

首荟通便胶囊通过调控 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路抑制幽门螺杆菌诱导的炎症反应

张天一¹, 王 慧¹, 何孝忠¹, 李燕齐¹, 王依欢¹, 冯 中^{1,2*}

1. 天津中医药大学研究生院, 天津 301617

2. 鲁南制药集团股份有限公司, 山东药物国际化工程实验室, 山东 临沂 276000

摘 要: 目的 基于 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)/髓样分化因子 88 (myeloid differentiation primary response 88, MyD88) 介导的核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通路探讨首荟通便胶囊对幽门螺杆菌 *Helicobacter pylori* 感染人胃黏膜上皮细胞 GES-1 诱导的炎症反应的影响。方法 构建幽门螺杆菌诱导 GES-1 细胞炎症模型, 设置对照组、模型组及首荟通便胶囊 (80、160、320 μ g/mL) 组, 给予首荟通便胶囊干预后, 检测细胞上清液中一氧化氮 (nitric oxide, NO) 水平; 流式细胞术检测细胞凋亡及活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平; ELISA 测定白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 水平; qRT-PCR 检测 *IL-1 β* 的 mRNA 表达; Western blotting 检测 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路相关蛋白表达。结果 与模型组比较, 首荟通便胶囊显著降低 NO 释放量、细胞凋亡率、ROS 和 IL-1 β 水平 ($P < 0.05$, 0.01 , 0.001), 下调 *IL-1 β* 的 mRNA 表达 ($P < 0.001$), 并抑制 TLR4、MyD88、p-NF- κ B/NF- κ B 的蛋白表达水平 ($P < 0.05$, 0.01)。结论 首荟通便胶囊可通过抑制 TLR4/MyD88 介导的 NF- κ B 通路活化, 减轻氧化应激损伤, 减少促炎因子生成, 从而缓解幽门螺杆菌感染诱导的 GES-1 细胞炎症反应。

关键词: 首荟通便胶囊; 幽门螺杆菌; 细胞凋亡; 氧化应激; TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路; 二苯乙炔苷; 柚皮苷

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)24-9055-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.24.017

Shuhui Tongbian Capsule inhibits *Helicobacter pylori*-induced inflammatory responses by regulating TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway

ZHANG Tianyi¹, WANG Hui¹, HE Xiaozhong¹, LI Yanqi¹, WANG Yihuan¹, FENG Zhong^{1,2}

1. Graduate School, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. International Pharmaceutical Engineering Lab. in Shandong Province, Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi 276000, China

Abstract: Objective To explore the effect of Shuhui Tongbian Capsule (首荟通便胶囊) on inflammatory response induced by *Helicobacter pylori* infection in human gastric epithelial GES-1 cells based on Toll-like receptor 4 (TLR4)/myeloid differentiation primary response 88 (MyD88) mediated nuclear factor- κ B (NF- κ B) pathway. **Methods** *H. pylori* induced GES-1 cells inflammation model was constructed, control group, model group and Shuhui Tongbian Capsule (80, 160, 320 μ g/mL) groups were set up. After intervention with Shuhui Tongbian Capsule, the level of nitric oxide (NO) in supernatant was detected. Flow cytometry was used to detect cell apoptosis and reactive oxygen species (ROS) level. ELISA was used to measure the level of interleukin-1 β (IL-1 β). qRT-PCR was used to detect the mRNA expression of *IL-1 β* . Western blotting was used to detect the expressions of TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway related proteins. **Results** Compared with model group, Shuhui Tongbian Capsule significantly reduced NO release, cell apoptosis rate, ROS and IL-1 β levels ($P < 0.05$, 0.01 , 0.001), down-regulated *IL-1 β* mRNA expression ($P < 0.001$), and inhibited the protein expression levels of TLR4, MyD88 and p-NF- κ B/NF- κ B ($P < 0.05$, 0.01). **Conclusion** Shuhui Tongbian Capsule could alleviate the inflammatory response of GES-1 cells induced by *H. pylori* infection by inhibiting the activation of TLR4/MyD88 mediated NF- κ B pathway, reducing oxidative stress damage, and decreasing the production of pro-inflammatory factors.

收稿日期: 2025-09-27

基金项目: 泰山产业领军人才 (tsxc202306086)

作者简介: 张天一, 硕士, 研究方向为中药药理学。E-mail: ztyjan@163.com

*通信作者: 冯 中, 博士, 正高级工程师, 硕士生导师, 从事抗幽门螺杆菌中药的活性筛选和工程技术开发。E-mail: fengzhong22@163.com

Key words: Shouhui Tongbian Capsule; *Helicobacter pylori*; cell apoptosis; oxidative stress; TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway; 2,3,5,4'-tetrahydroxy stilbene-2-O- β -D-glucoside; naringin

幽门螺杆菌 *Helicobacter pylori* 是一种螺旋状的革兰阴性微需氧菌, 具有 4~6 根鞭毛, 主要寄居于人类胃部。该菌在人群中极为普遍, 全球约半数人口为其携带者^[1]。从流行病学分布来看, 低收入国家感染率显著高于高收入国家。幽门螺杆菌被世界卫生组织列为 1 类致癌物, 该菌不仅与各种胃肠道疾病(如慢性胃炎、胃溃疡、胃癌和胃淋巴瘤)密切相关, 还与心血管疾病、代谢综合征、皮肤疾病、血液疾病、神经系统疾病和自身免疫性疾病等存在关联^[2]。目前幽门螺杆菌感染的一线治疗方案为四联疗法, 即质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)联合铋盐, 并搭配 2 种抗生素(如阿莫西林、克拉霉素等)组成^[3]。但该方案存在明显局限: 一方面, 抗生素使用易引发恶心、呕吐、头痛、味觉困难、头晕和肠道微生物群失调等不良反应, 直接降低患者治疗耐受性和依从性, 最终影响根除效果^[4]; 另一方面, 全球范围内克拉霉素、左氧氟沙星等关键抗生素的耐药率持续攀升, 导致治疗根除率波动在 65%~92%, 且在许多地区呈下降趋势。为此, 世界卫生组织已将幽门螺杆菌指定为高度优先的抗生素耐药病原体, 明确强调研发非抗生素替代品或辅助治疗手段的迫切性^[5]。

从天然来源挖掘高效、低毒的抗菌剂已成为当前对抗幽门螺杆菌感染的重要研究方向^[6]。中医药在消化系统疾病治疗中展现的靶向微生物作用已在临床实践中得到验证, 其中中药复方、单味药材及活性化合物因多靶点、低不良反应的优势, 成为该领域的研究热点^[7]。首荟通便胶囊是由鲁南厚朴制药有限公司研发的经典中药配方, 由何首乌、芦荟、决明子、枸杞子、阿胶、人参、白术、枳实 8 味中药组成, 此前研究已证实其具有缓解便秘、治疗胃肠道疾病以及抗菌抗炎的药理活性^[8-9], 且复方中芦荟大黄素、大黄素等成分可直接抑制幽门螺杆菌活性^[10-13]。本团队前期研究发现首荟通便胶囊具备抗幽门螺杆菌能力, 但关于其如何调控幽门螺杆菌感染引发的炎症反应及潜在分子机制尚未见报道。

Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 信号通路是机体识别病原体、调控炎症反应的关键通路。幽门螺杆菌感染时, TLR4 通过髓样分化蛋白-2 (myeloid differentiation protein-2, MD-2) 的辅助

受体识别脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS), LPS 与 TLR4 结合形成 LPS-TLR4-MD-2 的复合物, 进而触发受感染宿主细胞内的信号传导, 通过髓样分化因子 88 (myeloid differentiation primary response 88, MyD88) 依赖途径激活细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular regulated protein kinase 1/2, ERK 1/2) 和核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B), 最终促使白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等促炎因子释放, 加剧炎症损伤^[14-15]。本研究通过建立幽门螺杆菌诱导的人胃黏膜上皮细胞炎症模型, 探究首荟通便胶囊对细胞炎症反应、氧化应激及 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路的影响, 旨在为其作为幽门螺杆菌感染的辅助治疗药物提供实验依据。

1 材料

1.1 细胞与菌株

人胃黏膜上皮细胞 GES-1 和幽门螺杆菌标准参考株 ATCC 700392 购自美国 ATCC。

1.2 药品与试剂

首荟通便胶囊提取物(批号 141423023)由鲁南厚朴制药有限公司提供, 其中二苯乙烯苷、柚皮苷质量分数分别为 7.12、32.83 g/kg; 哥伦比亚琼脂基础(批号 6130172)、脑心浸出液肉汤(批号 3807201)购自英国 Oxiod 公司; 无菌脱纤维羊血(批号 HQ30074)购自广州鸿泉生物科技有限公司; CCK-8 试剂盒(批号 C0039)、 β -actin 抗体(批号 AF2811)、HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗(批号 AF208)、HRP 标记的山羊抗鼠 IgG 二抗(批号 AF216)、RIPA 裂解液(批号 P0013B)、苯基甲磺酰氟 (phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF, 批号 ST507)、磷酸蛋白酶抑制剂预混液(批号 P1045)、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 快速制胶试剂盒(批号 P0012AC)、BeyoColor™ 预染蛋白 Marker(批号 P0077)、蛋白上样缓冲液(批号 P0015L)、BeyoECL Star 超敏化学发光检测试剂盒(批号 P0018AS)购自上海碧云天生物科技有限公司; RPMI 1640 培养基(批号 KGL1503-500)、PBS 缓冲液(批号 KGL2206-500)购自凯基生物技术有限公司; 双抗溶液(青霉素 100

U/mL+链霉素 100 U/mL, 批号 P1400)、胎牛血清(批号 S9030)、0.25%胰酶(批号 T1320)购自北京索莱宝科技有限公司; IL-1 β ELISA 试剂盒(批号 CME0015)购自北京四正柏生物科技有限公司; 活性氧(reactive oxygen species, ROS)检测试剂盒(批号 S0033S)购自上海碧云天生物科技有限公司; 一氧化氮(nitric oxide, NO)检测试剂盒(批号 G2930)购自美国 Promega 公司; Trizol 试剂(批号 15596026)购自美国 Life Technologies 公司; Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒(批号 556547)购自美国 BD 公司; MyD88 抗体(批号 4283)、p-NF- κ B 抗体(批号 3033)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(批号 5174)购自美国 CST 公司; TLR4 抗体(批号 MA5-16216)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; NF- κ B 抗体(批号 ab16502)购自英国 Abcam 公司。

1.3 仪器

CB170 型三气培养箱(德国 BINDER 公司); BSC-1304II A2 型生物安全柜(苏州净化设备有限公司); IM-5FLD 型荧光倒置显微镜(意大利 OPTIKA 公司); HERACELL 150i 型 CO₂ 培养箱、Nano Drop 2000 型微量核酸蛋白定量仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); CLARIOstar 型多功能酶标仪(德国 BMG LABTECH 公司); T100 Thermal Cycle 型普通 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司); LightCycler 480II 型 qPCR 仪(瑞士 Roche 公司); CytoFLEX 型流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司); Tanon 5200 型化学发光成像分析仪(上海天能科技有限公司)。

2 方法

2.1 给药溶液的制备

称取 10.0 mg 首荟通便胶囊提取物, 溶于 1 mL 含 10%胎牛血清和 1%双抗溶液的 RPMI 1640 完全培养基中, 经超声溶解后, 12 000 r/min 离心 3 min, 取上清液, 使用 0.22 μ m 无菌微孔滤膜进行滤过除菌, 放于-20 $^{\circ}$ C 保存备用。临用前, 用含 10%胎牛血清和 1%双抗溶液的 RPMI 1640 完全培养基稀释至所需浓度。

2.2 菌株培养

标准菌株 ATCC 700392 保存在含 65%脑心浸出液肉汤、25%甘油和 10%胎牛血清的保存液中, 保存温度为-80 $^{\circ}$ C。采用无菌涂布棒将菌株均匀涂

布在添加 5%无菌绵羊血的哥伦比亚琼脂培养基上, 将培养皿倒置, 放于 37 $^{\circ}$ C、10% CO₂、5% O₂ 和 85% N₂ 的培养箱中, 培养 2~3 d。

2.3 细胞培养

GES-1 细胞用含 10%胎牛血清、1%双抗溶液的 RPMI 1640 培养基, 置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中进行培养。

2.4 细胞活性测定

取对数生长期的 GES-1 细胞, 以 6×10^3 个/孔接种于 96 孔板中, 培养 24 h, 加入不同质量浓度(10~1 280 μ g/mL)的首荟通便胶囊处理 24 h, 对照组加入不含药物的培养基。每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液, 孵育 2 h, 采用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度(A)值, 计算细胞活力。

$$\text{细胞活力} = A_{\text{实验}} / A_{\text{对照}}$$

2.5 NO 释放量测定

取对数生长期的 GES-1 细胞, 以 6×10^3 个/孔接种于 96 孔板中, 培养 24 h, 设置对照组、模型组和首荟通便胶囊(80、160、320 μ g/mL)组, 模型组和各给药组加入 ATCC 700392 菌株[感染复数(multiplicity of infection, MOI)=100:1]刺激细胞, 各给药组加入不同质量浓度的首荟通便胶囊, 对照组加入不含菌株和药物的培养基。培养 24 h, 收集细胞上清液, 按照试剂盒说明书测定 NO 释放量。

2.6 ROS 水平测定

将 GES-1 细胞以 4×10^5 个/孔接种于 6 孔板中, 培养 24 h, 按照“2.5”项下方法进行分组和处理。PBS 洗涤 3 次后, 加入 DCFH-DA 荧光探针避光孵育 10~30 min, 同时设置未加荧光探针与药物的调零孔。使用培养基清洗 3 次, 收集细胞并重悬于 PBS 溶液中, 采用流式细胞仪测定 488 nm 下的荧光强度。

2.7 Annexin V-FITC/PI 双染检测细胞凋亡

将 GES-1 细胞以 4×10^5 个/孔接种于 6 孔板中, 培养 24 h, 按照“2.5”项下方法进行分组和处理。收集细胞, PBS 洗涤 3 次后, 根据 Annexin V-FITC/PI 双标染色试剂盒说明书进行操作, 混匀后室温避光孵育 15 min。采用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

2.8 细胞上清液中 IL-1 β 水平的测定

将 GES-1 细胞以 4×10^5 个/孔接种于 6 孔板中, 培养 24 h, 按照“2.5”项下方法进行分组和处理。收集细胞上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书测

定 IL-1 β 水平。

2.9 qRT-PCR 检测 IL-1 β mRNA 表达

将 GES-1 细胞以 4×10^5 个/孔接种于 6 孔板中, 培养 24 h, 按照“2.5”项下方法进行分组和处理。收集细胞, 按照试剂盒说明书提取总 RNA 并合成 cDNA, 进行 qRT-PCR 分析。引物序列见表 1, 以 GAPDH 为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算 IL-1 β 基因表达量。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列 (5'-3')
GAPDH	F: GGCAAATTCAACGGCACAGTCAAG R: TCGCTCCTGGAAGATGGTGATGG
IL-1 β	F: GCTGCTTCCAAACCTTTGACC R: ACAGCCACAATGAGTGATACTGC

2.10 Western blotting 检测 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路相关蛋白表达

将 GES-1 细胞以 4×10^5 个/孔接种于 6 孔板中, 培养 24 h, 按照“2.5”项下方法进行分组和处理。收集细胞, 置于冰上, 用含 100 mmol/L PMSF 和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液提取蛋白, 采用 BCA 蛋白质测定试剂盒测定蛋白浓度。加入上样缓冲液, 混合后于 100 $^{\circ}$ C 加热 10 min 使蛋白变性。蛋白样品经 12% SDS-PAGE 电泳, 转至 PVDF 膜, 加入 5% 脱脂牛奶, 室温封闭 2 h。加入相应一抗, 于 4 $^{\circ}$ C 摇床中孵育过夜。洗涤后, 加入二抗 (1 : 5 000), 室温摇床中孵育 70 min。加入 ECL 化学发光试剂, 使用化学发光成像分析仪显影, 采用 Image J 软件分析条带灰度值。

2.11 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.5.1 软件进行统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 首荟通便胶囊对 GES-1 细胞活力的影响

如图 1 所示, 10~1 280 μ g/mL 的首荟通便胶囊处理 GES-1 细胞 24 h 后, 细胞活力呈剂量相关性地降低, 其半数抑制浓度 (half inhibitory concentration, IC₅₀) 为 992.8 μ g/mL。因此, 采用 80、160、320 μ g/mL 的首荟通便胶囊干预 GES-1 细胞 24 h 进行后续研究。

3.2 首荟通便胶囊对幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞 NO 释放的影响

如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组细胞上清

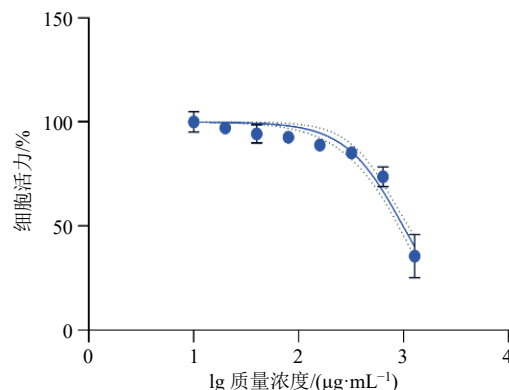
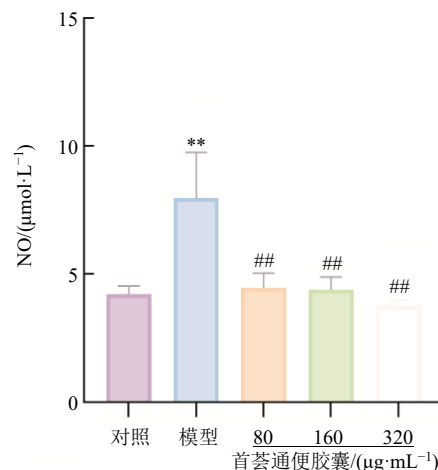


图 1 首荟通便胶囊对 GES-1 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effect of Shouhui Tongbian Capsule on viability of GES-1 cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$, 下同。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group, same as below figures.

图 2 首荟通便胶囊对幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞上清液中 NO 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effect of Shouhui Tongbian Capsule on NO level in supernatant of *H. pylori*-induced GES-1 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

液中 NO 水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 80~320 μ g/mL 的首荟通便胶囊均能够显著抑制幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞上清液中 NO 水平 ($P < 0.01$)。

3.3 首荟通便胶囊对幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞内 ROS 水平的影响

如图 3 所示, 与对照组比较, 模型组细胞内 ROS 水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 80~320 μ g/mL 的首荟通便胶囊显著抑制幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞内 ROS 水平 ($P < 0.01$)。

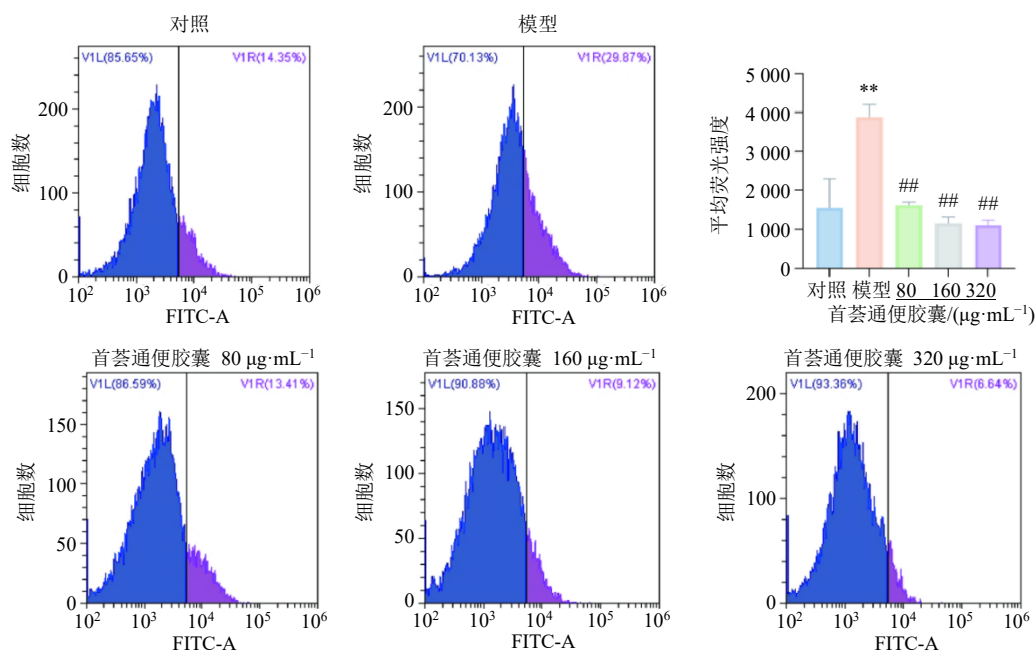


图 3 首荟通便胶囊对幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞内 ROS 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effect of Shouhui Tongbian Capsule on ROS level in *H. pylori*-induced GES-1 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.4 首荟通便胶囊对幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞凋亡的影响

采用 Annexin-V/PI 双染色法可精准区分细胞状态 (Q1-LL 为正常细胞, Q1-LR 为早期凋亡细胞, Q1-UR 为晚期凋亡细胞, Q1-UL 为坏死细胞)。如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组细胞凋亡率显著

升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 80~320 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的首荟通便胶囊显著抑制幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞凋亡 ($P < 0.05, 0.001$)。

3.5 首荟通便胶囊对幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞 IL-1 β 水平和基因表达的影响

如图 5 所示, 与对照组比较, 模型组细胞上清

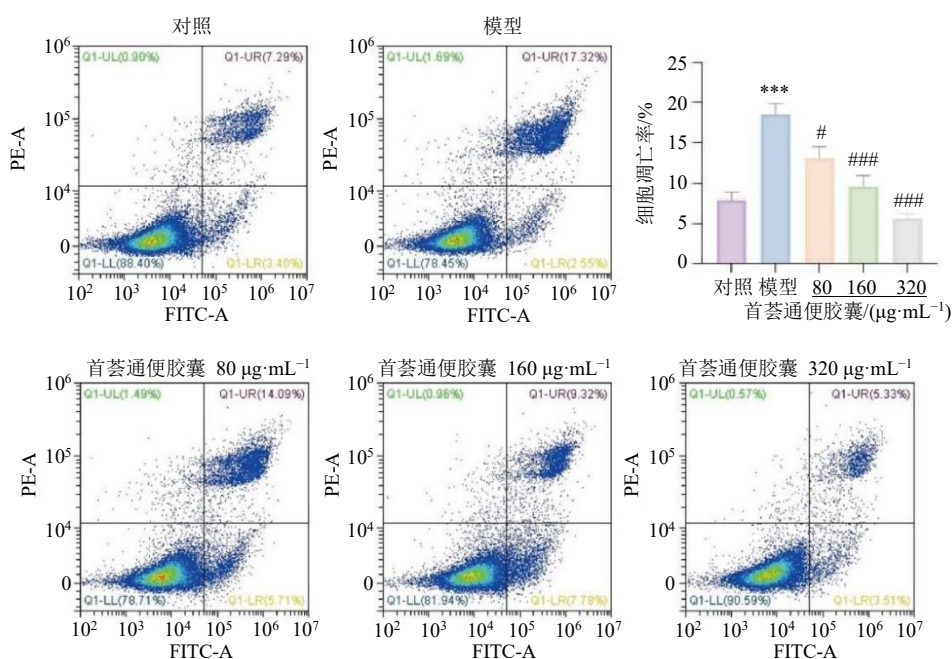


图 4 首荟通便胶囊对幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of Shouhui Tongbian Capsule on apoptosis of *H. pylori*-induced GES-1 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

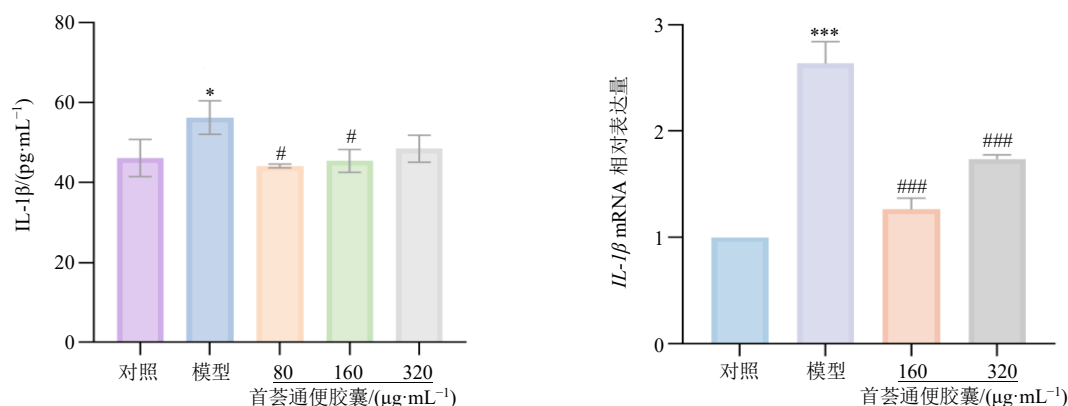


图 5 首荟通便胶囊对幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞 IL-1 β 水平和基因表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effect of Shouhui Tongbian Capsule on IL-1 β level and gene expression in *H. pylori*-induced GES-1 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

液中 IL-1 β 水平显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 80~320 $\mu\text{g/mL}$ 的首荟通便胶囊可降低幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞上清液中 IL-1 β 水平, 其中 80、160 $\mu\text{g/mL}$ 组具有统计学差异 ($P < 0.05$)。

综合评估上述所有实验的剂量效应表现, 选取 160、320 $\mu\text{g/mL}$ 首荟通便胶囊 2 个剂量组开展分子生物学实验验证。采用 qRT-PCR 检测 *IL-1 β* 的 mRNA 表达情况, 结果如图 5 所示, 与对照组比较, 模型组 GES-1 细胞 *IL-1 β* mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 首荟通便胶囊 (160、320 $\mu\text{g/mL}$) 组细胞 *IL-1 β* mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.001$)。

3.6 首荟通便胶囊对幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞 TLR4/MyD88/NF- κB 信号通路相关蛋白表达的影响

如图 6 所示, 与对照组比较, 模型组 TLR4、MyD88、p-NF- κB /NF- κB 的蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05, 0.01$), 提示幽门螺杆菌感染会激活 TLR4 信号通路; 与模型组比较, 首荟通便胶囊 (320 $\mu\text{g/mL}$) 组 TLR4、MyD88、p-NF- κB /NF- κB 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$), 首荟通便胶囊 (160 $\mu\text{g/mL}$) 组 MyD88、p-NF- κB /NF- κB 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01$)。表明首荟通便胶囊可能通过抑制幽门螺杆菌诱导的 TLR4 信号通路异常激活, 从而抑制其引发的炎症反应。

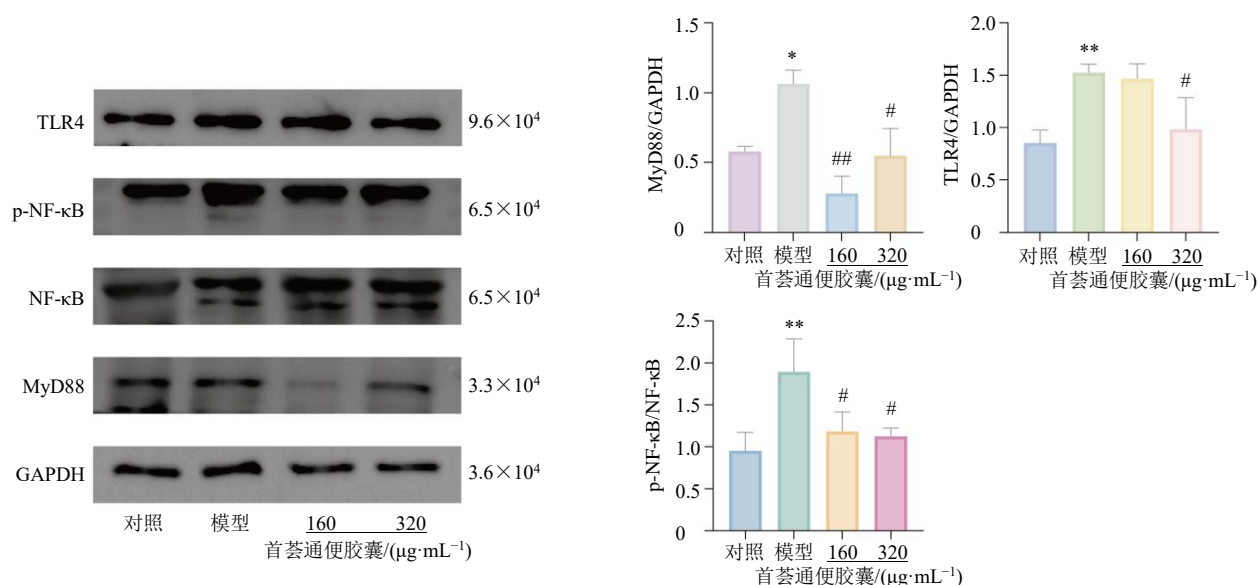


图 6 首荟通便胶囊对幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞 TLR4/MyD88/NF- κB 信号通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Effect of Shouhui Tongbian Capsule on expressions of TLR4/MyD88/NF- κB signaling pathway related proteins in *H. pylori*-induced GES-1 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

TLRs 是抵御病原体入侵的第一道防线。TLR4 作为 TLRs 家族成员之一,能识别病原体及危险相关分子模式以诱导炎症反应^[16]。幽门螺杆菌是影响胃部健康的重要因素,TLR4 通过识别 LPS 触发炎症反应,通过 MyD88 相关蛋白(MyD88 adaptor-like protein, MAL)激活下游分子 TNF 受体相关因子-6(TNF receptor-associated factor-6, TRAF-6),进而激活 NF- κ B^[17]。被激活的 NF- κ B 发生核转位,促进 ROS 的生成,进而诱导 IL-1 β 等炎症因子的激活,加剧细胞凋亡与黏膜损伤^[18-19]。本研究结果显示,模型组 NO 释放量、ROS 水平及细胞凋亡率显著升高,IL-1 β 促炎因子水平与 mRNA 表达上调,且 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路关键蛋白表达显著上调,与病理机制一致,证实幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞炎症模型构建成功。

首荟通便胶囊作为多组分中药复方,其抗炎作用可能源于“多成分-多靶点”的协同调控效应。研究表明,芦荟大黄素可通过破坏幽门螺杆菌生物膜完整性抑制其活性,减少病原体对细胞的持续刺激^[20];大黄素可抑制 TLR4/MyD88 复合物的形成,阻碍 NF- κ B 的激活^[21];人参皂苷 Rg₁ 和 Re 阻止 LPS 与 TLR4 结合,阻断 LPS 触发的信号通路,下调多种促炎因子的表达和产生,增强免疫反应,同时人参皂苷 Rg₁ 还可以增强对氧化应激的抵抗力^[22-23]。本研究结果显示,给予首荟通便胶囊干预后,幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞 NO 释放量、ROS 水平和早期凋亡率显著下降,IL-1 β 促炎因子水平与 mRNA 表达降低,且 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路关键蛋白表达下调,表明首荟通便胶囊可通过调控 TLR4/MyD88 介导的 NF- κ B 信号通路,抑制氧化应激和细胞凋亡,从而发挥胃肠道保护作用。

本研究系统评估了首荟通便胶囊对幽门螺杆菌诱导的 GES-1 细胞炎症反应的影响,证实其可通过抑制 TLR4/MyD88 介导的 NF- κ B 通路提高抗炎能力,降低炎症因子的表达,减少氧化应激诱导的细胞凋亡。对比现有研究,本研究的创新点在于首次将首荟通便胶囊与幽门螺杆菌感染相关炎症关联,并锁定 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路为其作用靶点。此前已有研究报道,健脾清化汤^[24]、灭幽汤^[25]等中药复方可通过调控 TLR4 通路缓解幽门螺杆菌相关炎症,这些复方多以健脾益气、清热解毒为主;而首荟通便胶囊以养阴益气、泻浊通便为核心功

效,其组方中芦荟、决明子及生何首乌的清热泻浊作用,与人参、白术的补气护胃功效形成平衡,在缓解炎症的同时可避免单味清热药对胃黏膜的刺激,为携带幽门螺杆菌的便秘患者提供了新的治疗选择。此外,本研究通过梯度剂量干预证实首荟通便胶囊的抗炎作用存在剂量相关性,为后续动物实验中给药剂量的选择提供了参考依据。本研究仍存在一定局限性:(1)仅采用细胞实验,缺乏体内实验验证,后续需结合动物模型,进一步明确首荟通便胶囊对胃黏膜组织炎症的改善效果及安全性;(2)尚未明确首荟通便胶囊中发挥抗炎、抗凋亡的关键活性成分,未来可通过成分分离、基因敲除/过表达等实验,验证单一活性成分的作用及分子机制;(3)本研究仅聚焦于 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路,未探讨首荟通便胶囊是否通过其他信号通路[如磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路等]发挥作用,仍需深入研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Liu Y T, Peng W. *Helicobacter pylori* infection and its hidden role in low skeletal muscle mass: A comprehensive review [J]. *Int J Gen Med*, 2025, 18: 4659-4670.
- [2] Blandón-Arias V, Ospina-Gil A M, Salazar-Giraldo B E, et al. Systematic review: Effect of proton pump inhibitors on *Helicobacter pylori* physiology [J]. *Rev Gastroenterol Mex*, 2025, 90(3): 388-399.
- [3] Megraud F, Bruyndonckx R, Coenen S, et al. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe in 2018 and its relationship to antibiotic consumption in the community [J]. *Gut*, 2021, 70(10): 1815-1822.
- [4] Camargo M C, García A, Riquelme A, et al. The problem of *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics: A systematic review in Latin America [J]. *Am J Gastroenterol*, 2014, 109(4): 485-495.
- [5] Nie H T, Li Q, Zhao K K, et al. Potential efficacy of Propolis in treating *Helicobacter pylori* infection and its mechanisms of action [J]. *Nutrients*, 2025, 17(17): 2803.
- [6] Moodley Y, Linz B, Bond R P, et al. Age of the association between *Helicobacter pylori* and man [J]. *PLoS Pathog*, 2012, 8(5): e1002693.
- [7] Cao T L, Jiang H Z. Gastrointestinal microbiota in treatment of gastric precancerous lesions and gastric cancer by Western and traditional Chinese medicine [J].

- World J Clin Oncol*, 2025, 16(8): 107660.
- [8] 李翔子, 李市荣, 杨田野, 等. 首荟通便胶囊对慢性传输性便秘小鼠肠道屏障的影响 [J]. 中草药, 2022, 53(5): 1458-1462.
- [9] 龚立平, 郭欣, 黄娜娜, 等. 首荟通便胶囊治疗功能性便秘的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(18): 5899-5909.
- [10] Cellini L, Di Bartolomeo S, Di Campli E, *et al.* *In vitro* activity of Aloe vera inner gel against *Helicobacter pylori* strains [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2014, 59(1): 43-48.
- [11] Huang Y Q, Huang G R, Wu M H, *et al.* Inhibitory effects of emodin, baicalin, schizandrin and berberine on hefA gene: Treatment of *Helicobacter pylori*-induced multidrug resistance [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(14): 4225-4231.
- [12] Guo X, Li R R, Huang N N, *et al.* Efficacy and safety of Shouhui Tongbian Capsules in the treatment of constipation: A systematic review and Meta-analysis [J]. *Phytomedicine*, 2023, 108: 154541.
- [13] Gong L P, Du H, Guo X, *et al.* Shouhui Tongbian Capsule in treatment of constipation: Treatment and mechanism development [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 16(2): 239-247.
- [14] Lee K M, Yeo M, Choue J S, *et al.* Protective mechanism of epigallocatechin-3-gallate against *Helicobacter pylori*-induced gastric epithelial cytotoxicity via the blockage of TLR-4 signaling [J]. *Helicobacter*, 2004, 9(6): 632-642.
- [15] Marzhoseyni Z, Mousavi M J, Ghotloo S. *Helicobacter pylori* antigens as immunomodulators of immune system [J]. *Helicobacter*, 2024, 29(1): e13058.
- [16] Zhang Z P, Liu J, Wang Y, *et al.* Toll-like receptor 4 signaling mediates gastritis and gastric cancer [J]. *Curr Mol Med*, 2025, 25(4): 388-398.
- [17] Zhou L J, Liu Z J, Wang Z X, *et al.* *Astragalus* polysaccharides exerts immunomodulatory effects via TLR4-mediated MyD88-dependent signaling pathway *in vitro* and *in vivo* [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 44822.
- [18] Zhou J L, Zhou P C, Zhang Y Y, *et al.* Signal pathways and markers involved in acute lung injury induced by acute pancreatitis [J]. *Dis Markers*, 2021, 2021: 9947047.
- [19] 张潘, 许翠仙, 胡艳, 等. 蜜蜂病毒上调 ROS 促进昆虫细胞凋亡的研究 [J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2019, 41(4): 805-811.
- [20] Zhao Y C, Chen Z H, Cai Y Y, *et al.* Aloe-emodin destroys the biofilm of *Helicobacter pylori* by targeting the outer membrane protein 6 [J]. *Microbiol Res*, 2024, 278: 127539.
- [21] Ye B Z, Cai X L, Liang X H, *et al.* Emodin suppresses NLRP3/GSDMD-induced inflammation via the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway in atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2024, <https://doi.org/10.1007/s10557-024-07659-w>.
- [22] Ning C Q, Gao X G, Wang C Y, *et al.* Hepatoprotective effect of ginsenoside Rg₁ from *Panax ginseng* on carbon tetrachloride-induced acute liver injury by activating Nrf2 signaling pathway in mice [J]. *Environ Toxicol*, 2018, 33(10): 1050-1060.
- [23] Su F, Yuan L, Zhang L J, *et al.* Ginsenosides Rg₁ and Re act as adjuvant via TLR4 signaling pathway [J]. *Vaccine*, 2012, 30(27): 4106-4112.
- [24] 贺子雄, 孙美玉, 颜悦蓉. 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 [J]. 中国细胞生物学学报, 2025, 47(7): 1523-1531.
- [25] 喻斌, 罗燕, 王小娟, 等. 灭幽汤对幽门螺杆菌相关性胃炎脾胃湿热证模型小鼠 TLR4/NF- κ Bp65 信号通路的影响 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2014, 22(7): 369-373.

[责任编辑 李亚楠]