doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2023.02.008
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2023.02.008
China Journal of General Surgery, 2023, 32(2):231-238.

·基础研究·

miR-650靶向PRDX2调控幽门螺旋杆菌对胃癌细胞氧化应激的机制研究

王永琦，何冬雷，梁月祥，刘丽杰

（海南医学院附属第一医院 胃肠肿瘤外科，海南 海口 570102）

摘　要

背景与目的：幽门螺旋杆菌（*HP*）在人类胃部的定植是引起胃癌发生较明确的危险因素，且研究发现，*HP*感染后胃癌细胞的氧化应激水平有明显改变，但机制尚未明确。因此，本研究探讨*HP*引起胃癌细胞氧化应激的潜在机制和作用。

方法：用*HP*感染胃癌细胞SNU-1后，分别用DCF-DA荧光法和CCK-8法检测的活性氧（ROS）水平和增殖能力的变化；用高通量测序和siRNA筛选鉴定*HP*感染后引起SNU-1细胞氧化应激增强的关键基因，随后通过miRDB在线分析和荧光素酶报告系统鉴定引起胃癌细胞SNU-1氧化应激的关键上游miRNA，同时结合功能获得与功能缺失实验验证。

结果：SNU-1细胞感染*HP*后，ROS水平升高，增殖能力增强，但同时使用氧化应激抑制剂乙酰半胱氨酸处理，SNU-1细胞的以上变化被取消（均$P>0.05$）。siRNA筛选结果发现，敲低过氧化氢酶2（PRDX2）时*HP*感染的SNU-1细胞ROS水平升高，增殖能力增强，而过表达PRDX2后则相反（均$P<0.05$），同时Western blot验证显示，*HP*感染后SNU-1细胞中PRDX2的表达下调。*HP*感染后，SNU-1细胞中PRDX2的启动子活性没有变化（$P>0.05$），但PRDX2的mRNA水平下降（$P<0.05$）。分析结果显示，*HP*感染的SNU-1细胞中miR-650的表达水平上升（$P<0.05$），且miR-650靶向PRDX2 mRNA的3'端非编码区。验证结果显示，SNU-1细胞过表达miR-650后，PRDX2的表达下调、ROS水平升高、增殖能力增强，敲低miR-650后则呈反向变化（均$P<0.05$）；*HP*感染的SNU-1细胞同时敲低miR-650或同时过表达PRDX2，细胞的增殖能力无明显变化（均$P>0.05$）。

结论：*HP*感染增加胃癌细胞氧化应激水平的机制和作用可能是其上调miR-650的表达，后者靶向PRDX2 mRNA的3'端非编码区抑制PRDX2 mRNA与蛋白表达，导致ROS水平升高，从而促进胃癌细胞的增殖。

关键词　胃肿瘤；幽门螺杆菌；氧化性应激；细胞增殖；硫氧还原蛋白过氧化物酶类；微RNAs

中图分类号：R735.2

Mechanism of miR-650 targeting PRDX2 to regulate oxidative stress in gastric cancer cells with *Helicobacter pylori* infection

WANG Yongqi, HE Donglei, LIANG Yuexiang, LIU Lijie

(Department of Gastrointestinal Surgical Oncology, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570102, China)

收稿日期：2022-03-31；**修订日期：**2023-01-11。

作者简介：王永琦，海南医学院附属第一医院副主任医师，主要从事胃肠道肿瘤方面的研究。

通信作者：何冬雷，Email: yin_jun_mei@163.com

Abstract **Background and Aims:** The colonization of *Helicobacter pylori* (*HP*) in the human stomach is a recognized risk factor for the occurrence of gastric cancer. Study also found that the oxidative stress is significantly changed in gastric cancer cells after *HP* infection, while the mechanism is not entirely elucidated. Therefore, this study was conducted to investigate the potential mechanism and role of *HP*-induced oxidative stress in gastric cancer cells.

Methods: In gastric cancer SNU-1 cells after *HP* infection, the changes in production of reactive oxygen species (ROS) and proliferation ability were detected by DCF-DA fluorescence and CCK-8 assay. The key genes inducing oxidative stress in SNU-1 cells after *HP* infection were identified by high-throughput sequencing and siRNA screening, and then the key upstream miRNAs causing oxidative stress in SNU-1 cells were identified using miRDB online analysis tools and luciferase reporter assay, in combination with gain- and loss-of-function experiments for validation.

Results: In SNU-1 cells after *HP* infection, the ROS level was increased and the proliferation ability was enhanced, but these changes were abolished by simultaneous treatment with the ROS inhibitor acetylcysteine (all $P>0.05$). The results of siRNA screening found that the ROS level was increased and the proliferation ability was enhanced in SNU-1 cells with *HP* infection after peroxiredoxin 2 (PRDX2) knock-down and the opposite changes were found after PRDX2 overexpression (all $P<0.05$). Meanwhile, Western blot validation showed that PRDX2 was down-regulated in SNU-1 cells after *HP* infection. The promoter activity of PRDX2 in SNU-1 cells did not change after *HP* infection ($P>0.05$), but the mRNA level of PRDX2 was decreased ($P<0.05$). Results of analysis showed that the expression level of miR-650 in SNU-1 cells with *HP* infection was increased ($P<0.05$), and miR-650 targeted at the 3' non-coding region of the PRDX2 mRNA. Results of validation showed that the PRDX2 expression was down-regulated, the ROS level was increased and the proliferation ability was enhanced in SNU-1 cells after overexpression of miR-650, and the opposite changes were seen after miR-650 knockdown (all $P<0.05$); the proliferation ability had no significant change in SNU-1 cells with *HP* infection and simultaneous miR-650 knockdown or simultaneous PRDX2 overexpression (both $P>0.05$).

Conclusion: The mechanism and action of *HP* infection in gastric cancer cells is possibly that it up-relates the expression of miR-650, and the latter suppresses the mRNA and protein expressions of PRDX2 by binding its 3' non-coding region, and then causes the increase of ROS level, thereby promotes the proliferation of gastric cancer cells.

Key words Stomach Neoplasms; Helicobacter Pylori; Oxidative Stress; Cell Proliferation; Peroxiredoxins; MicroRNAs

CLC number: R735.2

幽门螺旋杆菌（*Helicobacter pylori*，*HP*）是一种革兰氏阴性细菌，感染了世界上大约一半的人口，在发展中国家可能达到70%，在发达国家可能达到20%~30%[1]。*HP*感染被认为是引起胃炎和胃癌的主要危险因素[2]。虽然大多数*HP*感染的个体只会发生慢性胃炎，但一小部分慢性感染人群会发生胃腺癌[3]。*HP*感染引起胃黏膜的一系列改变，从浅表性胃炎开始，可发展为慢性胃炎、萎缩性胃炎、肠上皮化生、异型增生，最后发展为胃癌[4]。有研究[5]发现，*HP*感染后，胃癌细胞的氧化应激水平和增殖水平均有改变，但机制尚未明确。基于此，本研究将以胃癌细胞SNU-1为研究对象，旨在探讨*HP*引起胃癌细胞氧化应激的潜在机制和作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

乙酰半胱氨酸（acetylcysteine）购自Selleck公司（货号：S1623）。胃癌细胞SNU-1购自普诺赛公

司（货号：CL-0474）。*HP*、约氏乳酸杆菌（*Lactobacillus johnsonii*）、鼠乳杆菌（*Lactobacillus murinus*）、副血链球菌（*Streptococcus parasanguinis*）购自ATCC公司（货号：43504、11506、35020、15911）。siRNA、过氧化氢酶2（peroxiredoxin 2，PRDX2）过表达质粒、miRNA模拟物和miRNA抑制物均购自吉玛基因。布鲁氏肉汤购自广州拓山生物科技有限公司（货号：211088）。甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）抗体购自北京义翘神州科技股份有限公司（货号：10094-MM09-200）。PRDX2抗体购自杭州华安生物技术有限公司（货号：EM1701-72）。TRIzol试剂购自北京奇松生物科技有限公司（货号：BQS116748-100ml）。RealHelixTM qPCR试剂盒购自重庆唯尚立德生物科技有限公司（货号：LS-0064）。活性氧（reactive oxygen species，ROS）衍生的荧光生成探针2'，7'-二氯二氢荧光素二醋酸酯（2'，7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate，DCF-DA）由北京擎科合成。细胞计数试剂（Cell Counting Kit-8，CCK-8）购自深圳市益百顺科技有限公司（货号：CA1210-500T）。荧光素酶底物购自上海源叶生物科技有限公司（货号：S10221-5mg）。Wilkins-Chalgren购自深圳市益百顺科技有限公司（货号：LA4400-250g）。Mueller-Hinton琼脂平板购自青岛海博生物公司（货号：HB6232）。

1.2　实验方法

1.2.1　细胞培养与处理　SNU-1细胞在补充有10%v/v FBS和100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素的DMEM培养基中，在37 ℃和5%CO_2的湿润气氛下培养。氧化应激抑制剂乙酰半胱氨酸的处理终浓度为5 μmol/L。根据制造商的说明书，转染siRNA、PRDX2过表达质粒、miRNA模拟物和miRNA抑制物。在siRNA敲低筛选中，每种siRNA转染的终浓度为1 μL，转染后24 h进行氧化应激水平的检测。其中siPRDX2导向链（guide strand）：5'-UCA CUA UUC AGC UUC UAG GUG-3'；过客链（passenger strand）：5'-CCU AGA AGC UGA AUA GUG ACG-3'。

1.2.2　氧化应激水平的检测　使用ROS衍生的荧光生成探针DCF-DA监测感染*HP*的SNU-1细胞中ROS的积累。用PBS冲洗处理过的细胞并加载10 μmol/L的DCF-DA。在37 ℃下孵化30 min后，在荧光显微镜下检查细胞，激发波长为488 nm，发射波长为530 nm。

1.2.3　胃癌细胞增殖水平的检测　将SNU-1细胞接种于96孔板中，每孔板上涂有10 μL CCK-8，并进行特殊处理，在加湿的CO_2培养箱中37 ℃孵育4 h。然后，在590 nm波长下测量吸光度。

1.2.4　Western blot　*HP*感染后，用1×裂解缓冲液[100 mM Tris-HCl（pH 7.5），150 mmol/L NaCl，5 mmol/L EDTA（pH 8.0），1% Triton X-100，10%甘油，蛋白酶抑制剂鸡尾酒片，和1% PMSF]裂解细胞。使用Bio-Rad公司的蛋白质检测染料，用Bradford方法测量蛋白质浓度。在一些实验中，根据其他程序制备细胞膜和核蛋白。溶解后的蛋白质进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳。此后，分离的蛋白质被转移到聚偏二氟乙烯膜上。用GAPDH抗体和PRDX2抗体分别对膜进行探测。

1.2.5　RNA抽取与实时荧光定量PCR　用TRIzol试剂从不同处理的SNU-1细胞中分离出的总RNA用于互补DNA（cDNA）的合成。逆转录PCR按照标准程序进行的。使用RealHelixTM qPCR试剂盒和Applied Biosystem 7500快速实时PCR系统进行qPCR。根据比较阈值周期方法，以GAPDH为内部对照，确定相对RNA表达水平。

1.2.6　荧光素酶报告实验　荧光素酶报告质粒包含PRDX2的野生型或突变型3'UTR。使用荧光素酶报告基因系统分析荧光素酶活性前，将miRN-650模拟物或阴性对照和荧光素酶报告基因共转染至SNU-1细胞（1×10^4）48 h。将含PRDX2启动子的质粒和对照转染至SNU-1细胞（1×10^4）48 h。使用荧光素酶底物检测荧光素酶活性。

1.2.7　高通量测序　*HP*感染后的SNU-1细胞，使用TRIzol从细胞中提取总RNA，并通过Qiagen RNeasy柱纯化和富集用于基因表达谱分析。分别通过NanoDrop分光光度计和Agilent 2100 Bioanalyzer评估提取的RNA的数量和完整性。根据标准Illumina TruSeq RNA库制备试剂盒规程，使用2 μg总RNA作为起始原料，生成用于测序的RNA库。用高灵敏度DNA试剂盒定性地控制生成的文库，并使用SYBR Green qPCR方案和与衔接子序列互补的特异性引物，通过实时分析进行定量分析。基于qPCR定量，将文库标准化为1 nmol/L，并使用0.1 N NaOH变性。变性模板的簇扩增是根据制造商的规程进行的。在Genome Analyzer IIx上以配对末端模式进行测序，从每侧51 bp进行测序。对于Illumina平台生

成的每个样本，都执行了质量控制的预处理步骤，以评估序列数据的质量并丢弃低质量的读数。

1.2.8 细菌的培养与感染 *HP* 43504株生长在Wilkins-Chalgren琼脂平板上培养，辅以羊血（10%v/v）和抗生素（10 μg/mL的万古霉素。2 μg/mL的头孢磺胺，5 μg/mL的三甲氧苄啶和1 μg/mL的安福霉素B），并置于5% O_2、10% CO_2和85% N_2的气氛中生长48 h[6]。约氏乳酸杆菌、鼠乳杆菌、副血链球菌在Mueller-Hinton琼脂平板上培养，辅以去纤化羊血和红细胞提取物，并置于5% O_2、10% CO_2和85% N_2的气氛中生长48 h[7-8]。将在含有10% FBS的布鲁氏肉汤中收获的*HP*、约氏乳酸杆菌、鼠乳杆菌、副血链球菌以100的感染倍数（MOI）注入SNU-1细胞中以感染细胞[9]。

1.3 统计学处理

所有数据统计分析均使用SPSS软件（版本22.0）进行，所有条形图中的数据以均数±标准差（$\bar{x} \pm s$），数据符合正态分布的计量资料，两组间采用t检验，组间多重比较采用q检验，P<0.05为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 *HP*通过ROS促进胃癌细胞增殖

约氏乳酸杆菌、鼠乳杆菌、副血链球菌是胃内正常定植菌[10-12]，它们均仅能略微上升SNU-1细胞的ROS水平（均P>0.05）；*HP*感染后，SNU-1细胞的ROS水平明显上升（P<0.05）（图1A）。*HP*感染后，SNU-1细胞的增殖能力明显增强（P<0.05），但是感染的同时使用氧化应激抑制剂乙酰半胱氨酸处理，SNU-1细胞的增殖水平与ROS水平均无明显变化（均P>0.05）（图1B-C）。

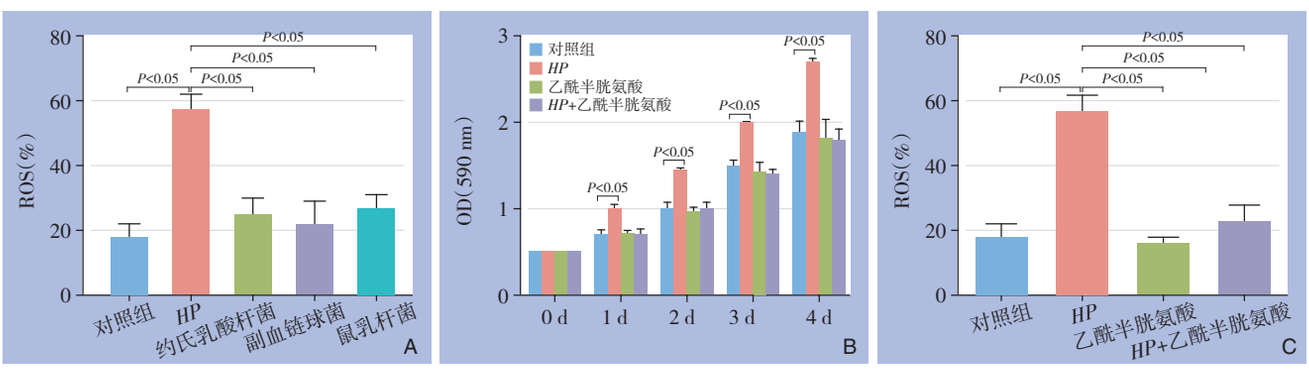

图1 *HP*通过ROS促进胃癌细胞增殖 A：*HP*与其他胃内正常定植菌感染后SNU-1细胞的增殖水平；B-C：*HP*感染或不感染，以及*HP*感染同时加或不加乙酰半胱氨酸处理的SNU-1细胞的增殖情况与相应的ROS水平

Figure 1 *HP* promotes proliferation of gastric cancer cells via ROS A: Proliferation of the SNU-1 cells after infection with *HP* and other normal bacteria colonized in the stomach; B-C: Proliferation abilities and ROS levels in SNU-1 cells with and without *HP* infection, or with *HP* infection and simultaneous or without acetylcysteine treatment

2.2 *HP*通过PRDX2调控ROS产生

*HP*感染后，通过高通量测序发现SNU-1细胞的多个基因被调控；同时，氧化应激抑制剂acetylcysteine处理后，SNU-1细胞中有多个基因的表达水平又回到未感染状态（图2A）；使用siRNA敲低上述基因后，发现敲低PRDX2时*HP*感染后ROS水平上升（P<0.05）（图2B）；过表达PRDX2后，SNU-1细胞的ROS水平下降（P<0.05）（图2C）。敲低PRDX2后，SNU-1细胞的增殖能力增强（P<0.05）；过表达PRDX2后，SNU-1细胞的增殖水平降低（P<0.05）（图2D）。同时，Western blot验证，*HP*感染后SNU-1细胞中PRDX2的表达水平下降（图2E）。

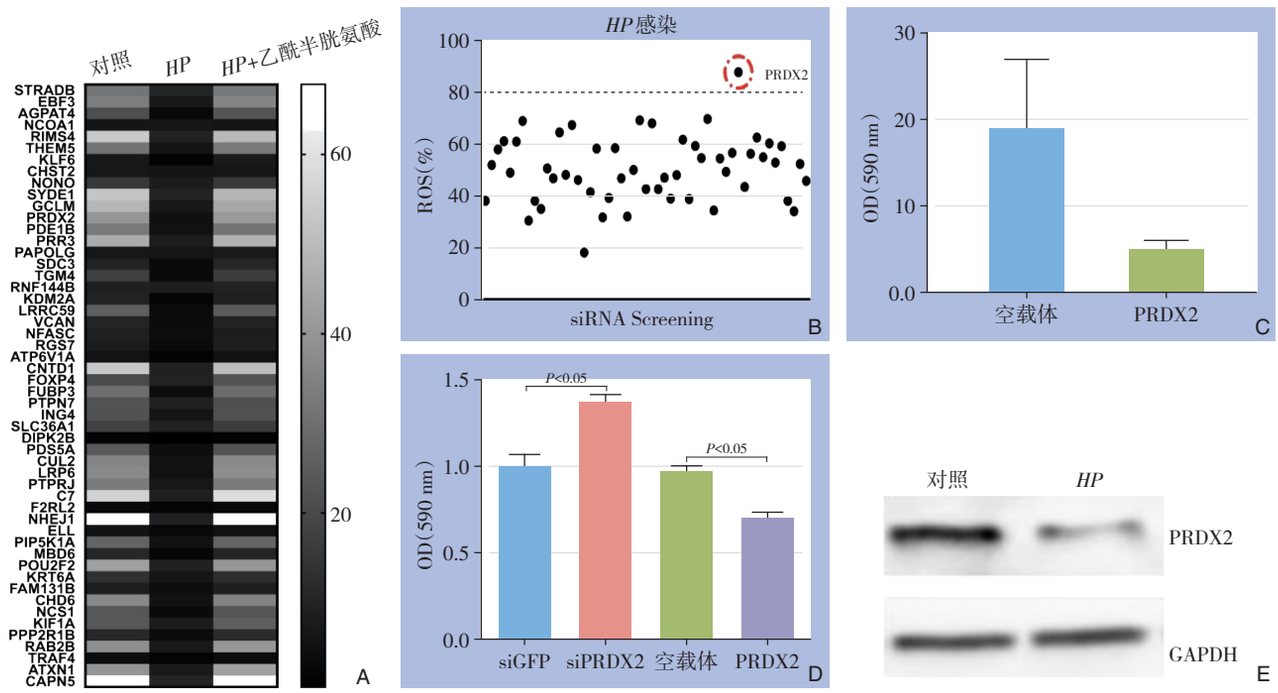

图 2　*HP* 通过 PRDX2 调控 ROS 产生　A：高通量测序检测 *HP* 感染或不感染，以及 *HP* 感染同时加乙酰半胱氨酸处理的 SNU-1 细胞中基因的转录水平；B：*HP* 感染后，siRNA 敲低筛选影响 SNU-1 细胞 ROS 水平的基因；C：*HP* 感染的 SNU-1 细胞过表达 PRDX2 后的 ROS 水平；D：*HP* 感染的 SNU-1 细胞过表达或敲低 PRDX2 后的增殖情况；E：*HP* 感染的 SNU-1 细胞中 PRDX2 的蛋白表达水平

Figure 2　*HP* regulates ROS production via PRDX2　A: Transcript levels of genes in SNU-1 cells with and without *HP* infection, or with *HP* infection and simultaneous or without acetylcysteine treatment detected by high-throughput sequencing; B: SiRNA knockdown screening for genes affecting the ROS production in SNU-1 cells with *HP* infection; C: ROS levels in SNU-1 cells with *HP* infection after overexpression of PRDX2; D: Proliferation abilities in SNU-1 cells with *HP* infection after overexpression or knockdown of PRDX2; E: Protein expression levels of PRDX2 in SNU-1 cells after *HP* infection

2.3　miR-650 靶向 PRDX2 调控 ROS 产生

HP 感染后，SNU-1 细胞中 PRDX2 的启动子活性没有变化（*P*>0.05）（图 3A），但 PRDX2 的 mRNA 水平下降（*P*<0.05）（图 3B）。miRDB 在线分析预测 PRDX2 的潜在 miRNA，发现 *HP* 感染的 SNU-1 细胞中 miR-650 的表达水平上升（*P*<0.05）（图 3C）。过表达 miR-650 后，SNU-1 细胞中 PRDX2 的表达水平下降（*P*<0.05）；敲低 miR-650 后，SNU-1 细胞中 PRDX2 的表达水平上升（*P*<0.05）（图 3D–F）。此外，miR-650 靶向 PRDX2 mRNA 的 3' 端非编码区（图 3G）。过表达 miR-650 后，SNU-1 细胞的 ROS 水平上升（*P*<0.05）；敲低 miR-650 后，SNU-1 细胞的 ROS 水平下降（*P*<0.05）（图 3H）。过表达 miR-650 后，SNU-1 细胞的增殖能力增强（*P*<0.05）；敲低 miR-650 后，SNU-1 细胞的增殖能力降低（*P*<0.05）（图 3I）。*HP* 感染的同时敲低 miR-650，SNU-1 细胞的增殖能力无明显变化（*P*>0.05）；*HP* 感染的同时过表达 PRDX2，SNU-1 细胞的增殖能力无明显变化（*P*>0.05）（图 3J）。

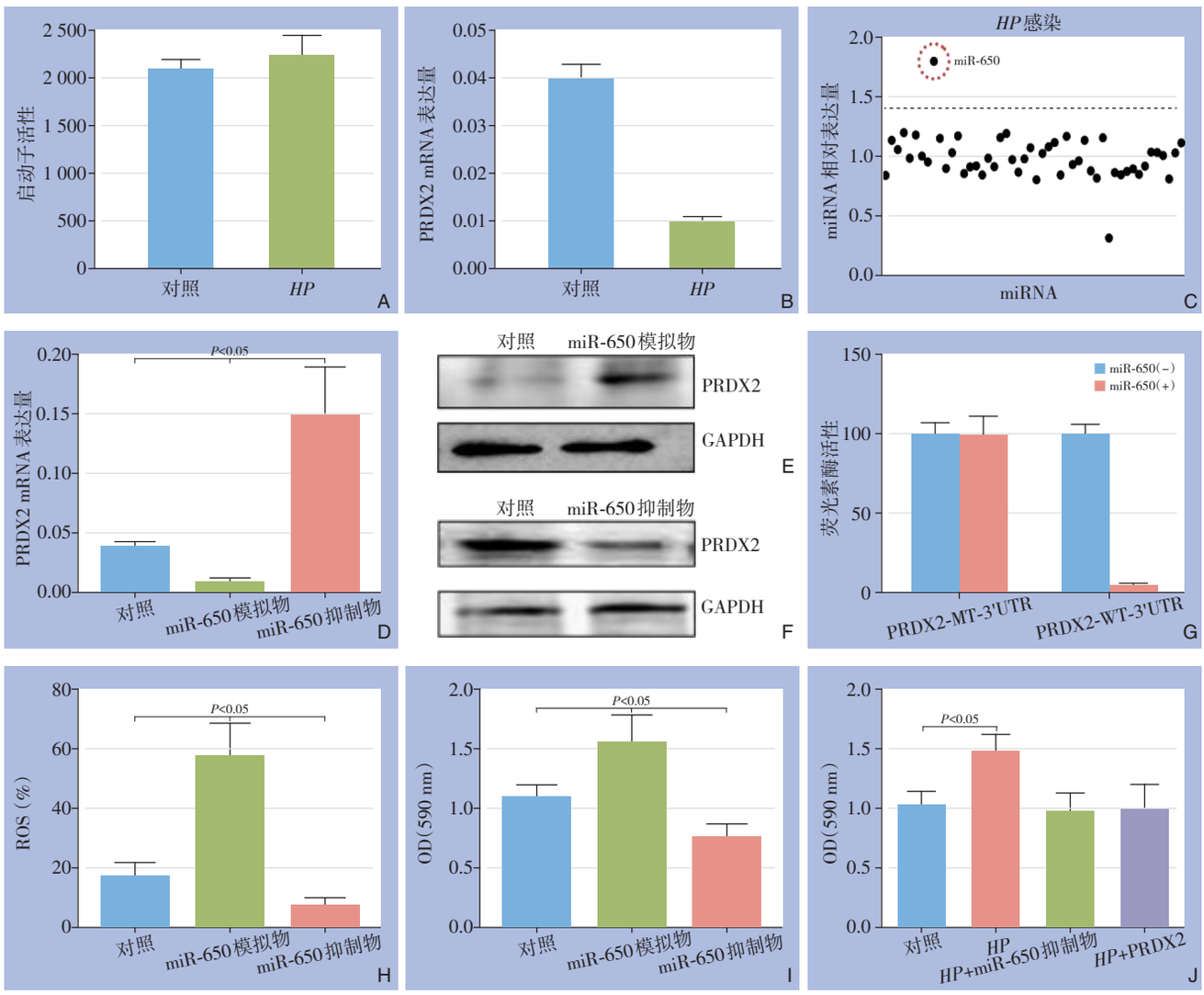

图3 miR-650靶向PRDX2调控ROS产生 A：*HP*感染的SNU-1细胞中PRDX2的启动子活性水平；B：*HP*感染的SNU-1细胞中PRDX2的mRNA水平；C：miRNA过表达筛选影响*HP*感染的SNU-1细胞ROS水平的miRNA；D：过表达或敲低miR-650后，SNU-1细胞中PRDX2的mRNA水平；E：敲低miR-650后，SNU-1细胞中PRDX2的蛋白水平；F：过表达miR-650后，SNU-1细胞中PRDX2的蛋白水平；G：荧光素酶报告实验检测miR-650靶向PRDX2 mRNA的3'端非编码区；H：过表达或敲低miR-650后，SNU-1细胞的ROS水平；I：过表达或敲低miR-650后，SNU-1细胞的增殖情况；J：*HP*感染或不感染，以及*HP*感染同时敲低miR-650或过表达PRDX2后，SNU-1细胞的增殖情况

Figure 3 MiR-650 targets PRDX2 to regulate ROS production A: Levels of promoter activity of PRDX2 in SNU-1 cells after *HP* infection; B: mRNA levels of PRDX2 in SNU-1 cells after *HP* infection; C: MiRNA overexpression screening the miRNAs affecting the ROS production in SNU-1 cells with *HP* infection; D: PRDX2 mRNA levels in SNU-1 cells after overexpression or knockdown of miR-650; E: PRDX2 Protein levels in SNU-1 cells after knockdown of miR-650; F: PRDX2 protein levels in SNU-1 cells after overexpression of miR-650; G: MiR-650 targeting at the 3' non-coding region of PRDX2 mRNA evidenced by luciferase reporter assay; H: ROS levels in SNU-1 cells after overexpression or knockdown of miR-650; I: Proliferation abilities in SNU-1 cells after overexpression or knockdown of miR-650; J: Proliferation abilities in SNU-1 cells with and without *HP* infection, or with *HP* infection and simultaneous knockdown of miR-650 or overexpression of PRDX2

3 讨 论

胃癌是全球第四大最常见的癌症和第三大癌症相关死亡原因[13-15]。*HP*感染是胃癌发生的最重要的危险因素之一[16-18]。*HP*感染影响约44亿人，它是全球最常见的感染之一[19]。一旦感染了*HP*，胃上皮是宿主和细菌的主要界面[20]。HP感染在胃黏膜的定植引发慢性炎症反应，导致胃炎的发展，可进展为一个多步骤的胃肿瘤发生级联，称为Correa级联[21]。这种慢性促炎环境与ROS水平的增

加、氧化性 DNA 损伤以及胃癌发生中致癌信号通路的激活有关[22-24]。在本研究中，发现 *HP* 感染后，SNU-1 细胞的 ROS 水平上升，细胞的增殖能力增强，但是感染的同时使用氧化应激抑制剂 acetylcysteine 处理，SNU-1 细胞的增殖能力无显著变化。因此，*HP* 引起的氧化应激水平的增加可以促进胃癌细胞增殖，进一步加剧肿瘤发展。

PRDX2 是一种典型的抗氧化酶，属于过氧化物还蛋白家族，在清除 H_2O_2 和 ROS 水平方面发挥重要作用，从而保护细胞免受氧化应激的影响[25-27]。在正常生理条件下，ROS 水平受到严格控制，以维持必要的生物学功能和正常的细胞内稳态。氧化还原生理平衡的中断导致 ROS 的过度积累和 DNA 损伤的积累[28]。PRDX2 蛋白在哺乳动物细胞中表达丰富，在维持氧化还原平衡和延长细胞寿命方面起着至关重要的作用[29]。还原的 PRDX 蛋白被 ROS 和 H_2O_2 氧化形成氧化的 PRDX，这是利用半胱氨酸残基的硫醇亚基消除 ROS 水平的关键步骤[30]。与其他 PRDX 家族成员相比，PRDX2 是 PRDX 中最有效的 ROS 和 H_2O_2 清除蛋白之一，可保护细胞免受氧化应激[31]。敲低 PRDX2 时 *HP* 感染后 ROS 水平上升，过表达 PRDX2 后，SNU-1 细胞的 ROS 水平下降；敲低 PRDX2 后，SNU-1 细胞的增殖能力升高，过表达 PRDX2 后，SNU-1 细胞的增殖水平下降。因此，PRDX2 可作为肿瘤发生的抑制因子。

HP 感染后，SNU-1 细胞中 PRDX2 的启动子活性没有变化，但是，PRDX2 的 mRNA 水平下降。因此，*HP* 感染对 PRDX2 的表达调控是处于 mRNA 水平。miRNA 是一种小的（19~24 nt）内源性非编码 RNA，通过互补碱基配对与靶 mRNA 的 3 '非编码区（3'UTR）结合，负调控基因表达。在本研究中，过表达 miR-650 后，SNU-1 细胞中 PRDX2 的表达水平下降，敲低 miR-650 后，SNU-1 细胞中 PRDX2 的表达水平上升。此外，miR-650 靶向 PRDX2 mRNA 的 3'端非编码区。过表达 miR-650 后，SNU-1 细胞的 ROS 水平上升，敲低 miR-650 后，SNU-1 细胞的 ROS 平下降；过表达 miR-650 后，SNU-1 细胞的增殖能力上升，敲低 miR-650 后，SNU-1 细胞的增殖能力下降）。此外，*HP* 感染的同时敲低 miR-650，SNU-1 细胞的增殖能力无显著变化，*HP* 感染的同时过表达 PRDX2，SNU-1 细胞的增殖能力无显著变化。因此，miR-650/PRDX2 轴在 *HP* 感染引起的胃癌进展中可能起到重要作用。

综上所述，*HP* 感染胃癌细胞后，胃癌细胞中 miR-650 的表达水平上升，靶向 PRDX2 mRNA 的 3' 端非编码区的 miR-650 增多，因此 PRDX2 的 mRNA 水平和蛋白水平下降，随后胃癌细胞的氧化应激水平上升，导致胃癌细胞的增殖能力增强。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明：王永琦参与研究，提出研究选题，设计研究方案及目标，起草及修订论文；何冬雷负责技术、材料支持，指导，终审论文；梁月祥负责调研整理文献，实施研究过程，采集数据；刘丽杰负责整理数据，统计分析。

参考文献

[1] Shafaie S, Kaboosi H, Ghadikolaii FP. Prevalence of non Helicobacter pylori gastric Helicobacters in Iranian dyspeptic patients[J]. BMC Gastroenterol, 2020, 20(1): 190. doi: 10.1186/s12876-020-01331-x.

[2] Pajić Matić I, Matić I, Maslovara S, et al. Helicobacter pylori gastric infection in patients with laryngeal cancer and chronic laryngitis[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2021, 278(1): 135-139. doi: 10.1007/s00405-020-06172-8.

[3] Baj J, Korona-Głowniak I, Forma A, et al. Mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition and tumor microenvironment in Helicobacter pylori-induced gastric cancer[J]. Cells, 2020, 9(4): 1055. doi: 10.3390/cells9041055.

[4] Choi IJ, Kim CG, Lee JY, et al. Family History of Gastric Cancer and Helicobacter pylori Treatment[J]. N Engl J Med, 2020, 382(5): 427-436. doi: 10.1056/NEJMoa1909666.

[5] Ngo HK, Lee HG, Piao JY, et al. Helicobacter pylori induces Snail expression through ROS-mediated activation of Erk and inactivation of GSK-3β in human gastric cancer cells[J]. Mol Carcinog, 2016, 55(12):2236-2246. doi: 10.1002/mc.22464.

[6] Courtois S, Bénéjat L, Izotte J, et al. Metformin can inhibit Helicobacter pylori growth[J]. Future Microbiol, 2018, 13: 1575-1583. doi: 10.2217/fmb-2018-0184.

[7] Courtois S, Haykal M, Bodineau C, et al. Autophagy induced by Helicobacter pylori infection is necessary for gastric cancer stem cell emergence[J]. Gastric Cancer, 2021, 24(1): 133-144. doi: 10.1007/s10120-020-01118-9.

[8] De Francesco V, Zullo A, Manta R, et al. Culture-based antibiotic susceptibility testing for Helicobacter pylori infection: a systematic review[J]. Ann Gastroenterol, 2022, 35(2):127-134. doi: 10.20524/aog.2022.0689.

[9] Zullo A, De Francesco V, Gatta L. Helicobacter pylori culture: from bench to bedside. [J]. Ann Gastroenterol, 2022, 35(3):243-248. doi: 10.20524/aog.2022.0703.

[10] Bergonzelli GE, Granato D, Pridmore RD, et al. GroEL of Lactobacillus johnsonii La1 (NCC 533) is cell surface associated:

potential role in interactions with the host and the gastric pathogen Helicobacter pylori[J]. Infect Immun, 2006, 74(1): 425-434. doi: 10.1128/IAI.74.1.425-434.2006.

[11] Gardiner GE, Casey PG, Casey G, et al. Relative ability of orally administered Lactobacillus murinus to predominate and persist in the porcine gastrointestinal tract[J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(4):1895-1906. doi: 10.1128/AEM.70.4.1895-1906.2004.

[12] Ianiro G, Molina-Infante J, Gasbarrini A. Gastric microbiota[J]. Helicobacter, 2015, 20(4):68-71. doi: 10.1111/hel.12260.

[13] 赵馨旭, 黄林生, 刘佳玲, 等. Bcl-2转录抑制因子1在胃癌中的表达及其生物学功能[J]. 中国普通外科杂志, 2022, 31(4):481-489. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2022.04.010.
Zhao XX, Huang LS, Liu JL, et al. Expression of Bcl-2 transcription inhibitor 1 in gastric cancer and its biological function[J]. China Journal of General Surgery, 2022, 31(4): 481-489. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2022.04.010.

[14] 王康韬, 田梦翔, 葛鹤铭, 等. 中国294例胃肝样腺癌临床数据荟萃分析[J]. 中国普通外科杂志, 2022, 31(2):242-251. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2022.02.013.
Wang KT, Tian MX, GE HM, et al. Meta-analysis of 294 cases of gastrohepatoid adenocarcinoma in China[J]. China Journal of General Surgery, 2022, 31(2): 242-251. doi: 10.7659/j. issn. 1005-6947.2022.02.013.

[15] Morais S, Peleteiro B, Araújo N, et al. Identifying the profile of Helicobacter pylori-negative gastric cancers: a case-only analysis within the stomach cancer pooling (StoP) project[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2022, 31(1): 200-209. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-21-0402.

[16] Ma J, Yu M, Shao QQ, et al. Both family-based Helicobacter pylori infection control and management strategy and screen-and-treat strategy are cost-effective for gastric cancer prevention[J]. Helicobacter, 2022, 27(4):e12911. doi: 10.1111/hel.12911.

[17] Kawai S, Wang CC, Lin YS, et al. Lifetime incidence risk for gastric cancer in the Helicobacter pylori-infected and uninfected population in Japan: a Monte Carlo simulation study[J]. Int J Cancer, 2022, 150(1):18-27. doi: 10.1002/ijc.33773.

[18] Guo RT, Cui XX, Li X, et al. CircMAN1A2 is upregulated by Helicobacter pylori and promotes development of gastric cancer[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(4): 409. doi: 10.1038/s41419-022-04811-y.

[19] Chiang TH, Chang WJ, Chen SL, et al. Mass eradication of Helicobacter pylori to reduce gastric cancer incidence and mortality: a long-term cohort study on Matsu Islands[J]. Gut, 2021, 70(2):243-250. doi: 10.1136/gutjnl-2020-322200.

[20] Bakhti SZ, Latifi-Navid S, Safaralizadeh R. Helicobacter pylori-related risk predictors of gastric cancer: The latest models, challenges, and future prospects[J]. Cancer Med, 2020, 9(13):4808-4822. doi: 10.1002/cam4.3068.

[21] Toyoshima O, Nishizawa T, Koike K. Endoscopic Kyoto classification of Helicobacter pylori infection and gastric cancer risk diagnosis[J]. World J Gastroenterol, 2020, 26(5):466-477. doi: 10.3748/wjg.v26.i5.466.

[22] Take S, Mizuno M, Ishiki K, et al. Risk of gastric cancer in the second decade of follow-up after Helicobacter pylori eradication[J]. J Gastroenterol, 2020, 55(3): 281-288. doi: 10.1007/s00535-019-01639-w.

[23] Takahashi-Kanemitsu A, Knight CT, Hatakeyama M. Molecular anatomy and pathogenic actions of Helicobacter pylori CagA that underpin gastric carcinogenesis[J]. Cell Mol Immunol, 2020, 17(1): 50-63. doi: 10.1038/s41423-019-0339-5.

[24] Kaji E, Yoden A, Otani M, et al. Helicobacter pylori test-and-treat strategy for second-year junior high school students aimed at the prevention of gastric cancer in Takatsuki City[J]. Helicobacter, 2020, 25(4):e12696. doi: 10.1111/hel.12696.

[25] Yu Y, Chen DD, Wu T, et al. Dihydroartemisinin enhances the anti-tumor activity of oxaliplatin in colorectal cancer cells by altering PRDX2-reactive oxygen species-mediated multiple signaling pathways[J]. Phytomedicine, 2022, 98: 153932. doi: 10.1016/j.phymed.2022.153932.

[26] Li J, Wang C, Wang WJ, et al. PRDX2 protects against atherosclerosis by regulating the phenotype and function of the vascular smooth muscle cell[J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 624796. doi: 10.3389/fcvm.2021.624796.

[27] Feng AL, Han X, Meng X, et al. PRDX2 plays an oncogenic role in esophageal squamous cell carcinoma via Wnt/β-catenin and AKT pathways[J]. Clin Transl Oncol, 2020, 22(10): 1838-1848. doi: 10.1007/s12094-020-02323-9.

[28] Chen X, Zhao Y, Luo W, et al. Celastrol induces ROS-mediated apoptosis via directly targeting peroxiredoxin-2 in gastric cancer cells[J]. Theranostics, 2020, 10(22): 10290-10308. doi: 10.7150/thno.46728.

[29] Assumpção PP, Barra WF, Ishak G, et al. The diffuse-type gastric cancer epidemiology enigma[J]. BMC Gastroenterol, 2020, 20(1): 223. doi: 10.1186/s12876-020-01354-4.

[30] Wang JZ, Sun YC, Zhang X, et al. Oxidative stress activates NORAD expression by H3K27ac and promotes oxaliplatin resistance in gastric cancer by enhancing autophagy flux via targeting the miR-433-3p[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(1): 90. doi: 10.1038/s41419-020-03368-y.

[31] Zhang SR, He JP, Tang MC, et al. Prdx2 upregulation promotes the growth and survival of gastric cancer cells[J]. Pathol Oncol Res, 2020, 26(3):1869-1877. doi: 10.1007/s12253-019-00783-1.

（本文编辑　宋涛）

本文引用格式：王永琦, 何冬雷, 梁月祥, 等. miR-650靶向PRDX2调控幽门螺旋杆菌对胃癌细胞氧化应激的机制研究[J]. 中国普通外科杂志, 2023, 32(2): 231-238. doi：10.7659/j. issn. 1005-6947.2023.02.008

***Cite this article as*:** Wang YQ, He DL, Liang YX, et al. Mechanism of miR-650 targeting PRDX2 to regulate oxidative stress in gastric cancer cells with *Helicobacter pylori* infection[J]. Chin J Gen Surg, 2023, 32(2):231-238. doi：10.7659/j.issn.1005-6947.2023.02.008