

DOI:10.13350/j.cjpb.230511

• 论著 •

幽门螺杆菌感染蒙古沙鼠胃组织 NLRP3 炎症小体 相关因子和自噬相关蛋白表达分析^{*}

吴丽霞, 鲍丽雅, 陈定宇, 桂书琴, 赵艳, 王琴容, 周建奖, 谢渊^{**}

(贵州医科大学地方病与少数民族性疾病教育部重点实验室, 分子生物学重点实验室, 贵州贵阳 550004)

【摘要】 **目的** 探究幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)感染对蒙古沙鼠胃组织中 NLRP3 炎症小体相关因子和自噬相关蛋白表达的影响。 **方法** 采用 Hp 国际标准株 11637 灌胃处理蒙古沙鼠, 隔天一次, 共 5 次, 以相同体积无菌脑心浸液肉汤灌胃的沙鼠作为对照组。于感染第 3、6、12 和 24 个月处死沙鼠, 取胃黏膜组织并切片, HE 染色后作病理学检查; 免疫组织化学染色观察 Hp 定植; 试剂盒法检测胃组织 NLRP3 炎症小体及其相关因子 IL-18、IL-1 β 和自噬相关蛋白 P62、LC3 的表达。 **结果** Hp 感染蒙古沙鼠胃组织检测到 Hp 的定植, HE 染色检查显示不同时间感染组沙鼠胃黏膜均出现糜烂黏膜下层组织水肿、黏膜局部浅表糜烂和淋巴浆细胞浸润等不同程度的慢性胃炎病理改变, 感染 24 月部分区域出现非典型增生甚至癌变。对照组沙鼠均无 Hp 定植及组织学病变。与未感染对照组比较, Hp 感染蒙古沙鼠胃组织中 NLRP3、IL-18、IL-1 β 和 LC3、P62 的表达水平均显著升高(均 $P < 0.05$); 其中 NLRP3、IL-18、LC3 表达 3 到 12 个月随着 Hp 感染时间的延长呈上升趋势, 12 到 24 个月呈下降趋势。IL-1 β 表达无显著变化, P62 呈持续上升趋势。 **结论** 蒙古沙鼠感染 Hp 后可出现与人极相似的胃粘膜病理组织学改变, 并促进蒙古沙鼠胃组织 NLRP3 炎症小体活化和自噬水平升高, 这可能是 Hp 引起胃部病理变化的其中一个原因。

【关键词】 幽门螺杆菌; NLRP3 炎症小体; 自噬

【中图分类号】 R378.99

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)05-0552-05

[Journal of Pathogen Biology. 2023 May;18(5):552-556.]

Expression analysis of NLRP3 inflammasome and mitophagy-related indexes in gastric tissue of Mongolian gerbil infected by *Helicobacter pylori*

WU Lixia, BAO Liya, CHENG Dingyu, GUI Shuqin, ZHAO Yan, WANG Qinrong, ZHOU Jianjiang, XIE Yuan (Key Laboratory of Endemic and Minority Diseases of the Ministry of Education, Guizhou Medical University, Key Laboratory of Molecular Biology, Guiyang 550004, China) ^{***}

【Abstract】 **Objective** The purpose of this study was to see how *Helicobacter pylori* (Hp) infection affected the expression of NLRP3 inflammasome-related factors and autophagy-related proteins in Mongolian gerbil gastric tissues. **Methods** Mongolian gerbils were gavaged with Hp international standard strain 11637 once every other day for five times, while control gerbils were gavaged with the same volume of sterile brain heart infusion broth. The gerbils were sacrificed 3, 6, 12, and 24 months after infection, and the gastric mucosa tissues were sliced and stained with HE for pathological examination, immunohistochemical staining was performed to observe Hp colonization, and reagent kit assays were used to detect the expression of gastric NLRP3 inflammasome associated factors NLRP3, IL-18, IL-1 β and autophagy-associated proteins P62 and LC3. **Results** HE staining revealed that the gastric mucosa of the Hp infected gerbils at different times presented chronic gastritis pathological changes of varying degrees, including edema of the submucosal tissue, local superficial erosion of the mucosa, and lymphoplasmic cell infiltration. Atypical hyperplasia or even cancer appeared in some areas of gerbils infected with Hp for 24 months. The gerbils in the control group lacked histological lesions and Hp colonization. The expression levels of NLRP3, IL-18, IL-1 β , LC3 and P62 in the gastric tissues of Hp-infected Mongolian gerbils were significantly increased compared to the uninfected control group (all $P < 0.05$). The expression of NLRP3, IL-18, and LC3 increased gradually during 3-12 months as the Hp infection was prolonged, but decreased gradually during 12-24 months. The expression of IL-1 β showed no significant change, whereas P62 showed an increasing trend. **Conclusion** Mongolian gerbils infected with Hp can exhibit pathological histological changes in the

^{*} **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No 31960028, 32160166, 82260405); 贵州省科技基金项目(黔科合基础项目[2020]12010, 黔科合基础项目[2020]1Y333)。

^{**} **【通讯作者】** 谢渊, E-mail: 37408126@qq.com

【作者简介】 吴丽霞(1995-), 女, 贵州人, 在读硕士研究生。研究方向: 肿瘤分子发病机制研究。E-mail: 1921046267@qq.com

gastric mucosa that are very similar to those seen in humans, as well as promote NLRP3 inflammasome activation and elevated levels of autophagy in Mongolian gerbil gastric tissues, which may be one of the reasons for Hp-induced pathological changes in the stomach.

【Key words】 *Helicobacter pylori*; NLRP3 inflammatory body; autophagy

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)是一种寄生于人类胃黏膜的革兰阴性菌,与炎症诱发的胃癌有关^[1],全球胃癌病例中 Hp 感染占 90%,在癌症相关感染因子中占比频率最高^[2]。Hp 定植于胃上皮细胞,主要通过其细胞毒素相关蛋白 A(CagA)和空泡细胞毒素 A(VacA)促进各种细胞炎症因子的分泌,诱导细胞免疫反应参与其致病过程^[3]。由于其与胃癌的发生有密切联系,在 1994 年被世界卫生组织和国际癌症研究组织归为人类胃癌的 I 类致癌物质^[4]。

NLRP3 炎症小体是一种多聚蛋白复合体,由先天免疫受体蛋白 NLRP3、衔接子凋亡斑点样蛋白(ASC)和效应子 caspase-1 组成,可对微生物感染、内源性危险信号和环境刺激作出反应^[5]。组装的 NLRP3 炎症小体可激活蛋白 caspase-1 以诱导 gasdermin D 依赖性细胞凋亡并促进 IL-1 β 和 IL-18 的释放,这有助于先天免疫防御和细胞稳态维持^[6]。在肿瘤细胞,高表达的 IL-1 β 可诱导肿瘤的侵袭、新生血管生成和免疫抑制作用^[7]。胃癌是一种 Hp 相关性慢性炎症性疾病导致的恶性结果,前期研究发现 Hp 及其 CagA 引起胃上皮细胞 ROS 增多并活化 NLRP3 炎症小体,炎症因子生成增加并促进胃癌细胞的侵袭迁移^[8]。蒋建焯等^[9]通过动物实验证实 Hp 感染可激活 C57BL/6 小鼠 NLRP3 炎症小体信号通路。Amalia 等^[10]通过蒙古沙鼠复制出与人类 Hp 感染相似病理改变的动物模型, Hp 能长期定植在蒙古沙鼠的胃中,而且还能单独或协同致癌剂诱发出胃癌。因此,蒙古沙鼠是用于研究 Hp 致胃癌发生较为理想的模型动物。目前, Hp 感染对蒙古沙鼠胃组织 NLRP3 炎症小体活化的影响尚不明确。

自噬是一种保守的自我降解过程,当细胞处于饥饿、缺氧或其他特定细胞应激条件下,吞噬患病的细胞器或受损的细胞质蛋白以形成自噬体,然后与溶酶体结合形成自溶酶体,从而维持细胞稳态^[11]。自噬主要由自噬相关蛋白 P62、LC3 调控^[12],自噬标记 p62 通过短 LC3 相互作用区(LIR)直接与 LC3 和 GABARAP(Atg8 同源物)家族蛋白结合,通过自噬递送选择性自噬产物以进行降解^[13]。研究认为,自噬与胃癌的发生、发展及耐药密切相关,且自噬在胃癌中具有抑制胃癌发生及促进胃癌生长的双重作用^[14]。胃癌的发病机制与 Hp 感染诱导的细胞形成自噬体介导的下游信号通路密切相关,自噬参与 Hp 感染,影响胃

癌的发生。张家祥等^[15]报道, Hp 通过其 VacA 可造成胃黏膜上皮细胞发生不同的自噬变化,与胃癌的发生、转移、预后等密切相关。但 Hp 感染对自噬功能的影响以及自噬在胃癌中的作用尚不清楚。研究表明,自噬能够负向或正向调控 NLRP3 炎症小体的激活,同时 NLRP3 炎症小体也会逆向影响自噬的作用^[16]。因此,在 Hp 感染蒙古沙鼠动物模型中分析 Hp 感染对细胞自噬和 NLRP3 炎症小体活化的影响对探索 Hp 致癌分子机制研究具有重要的生物学意义。

本研究拟构建 Hp 感染蒙古沙鼠模型,探究 Hp 感染对 NLRP3 炎症小体相关因子和自噬相关信号分子表达的影响,为进一步揭示 Hp 引起胃癌的分子机制提供一定的理论依据,为寻找新的胃癌治疗方法提供理论基础。

材料与方法

1 材料

1.1 菌株和实验动物 Hp 国际标准株 NCTC11639 由中国幽门螺杆菌菌株管理与保藏中心提供,由本实验保存。蒙古沙鼠购于浙江医学科学院动物中心提供,4 周龄,雄性,体重 40~50 g。

1.2 主要试剂 Hp 选择剂购自英国 OXOID 公司; P62、LC3、NLRP3、IL-18、IL-1 β 兔多克隆抗体及 HRP 标记羊抗兔 IgG 购自武汉三鹰生物技术有限公司; DAPI 显色试剂盒(20 $\times$)购自北京中杉金桥生物技术有限公司;苏木素购自武汉塞维尔生物技术有限公司。

2 方法

2.1 Hp 培养 将 Hp 接种于含有 10% 绵羊血、0.4% Hp 选择剂的哥伦比亚血琼脂平板,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% O₂、10% CO₂、85% N₂ 的微需氧环境中培养,待生长旺盛时(细菌接种后 3~4 d)收集细菌,加 1 mL PBS 重悬,5 000 g 离心 3 min,弃去上清后再加 1 mL PBS 重悬,用分光光度计测定菌液浓度。

2.2 Hp 感染蒙古沙鼠模型的构建 将蒙古沙鼠分为 Hp 感染组和对照组,感染组采用 Hp 国际标准株 11637 灌胃处理 5 次,每次 15 $\times$ 10⁸ 个/mL。对照组沙鼠以相同体积无菌脑心浸液肉汤灌胃。分别于感染第 3、6、12 和 24 个月每组各取 3 只沙鼠处死,解剖后取出胃部组织并用 4% 多聚甲醛进行固定处理。

2.3 胃组织 Hp 定植和病理检测 甲醛固定的沙鼠胃组织经包埋后切片,以 Hp 全菌抗体为一抗、HRP

标记的羊抗兔 IgG 为二抗检测组织标本中的 Hp。另取组织切片,经 HE 染色后进行常规病理学检查。

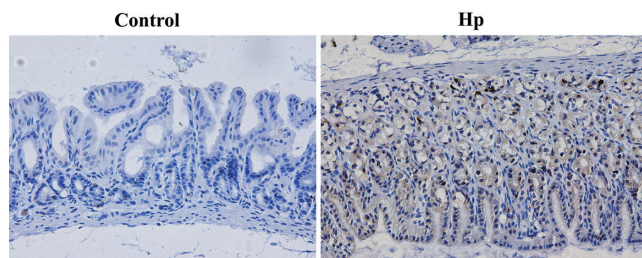
2.4 NLRP3 炎症小体相关因子和自噬相关蛋白检测
采用免疫组化试验。胃组织切片应用二甲苯脱蜡,梯度酒精脱蜡至水。以 3% H_2O_2 灭活内源性过氧化物酶,微波修复抗原,血清封闭,滴加一抗(P62、LC3、NLRP3、IL-18、IL-1 β 兔多克隆抗体),4℃湿盒过夜,次日 PBS 洗涤;滴加 HRP 标记羊抗兔 IgG 二抗,PBS 洗涤;加 DAB 显色,苏木素复染,酒精脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。试验标本为各组沙鼠切面水平相似的连续胃组织切片,所有切片分析均在同一强度、同一放大倍数下进行,每个指标采用阳性细胞计数法。在 40×10 倍光镜视野下观察免疫反应,以细胞浆着棕褐色为阳性,每张切片随机选取 8 个不重叠视野分别对切片的免疫阳性细胞进行计数,取均值作为各时间点该指标的阳性细胞数,用 Image-ProPlus 6.0 软件进行量化,取得平均 IA 值,再用 GraphPad Prism8 软件进行图片绘制。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 16.0 软件进行数据统计分析,用 GraphPad Prism8 软件进行图片绘制,多组之间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。所有试验均重复 3 次,取平均值。

结 果

1 Hp 感染蒙古沙鼠胃组织中 Hp 定植情况

经 Hp 抗体免疫组化检测,在 Hp 感染蒙古沙鼠组胃粘膜细胞表面和胃小凹出现阳性,而 Hp 未感染组为阴性(图 1)。



注:Control 为未感染对照组;Hp 为 Hp 感染蒙古沙鼠组。

图 1 Hp 感染蒙古沙鼠胃组织免疫组化检查

Notes: Control, the normal Mongolian gerbil group; Hp, the Hp-infected Mongolian gerbil group.

Fig. 1 Results of Hp immunohistochemical detection in the gastric tissue of Mongolian

2 Hp 感染蒙古沙鼠胃组织病理学变化

蒙古沙鼠胃组织切片经 HE 染色后在光学显微镜下观察,结果如图 2。Hp 感染 3 个月固有层及黏膜下层血管扩张,黏膜局部浅表糜烂;Hp 感染 6 个月局部糜烂黏膜下层组织水肿;Hp 感染 12 个月固有层内散在淋巴浆细胞浸润且黏膜糜烂;Hp 感染 24 个月固有

层内散在淋巴浆细胞浸润,部分区域轻度非典型增生且黏膜糜烂。对照组均未见糜烂、充血、淋巴细胞浸润现象。

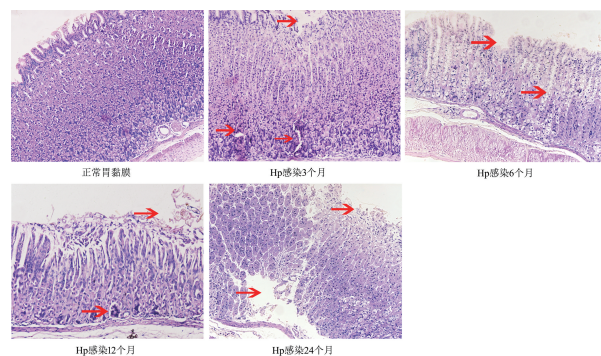
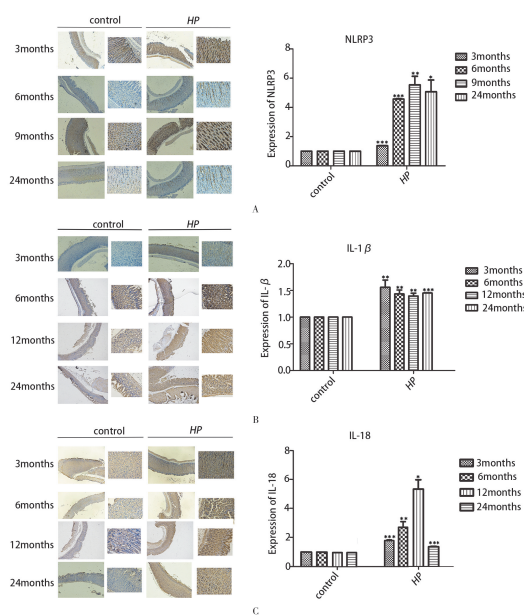


图 2 Hp 感染蒙古沙鼠胃部组织病理变化

Fig. 2 Results of Pathological changes of stomach tissue in Mongolian gerbil infected with Hp influence

3 Hp 感染沙鼠胃组织中 NLRP3 炎症小体相关因子表达水平

与未感染 Hp 蒙古沙鼠组比较,感染 Hp 蒙古沙鼠在 3、6、9、24 个月时胃组织 NLRP3、IL-1 β 和 IL-18 表达水平均上调(均 $P < 0.05$)。其中 NLRP3 和 IL-18 表达水平从 3 个月到 12 个月随 Hp 感染时间的延长出现不同程度的上升趋势,12 到 24 个月呈相对下降趋势,而 IL-1 β 表达无明显变化(图 3)。提示 Hp 感染可活化 NLRP3 炎症小体,促进炎症因子释放。



注:Control 为未感染对照组;Hp 为 Hp 感染蒙古沙鼠组。

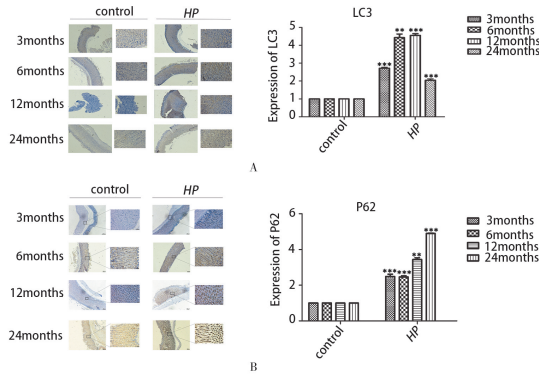
图 3 Hp 感染沙鼠胃组织中 NLRP3 炎症小体相关因子表达情况

Notes: Control, the normal Mongolian gerbil group; Hp, the Hp-infected Mongolian gerbil group.

Fig. 3 Expression results of NLRP3 inflammasome-related indexes in gastric tissue of Hp infection animal model

4 Hp 感染沙鼠胃组织中自噬相关蛋白表达水平

与未感染 Hp 蒙古沙鼠组比较,感染 Hp 蒙古沙鼠在 3、6、12、24 个月时胃组织 LC3 和 P62 表达水平均上调(均 $P < 0.05$)。其中 LC3 表达水平从 3 个月到 12 个月随 Hp 感染时间的延长呈上升趋势,12 到 24 个月呈下降趋势,而 P62 表达从 6 个月起呈上升趋势(图 4)。提示 Hp 感染可调控自噬相关蛋白并引起上调。



注:Control 为未感染对照组;Hp 为 Hp 感染蒙古沙鼠组。

图 4 Hp 感染动物模型胃组织中自噬相关因子表达情况

Notes:Control, the normal Mongolian gerbil group; Hp, the Hp-infected Mongolian gerbil group.

Fig. 4 Expression results of autophagy-related indexes in gastric tissue of Hp infection animal model

讨论

Hp 是一种革兰阴性微需氧螺旋菌,一般在胃粘膜定植,作为致病因子,可引发胃炎、消化性溃疡及胃癌等疾病^[17]。全球人群 Hp 感染率近 50%,在部分发展中国家的感染率甚至高达 90%^[18]。许多研究已证实,Hp 感染是慢性非萎缩性胃炎→萎缩性胃炎→肠上皮化生→异型增生→胃癌这一演变过程的启动因素^[19]。因此建立稳定可靠的 Hp 长期感染动物模型是研究其致胃癌发病机制的必备条件。建立 Hp 感染模型的动物包括豚鼠、大鼠、裸鼠、黑猩猩等,这些动物模型有许多缺点,例如感染率低、不稳定、免疫缺陷和高成本^[20]。蒙古沙鼠具有感染频率高、感染稳定性高、Hp 定植量大、寿命长、适合研究时间长、病理变化与慢性胃炎患者相似的病理变化等优势,被认为是 Hp 菌株建立感染模型的理想动物^[21]。本研究构建的 Hp 感染蒙古沙鼠动物模型,在其胃粘膜表面和胃小凹中检出有 Hp 定植,不同时间感染组胃黏膜固有层及粘膜下层均出现了糜烂、充血、淋巴细胞浸润等不同程度的慢性胃炎病理改变,感染 24 个月后部分区域出现非典型增生甚至癌变,充分说明采用蒙古沙鼠可建立起稳定的 Hp 感染模型,并引起了与人体相似的病变进程。

Hp 可通过诱导其他促炎因子如 IL-18 和各种趋化因子等引起微环境的炎症,从而导致慢性胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡以及胃癌^[22]。

NLRP3 介导的炎症小体激活可能是 Hp 感染的早期事件,引起感染所需的固有免疫反应,从而调控炎症和免疫应答^[23]。但目前 Hp 感染病理进程中诱导的 NLRP3 炎症小体激活情况尚不完全清楚。为了探究 Hp 致病进展与 NLRP3 炎症小体相关信号分子的关系,本研究用 Hp 感染蒙古沙鼠,分析感染 3、6、12 和 24 个月胃组织 NLRP3 炎症小体相关因子表达情况,结果显示 Hp 能上调 NLRP3 和 IL-18 的表达。在感染早期(3~12 个月),NLRP3 和 IL-18 表达随 Hp 感染时间的延长表达不断上升,但到感染后期(12~24 个月)逐渐呈下降趋势。IL-1 β 表达增加,但在感染各期变化不明显。本研究结果证实,Hp 持续感染不断激活 NLRP3 信号通路,在感染早期导致胃上皮细胞炎症损伤过程中起重要作用,刺激胃黏膜不间断产生炎症因子等活性介质,诱导细胞发生增殖分化异常,最终导致细胞恶变,恶性改变胃组织炎症反应降低,相应的 NLRP3 和 IL-18 表达也逐渐减少。

自噬是限制细菌存活和生长的重要防御机制,有研究发现 Hp 可诱导有缺陷的自噬或抑制自噬,从而使 Hp 增殖^[24]。此外,Hp 还可启动细胞信号通路的异常激活,例如 Nod1-NF-KB/MAPK-ERK/FOXO4 通路,使细胞逃脱自噬并促进胃癌的发生发展^[25]。胃癌细胞中 Hp 感染调节的自噬机制相当复杂,在 Hp 感染初期,固有免疫识别外源性感染后诱导自噬以维持细胞内环境稳态,Hp 长期慢性感染导致自噬水平下调,从而促进胃癌的发生^[26]。本研究结果显示,Hp 感染蒙古沙鼠胃组织自噬相关蛋白 LC3、P62 表达水平在感染早中期持续上升,而感染后期 LC3 表达逐渐降低。证实长期 Hp 感染的细胞其自噬能力先强后减弱,被机体免疫系统识别的难度增加,进而导致长期炎症反应并推动胃癌的发生。

Hp 长期感染可引起蒙古沙鼠胃黏膜上皮细胞发生慢性炎症病理性改变,甚至非典型增生和癌变,并可上调 NLRP3 炎症小体相关因子和细胞自噬相关蛋白的表达,提示 Hp 诱导的 NLRP3 炎症小体活化和细胞自噬的增加参与其致病过程。但其相互作用关系及在 Hp 致病机制中的作用还需进一步研究。

【参考文献】

- [1] Kim J, Wang TC. *Helicobacter pylori* and gastric cancer[J]. *Gastrointest Endosc Clin N Am*,2021,31(3):451-465.
- [2] Costa L, Corre S, Michel V, et al. USF1 defect drives p53 degradation during *Helicobacter pylori* infection and accelerates gastric carcinogenesis[J]. *Gut*,2020,69(9):1582-1591.
- [3] Ansari S, Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* virulence factor cytotoxin-associated gene A (CagA)-mediated gastric pathogenicity[J]. *Int J Mol Sci*,2020,21(19):7430.
- [4] El-Sharkawy LY, Brough D, Freeman S. Inhibiting the NLRP3

- inflammasome[J]. *Molecules*, 2020, 25(23):5533.
- [5] Huang Y, Xu W, Zhou R. NLRP3 inflammasome activation and cell death[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(9):2114-2127.
- [6] Hooftman A, Angiari S, Hester S, et al. The immunomodulatory metabolite itaconate modifies NLRP3 and inhibits inflammasome activation[J]. *Cell Metab*, 2020, 32(3):468-478.
- [7] Di Martile M, Gabellini C, Desideri M, et al. Inhibition of lysine acetyltransferases impairs tumor angiogenesis acting on both endothelial and tumor cells[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1):103.
- [8] Zhang X, Li C, Chen D, et al. *Helicobacter pylori* CagA activates the NLRP3 inflammasome to promote gastric cancer cell migration and invasion[J]. *Inflamm Res*, 2022, 71(1):141-155.
- [9] 蒋建烨, 刘胜, 罗晶晶, 等. NLRP3 炎症小体及其下游分子在幽门螺杆菌感染小鼠的表达[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2013, 29(08):785-788+793.
- [10] Amalia R, Panenggak NSR, Doohan D, et al. A comprehensive evaluation of an animal model for *Helicobacter pylori*-associated stomach cancer: Fact and controversy[J]. *Helicobacter*, 2023, 28(1):e12943.
- [11] Onorati AV, Dyczynski M, Ojha R, et al. Targeting autophagy in cancer[J]. *Cancer*, 2018, 124(16):3307-3318.
- [12] Atkinson JM, Ye Y, Gebru MT, et al. Time-resolved FRET and NMR analyses reveal selective binding of peptides containing the LC3-interacting region to ATG8 family proteins[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(38):14033-14042.
- [13] Popelka H, Klionsky DJ. Structural basis for extremely strong binding affinity of giant ankyrins to LC3/GABARAP and its application in the inhibition of autophagy[J]. *Autophagy*, 2018, 14(11):1847-1849.
- [14] Wong MM, Chan HY, Aziz NA, et al. Interplay of autophagy and cancer stem cells in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Biol Rep*, 2021, 48(4):3695-3717.
- [15] 张家祥, 王文霸, 闫曙光, 等. CagA 和 VacA 抑制胃黏膜上皮细胞的自噬并促进胃癌前病变的恶化[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2022, 47(7):942-951.
- [16] 曹真睿, 贺桂琼, 龙志敏. 自噬与 NLRP3 炎症小体激活间的相互作用[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2019, 35(6):599-605.
- [17] Wu L, Jiang F, Shen X. *Helicobacter pylori* CagA protein regulating the biological characteristics of gastric cancer through the miR-155-5p/SMAD2/SP1 axis[J]. *Pathogens*, 2022, 11(8):846.
- [18] Sterbenc A, Jarc E, Poljak M, et al. *Helicobacter pylori* virulence genes[J]. *World J Gastroenterol*. 2019, 25(33):4870-4884.
- [19] Hwang YJ, Kim N, Lee HS, et al. Reversibility of atrophic gastritis and intestinal metaplasia after *Helicobacter pylori* eradication-a prospective study for up to 10 years[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2018, 47(3):380-390.
- [20] Beckett AC, Loh JT, Chopra A, et al. *Helicobacter pylori* genetic diversification in the Mongolian gerbil model[J]. *PeerJ*, 2018(6):e4803.
- [21] Ansari S, Yamaoka Y. Animal models and *Helicobacter pylori* infection[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(11):3141.
- [22] Mahant S, Mehra S, Chhawchharia A, et al. Prevalence of tumor necrosis factor alpha inducing protein (tipα) gene of *Helicobacter pylori* and its association with upper gastrointestinal diseases in India[J]. *Biotech*, 2021, 11(5):246.
- [23] Song N, Liu ZS, Xue W, et al. NLRP3 phosphorylation is an essential priming event for inflammasome activation[J]. *Mol Cell*, 2017, 68(1):185-197.
- [24] Yang L, Li C, Jia Y. MicroRNA-99b promotes *Helicobacter pylori*-induced autophagy and suppresses carcinogenesis by targeting mTOR[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(4):5355-5360.
- [25] He Y, Wang C, Zhang X, et al. Sustained exposure to *Helicobacter pylori* lysate inhibits apoptosis and autophagy of gastric epithelial cells[J]. *Front Oncol*, 2020(10):581364.
- [26] 袁玲, 马颖才, 荣光宏, 等. 胃癌与自噬的研究进展[J]. *癌症进展*, 2022, 20(11):1092-1095.

【收稿日期】 2022-12-21 【修回日期】 2023-03-06

(上接 551 页)

- [11] Plassmeier J, Persicke M, Puhler A, et al. Molecular characterization of PrpR, the transcriptional activator of propionate catabolism in *Corynebacterium glutamicum* [J]. *J Biotechnol*, 2012, 159(1):1-11.
- [12] Singhal A, Arora G, Virmani R, et al. Systematic analysis of mycobacterial acylation reveals first example of acylation-mediated regulation of enzyme activity of a bacterial phosphatase [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(43):26218-26234.
- [13] Simonte FM, Dotsch A, Galego L, et al. Investigation on the anaerobic propionate degradation by *Escherichia coli* K12 [J]. *Mol Microbiol*, 2017, 103(1):55-66.
- [14] 于子萍, 兰添, 陈伟月, 等. 猪急性腹泻综合征冠状病毒膜蛋白的原核表达及其多克隆抗体的制备 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2022, 17(8):873-879.
- [15] Jurado-Martin I, Sainz-Mejias M, McClean S. *Pseudomonas aeruginosa*: An audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(6):3128.
- [16] Daddaoua A, Molina-Santiago C, de la Torre J, et al. GtrS and GtrR form a two-component system: the central role of 2-ketogluconate in the expression of exotoxin A and glucose catabolic enzymes in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(12):7654-7663.
- [17] Stover CK, Pham XQ, Erwin AL, et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen [J]. *Nature*, 2000, 406(6799):959-964.
- [18] Crousilles A, Maunders E, Bartlett S, et al. Which microbial factors really are important in *Pseudomonas aeruginosa* infections? [J]. *Future Microbiol*, 2015, 10(11):1825-1836.
- [19] Tabuchi T, Serizawa N, Uchiyama H, et al. A novel pathway for the partial oxidation of propionyl-CoA to pyruvate via seven-carbon tricarboxylic acids in yeasts [J]. *Agricul Biol Chem*, 1974, 38(12):2571-2572.
- [20] Horswill AR. *Salmonella typhimurium* LT2 catabolizes propionate via 2MC [J]. *J Bacteriol*, 1999, 181(18):5615-5623.
- [21] London RE, Allen DL, Gabel SA, et al. Carbon-13 nuclear magnetic resonance study of metabolism of propionate by *Escherichia coli* [J]. *J Bacteriol*, 1999, 181(11):3562-3570.
- [22] Eoh H, Rhee KY. Methylcitrate cycle defines the bactericidal essentiality of isocitrate lyase for survival of *Mycobacterium tuberculosis* on fatty acids [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(13):4976-4981.
- [23] Tao Ziqi, Aimin S, Li Rui, et al. Microarray bioinformatics in cancer-a review [J]. *JBUON*, 2017, 22(4):838-843.

【收稿日期】 2022-12-27 【修回日期】 2023-03-05