞分泌炎症因子与HSP70应激因子, 其抗炎作用可能和抑制巨噬细胞TLR2/4信号通路有关.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 巨噬细胞; 幽门螺杆菌感染; 芍药苷; 炎症因子

核心提要: 芍药苷能够激活小鼠体内的巨噬细胞调节免疫, 巨噬细胞的Toll样受体2/4信号通路被激活, 对侵入体内的幽门螺杆菌进行清除.

文献来源: 徐微, 徐建光, 何雪云, 林小花. 芍药苷通过调控巨噬细胞活性抗幽门螺杆菌作用及其机制研究. *世界华人消化杂志* 2023; 31(8): 334-339

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i8/334.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i8.334>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)为一种微需氧、螺旋状革兰阴性菌, 多定植于机体胃肠道内, Warren与Marshall在1983年首次从胃内分离中. 流行病学研究表明*H. pylori*感染了世界范围内一半以上的人口. 目前已知发病率的高低与社会经济水平, 人口密集程度, 公共卫生条件以及水源供应有较密切的关系. 中国及大多数发展中国家人群*H. pylori*感染因地区有所不同. 低达20%, 高达90%, 人群中总感染率高于发达国家. 临床研究已经明确, *H. pylori*的长期慢性感染为人们发生胃癌、消化性溃疡、慢性活动性胃炎及黏膜相关淋巴瘤

织淋巴瘤等疾病主要因素^[1,2]。当前, 临床对预防*H. pylori*相关胃十二指肠疾病主要疗法为根除*H. pylori*, 西医的三联治疗, 如BAM、OAC等一度使临床患者*H. pylori*根除率达90%以上^[3], 但近些年来, 由于患者对西药耐药率的升高、治疗依从性差及药物不良反应等, 使*H. pylori*根除率明显降低, 因此, 临床急需一些新的治疗方案。当前, 随着中医学在临床的广泛应用, 中药有对患者耐药性低、不良发应小及不引起肠道菌群失调等特点, 这说明在对*H. pylori*感染的治疗方案中医药有一定优势^[4]。芍药苷(paeoniflorin, PF)为单萜类糖苷化合物, 是传统中药芍药主要成分, 有免疫调节、抗炎、抗血小板聚集及抗氧化等影响^[5]。有研究显示, PF可经过对TLR2信号路径抑制来降低巨噬细胞活化^[6]。因此, 本研究经过分析PF通过调控巨噬细胞活性抗*H. pylori*作用及相关机制, 为临床患者诊疗提供一些借鉴。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物: 昆明小鼠6只, 雌雄各半, 体重22 g-26 g; 新西兰家兔4只, 雌雄各半, 体重2.0 kg-2.6 kg, 均购自上海斯莱克实验动物公司。常规饲养3 d后开始实验, 室温维持22 ℃-26 ℃, 相对湿度55%-65%, 昼夜循环, 保持12 h光照, 小鼠灌胃、添加饲料及换水等均有专人进行。

1.1.2 实验药物、试剂: 芍药苷(南京广润生物公司), 兔抗TLR2多克隆抗体(美国EMD Millipore公司), 兔抗诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、Toll样受体4(toll-like receptor-4, TLR4)多克隆抗体(美国Abcam公司), 人单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)试剂盒(北京瑞博奥生物公司), 白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)(美国RD Systems公司)。

1.2 方法 (1)确定实验剂量。急毒实验14 d, 设置药物梯度浓度, 分别为(10, 30, 50, 70, 90) mg/kg, 确定安全的给药剂量EC₅₀, 以EC₅₀进行动物实验; (2)制备含药血清, 家兔实验前禁食12 h, 依据人和动物剂量转换, 药物组灌胃家兔26 mg/kg的PF药液, 对照组家兔灌胃等剂量生理盐水, 共灌胃3次, 首次和第二次灌药间隔20 h, 第二次和第三次灌药间隔4 h。末次给药后2 h在无菌条件下心脏采血, 室温下静置3 h, 离心机3000 rpm离心15 min, 血清分离, 在同种条件下将药物血清摇匀, 于56 ℃下水浴灭活20 min, 保存备用; (3)提取小鼠腹腔巨噬细胞, 无菌淀粉肉汤2 mL注入至小鼠腹腔内, 1次/d, 共注射3 d。末次注射后小鼠脱颈椎处死, 在75%乙醇内浸泡5 min。小鼠取出后酒精沥干, 在无菌纱布上仰卧放置。在下腹皮肤处剪一小口, 在将全部腹部皮肤剪开, 暴露腹壁。采用针

管吸出3 mL至4 mL的腹腔液, 离心机离心后上清去除。DMEM高糖培养基(含10%胎牛血清、1%双抗)培养, 放置与37 ℃、50 mL/L CO₂、饱和湿度二氧化碳培养箱内; (4)含药血清作用于小鼠腹腔巨噬细胞, 实验组加入5%含药血清, 对照组加入无药血清, 各组同时在加入*H. pylori* 11637, 每组小鼠腹腔内巨噬细胞达到4 $\times$ 10⁶。含药血清在作用6 h后收集细胞。未经*H. pylori* 11637作用的巨噬细胞作为空白组。

1.3 观察指标 (1)采集样品, 小鼠所分离腹腔巨噬细胞注入培养皿内, 在加入培养基(含10%胎牛血清)培养。在细胞贴壁后将上清和细胞碎片吸走, 实验组在加入含药血清、培养基(含10%胎牛血清)与*H. pylori* 11637培养上清, 含药血清作用6 h后采用2 $\times$ 10⁶个细胞用于各项检测; (2)采集巨噬细胞培养的上清液, ELISA法检测各组小鼠MCP-1、IL-1 β 、TNF- α 含量, 具体步骤依据试剂盒说明书进行; (3)Western-Blot检测热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)、iNOS、Toll样受体2(toll-like receptor-2, TLR2)及TLR4蛋白表达, 细胞研磨, 经组织裂解上样电泳, 起始电压80 V, 溴酚蓝染料前缘进入分离胶上缘后电压提升至100 V, 溴酚蓝泳出分离胶下缘电泳结束。半干电转移仪于PVDF膜内行蛋白质电转移, 恒流30 mA, 连续90 min。PVDF膜取出5% TBST脱脂奶粉封闭, 震荡60 min。结束封闭TNS-T漂洗液洗膜10 min, 3次, 膜转移至杂交袋, 加入适量漂洗液稀释抗体, 封口后4 ℃下孵育过夜; TBST漂洗液洗膜10 min, 3次, 加入漂洗液稀释辣根过氧化物酶标记二抗, 震荡60 min。PVDF膜放置在ECL显色液内震荡温育5 min, 暗室下曝光、显影及定影。清水冲洗以后, 晾干扫描, IPP软件对扫描图像目的条带行灰度分析; (4)检测小鼠细胞HSP70 mRNA、TLR2 mRNA及TLR4 mRNA表达, Trizol法提取小鼠细胞总RNA行RT-PCR扩增, HSP70上游引物5'-GATTGAGATGATTTTGGAG-3', 下游引物5'-GTATGTAAAGTATATGATTG-3', 扩增片段是482 bp; TLR2上游引物5'-GCTCCAGGAATTCCTCGGTA-3', 下游引物5'-GAGTCCTGCATGCTAGCTAG-3', 扩增片段为389 bp; TLR4上游引物5'-GAATTGCGCGATGTAGTACG-3', 下游引物5'-GTTGTACTGTACTAGGTGCT-3', 扩增片段531 bp; 内参 β -actin上游引物5'-CTTGATCGTACGTAGCCTGA-3', 下游引物5'-GTGTAGTGTACTGTTCATGCA-3', 扩增片段482 bp。PCR反应条件: 94 ℃下45 s, 55 ℃下50 s, 72 ℃下75 s, 在40次循环以后获取核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B) mRNA、MyD88 mRNA及TLR4 mRNA循环阈值(Ct), 使用 $\Delta\Delta$ Ct($\Delta\Delta$ Ct = Ct目的基因- Δ Ct内参基因)分析, 算出2^{- $\Delta\Delta$ Ct}目的基因相对表达量。

统计学处理 采用SPSS 19.0统计软件进行数据分

析, 计量资料(mean±SD)表示, *t*检验, 计数资料采用 $n(\%)$ 表示, χ^2 检验, 多组间比较用单因素方差分析, 两两比较用LSD-*t*检验, $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PF的有效浓度的确定 通过有效浓度曲线得出, PF对于家兔的EC₅₀为45 mg/mL。

2.2 各组小鼠巨噬细胞上清液内MCP-1、IL-1 β 及TNF- α 含量 对照组小鼠MCP-1、IL-1 β 及TNF- α 含量较空白组升高, 实验组小鼠MCP-1、IL-1 β 及TNF- α 含量较对照组降低, 差异均有统计学意义($P<0.05$), 详见表1。

2.3 各组小鼠巨噬细胞iNOS、TLR4及TLR2蛋白表达 对照组巨噬细胞iNOS、TLR4及TLR2蛋白表达较空白组升高; 实验组巨噬细胞iNOS、TLR4及TLR2蛋白表达较对照组降低, 差异有统计学意义($P<0.05$), 详见表2, 图1。

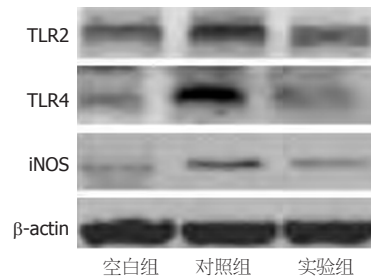
2.4 各组小鼠巨噬细胞TLR4、TLR2 mRNA相对表达量 对照组小鼠巨噬细胞TLR4、TLR2 mRNA相对表达量较空白组升高, 实验组小鼠巨噬细胞TLR4、TLR2 mRNA相对表达量较对照组降低, 差异有统计学意义($P<0.05$), 详见表3。

2.5 各组小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA及蛋白表达 对照组小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA及蛋白表达较空白组升高, 实验组小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA及蛋白表达较对照组降低, 差异有统计学意义($P<0.05$), 详见表4, 图2。

3 讨论

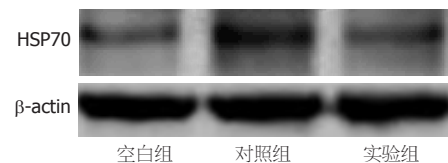
机体感染*H. pylori*后, 抵抗*H. pylori*感染天然屏障为机体内固有免疫, 胃组织内树突状细胞、巨噬细胞等固有免疫细胞经过分泌IL-18等细胞因子, 将免疫细胞激活并分泌炎症介质, 从而起到抗感染的作用^[7,8]。*H. pylori*感染胃组织内巨噬细胞后, 炎症组织局部巨噬细胞经浸润、增生、激活同时分泌TNF- α 等细胞因子, 将入侵微生物杀伤并将淋巴细胞活化。同时TNF- α 协同诱导巨噬细胞形成NO, 导致DNA受损引起宿主细胞凋亡^[9-11]。

长期以来西药治疗*H. pylori*感染取得了较好疗效, 但对于*H. pylori*清除仍有一定困难, 患者在停药后易复发。目前, 在临床上*H. pylori*对于抗生素, 尤其是甲硝唑、克拉霉素等原发耐药率普遍升高, 这严重影响了常用根治方案的治疗效果。PF有多重生物学功效, 包含抗风湿、神经保护、诱导肿瘤细胞凋亡、加速肝细胞再生等, 由于其毒副作用较小而在临床广泛使用。近些年来, 相关研究显示PF还可下调IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等细胞因子活性, 发挥广泛抗炎影响^[12]。本文研究显示, 实验组



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i8.334 Copyright ©The Author(s) 2023.

图1 各组巨噬细胞iNOS、TLR4及TLR2蛋白表达。iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; TLR4: Toll样受体4; TLR2: Toll样受体2; β -actin: β -肌动蛋白。



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i8.334 Copyright ©The Author(s) 2023.

图2 各组小鼠巨噬细胞HSP70蛋白表达。HSP70: 热休克蛋白70; β -actin: β -肌动蛋白。

小鼠MCP-1、IL-1 β 及TNF- α 含量较对照组降低, 差异均有统计学意义, 和上述研究结果一致。

TLR4与TLR2为Toll样受体, 为I型跨膜受体蛋白, 多在抗原提呈细胞内表达, 激活以后可将MyD88通路启动, 对IRAKs家族招募并结合TRAF6, 将NF- κ B活化^[13]。NF- κ B是Rel家族转录因子, 一般指p65和p50所构成同源二聚体, 在静息时结合抑制蛋白I κ B存在细胞质内, 在外界刺激后和I κ B解离并进入到细胞核中, 进而释放MCP-1、TNF- α 及IL-1 β 等促炎细胞因子。另外, TLR4还能够经过TRIF路径将IRF3激活, 行信号转导将炎症反应启动^[14]。本文研究显示, 实验组巨噬细胞TLR4、TLR2 mRNA及蛋白表达较对照组降低, 差异有统计学意义, 说明PF对*H. pylori*感染的治疗, 有巨噬细胞的参与, 且这一抗炎作用可能和TLR2/4通路有关。

HSP70为热休克蛋白家族内主要成员之一, 其分子量约为70 kD。正常细胞内HSP70水平比较低, 但在应激情况其含量会显著提升。对于机体胃肠道来讲, *H. pylori*感染为长期慢性应激, 一般会造成胃黏膜内HSP70高表达。通常HSP70多位于胞浆中, 若受到热休克刺激细胞核内HSP70含量会快速升高, 仅有少量存在于胞浆内, 细胞在恢复阶段时细胞核中HSP70则会消失, 而胞浆内依然有低水平的HSP70表达, 对细胞内HSP70细胞检测可反映其胃炎进展情况^[15]。实验组小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA及蛋白表达较对照组降低, 差异有统计学意义, 说明PF可调控巨噬细胞分泌HSP70, 降低*H. pylori*对胃黏膜

表 1 各组小鼠巨噬细胞上清液内MCP-1、IL-1β及TNF-α含量($n = 2 \times 10^6$, mean $\pm$ SD)

组别	MCP-1(ng/L)	IL-1β(ng/L)	TNF-α(ng/L)
空白组	316.94 $\pm$ 20.87	218.47 $\pm$ 25.13	397.52 $\pm$ 30.68
对照组	829.47 $\pm$ 19.53 ^a	489.57 $\pm$ 26.21 ^a	746.59 $\pm$ 32.15 ^a
实验组	433.79 $\pm$ 21.50 ^b	302.46 $\pm$ 25.42 ^b	503.67 $\pm$ 31.64 ^b

^a $P < 0.05$, 与空白组对比; ^b $P < 0.05$, 与对照组对比. MCP-1: 单核细胞趋化蛋白1; IL-1β: 白介素1β; TNF-α: 肿瘤坏死因子α.

表 2 各组小鼠巨噬细胞iNOS、TLR4及TLR2蛋白表达对比($n = 2 \times 10^6$, mean $\pm$ SD)

组别	iNOS蛋白	TLR4蛋白	TLR2蛋白
空白组	0.41 $\pm$ 0.05	0.35 $\pm$ 0.06	0.39 $\pm$ 0.05
对照组	0.61 $\pm$ 0.06 ^a	0.79 $\pm$ 0.07 ^a	0.60 $\pm$ 0.06 ^a
实验组	0.52 $\pm$ 0.05 ^b	0.48 $\pm$ 0.05 ^b	0.45 $\pm$ 0.05 ^b

^a $P < 0.05$, 与空白组对比; ^b $P < 0.05$, 与对照组对比. iNOS: 诱导型一氧化氮合酶; TLR4: Toll样受体4; TLR2: Toll样受体2.

表 3 各组小鼠巨噬细胞TLR4、TLR2 mRNA相对表达量($n = 2 \times 10^6$, mean $\pm$ SD)

组别	TLR2 mRNA	TLR4 mRNA
空白组	1.13 $\pm$ 0.10	1.09 $\pm$ 0.11
对照组	4.25 $\pm$ 0.13 ^a	4.02 $\pm$ 0.12 ^a
实验组	2.08 $\pm$ 0.12 ^b	2.03 $\pm$ 0.13 ^b

^a $P < 0.05$, 与空白组对比; ^b $P < 0.05$, 与对照组对比. TLR4: Toll样受体4; TLR2: Toll样受体2.

表 4 各组小鼠巨噬细胞HSP70 mRNA及蛋白表达($n = 2 \times 10^6$, mean $\pm$ SD)

组别	HSP70 mRNA	HSP70蛋白
空白组	0.31 $\pm$ 0.04	0.41 $\pm$ 0.07
对照组	1.62 $\pm$ 0.05 ^a	2.09 $\pm$ 0.06 ^a
实验组	0.40 $\pm$ 0.04 ^b	0.68 $\pm$ 0.06 ^b

^a $P < 0.05$, 与空白组对比; ^b $P < 0.05$, 与对照组对比. HSP70: 热休克蛋白70.

刺激作用.

4 结论

综上所述, 芍药苷经过调节巨噬细胞活性起到抗*H. pylori*感染作用, 可抑制巨噬细胞分泌炎症因子与HSP70应激因子, 其抗炎作用可能和抑制巨噬细胞TLR2/4信号通路有关.

文章亮点

实验背景

中国有的地区感染幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的人群高达90%, 容易引起胃癌、消化性溃疡、

慢性活动性胃炎及黏膜相关淋巴组织淋巴瘤等胃部疾病. 西药治疗效果显著, 但是易反复, 且长期服用副作用明显.

实验动机

目前, *H. pylori*感染治疗药物主要是四联疗法. 相当一部分人并不适合其中的抗生素治疗, 因此疗效欠佳. 芍药苷治疗*H. pylori*, 作为中成药, 不仅副作用下, 而且适用于更广泛的人群.

实验目标

芍药苷的重要特性在治疗*H. pylori*中发挥了不错的疗效, 但是具体发挥作用的机制并不清楚, 本研究从巨噬细胞

的调控入手, 分析芍药苷抗*H. pylori*的作用及相关机制。

实验方法

通过小鼠动物模型, 采用Western Blot和荧光定量PCR的方法对巨噬细胞相关的免疫指标进行检测, 观察*H. pylori*的数量, 分析相关信号通路的相互影响, 判断芍药苷对*H. pylori*的影响。

实验结果

与对照组相比, 经过芍药苷处理的小鼠的单核细胞趋化蛋白1、白介素1 β 、肿瘤坏死因子含量、巨噬细胞诱导型一氧化氮合酶、Toll样受体4(toll-like receptor-4, TLR4)、Toll样受体2(toll-like receptor-2, TLR2)、热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)mRNA及蛋白表达均较低。

实验结论

芍药苷通过调节巨噬细胞分泌炎症因子、HSP70应激因子以及TLR2/4信号通路, 调节巨噬细胞活性, 对*H. pylori*的感染起到积极的治疗作用。

展望前景

本研究从巨噬细胞中发现了芍药苷对*H. pylori*杀灭的机理, 但是是否还有其他相关作用机制还需进一步研究。

5 参考文献

- 董启超, 梁晖, 胡聪, 林旭, 林智文. 脾多肽对幽门螺旋杆菌脂多糖诱导RAW264.7巨噬细胞TNF- α 、IL-1 β 、IL-6及IL-17的作用. 海南医学 2018; 4: 1-3 [DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2018.01.001]
- 肖玲巧, 王超, 谢成元, 刘硕, 陈国栋, 李杰, 余敏君, 赵兰华, 韩亮, 张艳. 幽门螺杆菌Tip α 蛋白激活NLRP3炎性小体诱导THP-1细胞分泌IL-1 β 和IL-18. 中国人兽共患病学报 2017; 33: 1071-1076
- 张万岱. 中医药治疗幽门螺杆菌感染的研究现状和展望. 中华中
- 医药学会脾胃病分会全国脾胃病学术交流会 2011
- 张冰, 贾兰芳, 王艳玲. 布拉氏酵母菌散联合四联疗法根除幽门螺杆菌的疗效及对血清炎症因子水平的影响. 中国地方病防治杂志 2017; 4: 220-220
- 李新玉, 邵云侠, 王坤, 吴永贵. 芍药苷减轻糖尿病小鼠肾脏炎症与JAK2/STAT3信号通路的关系. 安徽医科大学学报 2018; 53: 205-208
- Shao YX, Xu XX, Li YY, Qi XM, Wang K, Wu YG, Meng XM. Paeniflorin inhibits high glucose-induced macrophage activation through TLR2-dependent signal pathways. J Ethnopharmacol 2016; 193: 377-386 [PMID: 27566204 DOI: 10.1016/j.jep.2016.08.035]
- Beceiro S, Radin JN, Chatuvedi R, Piazuolo MB, Horvarth DJ, Cortado H, Gu Y, Dixon B, Gu C, Lange I, Koomoa DL, Wilson KT, Algood HM, Partida-Sánchez S. TRPM2 ion channels regulate macrophage polarization and gastric inflammation during *Helicobacter pylori* infection. Mucosal Immunol 2017; 10: 493-507 [PMID: 27435104 DOI: 10.1038/mi.2016.60]
- Kita M, Yokota K, Kageyama C, Take S, Goto K, Kawahara Y, Matsushita O, Okada H. DEC205 mediates local and systemic immune responses to *Helicobacter pylori* infection in humans. Oncotarget 2018; 9: 15828-15835 [PMID: 29662609 DOI: 10.18632/oncotarget.24574]
- 刘成勇, 夏云玲, 彭琼, 李娟, 张雯. MIF mRNA在胃窦胃癌组织中的表达及其与幽门螺杆菌感染的关系. 现代生物医学进展 2017; 17: 2965-2968
- Kim TJ, Kim ER, Chang DK, Kim YH, Baek SY, Kim K, Hong SN. *Helicobacter pylori* infection is an independent risk factor of early and advanced colorectal neoplasm. Helicobacter 2017; 22 [PMID: 28124492 DOI: 10.1111/hel.12377]
- 刘畅, 张正利, 朱梅萍. Th17细胞介导的免疫应答在幽门螺旋杆菌相关性疾病中的作用机制. 免疫学杂志 2017; 2: 84-88
- Wang P, Wang W, Shi Q, Zhao L, Mei F, Li C, Zuo T, He X. Paeniflorin ameliorates acute necrotizing pancreatitis and pancreatitis-induced acute renal injury. Mol Med Rep 2016; 14: 1123-1131 [PMID: 27279569 DOI: 10.3892/mmr.2016.5351]
- 曹梦媛, 刘琳, 李慧艳, 党彤, 贾彦彬. MIF基因多态性与幽门螺杆菌感染及非贲门胃癌关系的研究. 胃肠病学和肝病杂志 2017; 26: 693-696
- 方洁, 陈佳音, 郝雯颖, 张萍萍, 干冬梅. 桥本氏甲状腺炎伴Hp感染患儿血清IL-17与APN水平及TLR蛋白表达的影响. 中华医院感染学杂志 2017; 11: 208-211
- 何森, 计高荣, 熊旭东, 沈晓红, 周钱梅. 炎调方对巨噬细胞中HSP70表达及其效应的影响. 上海中医药大学学报 2017; 19: 79-83

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

