甘草甜素对大鼠幽门螺杆菌相关性胃炎的改善作用及机制Δ

刘誉华[1*]，刘　莲[2]，汪九重[3]，黄　丹[4]，周素芳[4]，肖欢智[4]，安祯祥[4#]（1.贵州中医药大学第一临床医学院，贵阳 550001；2.贵州医科大学临床微生物与免疫学教研室，贵阳　550001；3.中国中医科学院广安门医院传染病科，北京　100053；4.贵州中医药大学第一附属医院脾胃病科，贵阳　550001）

中图分类号　R965；R285.5　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）02-0166-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.02.08

摘　要　目的　探讨甘草甜素（GL）对大鼠幽门螺杆菌（HP）相关性胃炎的改善作用及机制。**方法**　以接种1×10^9 cfu/mL HP建立HP相关性胃炎大鼠模型，将造模成功大鼠随机分为模型组、阳性对照组（HP标准四联方案）和GL低、中、高剂量组（5、20、50 mg/kg），每组12只；另取12只正常大鼠作为正常对照组。除正常对照组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水外，其他各组大鼠灌胃相应药物，每天1次，连续30 d。给药结束后大鼠行^{13}C尿素呼气试验，记录超基准值（DOB）；观察大鼠胃黏膜组织病理变化和细胞形态学变化，并进行病理评分；检测大鼠胃黏膜组织中白细胞介素8（IL-8）、IL-1β、肿瘤坏死因子α（TNF-α）、活性氧（ROS）、丙二醛（MDA）水平，高迁移率族蛋白B1（HMGB1）、核因子κB（NF-κB）mRNA相对表达量，一氧化氮合酶（iNOS）、HMGB1蛋白相对表达量以及NF-κB p65磷酸化水平。**结果**　与正常对照组比较，模型组大鼠DOB值，胃黏膜组织病理评分，IL-8、IL-1β、TNF-α、ROS、MDA水平，HMGB1、NF-κB mRNA相对表达量，iNOS、HMGB1蛋白相对表达量和NF-κB p65磷酸化水平均显著升高（$P<0.05$）；大鼠胃黏膜上皮细胞结构不完整且数量减少，细胞碎片及空泡增多，细胞固缩明显。与模型组比较，GL各剂量组和阳性对照组上述指标变化均显著逆转（$P<0.05$），且GL高剂量组上述指标变化均较GL低、中剂量组更显著（$P<0.05$）；大鼠胃黏膜细胞病理变化均改善。**结论**　GL可能通过抑制HMGB1/NF-κB信号通路的激活，抑制炎症和氧化应激反应，从而减轻HP引起的胃黏膜损伤。

关键词　甘草甜素；高迁移率族蛋白B1；核因子κB；幽门螺杆菌相关性胃炎；胃黏膜损伤

Improvement effects of glycyrrhizin on *Helicobacter pylori*-associated gastritis in rats and its mechanism

LIU Yuhua[1], LIU Lian[2], WANG Jiuchong[3], HUANG Dan[4], ZHOU Sufang[4], XIAO Huanzhi[4], AN Zhenxiang[4]（1. The First Clinical Medical College of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, China; 2. Teaching and Research Section of Clinical Microbiology and Immunology, Guizhou Medical University, Guiyang 550001, China; 3. Dept. of Infectious Diseases, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China; 4. Dept. of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the improvement effects of glycyrrhizin (GL) on *Helicobacter pylori* (HP)-associated gastritis in rats and its mechanism. **METHODS** HP-associated gastritis rat model was induced by inoculating with 1×10^9 cfu/mL HP. The model rats were randomly divided into model group, positive control group (HP standard quadruple group), GL low-dose, medium-dose and high-dose groups (5, 20, 50 mg/kg), with 12 rats in each group. Another 12 healthy rats were selected as normal control group. Except the normal control group and model group were given constant volume of normal saline intragastrically, the other groups were given corresponding drugs intragastrically, once a day, for 30 consecutive days. After administration, rats received ^{13}C urea breath test, and delta-over-baseline (DOB) was recorded; the pathological and cellular morphological changes of gastric mucosa in rats were observed, and pathological scoring was performed; the levels of interleukin-8 (IL-8), IL-1β, tumor necrosis factor-α (TNF-α), reactive oxygen species (ROS) and malondialdehyde (MDA) were detected in gastric mucosa of rats; mRNA expressions of high mobility group box-1 protein (HMGB1) and nuclear factor-κ-B (NF-κB), relative expressions of nitric oxide synthases (iNOS) and HMGB1, the phosphorylation level of NF-κB p65 were also detected in rats. **RESULTS** Compared with

Δ **基金项目** 贵州省科技计划项目（No.黔科合支撑〔2020〕4Y077号）；贵州省卫生健康委科学技术基金项目（No.gzwkj2023-139）；贵州中医药大学国家与省级科技创新人才团队培育项目（No.贵中医TD合字〔2022〕005号）

＊**第一作者** 副主任医师，博士研究生。研究方向：中医药防治脾胃病。电话：0851-85636327。E-mail：394717866@qq.com

＃**通信作者** 主任医师，博士生导师，博士。研究方向：中医药防治脾胃病、肝病。电话：0851-85636327。E-mail：407206115@qq.com

normal control group, the DOB value, histopathological score of gastric mucosa, the levels of IL-8, IL-1β, TNF-α, ROS and MDA, relative expressions of HMGB1 and NF-κB mRNA, relative expressions of iNOS and HMGB1 protein and the phosphorylation level of NF-κB p65 were all increased significantly in model group ($P<0.05$); the epithelial cells of gastric mucosa in rats were incomplete in structure and decreased in the number, with an increase in cell fragments and vacuoles, and significant cell pyknosis. Compared with model group, the changes of the above indexes in GL groups and positive control group were significantly reversed ($P<0.05$); the changes in the above indicators in the GL high-dose group were more significant than GL low-dose and medium-dose groups ($P<0.05$); the pathological changes of gastric mucosal cells in rats had all improved. **CONCLUSIONS** GL may inhibit inflammation and oxidative stress by inhibiting the activation of HMGB1/NF-κB pathway, thus relieving HP-induced gastric mucosal injury.

KEYWORDS glycyrrhizin; high mobility group box 1 protein; nuclear transcription factor-κB; *Helicobacter pylori*-associated gastritis; gastric mucosal injury

幽门螺杆菌（*Helicobacter pylori*，HP）是一种革兰氏阴性杆菌，全球至少有一半人口感染HP[1]。持续性HP感染是慢性胃炎和消化性溃疡的重要致病因素，也被认为是胃腺癌的第一类致癌因素。目前，HP相关性胃炎的发生机制尚不清楚。西医治疗HP相关性胃炎主要以抗生素为主要手段，但由于抗生素滥用、不规范应用等原因，使得HP耐药性呈上升趋势，HP根除率不断下降。因此，积极探索HP相关性胃炎的发生机制对开发新的有效治疗药物至关重要。甘草甜素（glycyrrhizin，GL）是甘草根的主要活性成分，具有抗病毒、抗炎、抗肿瘤和抗氧化应激等多种药理作用，临床上常用于治疗慢性肝炎[2]。高迁移率族蛋白B1（high mobility group box 1 protein，HMGB1）分别与Toll样受体4（Toll-like receptor 4，TLR4）和晚期糖基化终产物受体（receptor of advanced glycation end-products，RAGE）结合，可激活核因子κB（nuclear factor-κB，NF-κB）表达，HMGB1/NF-κB信号通路介导的炎症反应在HP相关性胃炎中发挥重要作用，抑制该通路可减轻HP诱导的大鼠慢性萎缩性胃炎[3-5]。GL已被证实可抑制HP感染[6]，但其是否可通过调节HMGB1/NF-κB信号通路改善HP相关性胃炎还不甚清楚。本研究基于HMGB1/NF-κB信号通路探讨了GL对大鼠HP相关性胃炎的改善作用及作用机制，以期为临床治疗HP相关性胃炎提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括LD-96A型多功能酶标仪（山东莱恩德智能科技有限公司）、5424型离心机（艾本德中国有限公司）、CX31型光学显微镜（日本Olympus公司）、Hitachi-600型透射电子显微镜（日本Hitachi公司）。

1.2 主要试剂与仪器

GL对照品（货号MDK-461353，纯度99%）购自武汉艾美捷科技有限公司；奥美拉唑原料药（批号20073922）购自河南天方药业股份有限公司；胶体果胶铋（规格50 mg/粒，国药准字H20083064）购自山西同达药业有限公司；阿莫西林胶囊（规格0.25 g/粒，国药准字H31020838）购自上海福达制药有限公司；克拉霉素片（规格0.25 g/片，国药准字H20058305）购自浙江震元制药有限公司；苏木精-伊红（HE）染色试剂盒（货号G1120-100）、活性氧（reactive oxygen species，ROS）检测试剂盒（货号CA1410）、丙二醛（malondialdehyde，MDA）检测试剂盒（货号BC0020）均购自北京索莱宝科技有限公司；白细胞介素8（interleukin-8，IL-8）、IL-1β、肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒（货号分别为E-EL-H6008、E-EL-R0012c、E-EL-R2856c）均购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司；蛋白提取试剂盒（货号3122-100T）购自上海晶风生物科技有限公司；实时荧光定量聚合酶链式反应（PCR）试剂盒（货号IBIO-C583）购自江西艾博因生物科技有限公司；兔抗一氧化氮合酶（nitric oxide synthase，iNOS）、NF-κB p65、磷酸化NF-κB p65（p-NF-κB p65）、甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）抗体和辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG二抗（货号分别为ab178945、ab19870、ab239882、ab9485、ab6721）均购自英国Abcam公司。

1.3 实验动物

SPF级SD大鼠，雄性，8～10周龄，体重180～200 g，购自陆军军医大学基础医学院实验动物学教研室，生产许可证号SCXK（渝）2022-0011。所有大鼠适应性喂养1周，饲养在温度约22 ℃、相对湿度55%～60%、12 h光暗循环的环境中，正常饮食。该实验方案通过贵州中医药大学动物实验伦理审查，批件号20220086。

1.4 菌株

HP购自美国ATCC公司，以布氏肉汤培养基配成菌悬液，调整菌液浓度为1×10^9 cfu/mL，备用。

2 方法

2.1 建模、分组与给药

大鼠适应性喂养1周后，自由饮用2 g/L吲哚美辛溶液30 d破坏胃黏膜屏障，第31天禁食过夜，行^{13}C尿素呼

气试验，记录超基准值（delta over baseline，DOB）；然后每只大鼠灌胃1×10⁹ cfu/mL的HP菌悬液1.5 mL，每周2次，共5次；末次灌胃后大鼠正常喂养2周，再禁食、禁水12 h，行¹³C尿素呼气试验，以DOB值＞4表示HP相关性胃炎造模成功[7]。将造模成功的大鼠随机分成模型组、阳性对照组和GL低、中、高剂量组，每组12只；另随机选取12只正常大鼠作为正常对照组。GL低、中、高剂量组大鼠分别灌胃5、20、50 mg/kg GL[8]，阳性对照组大鼠按HP标准四联方案分别以3.6、36、180、72 mg/kg灌胃奥美拉唑、胶体果胶铋、阿莫西林、克拉霉素[9]，正常对照组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水，每天1次，连续30 d，给药结束后行¹³C尿素呼气试验。

2.2 大鼠胃黏膜组织病理变化观察与评分

末次¹³C尿素呼气试验结束后处死大鼠，分离大鼠胃黏膜组织，经固定、脱水、包埋、切片、脱蜡和水化后进行HE染色，使用显微镜观察大鼠胃黏膜组织病理变化，并根据胃黏膜慢性炎症的评分标准进行病理评分[10]。

2.3 大鼠胃黏膜组织细胞形态学观察

取“2.2”项下大鼠胃黏膜组织，经固定、漂洗、锇酸固定、梯度脱水、树脂包埋、切片、铀铅双染色后，使用透射电子显微镜观察大鼠胃黏膜组织细胞形态并拍照。

2.4 大鼠胃黏膜组织中炎症与氧化应激相关因子水平的检测

将大鼠胃黏膜组织制成匀浆后，严格依据ELISA试剂盒说明书检测大鼠胃黏膜组织中IL-8、IL-1β、TNF-α水平，依据ROS、MDA检测试剂盒说明书检测大鼠胃黏膜组织中ROS、MDA水平。

2.5 大鼠胃黏膜组织中HMGB1、NF-κB mRNA表达的检测

取大鼠胃黏膜组织，用Trizol试剂提取总RNA。以RNA为模板合成cDNA后，测定反转录的cDNA浓度，适当分装，于－20 ℃保存。扩增条件：95 ℃预变性60 s；95 ℃变性15 s，60 ℃退火15 s，72 ℃延伸45 s，共循环40次。HMGB1的上游引物为5′-AGATATGGCAAAGGCTGACAAGGC-3′，下游引物为5′-GGGCGGTACTCAGAACAGAACAAG-3′，产物片段为148 bp；NF-κB的上游引物为5′-TGTGGTGGAGGACTTGCTGAGG-3′，下游引物为5′-AGTGCTGCCTTGCTGTTCTTGAG-3′，产物片段为126 bp；GAPDH的上游引物为5′-CTTTGGTATCGTGGAAGGACTC-3′，下游引物为5′-GTAGAGGCAGGGATGATGTTCT-3′，产物片段为110 bp。以GAPDH为内参，按$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算大鼠胃黏膜组织中HMGB1、NF-κB mRNA的相对表达量。

2.6 大鼠胃黏膜组织中iNOS、HMGB1、NF-κB蛋白表达的检测

取大鼠胃黏膜组织，提取总蛋白，定量后电泳，转膜，室温封闭2 h，再分别加入iNOS（稀释比例为1∶2 000）、HMGB1（稀释比例为1∶1 000）、p-NF-κB p65（稀释比例为1∶2 000）、NF-κB p65（稀释比例为1∶1 000）、GAPDH（稀释比例为1∶1 000）抗体，4 ℃孵育过夜；再加入二抗（稀释比例为1∶2 000），室温孵育90 min，曝光，显影。使用Image-Pro Plus 6.0软件进行分析，以GAPDH为内参，以目标蛋白与内参的灰度值比值评价目标蛋白的相对表达量，再以p-NF-κB p65/NF-κB p65计算NF-κB p65磷酸化水平。

2.7 统计学方法

采用SPSS 25.0软件对数据进行统计分析。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用SNK-q检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 GL对各组大鼠DOB值的影响

建模前，各组大鼠DOB值比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$）。建模后，与正常对照组比较，其他各组大鼠DOB值均显著升高（$P<0.05$）。药物干预后，与正常对照组比较，模型组大鼠DOB值显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，GL低、中、高剂量组和阳性对照组大鼠DOB值均显著降低（$P<0.05$）；与GL低剂量组比较，GL中、高剂量组大鼠DOB值均显著降低（$P<0.05$）；与GL中剂量组比较，GL高剂量组大鼠DOB值显著降低（$P<0.05$）。结果见表1。

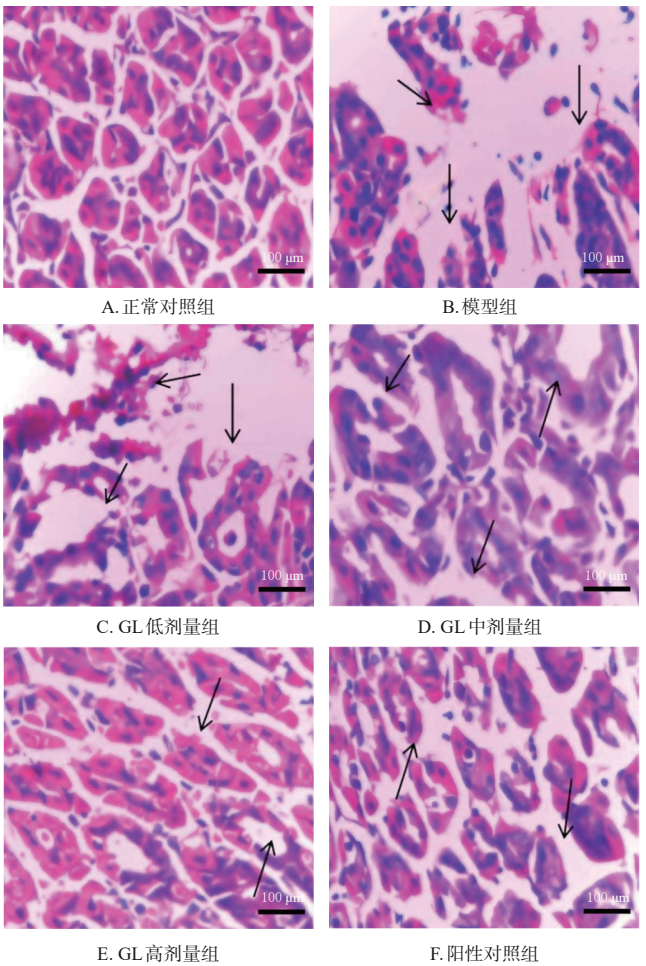
表1 各组大鼠DOB值比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	建模前	建模后	干预后
正常对照组	0.32±0.06	2.36±0.13	2.48±0.16
模型组	0.28±0.04	46.53±7.21[a]	45.97±7.23[a]
GL低剂量组	0.35±0.07	45.62±6.98[a]	37.84±5.62[b]
GL中剂量组	0.33±0.05	47.12±7.52[a]	28.45±4.57[bc]
GL高剂量组	0.26±0.03	44.98±7.26[a]	16.35±2.18[bcd]
阳性对照组	0.30±0.02	46.28±7.35[a]	14.68±1.57[b]

a：与正常对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与GL低剂量组比较，$P<0.05$；d：与GL中剂量组比较，$P<0.05$。

3.2 GL对大鼠胃黏膜组织病理变化的影响

与正常对照组比较，模型组大鼠胃黏膜变薄，皱襞变浅，腺体数量明显减少，有水肿、出血、糜烂、炎症细胞浸润。与模型组比较，GL低、中剂量组大鼠胃黏膜增厚，皱襞正常，腺体数量明显恢复，水肿、出血、糜烂减轻，有少量炎症细胞浸润；GL高剂量组和阳性对照组大鼠胃黏膜厚度与腺体数量基本恢复正常，无明显炎症细胞浸润。结果见图1。



A. 正常对照组　B. 模型组

C. GL低剂量组　D. GL中剂量组

E. GL高剂量组　F. 阳性对照组

→：病理损伤部位

图1　各组大鼠胃黏膜组织病理染色图（HE染色）

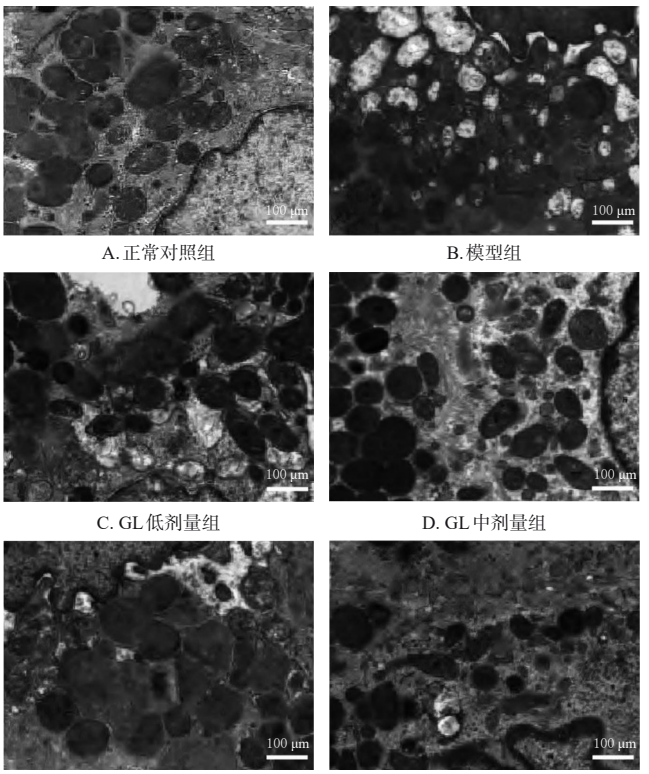
正常对照组，模型组，GL低、中、高剂量组和阳性对照组大鼠胃黏膜组织病理评分分别为（0.24±0.03）、（7.25±0.58）、（5.14±0.46）、（3.48±0.41）、（1.23±0.26）、（1.10±0.18）分。与正常对照组比较，模型组大鼠胃黏膜组织病理评分显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，GL低、中、高剂量组和阳性对照组大鼠胃黏膜组织病理评分均显著降低（$P<0.05$）。

3.3　GL对大鼠胃黏膜细胞形态学的影响

与正常对照组比较，模型组大鼠胃黏膜上皮细胞结构不完整且数量减少，细胞碎片及空泡增多，细胞固缩明显；与模型组比较，GL低、中、高剂量组和阳性对照组大鼠胃黏膜上皮细胞结构逐渐完整且数量增多，损伤细胞较少，空泡减少。结果见图2。

3.4　GL对大鼠胃黏膜组织中IL-8、IL-1β、TNF-α水平的影响

与正常对照组比较，模型组大鼠胃黏膜组织中IL-8、IL-1β、TNF-α水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，GL低、中、高剂量组和阳性对照组大鼠胃黏膜组织中IL-8、IL-1β、TNF-α水平均显著降低（$P<0.05$）。与GL低剂量组比较，GL中、高剂量组大鼠胃黏膜组织中



A. 正常对照组　B. 模型组

C. GL低剂量组　D. GL中剂量组

E. GL高剂量组　F. 阳性对照组

图2　各组大鼠胃黏膜细胞形态学变化

IL-8、IL-1β、TNF-α水平均显著降低（$P<0.05$）。与GL中剂量组比较，GL高剂量组大鼠胃黏膜组织中IL-8、IL-1β、TNF-α水平均显著降低（$P<0.05$）。结果见表2。

表2　各组大鼠胃黏膜组织中IL-8、IL-1β、TNF-α水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$，pg/mL）

组别	IL-8	IL-1β	TNF-α
正常对照组	74.23±8.41	104.52±12.14	53.29±6.38
模型组	351.78±17.86^{a}	489.73±25.38^{a}	295.82±16.21^{a}
GL低剂量组	284.62±15.39^{b}	392.65±23.46^{b}	234.74±13.48^{b}
GL中剂量组	214.09±13.76^{bc}	305.47±19.83^{bc}	152.81±14.07^{bc}
GL高剂量组	116.83±11.94^{bcd}	163.49±17.98^{bcd}	71.54±9.26^{bcd}
阳性对照组	98.75±10.52^{b}	145.26±14.52^{b}	68.39±8.76^{b}

a：与正常对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与GL低剂量组比较，$P<0.05$；d：与GL中剂量组比较，$P<0.05$。

3.5　GL对大鼠胃黏膜组织中ROS、MDA水平的影响

与正常对照组比较，模型组大鼠胃黏膜组织中ROS、MDA水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，GL低、中、高剂量组和阳性对照组大鼠胃黏膜组织中ROS、MDA水平均显著降低（$P<0.05$）。与GL低剂量组比较，GL中、高剂量组大鼠胃黏膜组织中ROS、MDA水平均显著降低（$P<0.05$）。与GL中剂量组比较，GL高剂量组大鼠胃黏膜组织中ROS、MDA水平均显著降低（$P<0.05$）。结果见表3。

3.6　GL对大鼠胃黏膜组织中HMGB1、NF-κB mRNA表达的影响

与正常对照组比较，模型组大鼠胃黏膜组织中HMGB1、NF-κB mRNA相对表达量均显著升高（$P<$

表3　各组大鼠胃黏膜组织中ROS、MDA水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	ROS/（μmol/mL）	MDA/（nmol/mL）
正常对照组	54.72±6.81	8.35±1.06
模型组	283.49±15.43[a]	68.46±5.37[a]
GL低剂量组	216.83±13.26[b]	54.81±3.65[b]
GL中剂量组	160.92±11.75[bc]	37.53±2.49[bc]
GL高剂量组	89.75±9.43[bcd]	14.62±1.78[bcd]
阳性对照组	75.46±10.28[b]	12.64±1.43[b]

a：与正常对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与GL低剂量组比较，$P<0.05$；d：与GL中剂量组比较，$P<0.05$。

0.05）。与模型组比较，GL低、中、高剂量组和阳性对照组大鼠胃黏膜组织中HMGB1、NF-κB mRNA相对表达量均显著降低（$P<0.05$）。与GL低剂量组比较，GL中、高剂量组大鼠胃黏膜组织中HMGB1、NF-κB mRNA相对表达量均显著降低（$P<0.05$）。与GL中剂量组比较，GL高剂量组大鼠胃黏膜组织中HMGB1、NF-κB mRNA相对表达量均显著降低（$P<0.05$）。结果见表4。

表4　各组大鼠胃黏膜组织中HMGB1、NF-κB mRNA表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	HMGB1 mRNA	NF-κB mRNA
正常对照组	1.00±0.10	1.01±0.12
模型组	1.96±0.17[a]	2.45±0.23[a]
GL低剂量组	1.61±0.15[b]	1.92±0.18[b]
GL中剂量组	1.32±0.12[bc]	1.58±0.16[bc]
GL高剂量组	0.85±0.09[bcd]	1.14±0.13[bcd]
阳性对照组	0.67±0.07[b]	0.87±0.09[b]

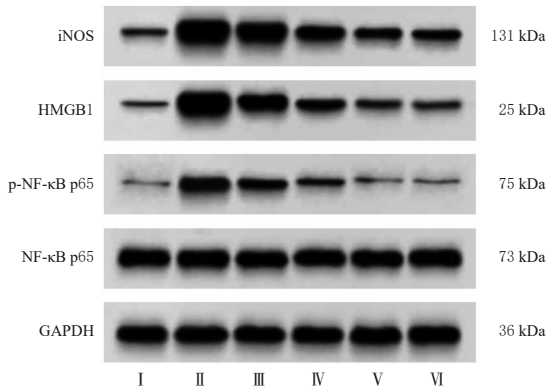
a：与正常对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与GL低剂量组比较，$P<0.05$；d：与GL中剂量组比较，$P<0.05$。

3.7　GL对大鼠胃黏膜组织中iNOS及HMGB1/NF-κB信号通路蛋白表达的影响

与正常对照组比较，模型组大鼠胃黏膜组织中iNOS、HMGB1蛋白相对表达量和NF-κB p65磷酸化水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，GL低、中、高剂量组和阳性对照组大鼠胃黏膜组织中iNOS、HMGB1蛋白相对表达量和NF-κB p65磷酸化水平均显著降低（$P<0.05$）。与GL低剂量组比较，GL中、高剂量组大鼠胃黏膜组织中iNOS、HMGB1蛋白相对表达量和NF-κB p65磷酸化水平均显著降低（$P<0.05$）。与GL中剂量组比较，GL高剂量组大鼠胃黏膜组织中iNOS、HMGB1蛋白相对表达量和NF-κB p65磷酸化水平均显著降低（$P<0.05$）。结果见图3和表5。

4　讨论

HP引起胃黏膜上皮细胞的炎症和氧化应激反应，可导致胃黏膜慢性损伤，促进HP相关性胃炎的发生。有研究发现，HP可促进胃黏膜上皮细胞中的ROS产生，并且累积的ROS能上调IL-1β、IL-6、IL-8、TNF-α等各种细胞因子的表达，这些炎症细胞因子又可进一步诱导ROS形成，而加重HP感染引起的炎症和上皮细胞损



Ⅰ：正常对照组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：GL低剂量组；Ⅳ：GL中剂量组；Ⅴ：GL高剂量组；Ⅵ：阳性对照组。

图3　各组大鼠胃黏膜组织中iNOS及HMGB1/NF-κB信号通路蛋白表达的电泳图

表5　各组大鼠胃黏膜组织中iNOS及HMGB1/NF-κB信号通路蛋白表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	iNOS/GAPDH	HMGB1/GAPDH	p-NF-κB p65/NF-κB p65
正常对照组	0.35±0.04	0.27±0.03	0.09±0.01
模型组	1.78±0.16[a]	1.65±0.14[a]	0.89±0.07[a]
GL低剂量组	1.45±0.13[b]	1.24±0.11[b]	0.67±0.05[b]
GL中剂量组	1.03±0.10[bc]	0.72±0.07[bc]	0.36±0.04[bc]
GL高剂量组	0.64±0.07[bcd]	0.41±0.05[bcd]	0.15±0.03[bcd]
阳性对照组	0.58±0.06[b]	0.36±0.04[b]	0.12±0.02[b]

a：与正常对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与GL低剂量组比较，$P<0.05$；d：与GL中剂量组比较，$P<0.05$。

伤[11]。HP感染后，ROS会损伤胃黏膜细胞并引起膜脂质过氧化，从而导致脂质过氧化的最终产物MDA积累。此外，iNOS是一种诱导性炎症酶，是HP引起胃炎的重要致病因子[12]。本研究结果发现，与正常对照组比较，模型组大鼠DOB值，胃黏膜组织病理评分，胃黏膜组织中IL-8、IL-1β、TNF-α、MDA、ROS水平及iNOS蛋白相对表达量均显著升高，而GL可显著改善上述指标的变化，提示GL可能通过抑制炎症和氧化应激反应来减轻HP引起的胃黏膜损伤。

HMGB1是一种普遍存在的核蛋白，在炎症刺激下可从细胞核释放到细胞质甚至细胞外空间，与TLR4等受体结合，从而激活NF-κB，刺激多种炎症细胞因子（IL-8、IL-1β、TNF-α、iNOS等）的释放，与炎症性肺损伤、肺炎、败血症等炎症反应介导的细菌性疾病的发生发展密切相关[12]。研究发现，HMGB1在HP感染期间高表达，抑制HMGB1/NF-κB信号通路可减轻HP诱导的大鼠慢性萎缩性胃炎[3—5]。HP感染产生的ROS也可激活NF-κB等炎症信号传导。抑制NF-κB信号通路的活化可降低炎症细胞因子的产生，改善HP引起的胃损伤[13]。GL是一种天然的三萜类化合物，被认为是HMGB1的抑制剂，通过抑制HMGB1表达，可缓解脂多糖诱导的肝脏巨噬细胞炎症及改善HP诱导的人胃癌细胞炎性损伤[6,14]。此外还有研究发现，GL可通过抑制HMGB1-RAGE/

TLR4-NF-κB/蛋白激酶B信号通路，抑制炎症反应，缓解颞下颌关节骨关节炎的病理变化[8]。本研究结果发现，与正常对照组比较，模型组大鼠胃黏膜组织中HMGB1、NF-κB mRNA和HMGB1蛋白相对表达量，以及NF-κB p65磷酸化水平均显著升高，而GL可显著降低上述指标水平，提示GL可能通过抑制HMGB1/NF-κB信号通路的激活，抑制炎症和氧化应激反应，从而减轻HP引起的胃黏膜损伤。

综上所述，GL可能通过抑制HMGB1/NF-κB信号通路的激活，抑制炎症和氧化应激反应，从而减轻HP引起的胃黏膜损伤。然而本研究尚存在一些不足之处，如仅验证了GL对HMGB1/NF-κB信号通路的影响，未对其他通路、靶点进行研究。后续将进一步验证GL对HP相关性胃炎症状改善作用的具体机制，旨在为HP相关性胃炎的临床治疗提供依据。

参考文献

[1] HOOI J K Y, LAI W Y, NG W K, et al. Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis[J]. Gastroenterology, 2017, 153(2): 420-429.

[2] QIONG H, HAN L, ZHANG N X, et al. Glycyrrhizin improves the pathogenesis of psoriasis partially through IL-17A and the SIRT1-STAT3 axis[J]. BMC Immunol, 2021, 22(1): 34.

[3] LIN H J, HSU F Y, CHEN W W, et al. *Helicobacter pylori* activates HMGB1 expression and recruits RAGE into lipid rafts to promote inflammation in gastric epithelial cells[J]. Front Immunol, 2016, 7: 341.

[4] YU R Q, JIANG S Y, TAO Y Q, et al. Inhibition of HMGB1 improves necrotizing enterocolitis by inhibiting NLRP3 via TLR4 and NF-κB signaling pathways[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(8): 13431-13438.

[5] WEN J X, WU S H, MA X, et al. Zuojin Pill attenuates *Helicobacter pylori*-induced chronic atrophic gastritis in rats and improves gastric epithelial cells function in GES-1 cells[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 285: 114855.

[6] KHAN U, KARMAKAR B C, BASAK P, et al. Glycyrrhizin, an inhibitor of HMGB1 induces autolysosomal degradation function and inhibits *Helicobacter pylori* infection [J]. Mol Med, 2023, 29(1): 51.

[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-κB信号通路的影响[J]. 中华中医药杂志，2021，36(8)：4969-4972.
LIU W Q, DONG L G, YOU J, et al. Effects of Jianpi Qinghua Decoction on HSP70/NF-κB signal pathway of gastric mucosa in rats with *Helicobacter pylori*-associated gastritis[J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2021, 36(8): 4969-4972.

[8] HU Z H, XIAO M, CAI H X, et al. Glycyrrhizin regulates rat TMJOA progression by inhibiting the HMGB1-RAGE/TLR4-NF-κB/AKT pathway[J]. J Cell Mol Med, 2022, 26(3): 925-936.

[9] 吴德坤，唐友明，郑景辉，等. 安胃汤对幽门螺旋杆菌阳性萎缩性胃炎模型大鼠保护作用的药理探索[J]. 中药新药与临床药理，2022，33(1)：57-63.
WU D K, TANG Y M, ZHENG J H, et al. Pharmacologic study of anwei decoction on the protection of atrophic chronic gastritis rats with *Helicobacter pylori* positive[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2022, 33(1): 57-63.

[10] 江明礼，莫非，渠巍，等. 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[J]. 贵州医科大学学报，2019，44(2)：184-189.
JIANG M L, MO F, QU W, et al. Effect of *Polygonum capitatum* on TLRs signal pathway in *Helicobacter pylori* gastritis cells[J]. J Guizhou Med Univ, 2019, 44(2): 184-189.

[11] KIM H S, LIM J W, KIM H. Korean red ginseng extract inhibits IL-8 expression via Nrf2 activation in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells[J]. Nutrients, 2022, 14(5): 1044.

[12] TIWARI S K, SHAIK A S, SHAIK A P, et al. Gene expression patterns of COX-1, COX-2 and iNOS in *H. pylori* infected histopathological conditions[J]. Microb Pathog, 2019, 135: 103634.

[13] SIRIVIRIYAKUL P, WERAWATGANON D, PHETNOO N, et al. Genistein attenuated gastric inflammation and apoptosis in *Helicobacter pylori*-induced gastropathy in rats[J]. BMC Gastroenterol, 2020, 20(1): 410.

[14] SHEN C H, MA Z Y, LI J H, et al. Glycyrrhizin improves inflammation and apoptosis via suppressing HMGB1 and PI3K/mTOR pathway in lipopolysaccharide-induced acute liver injury[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(12): 7122-7130.

（收稿日期：2023-05-10　修回日期：2023-12-27）
（编辑：邹丽娟）