

苗药头花蓼对感染幽门螺杆菌胃炎细胞 TLRs 信号通路的影响*

江明礼^{1**}, 莫非^{1***}, 渠巍^{2***}, 孙朝琴¹, 罗昭逊¹, 张姝¹, 吴银杰¹

(1. 贵州医科大学, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵阳市儿童医院 检验科, 贵州 贵阳 550003)

[摘要] 目的: 观察苗药头花蓼对感染幽门螺杆菌(*H. pylori*)胃炎细胞 TLRs 信号通路的影响。方法: 将人永生胃上皮细胞(GES-1)随机分为空白组、模型组及药物组, 模型组和药物组 *H. pylori* 与 GES-1 细胞以 100:1 的比例共培养 12 h、空白组给予等量培养基, 头花蓼组给予相应药物干预 48 h、空白组及模型组给予等量培养基; 干预结束后, 采用光学及电子显微镜观察各组细胞形态结构的变化, 并以 Real-Time PCR 及 Western blot 法检测各组 GES-1 细胞 TLR2、TLR4、TLR5、TLR9 及下游信号因子 MyD88、TRAF6 mRNA 和蛋白表达水平。结果: 感染 *H. pylori* 后, 模型组细胞镜下较空白组偏瘦长、表面粗糙、颗粒物质明显增多、细胞膜表面绒毛减少、伪足多肿胀, 药物组细胞大体饱满、杂质颗粒明显减少、细胞膜边缘整齐、结构完整、伪足增多外泌体较少; Western blot 及 Real-time PCR 结果显示, 模型组 GES-1 细胞中 TLR2、TLR4、TLR5、TLR9 及 MyD88、TRAF6 mRNA 及蛋白表达较空白组明显升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 药物组 GES-1 细胞中 TLR2、TLR4、TLR5、TLR9 及 MyD88、TRAF6 mRNA 及蛋白下调($P < 0.05$)。结论: 头花蓼可能通过抑制 TLRs 信号通路的激活, 从而抑制下游炎症因子的激活和释放, 改善 *H. pylori* 引起的相关炎症反应。

[关键词] 苗药; 头花蓼; 螺杆菌; 幽门; 胃炎; Toll 样受体; 信号通路

[中图分类号] R378; R573.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2019)02-0184-06

DOI:10.19367/j.cnki.1000-2707.2019.02.012

Effect of *Polygonum capitatum* on TLRs Signal Pathway in *Helicobacter pylori* Gastritis Cells

JIANG Mingli¹, MO Fei¹, QU Wei², SUN Chaoqin¹, LUO Zhaoxun¹, ZHANG Shu¹, WU Yinjie¹

(1. Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Clinical Laboratory of Guiyang Maternal and Child Health Hospital, Guiyang 550003, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of *Polygonum capitatum* on TLRs signal pathway in *Helicobacter pylori* (*H. Pylori*) gastritis cells. **Methods:** The human immortalized gastric epithelial cells (GES-1) were randomly divided into blank group and experimental group. The experimental group included model group and *Polygonum capitatum* group. The experimental group was treated with *H. pylori* ATCC 700392, which was co-cultured with GES-1 cells for 12h at a ratio of 100:1 to establish a gastritis cell model infected with *H. pylori*. The blank group was given the same amount of medium. The *Polygonum capitatum* group was then given the corresponding drug intervention for 48 h and the blank group and the model group were given the same amount of medium. After the intervention, optical and electron microscope were used to observe morphological changes of each group, and Real-Time PCR and Western Blot were used to detect the expression of TLR2, TLR4, TLR5, TLR9 and downstream signaling molecules MyD88, TRAF6 mRNA and protein in GES-1 cells. **Results:** After treated with

*[基金项目] 贵州省科技合作计划基金资助项目[黔科合 LH(2015)7417 号]; 贵州省卫生计生委科学技术基金资助项目(gzwjkj2015-1-003); 贵州省贵阳市科技计划项目[筑科合同(20141001)号]; 贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题(QZYY-2016-005)

** 贵州医科大学 2015 级研究生

*** 通信作者 E-mail:354406804@qq.com; duocaiguizhou999@163.com

网络出版时间:2019-02-28 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20190228.2130.012.html>

H. pylori, the cells of the model group were elongated, the surface was rough and the granular substance was obviously increased. The villi on the surface of the cell membrane were reduced compared with the blank group, and the pseudopod was swollen. The cells in the drug group were generally full and the impurity particles were obviously reduced. The cell membrane was obviously improved; the edges were neat; the structure was intact and the pseudopodia increased. The results of Western blot and Real time PCR showed that the expression of TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, MyD88, TRAF6 mRNA and protein in GES-1 cells was significantly higher than that in the blank group ($P < 0.05$); Compared with the model group, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9 and MyD88, TRAF6 mRNA and protein were down-regulated in GES-1 cells ($P < 0.05$). **Conclusion:** *Polygonum capitatum* may inhibit the activation of TLRs signal pathway, regulate the expression of innate immune receptors on cell membrane surface and thus improve the related inflammation induced by *H. pylori*.

[**Key words**] Miao medicine; *Polygonum capitatum*; *Helicobacter pylori*; gastritis; Toll-like receptors; signal pathway

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是人类最常见的慢性感染致病菌之一,多在胃黏膜上定植,可侵入宿主防御系统,通过产生毒素及诱导炎症反应等对人体造成伤害^[1-2]。Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)是研究最为广泛的模式识别受体之一,在天然免疫防御中起着重要作用^[3-4]。前期体内实验表明,*H. pylori* 相关性胃炎模型大鼠经苗药头花蓼治疗后,胃部炎症减轻,胃黏膜 TLR4 蛋白表达下调^[5],提示该药具有抗炎抑菌,调节固有性免疫的作用,但其抗 *H. pylori* 胃炎的作用机制仍尚未明了。为进一步明确体内头花蓼与 TLRs 信号通路的相关性,本实验采用人永生化胃黏膜上皮细胞(GES-1)与 *H. pylori* 共培养建立感染 *H. pylori* 的胃炎细胞模型并观察其形态变化,采用实时荧光定量 PCR 及 Western blot 法观察头花蓼对 TLR2、TLR4、TLR5、TLR9 及下游因子 MyD88、TRAF6 mRNA 和蛋白表达的影响,探讨头花蓼对 TLRs 信号通路的影响,为头花蓼抗 *H. pylori* 治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞、药物及试剂

人永生化胃黏膜上皮细胞(GES-1,上海肿瘤研究所),*H. pylori* ATCC 700392(中国疾病预防控制中心传染病所张建中教授惠赠);苗药头花蓼浸膏(粉),生药量为 9.17 g/g,浙江众益制药有限公司提供,批号 14196;Trizol 购自 Invitrogen 公司,荧光定量 PCR 试剂盒、RNA 逆转录试剂盒购自 Takara 公司,组织蛋白提取试剂盒、BCA 蛋白定量试剂

盒、rabbit-anti-TLR2、rabbit-anti-TLR4、rabbit-anti-TLR9、rabbit-anti-TRAF6、rabbit-anti-GAPDH 均购自万类生物有限公司,abbit-anti-MyD88 购自 CST 公司,rabbit-anti-TLR5 购自 Bioworld 公司,HRP 标记抗羊抗兔 IgG 抗体购于杭州联科生物公司。荧光定量 PCR 仪(德国 ROCHE),Western Blot 电泳仪及转膜系统(美国 Bio-Rad)。

1.2 方法

1.2.1 *H. pylori* 的培养 按照文献[6]将冻存的 *H. pylori* ATCC 700392 室温溶解后,转移至哥伦比亚血平皿内,置于三气培养箱(85% N₂、10% CO₂、5% O₂,温度 37 ℃、相对湿度 95%)稳定培养 3 代备用。

1.2.2 GES-1 细胞的培养 从液氮中取出 GES-1 细胞于 37 ℃水浴箱解冻后,转移至含有 9 mL DMEM 培养基的 10 mL 离心管中,吹打混匀,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清后加入 2 mL 含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基重悬;将重悬的细胞移入细胞培养瓶中,加入 3 mL 上述培养基中,在 5% CO₂、温度 37 ℃、相对湿度 95% 培养箱中稳定培养 3 代备用。

1.2.3 细胞模型的复制及分组 按照课题组前期研究方法^[7]将 GES-1 细胞随机分为空白组、模型组及药物组,模型组和药物组 *H. pylori* 细菌与 GES-1 细胞以 100:1 的比例共培养 12 h 建立感染 *H. pylori* 的胃炎细胞模型。无血清培养基饥饿培养 4 h 后,药物组给予头花蓼干预 48 h,空白组、模型组给予等量培养基,各组细胞均于 5% CO₂、温度 37 ℃、相对湿度 90% 培养箱中培养 48 h。

1.2.4 显微镜检查 模型复制成功、给予相应处

理 48 h 后,将各组细胞置于倒置显微镜下观察并采图。同时制作细胞爬片并采用特制固定液(取自重庆医科大学生命科学院电镜室)固定细胞,置于 4 ℃ 冰箱内固定 2 d,送至重庆医科大学生命科学院电镜室进行扫描及投射电子显微镜观察。

1.2.5 TLRs 及相关因子 mRNA 表达检测 在给予相应处理 48 h 后, Omega 试剂盒提取各组细胞的总 RNA, 用酶标仪对提取的总 RNA 进行测定。按照 TaKaRa 逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。以 β -actin 作为内参基因, 采用 primer 5 设计 PTEN、AKT 扩增引物(见表 1)。20 μL 反应体系包括 2.0 μL DNA 模版, 0.8 μL 上、下游引物, 10 μL SYBR[®] Premix ExTaq[™] II, 6.4 μL 灭菌 ddH₂O。反应条件为 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s, $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 s, $56\text{ }^{\circ}\text{C}$ 20 s, 40 个循环。各组数据采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法对目标基因进行分析。

表 1 PCR 扩增引物基因序列

Tab.1 The sequences of the primers for real-time PCR

基因	基因号	引物序列(5' to 3')	产物大小(bp)
<i>GAPDH</i>	NM017008	上游:CCATCAACGACCCCTTCATT 下游:GACCAGCTTCCCATTCTCAG	110
<i>TLR2</i>	NM001318787	上游:TTCACCTCAGGAGCAGCAAGC 下游:GTGACATTCCGACACCGAGA	129
<i>TLR4</i>	NM138554	上游:CGAATGGAATGTGCAACACC 下游:AAGCACACTGAGGACCGACA	111
<i>TLR5</i>	NM003268	上游:GACCACCTGGACCTTCTCCT 下游:GCCTCTCACTGGTGTTGAGG	145
<i>TLR9</i>	NM017442	上游:CCTGAGCCACAACCTGCATCT 下游:CGTGAATGAGTGCTCGTGGT	121
<i>MyD88</i>	NM001172569	上游:GCTGCTCTCAACATGCGAGT 下游:GTCTCCAGTTGCCGGATCTC	131
<i>TRAF6</i>	NM145803	上游:TGCGCTTGCACCTTCAGTTA 下游:GGAGGTGGCTGTCATATTCTCC	96

1.2.6 TLRs 及相关因子蛋白表达检测 在给予各组细胞相应处理 48 h 后,提取蛋白,配置 10% SDS- PAGE 凝胶,行电泳分离(上样量为 20 μ g/孔),将电泳物转移至 0.45 μ m PVDF 膜,5% 脱脂奶粉室温摇封闭 2 h,洗膜后加入抗 TLR2、TLR4、TLR9、TRAF6 抗体(稀释比例 1:500)、TLR5、MyD88 抗体(稀释比例 1:1 000) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。第 2 天洗膜后加入荧光二抗(稀释比例 1:10 000),室温孵育 1 h 后加入显色液。采用自动曝光仪曝光并采图,后用 Image J 灰度扫描软件进行灰度扫描。

1.3 统计学处理

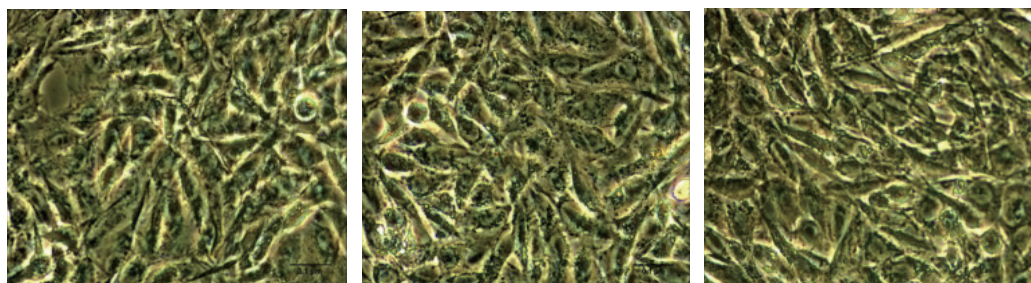
所有实验均重复 3 次及以上。采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, 计量资料用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两两比较用 t 检验, 多组比较采用单因素方差分析, 方差齐采用 LSD 检验, 方差不齐采用 $Dunnnett-t$ 进行方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 感染 *H. pylori* 的 GES-1 胃炎细胞形态

2.1.1 光学显微镜 倒置显微镜下,见空白组背底干净,细胞外观饱满呈梭形,表面光滑,附着颗粒物质较少;模型组多数细胞瘦长,表面不光滑,颗粒物质明显较空白组增多;药物作用后,细胞状态有显著改善,背底清晰,细胞边缘较模型组整齐,颗粒物质明显变少,见图1。

2.1.2 扫描电镜 扫描电镜下对空白组、模型组及药物组 GES-1 细胞进行观察,见空白组细胞形态丰满,表面光滑,外泌体较少;模型组细胞多瘦长,可见点状或片状物质黏附于表面;药物干预后,药物组细胞较模型组外泌体减少,颗粒物质较少,边缘趋于整齐。见图 2。



空白组	模型组	药物组
-----	-----	-----

图1 光学显微镜下各组 GES-1 细胞形态(200×)

Fig. 1 Morphology of GES-1 gastritis cells in each group under optical microscope

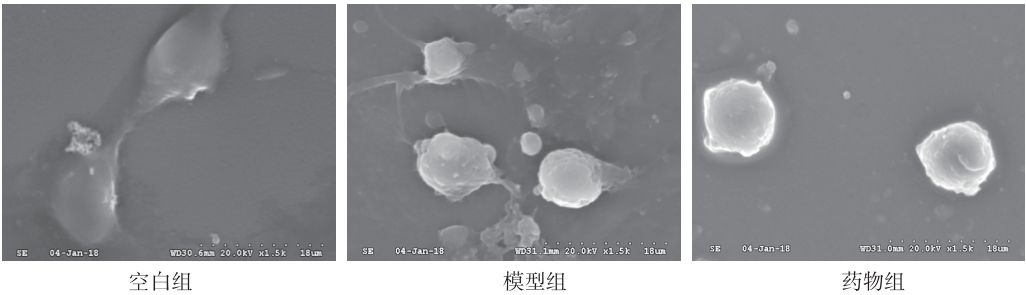


图 2 扫描电镜下各组 GES-1 细胞形态(600 ×)

Fig.2 Morphology of GES-1 gastritis cells in each group under scanning electron microscope

2.1.3 透射电镜 透射电镜下可见空白组细胞膜表面绒毛层均匀整齐,整体形态饱满,细胞器形态正常;而模型组细胞膜表面绒毛层疏松,细胞器皱缩,自噬小体减少;药物组细胞较模型组背底清晰整洁,细胞形态大体完整,细胞绒毛紧贴细胞膜,细胞器趋于正常,核膜形态较好,见图 3。

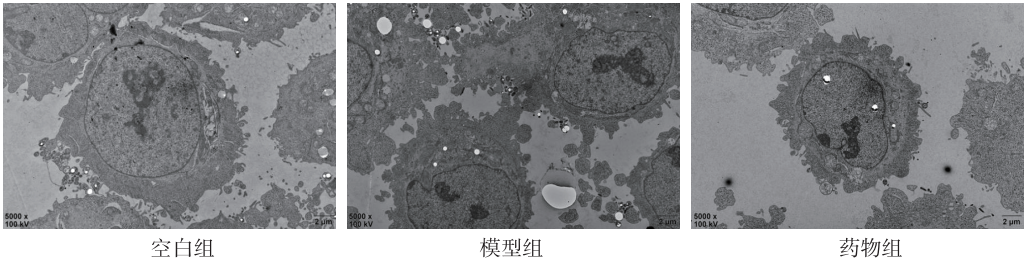


图 3 透射电镜下各组 GES-1 细胞形态(5 000 ×)

Fig.3 Morphology of GES-1 gastritis cells in each group under transmission electron microscope

2.2 头花蓼对感染 *H. pylori* 的 GES-1 细胞 *TLR2*、*TLR4*、*TLR5*、*TLR9* 及 *MyD88*、*TRAF6* mRNA 水平的影响

qRT-PCR 结果显示,*H. pylori* 感染 GES-1 细胞后,*TLR2*、*TLR4*、*TLR5*、*TLR9* 及 *MyD88*、*TRAF6* mRNA 水平较空白组上调 ($P < 0.05$);与模型组相比,头花蓼干预后 *TLR2*、*TLR4*、*TLR5*、*TLR9* 及 *MyD88*、*TRAF6* mRNA 水平下调 ($P < 0.05$),提示头花蓼可下调 TLRs 信号通路 mRNA 表达水平改善幽门螺杆菌胃炎炎症反应。见表 2。

表 2 头花蓼对 *TLR2*、*TLR4*、*TLR5*、*TLR9* 及 *MyD88*、*TRAF6* mRNA 水平的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Effects of Polygonum capitatum on *TLR2*, *TLR4*, *TLR5*, *TLR9*, *MyD88* and *TRAF6* mRNA levels

基因	mRNA 表达水平		
	空白组	模型组	头花蓼组
<i>TLR2</i>	1.064 ± 0.059	7.329 ± 0.204 ⁽¹⁾	5.075 ± 0.034 ⁽²⁾
<i>TLR4</i>	1.042 ± 0.044	1.888 ± 0.009 ⁽¹⁾	1.141 ± 0.049 ⁽²⁾
<i>TLR5</i>	0.940 ± 0.052	1.622 ± 0.028 ⁽¹⁾	1.159 ± 0.047 ⁽²⁾
<i>TLR9</i>	0.960 ± 0.036	4.221 ± 0.355 ⁽¹⁾	1.198 ± 0.075 ⁽²⁾
<i>MyD88</i>	1.037 ± 0.076	3.352 ± 0.144 ⁽¹⁾	1.823 ± 0.135 ⁽²⁾
<i>TRAF6</i>	0.995 ± 0.028	3.443 ± 0.020 ⁽¹⁾	1.633 ± 0.108 ⁽²⁾

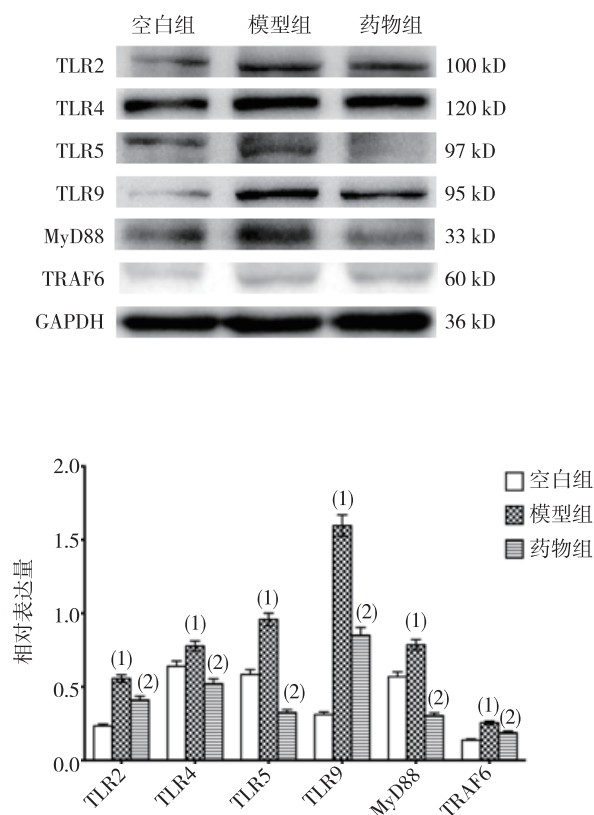
⁽¹⁾与空白组比较, $P < 0.05$;⁽²⁾与模型组比较, $P < 0.05$

2.3 头花蓼对感染 *H. pylori* 的 GES-1 细胞 *TLR2*、*TLR4*、*TLR5*、*TLR9* 及 *MyD88*、*TRAF6* 蛋白水平的影响

Western blot 结果显示,模型复制成功后,模型组 *TLR2*、*TLR4*、*TLR5*、*TLR9* 及 *MyD88*、*TRAF6* 较空白组上调 ($P < 0.05$);与模型组相比,头花蓼组 *TLR2*、*TLR4*、*TLR5*、*TLR9* 及 *MyD88*、*TRAF6* 下调 ($P < 0.05$)。提示头花蓼下调 TLRs 蛋白表达量,抑制下游炎症因子的激活,从而减轻炎症反应。见图 4。

3 讨论

H. pylori 是目前公认的能引起相关性胃炎、消化性溃疡、胃癌等的主要病因^[8-9],作为人类消化系统最常见的致病菌和模式病原菌之一,当它进入机体后可引起炎症和免疫反应失衡,人胃黏膜固有免疫及获得性免疫会发生异常。Toll 样受体是目前研究最为广泛的模式识别受体,可通过识别并结合微生物的病原相关分子模式,进而启动自身固有免疫系统来对外来抗原进行直接清除。有研究表明,TLRs 与 *H. pylori* 致病密切相关^[10-11],胃黏膜



(¹)与空白组比较, $P < 0.05$; (²)与模型组比较, $P < 0.05$

图4 头花蓼对感染 *H. pylori* 的 GES-1 细胞 TLR2、TLR4、TLR5、TLR9 及 MyD88、TRAF6 蛋白水平的影响

Fig. 4 Effects of *Polygonum capitatum* on the protein levels of TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, MyD88 and TRAF6 in GES-1 cells infected with *H. pylori*

上皮细胞是 *H. pylori* 与宿主之间的第一接触点,而 TLRs 作为细胞中重要的病原模式识别受体通过识别微生物及其相关产物启动机体内免疫系统,在 *H. pylori* 胃炎致病过程中作用中发挥重要作用。

苗药头花蓼是贵州传统中草药,具有清热解毒抗菌的功效^[12]。课题前期研究发现其对 *H. pylori* 相关性胃炎具有良好的抗炎效果;且动物实验发现 *H. pylori* 感染后大鼠胃黏膜 TLR4 mRNA 表达升高,而苗药头花蓼可下调 TLR4 mRNA 的表达水平,推测头花蓼可能通过调控 TLRs 信号通路改善 *H. pylori* 胃炎。故本实验通过构建感染 *H. pylori* 胃炎细胞模型观察头花蓼改善 *H. pylori* 胃炎的机制。

实验结果显示,经 *H. pylori* 感染后 GES-1 胃炎细胞在光学显微镜下背底模糊,整体较瘦长,表面粗糙,颗粒物质明显增多;扫描电子显微镜观察,可

见 GES-1 胃炎细胞形态各异,外泌体增多,有大量颗粒物质附着,推测 *H. pylori* 黏附定植于 GES-1 细胞表面,菌体及相关毒性物引起细胞产生病理改变;进一步使用透射电镜进行超微结构观察发现,细胞膜表面绒毛层疏松,细胞器皱缩,伪足肿胀,自噬小体减少,提示 *H. pylori* 的感染会引起细胞整体及微观形态结构的相应改变。

众多研究表明,中药材可通过抑制 Toll 样受体的表达,进而控制病情的发展。李思汉等^[13]通过对大鼠慢性萎缩性胃炎的研究,发现健脾清化中药复方可有效阻断 TLR4 信号通路的持续活化,并可使造模成功的大鼠胃黏膜恢复正常。本研究结果显示,*H. pylori* 感染 GES-1 后,细胞 TLR2、TLR4、TLR5、TLR9 和下游因子 MyD88、TRAF6 mRNA 及蛋白水平均相应升高,此与王小娟^[14]、Schmausser B^[15]、卢震亚^[16]的研究结果相符。该结果证实,经 *H. pylori* 感染后,菌体及相关病原模式分子,如脂多糖、鞭毛、DNA 片段等刺激相应模式识别受体,启动细胞固有免疫系统,激活下游炎症通路,产生炎症反应。在使用头花蓼治疗后,TLR2、TLR4、TLR5、TLR9 和下游因子 MyD88、TRAF6 mRNA 及蛋白水平明显降低,且对 TLR5 的作用最为显著。推测头花蓼可能是通过抑制 TLRs 基因转录,抑制 TLRs 蛋白表达,从而抑制下游炎症因子的激活和释放,从而达到改善幽门螺杆菌胃炎的目的。

综上,经 *H. pylori* 感染后,GES-1 胃炎细胞中 TLRs 通路因子表达明显升高,说明 *H. pylori* 可激活 TLRs 通路并引发炎症效应。而头花蓼作用后,TLRs 通路及其相关因子表达有所下调,其中 TLR5 的作用较为显著。故本实验证实了苗药头花蓼可通过干预 TLRs 通路来调节 *H. pylori* 胃炎的发生发展,为临床治疗胃炎提供新的思路 and 理论依据。

4 参考文献

- [1] SUGANO K, TACK J, KUIPERS E J, et al. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis [J]. Gut, 2015, 64 (9): 1353 - 1367.
- [2] RATH S, DAS L, KOKATE S B, et al. Regulation of Noxa-mediated apoptosis in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells [J]. FASEB J, 2015, 29 (3): 796 - 806.
- [3] KABISCH R, MEJIAS-LUQUE R, GERHARD M, et al. Involvement of toll-like receptors on *Helicobacter pylori*-induced immunity [J]. PLoS One, 2014, 9 (8):

- e104804.
- [4] ONEILL L A, GOLENBOCK D, BOWIE A G. The history of toll-like receptors-redefining innate immunity [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2013, 13(6): 453–460.
- [5] 任艳君,莫非,张姝,等. 头花蓼对幽门螺杆菌生长及代谢相关基因的影响[J]. *贵阳医学院学报*, 2016, 41(2): 175–178.
- [6] WERAWATGANON D. Simple animal model of *Helicobacter pylori* infection[J]. *World J Gastroenterol*, 2014(21): 6420–6424.
- [7] 何芸. 头花蓼对幽门螺杆菌胃炎 NF- κ B 信号通路调控作用及机制研究[D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2017.
- [8] DIESING A K, NOSSOL C, FABER-ZUSCHRATTER H, et al. Rapid interaction *pylori* with microvilli of the polar human gastric epithelial cell line NCI-N87[J]. *The Anatomical Record*, 2013, 296, (12): 1800–1805.
- [9] HONGYING F, XIANBO W, FANG Y, et al. Oral immunization with recombinant *Lactobacillus acidophilus* expressing the adhesin Hp0410 of *Helicobacter pylori* induces mucosal and systemic immune responses[J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2014(21): 126–132.
- [10] TENG G G, WANG WH, DAI Y, et al. Let-7b is involved in the inflammation and immune responses associated with *Helicobacter pylori* infection by targeting Toll-like receptor 4[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56709.
- [11] SMITH S M, MORAN A P, DUGGAN S P, et al. Tribbles 3: a novel regulator of TLR2-mediated signaling in response to *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide[J]. *J Immunol*, 2011, 186(4): 2462–2471.
- [12] 吕炎唏,王隶书,程东岩,等. 中药头花蓼的化学成分和药理作用研究概况[J]. *中国药师*, 2017, 20(10): 1849–1853.
- [13] 李思汉,黄铭涵,黄健,等. 健脾清化中药复方对慢性萎缩性胃炎大鼠 TLR4/NF- κ B/COX-2 信号通路的影响[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2016, 24(7): 504–508.
- [14] 王小娟,罗燕,喻斌,等. 灭幽汤对幽门螺杆菌相关性胃炎脾胃湿热证模型小鼠 Toll 样受体 2、4 的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2015, 22(2): 64–67.
- [15] SCHMAUSSER B, ANDRULIS M, ENDRICH S, et al. Expression and subcellular distribution of toll-like receptors TLR4, TLR5 and TLR9 on the gastric epithelium in *Helicobacter pylori* infection[J]. *Clin Exp Immunol*, 2004, 136(3): 521–526.
- [16] 卢震亚. Toll 样 9 受体在胃癌中的表达及其在发病机制中作用的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- (2018-12-03 收稿, 2019-02-11 修回)
- 中文编辑: 周 凌; 英文编辑: 张文龙
-
- (上接第 183 页)
- [10] 贾建平. 食管癌相关基因 4(ECRG4)在喉癌中的表达和临床意义以及过表达 ECRG4 对喉癌细胞增殖和凋亡的影响[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2014.
- [11] PUISIEUX A, BRABLETZ T, CAMEL J. Oncogenic roles of EMT-inducing transcription factors[J]. *Nature Cell Biology*, 2014, 16(6): 488–494.
- [12] TIWARI N, GHELDOLF A, TATARI M, et al. EMT as the ultimate survival mechanism of cancer cells [J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2012, 22(3): 194–207.
- [13] ZHANG K, ZHAOS J, LIU X, et al. Activation of NF-B upregulates Snail and consequent repression of E-cadherin in cholangiocarcinoma cell invasion[J]. *Hepato-gastroenterology*, 2011, 58(105): 1–7.
- [14] WANG X, LI L, GUAN R, et al. Emodin Inhibits ATP-Induced Proliferation and Migration by Suppressing P2Y Receptors in Human Lung Adenocarcinoma Cells[J]. *International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, 2017, 44(4): 1337–1351.
- [15] LIN S X, JIANG H, XIANG G Z, et al. Up-regulation of long non-coding RNA SNHG1 contributes to proliferation and metastasis in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2018, 22(5): 1333–1341.
- (2018-12-07 收稿, 2019-02-16 修回)
- 中文编辑: 周 凌; 英文编辑: 雷 妍