【基础研究】

芝麻素对幽门螺杆菌诱导人胃黏膜上皮细胞损伤的影响及机制

张 娟，刘飞燕，李 清
（青岛市城阳区人民医院消化内科，山东青岛 266109）

摘要：目的 探讨芝麻素（sesamin，SES）是否通过调控微小 RNA（microRNA，miR）-204 的表达影响幽门螺杆菌（*Helicobacter pylori*，Hp）诱导的人胃黏膜上皮细胞损伤。**方法** 将人胃黏膜上皮细胞分为对照组、Hp 组、Hp ＋ SES 低剂量（SES-L）组、Hp ＋ SES 中剂量（SES-M）组、Hp ＋ SES 高剂量（SES-H）组、Hp ＋ miR-204 模拟物（miR-204）组、Hp ＋ miR-204 模拟物阴性对照（miR-204 negative control，miR-NC）组、Hp ＋ SES-H ＋ miR-204 抑制剂阴性对照（anti-miR-NC）组及 Hp ＋ SES ＋ miR-204 抑制剂（anti-miR-204）组。采用细胞计数试剂盒 8 法检测细胞生长抑制率，流式细胞术检测细胞凋亡，蛋白质印迹法检测活化的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶（cleaved-caspase）3、cleaved-caspase9 蛋白表达，检测乳酸脱氢酶（lactate dehydrofenase，LDH）活性及白介素（interleukin，IL）-1β、IL-8 水平，逆转录定量聚合酶链反应检测 miR-204 表达。**结果** 与 Hp 组比较，Hp ＋ SES-L 组、Hp ＋ SES-M 组和 Hp ＋ SES-H 组人胃黏膜上皮细胞的生长抑制率、凋亡率、cleaved-caspase3 蛋白及 cleaved-caspase9 蛋白的表达量均降低，并呈浓度依赖性（$P < 0.05$）；与 Hp 组比较，Hp ＋ SES-L 组、Hp ＋ SES-M 组和 Hp ＋ SES-H 组人胃黏膜上皮细胞的 LDH 活性、IL-1β 及 IL-8 水平均降低，并呈浓度依赖性（$P < 0.05$）；miR-204 过表达后，Hp ＋ miR-204 组人胃黏膜上皮细胞的 miR-204 表达量较 Hp ＋ miR-NC 组增加，而生长抑制率、凋亡率、cleaved-caspase3 蛋白、cleaved-caspase9 蛋白的表达量、LDH 活性、IL-1β 以及 IL-8 水平均较 Hp ＋ miR-NC 组降低（$P < 0.05$）；干扰 miR-204 表达后，Hp ＋ SES ＋ anti-miR-204 组人胃黏膜上皮细胞的 miR-204 表达量低于 Hp ＋ SES ＋ anti-miR-NC 组，而生长抑制率、凋亡率、cleaved-caspase3 蛋白、cleaved-caspase9 蛋白的表达量、LDH 活性、IL-1β 以及 IL-8 水平均高于 Hp ＋ SES ＋ anti-miR-NC 组（$P < 0.05$）。**结论** SES 可通过上调 miR-204 表达，增加 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞活力，并减少凋亡和炎症的发生。

关键词：幽门螺杆菌；人胃黏膜上皮细胞；芝麻素；微小 RNA-204；细胞凋亡
中图分类号：R573 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188（2023）05-0460-08
DOI：10.13683/j.wph.2023.05.010

Effects and mechanism of sesamin on human gastric mucosal epithelial cell injury induced by *Helicobacter pylori*

ZHANG Juan, LIU Feiyan, LI Qing
(*Department of Gastroenterology, Qingdao Chengyang People's Hospital, Qingdao 266109, Shandong Province, China*)

Abstract: ***Objective*** To investigate whether sesamin（SES）affects the human gastric mucosal epithelial cell injury induced by *Helicobacter pylori*（Hp）by regulating the expression of miR-204. ***Methods*** Human gastric mucosal epithelial cells were divided into control group, Hp group, Hp＋SES low-dose（SES-L）group, Hp＋SES medium dose（SES-M）group, Hp＋SES high dose（SES-H）group, Hp＋miR-204 simulant negative control（miR-NC）group, Hp＋miR-204 simulant（miR-204）group, Hp＋SES-H＋miR-204 inhibitor negative control（anti miR-NC）group, and Hp＋SES＋miR-204 inhibitor（anti miR-204）group. Cell growth inhibition rate was detected by cell counting kit 8, cell apoptosis was detected by flow cytometry, the protein expression of cleaved caspase 3 and 9 were detected by western blot, lactate dehydrogenase（LDH）activity and interleukin-1β（IL-1β）and IL-8 level were detected by the kit, and reverse transcription

收稿日期：2022-12-15；修回日期：2023-03-15
作者简介：张娟，主治医师，研究方向：炎症性肠病等。

quantitative polymerase chain reaction was used to detect miR-204 expression. ***Results*** Compared with Hp group, the Hp＋SES-L group, Hp＋SES-M group and Hp＋SES-H group had significant reductions in the growth inhibition rate, cell apoptosis rate, and the protein expression of cleaved-caspase 3 and 9 in gastric mucosal epithelial cells in a concentration-dependent manner（$P<0.05$). Compared with Hp group, the LDH activity, the levels of IL-1β and IL-8 in human gastric mucosal epithelial cells were decreased in a concentration- dependent manner in Hp＋SES-L group, Hp＋SES-M group and Hp＋SES-H group（$P<0.05$）. After miR-204 overexpression, the expression of miR-204 in human gastric mucosal epithelial cells in Hp＋miR-204 group was higher than that in Hp＋miR-NC group, but the growth inhibition rate, apoptosis rate, the protein expression of cleaved caspase-3, cleaved caspase-9, LDH activity, and IL-1β and IL-8 levels were decreased compared with Hp＋miR-NC group（$P<0.05$）. After interfering with the expression of miR-204, the expression of miR-204 in human gastric mucosal epithelial cells in Hp＋SES＋anti miR-204 group was lower than that in Hp＋SES＋anti miR-NC group, while the growth inhibition rate, apoptosis rate, the protein expression of cleaved-caspase3, cleaved-caspase 9, LDH activity, IL-1β and IL-8 were higher than those in Hp＋SES＋anti miR-NC group（$P<0.05$）. ***Conclusion*** SES can increase Hp induced human gastric mucosal epithelial cells vitality and reduce apoptosis and inflammation by up regulating the expression of miR-204.

Key words: *Helicobacter pylori*; human gastric mucosal epithelial cells; sesamin; microRNA-204; apoptosis

胃癌是全球第 5 大常见癌症和第 3 大常见癌症死亡原因[1]。幽门螺杆菌（*Helicobacter pylori*，Hp）感染是胃癌发生和发展的主要原因。慢性 Hp 感染导致胃黏膜从萎缩性胃炎和肠上皮化生逐步发展，最终发展为胃癌[2—3]。在感染 Hp 的胃上皮细胞中，微小 RNA（microRNA，miR）-204 表达降低，上调其表达可抑制由 Hp 感染引起的胃上皮细胞迁移和侵袭[4]。芝麻素（sesamin，SES）是芝麻中的主要生物活性化合物，具有抗炎、抗氧化和抗肿瘤等作用[5—6]。据报道，SES 对胃癌细胞 BCG-823 具有杀伤作用[7]，关于 SES 对 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞损伤的影响，以及 SES 是否通过调控 miR-204 表达影响 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞损伤目前还尚未可知。因此，本研究使用人胃黏膜上皮细胞建立 Hp 诱导模型，评估 SES 对细胞损伤的作用，并通过 miR-204 的表达对 SES 的潜在机制，以及为 SES 在 Hp 相关胃疾病中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

Hp 菌株购自美国 ATCC 公司；人胃黏膜上皮细胞株 GES-1（A2825）购自上海酶研生物科技有限公司，SES（SC06469）购自北京凯诗源生物科技有限公司；miRcute miRNA 分离试剂盒（DP501）及 miRcute miRNA cDNA 第一链合成试剂盒（KR211）均购自天根生化科技（北京）有限公司；Lipofectamine 2000 转染试剂（11668030）及膜联蛋白 V（Annexin V）结合缓冲液（V13246）均购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司；实时定量荧光定量聚合酶链反应（reverse time fluorescent polymerase chain reaction，RT-qPCR）试剂盒（41019）购自上海雅吉生物科技有限公司；二辛可宁酸蛋白浓度测定试剂盒（GBS-786-570）购自艾美捷科技有限公司；膜联蛋白 V- 异硫氰酸荧光素（Annexin V- fluorescein isothiocyanate，Annexin V-FITC）/ 碘化丙啶（propyl iodide，PI）细胞凋亡检测试剂盒（CA1020）、增强化学发光检测试剂（PE0010）均购自北京 Solarbio 公司；细胞计数试剂盒 8（cell counting kit-8，CCK-8）试剂盒（CK04）购自上海经科化学科技有限公司；兔抗人活化的半胱天冬氨酸蛋白酶（cleaved caspase）-3（ab32351）、cleaved caspase-9（ab32539）以及甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH，ab9485）一抗、辣根过氧化物酶标记的山头抗兔 IgG 二抗（ab6721）均购自美国 Abcam 公司；乳酸脱氢酶（lactate dehydrofenase，LDH，mlE4715）检测试

剂盒、白介素（interleukin，IL）-8 及酶联免疫吸附测定（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒（mlE130）均购自上海酶联生物科技有限公司；IL-1β 试剂盒（YM-Y0812P）购自上海远慕生物科技有限公司。ELx808 酶标仪购自美国 Lonza 公司；FACSCalibur 流式细胞仪购自美国 Becton-Dickinson 公司；Q5 实时荧光定量 PCR 仪（美国 Bio-Rad 公司）。

1.2 研究方法

1.2.1 细胞培养与 Hp 诱导模型构建

人胃黏膜上皮细胞在 37 ℃、5% 二氧化碳培养箱中，在补充 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中培养。Hp 诱导时，参照陈宁南等[8]报道，将浓度为 1×10^{12} CFU/L 的 Hp 菌液与人胃黏膜上皮细胞以 200 ∶ 1 的比例共培养 24 h。

1.2.2 MTT 法检测细胞的活性和毒性

将 GES-1 细胞接种在 96 孔板中，接种密度约为 2×10^5 个 / 孔，培养后于每孔分别加入不同浓度（0、10、20、30、40 及 50 μmol/L）的 SES 孵育 24 h，然后每孔加入 50 μl MTT 溶液，孵育 4 h，最后加入 150 μl 二甲基亚砜，采用酶标仪于 570 nm 波长处测量各组的吸光度（*A*）值。每组设置 3 个复孔，实验重复 3 次。

1.2.3 分组与处理

Hp ＋ miR-204 模拟物阴性对照（miR-NC）组、Hp ＋ miR-204 模拟物（miR-204）组、Hp ＋ SES-H ＋ miR-204 抑制剂阴性对照（anti-miR-NC）组、Hp ＋ SES ＋ miR-204 抑制剂（anti-miR-204）组

予人胃黏膜上皮细胞正常培养为对照组，根据“**1.2.1**”所述进行 Hp 诱导为 Hp 组。分别以 10、20、40 μmol/L SES 处理人胃黏膜上皮细胞[6]，30 min 后进行 Hp 诱导为 Hp ＋ SES 低剂量（SES-L）组、Hp ＋ SES 中剂量（SES-M）组及 Hp ＋ SES 高剂量（SES-H）组。将 4×10^5 个人胃黏膜上皮细胞分别接种到 6 孔板，当细胞达到 70% 融合时，使用 Lipofectamine 2000 用 miR-204 模拟物（miR-204）、miR-204 模拟物阴性对照（miR-204 negative control，miR-NC）转染并进行 Hp 诱导后为 Hp ＋ miR-204 组及 Hp ＋ miR-NC 组。转染 miR-204 抑制剂（anti-miR-204）、miR-204 抑制剂阴性对照（anti-miR-NC）的人胃黏膜上皮细胞进行 40 μmol/L SES 以及 Hp 诱导后为 Hp ＋ SES ＋ anti-miR-204 组，Hp ＋ SES ＋ anti-miR-NC 组。每组设置 3 个复孔，实验重复 3 次。

1.2.4 CCK-8 法检测细胞生长抑制率

收集处理后的人胃黏膜上皮细胞，调整细胞密度为 5×10^4 细胞 /ml，将细胞接种在 5% 二氧化碳培养箱中的 96 孔板，每孔 0.1 ml，于 37 ℃培养箱中培养。48 h 后每孔添加 10 μl CCK-8 溶液，再培养 4 h。最后，酶标仪在 450 nm 波长处测量光密度（optical density，OD）值，计算细胞生长抑制率。细胞生长抑制率＝ 1 －（$OD_{实验组}/OD_{对照组}$）×100%

1.2.5 流式细胞术检测细胞凋亡

收集处理后的人胃黏膜上皮细胞，将细胞悬浮在 500 μl Annexin V 结合缓冲液中。混合后在细胞悬液中加入 5 μl Annexin V-FITC 和 5 μl PI，在室温下避光孵育 10 min。通过流式细胞仪分析细胞凋亡情况。

1.2.6 蛋白质印迹法检测蛋白表达

将人胃黏膜上皮细胞与 100 μl 预冷的放射免疫沉淀分析裂解缓冲液混合，在 4 ℃下裂解 15 min，12 000×*g* 离心 5 min，使用二辛可宁酸蛋白浓度测定试剂盒将上清液用于测定蛋白浓度。将蛋白质样品与 SDS 上样缓冲液混合，在沸水浴中变性 5 min。在 10% 十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离，转移至聚偏二氟乙烯膜上，室温下用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h，加入兔抗人 cleaved-caspase3、cleaved-caspase9、GAPDH 一抗（1 ∶ 1 000 稀释度），4 ℃孵育过夜；清洗后加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗（1 ∶ 3 000 稀释度），室温孵育 1 h。使用增强的化学发光检测试剂显影蛋白条带，Image J 软件以 GAPDH 作为上样对照来量化蛋白表达。

1.2.7 ELISA 法检测 LDH 活性及 IL-1β、IL-8 水平

根据 ELISA 法试剂盒的说明检测 LDH 活性，

以及检测 IL-1β、IL-8 水平表达。

1.2.8 RT-qPCR 检测 miR-204 表达

使用 miRcute miRNA 分离试剂盒提取 miRNA，并使用 miRcute miRNA cDNA 第一链合成试剂盒合成 cDNA。使用 RT- qPCR 检测试剂盒测定 miR-204 的水平。引物序列为：miR-204 正向 5'-ACACTCCAGCTGGGTTCCCTTTGTCATCCTAT-3' 和反向 5'-CTCAACTGGTGTCGTGGA-3'；U6 正向 5'-CTTCGGCAGCACA-3' 和反向 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。使用以下热循环条件在 iQ5 实时 PCR 系统中进行反应：95 ℃预变性 5 min；95 ℃ 15 s、62 ℃ 15 s 和 72 ℃ 32 s，40 个循环。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法量化 miR-204 的相对表达，并标准化为内参 U6。

1.3 统计学方法

采用 SPSS22.0 统计软件进行数据处理，计量资料采用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示，多组间比较采用单因素方差分析，SNK-*q* 检验进行组间多重比较，独立样本 *t* 检验进行两组间比较。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SES 对 GES-1 细胞活性和毒性的影响

不同浓度的 SES 对 GES-1 细胞活力无显著改变对 GES-1 细胞的毒性亦无显著影响，详见表 1。

表 1 SES 对 GES-1 细胞的毒性影响 $(\bar{x}\pm s)$

Table 1 Toxic effects of SES on GES-1 cells $(\bar{x}\pm s)$

SES浓度/μmol·L^{-1}	*A*值
0	0.45±0.05
10	0.43±0.04
20	0.42±0.05
30	0.47±0.08
40	0.48±0.06
50	0.43±0.08

2.2 SES 对 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞生长抑制率及细胞凋亡的影响

与对照组比较，Hp 组人胃黏膜上皮细胞的生长抑制率、凋亡率、cleaved-caspase3 蛋白及 cleaved-caspase9 蛋白的表达量均增加（$P<0.05$）；与 Hp 组比较，Hp + SES-L 组、Hp + SES-M 组和 Hp + SES-H 组人胃黏膜上皮细胞的生长抑制率、凋亡率、cleaved-caspase3 蛋白及 cleaved-caspase9 蛋白的表达量均减少，并呈浓度依赖性（$P<0.05$），见图 1、2 和表 2。

2.3 SES 对 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞 LDH 活性及 IL-1β、IL-8 水平的影响

与对照组比较，Hp 组人胃黏膜上皮细胞的 LDH 活性、IL-1β 及 IL-8 水平均升高（$P<0.05$）；与 Hp 组比较，Hp + SES-L 组、Hp + SES-M 组和 Hp + SES-H 组人胃黏膜上皮细胞的 LDH 活性、IL-1β 及 IL-8 水平均降低，并呈浓度依赖性（$P<0.05$），见表 3。

2.4 SES 对 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞 miR-204 表达的影响

与对照组相比，Hp 组人胃黏膜上皮细胞的 miR-

表 2 SES 对 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞生长抑制率及细胞凋亡的影响 $(\bar{x}\pm s)$

Table 2 Effects of SES on growth inhibition rate and apoptosis of human gastric mucosal epithelial cells induced by Hp $(\bar{x}\pm s)$

分组	生长抑制率/%	凋亡率/%	cleaved-caspase3	cleaved-caspase9
对照组	0.00±0.00	5.53±0.53	0.14±0.02	0.28±0.03
Hp组	55.78±4.06*	28.78±2.49*	0.63±0.04*	0.74±0.06*
Hp+SES-L组	43.49±4.27$^{\#}$	22.12±2.23$^{\#}$	0.50±0.04$^{\#}$	0.61±0.05$^{\#}$
Hp+SES-M组	30.04±3.21$^{\#\&}$	15.05±1.18$^{\#\&}$	0.34±0.03$^{\#\&}$	0.47±0.04$^{\#\&}$
Hp+SES-H组	11.97±1.05$^{\#\&\triangle}$	8.71±0.62$^{\#\&\triangle}$	0.22±0.02$^{\#\&\triangle}$	0.32±0.03$^{\#\&\triangle}$
*F*值	501.597	309.880	369.000	177.774
*P*值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与对照组比较，*$P<0.05$；与 Hp 组比较，$^{\#}P<0.05$；与 Hp + SES-L 组比较，$^{\&}P<0.05$；与 Hp + SES-M 组比较，$^{\triangle}P<0.05$

Note: *vs* the Control group,*$P<0.05$; *vs* the Hp group, $^{\#}P<0.05$; *vs* the Hp + SES-L group,$^{\&}P<0.05$; *vs* the Hp + SES-M group, $^{\triangle}P<0.05$

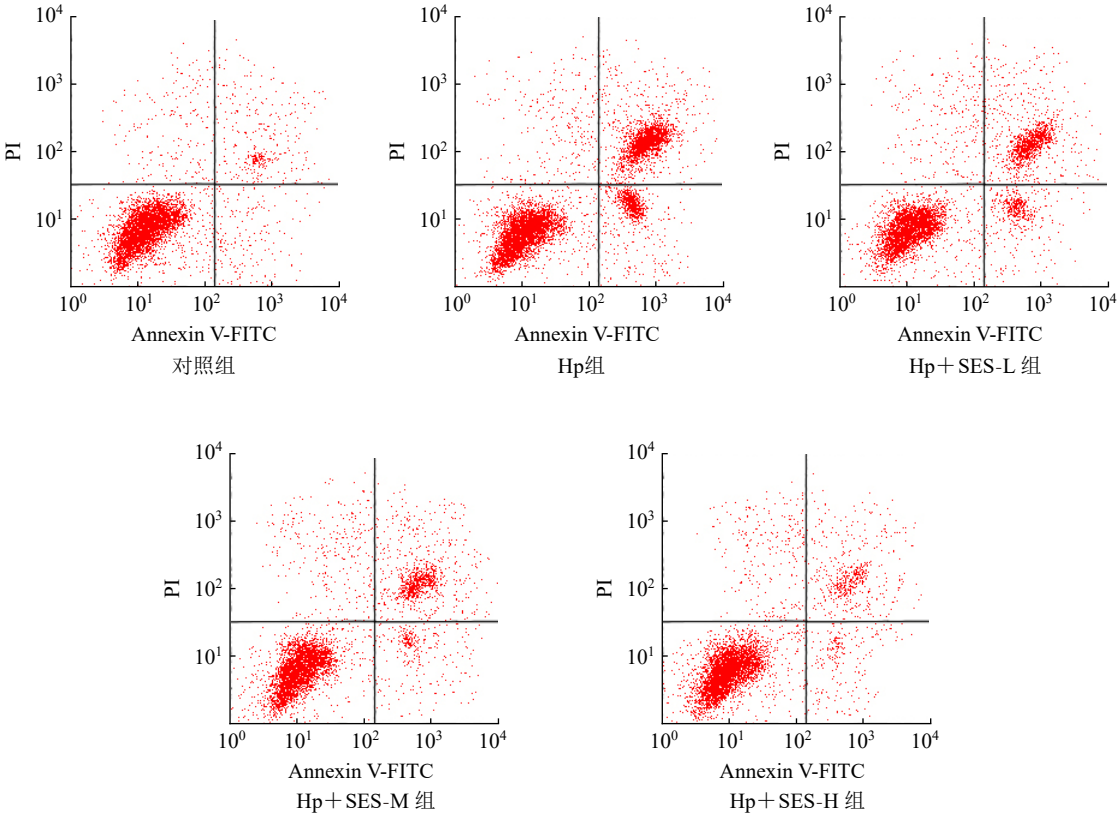


图 1　SES 对 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞凋亡的影响

Figure 1　Effect of SES on apoptosis of human gastric mucosal epithelial cells induced by Hp

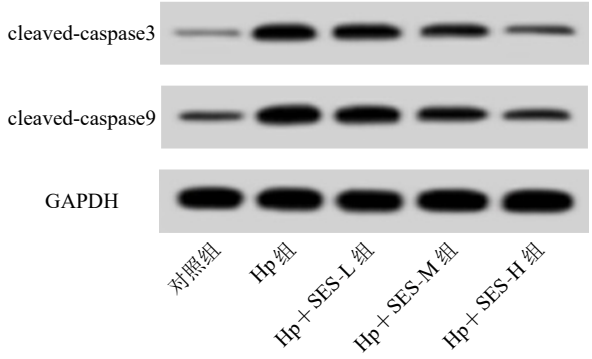


图 2　SES 对 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞凋亡相关蛋白表达的影响

Figure 2　Effect of SES on the expression of apoptosis-related proteins in human gastric epithelial cells induced by Hp

表 3　SES 对 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞 LDH 活性、IL-1β 及 IL-8 水平的影响 $(\bar{x}\pm s)$

Table 3　Effects of SES on LDH activity, IL-1β and IL-8 levels of human gastric mucosal epithelial cells induced by Hp $(\bar{x}\pm s)$

分组	LDH/U·L^{-1}	IL-1β/ng·L^{-1}	IL-8/ng·L^{-1}
对照组	158.43±13.84	8.41±1.04	36.69±2.60
Hp组	866.09±21.80*	74.29±6.88*	262.92±15.97*
Hp＋SES-L组	671.15±18.05$^{\#}$	57.71±5.17$^{\#}$	196.01±16.32$^{\#}$
Hp＋SES-M组	454.66±22.17$^{\#\&}$	30.94±3.36$^{\#\&}$	147.68±12.98$^{\#\&}$
Hp＋SES-H组	225.32±21.34$^{\#\&\triangle}$	12.27±1.25$^{\#\&\triangle}$	58.63±5.36$^{\#\&\triangle}$
*F*值	2 055.672	419.940	552.125
*P*值	<0.001	<0.001	<0.001

注：与对照组比较，*$P<0.05$；Hp 组比较，$^{\#}P<0.05$；与 Hp ＋ SES-L 组比较，$^{\&}P<0.05$；与 Hp ＋ SES-M 组比较，$^{\triangle}P<0.05$

Note: *vs* the control group, *$P<0.05$; *vs* the Hp group, $^{\#}P<0.05$; *vs* the Hp ＋ SES-L group, $^{\&}P<0.05$; *vs* the Hp ＋ SES-M group, $^{\triangle}P<0.05$

204 表达量减少（$P < 0.05$）；与 Hp 组比较，Hp ＋ SES-L 组、Hp ＋ SES-M 组及 Hp ＋ SES-H 组人胃黏膜上皮细胞的 miR-204 表达量均增加，并呈浓度依赖性（$P < 0.05$），表 4。

表 4　SES 对 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞 miR-204 表达的影响（$\bar{x}\pm s$）

Table 4　Effects of SES on miR-204 expression in human gastric mucosal epithelial cells induced by Hp（$\bar{x}\pm s$）

分组	miR-204
对照组	1.00±0.00
Hp组	0.25±0.02*
Hp＋SES-L组	0.45±0.03$^{\#}$
Hp＋SES-M组	0.68±0.05$^{\#\&}$
Hp＋SES-H组	0.87±0.07$^{\#\&\triangle}$
*F*值	729.051
*P*值	＜0.001

注：与对照组比较，*$P < 0.05$；Hp 组比较，$^{\#}P < 0.05$；与 Hp ＋ SES-L 组比较，$^{\&}P < 0.05$；与 Hp ＋ SES-M 组比较，$^{\triangle}P < 0.05$

Note: *vs* the control group, *$P < 0.05$; *vs* the Hp group, $^{\#}P < 0.05$; *vs* the Hp ＋ SES-L group, $^{\&}P < 0.05$; *vs* the Hp ＋ SES-M group, $^{\triangle}P < 0.05$

2.5　过表达或干扰 miR-204 对 SES 抵抗 HP 诱导胃黏膜上皮细胞损伤的作用

miR-204 过表达后，Hp ＋ miR-204 组人胃黏膜上皮细胞的 miR-204 表达量较 Hp ＋ miR-NC 组增加，而生长抑制率、凋亡率、cleaved-caspase3 蛋白及 cleaved-caspase9 蛋白的表达量、LDH 活性、IL-1β、IL-8 水平均较 Hp ＋ miR-NC 组减少（$P < 0.05$），干扰 miR-204 表达后，Hp ＋ SES ＋ anti-miR-204 组人胃黏膜上皮细胞的 miR-204 表达量低于 Hp ＋ SES ＋ anti-miR-NC 组，而生长抑制率、凋亡率、cleaved-caspase3 蛋白、cleaved-caspase9 蛋白的表达量、LDH 活性、IL-1β 及 IL-8 水平均高于 Hp ＋ SES ＋ anti-miR-NC 组（$P < 0.05$），见表 5、图 3 和图 4。

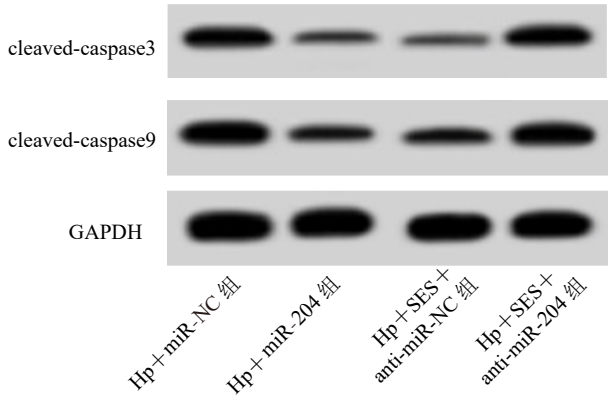


图 4　miR-204 过表达或干扰 miR-204 表达对 SES 抵抗 HP 诱导的人胃黏膜上皮细胞凋亡相关蛋白表达的影响

Figure 4　Effect of miR-204 overexpression or interference with miR-204 expression on SES resistance to Hp-induced apoptosis related protein expression in human gastric epithelial cells

3　讨论

慢性炎症是导致恶性肿瘤的主要原因之一，其与部分实体瘤的发展密切相关。持续感染 Hp 会引发胃上皮细胞凋亡升高导致慢性胃炎，进而发展为胃

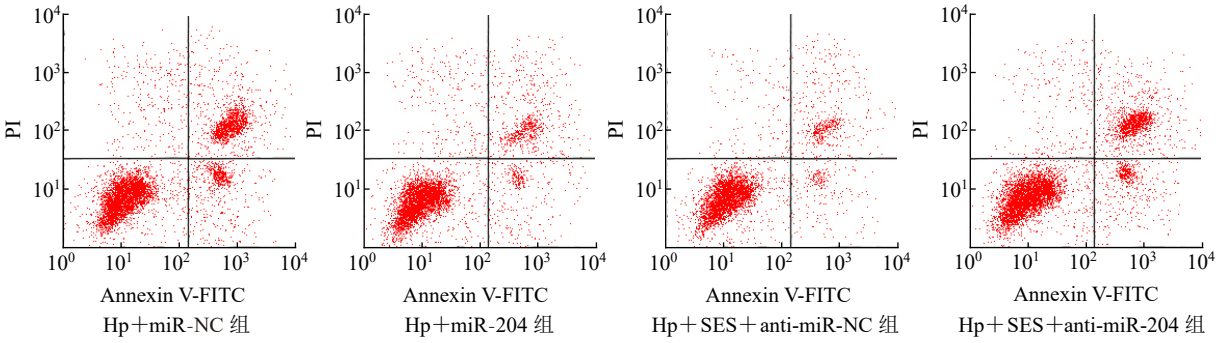


图 3　miR-204 过表达或干扰 miR-204 表达对 SES 抵抗 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞凋亡的影响

Figure 3　Effect of miR-204 overexpression or interference with miR-204 expression on SES resistance to Hp-induced apoptosis of human gastric epithelial cells

表 5 过表达或干扰 miR-204 对 SES 抵抗 HP 诱导胃粘膜上皮细胞损伤的作用（$\bar{x}\pm s$）

Table 5 Effect of overexpression or interference of miR-204 on SES resistance to Hp-induced gastric mucosal epithelial cell injury（$\bar{x}\pm s$）

项目	Hp＋miR-NC组	Hp＋miR-204组	Hp＋SES＋anti-miR-NC组	Hp＋SES＋anti-miR-204组	*t*值	*P*值
miR-204	1.00±0.00	2.95±0.23*	2.97±0.30*	1.15±0.13#	267.685	＜0.001
生长抑制率/%	57.03±5.23	17.97±1.42*	11.15±1.35*	47.14±4.22#	362.518	＜0.001
凋亡率/%	29.21±2.49	11.94±1.08*	8.15±0.63*	24.21±2.21#	282.178	＜0.001
cleaved-caspase3	0.65±0.04	0.27±0.03*	0.20±0.02*	0.54±0.04#	368.267	＜0.001
cleaved-caspase9	0.76±0.06	0.35±0.03*	0.31±0.03*	0.66±0.04#	257.485	＜0.001
LDH/U·L^{-1}	871.47±28.17	278.25±20.97*	225.54±20.58*	772.25±22.94#	1820.400	＜0.001
IL-1β/ng·L^{-1}	78.67±6.76	20.89±2.42*	11.26±1.38*	67.15±5.23#	496.406	＜0.001
IL-8/ng·L^{-1}	271.16±18.83	66.95±5.47*	56.26±4.53*	227.94±19.39#	557.980	＜0.001

注：与 Hp ＋ miR-NC 组比较，*P ＜ 0.05，与 Hp ＋ SES ＋ anti-miR-NC 组比较，#P ＜ 0.05

Note: *vs* the Hp ＋ miR-NC group, *P ＜ 0.05; *vs* the Hp ＋ SES ＋ anti-miR-NC group, #P ＜ 0.05

黏膜萎缩、化生，最后发展为胃癌[9]。故 Hp 感染导致的炎症反应可引发和加速一系列致癌事件[10]。本研究以 Hp 诱导人胃黏膜上皮细胞，旨在揭示 SES 在 Hp 损伤人胃黏膜上皮细胞中的保护潜力及机制。

SES 是芝麻的主要活性成分，其抗肿瘤作用主要通过 SES 抗增殖、促凋亡、抗炎以及促自噬活性等实现[11]。研究显示，SES 在不同的损伤过程中发挥保护作用。例如 SES 可通过抑制活性氧诱导的成骨细胞凋亡来保护股骨头免受骨坏死，说明其具有抗细胞凋亡作用[12]。SES 通过预处理细胞来降低过氧化氢诱导的人神经母细胞瘤的细胞死亡以及细胞内活性氧的产生[6]。此外，SES 还可通过剂量依赖性减轻肾脏氧化应激、炎症和细胞凋亡，以改善脂多糖诱导的急性肾功能损伤[13]。IL-1β 和 IL-8 是人体内促炎因子，Hp 感染可诱导胃黏膜上皮细胞的浸润，从而促进 IL-1β 和 IL-8 等炎性介质的释放[14]。LDH 是一种存在于多数组织的糖酵解酶，当细胞受到损伤时，细胞外液 LDH 渗出增加，故学者们常通过 LDH 活性的高低评估细胞损伤情况[15]。研究显示，胃肠道疾病模型大鼠 LDH 活性较高[16]。本研究结果显示，Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞中，细胞活力下降，凋亡、LDH 活性、IL-1β 及 IL-8 水平均升高，表明 Hp 感染可导致人胃黏膜上皮细胞的损伤，而不同浓度的 SES 预处理可降低细胞生长抑制率、凋亡率和 LDH 活性，以及 IL-1β、IL-8 水平，缓解 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞损伤，这与前述研究结果一致。

本研究表明，通过 Hp 诱导后，人胃黏膜上皮细胞的 miR-204 表达降低，但不同浓度的 SES 预处理后，可上调 miR-204 表达。提示 SES 保护 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞损伤可能与 miR-204 有关。有研究报道，感染 Hp 患儿的牙髓组织中 miR-204 的表达下调，其可能是检测牙髓炎患儿 Hp 感染的潜在标志物[17]。在脓毒症肺损伤大鼠模型中下调 miR-204 表达，可抑制大鼠肺组织中肿瘤坏死因子 -α、IL-6 炎症水平和氧化应激[18]。在阿霉素诱导的心肌细胞损伤模型中下调 miR-204 表达，过表达 miR-204 可减轻阿霉素诱导的心肌细胞损伤[19]。miR-204 的表达水平与 Hp 感染状况相关[20]，而 Hp 感染患者 miR-204 表达水平降低[21]。本研究中，miR-204 过表达可通过促进细胞活力、减轻细胞凋亡、抑制 LDH 活性和 IL-1β、IL-8 水平来改善 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞损伤，与上述研究结果一致。此外，有研究显示，外泌体 miR-204 参与褪黑激素缓解血管钙化和衰老过程[22]。本研究表明，干扰 miR-204 表达可逆转 SES 对 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞损伤，提示 SES 在 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞损伤中的抗凋亡和抗炎作用可能是通过上调 miR-204 来实现的。

4 结论

综上所述，SES 通过上调 miR-204 的表达，提升细胞活力，降低细胞凋亡和炎症，从而对 Hp 诱导的人胃黏膜上皮细胞损伤发挥保护作用，这为 SES 应用于 Hp 相关胃部疾病治疗提供新的启示。本文的不足之处是，未探究 SES 是否通过上调 miR-204 调控下游靶基因表达，从而发挥其生物学功能。下一步将继续探究 SES 对 miR-204 下游靶基因的影响。

参考文献：

[1] Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, *et al*. Gastric cancer[J]. Lancet, 2020, 396(10251): 635-648.

[2] He L, Wang W, Shi H, *et al*. THBS4/integrin α2 axis mediates BM-MSCs to promote angiogenesis in gastric cancer associated with chronic *Helicobacter pylori* infection[J]. Aging(Albany NY), 2021, 13(15): 19375-19396.

[3] Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, *et al*. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system[J]. Histopathology, 2020, 76(2): 182-188.

[4] 王婷婷，朱晓轩，裴小红. miR-204抑制感染幽门螺杆菌的胃上皮细胞迁移和侵袭的机制研究[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2020, 29(12): 1379-1383.

[5] Ye S, Wang W, Chen X, *et al*. Sesamin promotes angiogenesis and accelerates wound healing in rats via alleviates TBHP-induced apoptosis in human umbilical vein endothelial cells[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2020, 84(5): 887-897.

[6] Ruankham W, Suwanjang W, Wongchitrat P, *et al*. Sesamin and sesamol attenuate H_2O_2-induced oxidative stress on human neuronal cells via the SIRT1-SIRT3-FOXO3a signaling pathway[J]. Nutr Neurosci, 2021, 24(2): 90-101.

[7] 王增慧，张传祯，吴倩，等. 芝麻素对人外周血中γδ T细胞体外增殖及杀伤胃癌细胞株BCG-823作用的影响[J]. 广西医学, 2021, 43(5): 595-599.

[8] 陈宁南，万强. 小檗碱减轻幽门螺杆菌诱导的人胃黏膜上皮细胞损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(12): 2283-2286.

[9] Dang Y, Zhang Y, Xu L, *et al*. PUMA-mediated epithelial cell apoptosis promotes *Helicobacter pylori* infection-mediated gastritis[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(2): 139.

[10] Marcus EA, Tokhtaeva E, Jimenez JL, *et al*. *Helicobacter pylori* infection impairs chaperone-assisted maturation of Na-K-ATPase in gastric epithelium[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2020, 318(5): G931-G945.

[11] Majdalawieh AF, Massri M, Nasrallah GK. A comprehensive review on the anti-cancer properties and mechanisms of action of sesamin, a lignan in sesame seeds(Sesamum indicum)[J]. Eur J Pharmacol, 2017, 815: 512-521.

[12] Deng S, Zhou JL, Fang HS, *et al*. Sesamin protects the femoral head from osteonecrosis by inhibiting ROS-induced osteoblast apoptosis in rat model[J]. Front Physiol, 2018, 9: 1787.

[13] Rousta AM, Mirahmadi SM, Shahmohammadi A, *et al*. Protective effect of sesamin in lipopolysaccharide-induced mouse model of acute kidney injury via attenuation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2018, 40(5): 423-429.

[14] 竟晓慧，李凌雪，韩涛涛，等. 长链非编码RNA浆细胞瘤多样异位基因1对幽门螺旋杆菌感染胃上皮细胞系引起的炎症反应和细胞迁移的影响[J]. 中国医学科学院学报, 2020, 42(2): 228-235.

[15] Zhu S, Li X, Dang B, *et al*. Lycium barbarum polysaccharide protects HaCaT cells from PM2.5-induced apoptosis via inhibiting oxidative stress, ER stress and autophagy[J]. Redox Rep, 2022, 27(1): 32-44.

[16] Liu J, Zhao W, Li C, *et al*. Terazosin stimulates PGK1 to remedy gastrointestinal disorders[J]. Int J Mol Sci, 2021, 23(1): 416.

[17] Zhou S, Xu J. Downregulation of microRNA-204 increases the expression of matrix metallopeptidase 9 in pediatric patients with pulpitis and *Helicobacter pylori* infection in the stomach[J]. Exp Ther Med, 2019, 18(1): 253-259.

[18] 王光权，李洪，潘在轩. 微RNA-204靶向硫氧还蛋白相互作用蛋白对脓毒症大鼠急性肺损伤的保护作用[J]. 新乡医学院学报, 2021, 38(7): 612-618.

[19] Du Y, Liu G, Zhao L, *et al*. Protective effect of miR-204 on doxorubicin-induced cardiomyocyte injury via HMGB1[J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 8819771.

[20] Pereira AL, Magalhães L, Moreira FC, *et al*. Epigenetic field cancerization in gastric cancer: microRNAs as promising biomarkers[J]. J Cancer, 2019, 10(6): 1560-1569.

[21] Lario S, Ramírez-Lázaro MJ, Aransay AM, *et al*. microRNA profiling in duodenal ulcer disease caused by *Helicobacter pylori* infection in a western population[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(8): E273-E282.

[22] Xu F, Zhong JY, Lin X, *et al*. Melatonin alleviates vascular calcification and ageing through exosomal miR-204/miR-211 cluster in a paracrine manner[J]. J Pineal Res, 2020, 68(3): e12631.

（编辑：沈佳婕）