

# 幽门螺杆菌诱导线粒体未折叠蛋白反应 对胃癌细胞增殖的影响

陈吉丽<sup>1,2</sup>,李雷蕾<sup>1,2,3</sup>,陈源佳<sup>1,2</sup>,赵艳<sup>1,2</sup>,谢渊<sup>1,2</sup>,周建奖<sup>1,2</sup>  
(贵州医科大学<sup>1</sup>基础医学院、<sup>2</sup>分子生物学重点实验室,贵阳 550000;  
<sup>3</sup>贵州医科大学附属医院肿瘤科,贵阳 550000)

**摘要** 目的 从线粒体未折叠蛋白反应(UPR<sup>MT</sup>)角度研究幽门螺杆菌(Hp)诱导胃癌细胞增殖的机制。方法 用Hp感染C57BL6/J小鼠、人胃癌细胞AGS和SGC-7901,提取细胞线粒体蛋白,Western blot检测UPR<sup>MT</sup>的相关指标:激活转录因子5(ATF5)、热休克蛋白60(mtHSP60)、热休克蛋白70(mtHSP70)及线粒体蛋白酶(ClpP)的表达。用免疫组织化学定位4个蛋白质在小鼠胃组织中的表达部位。用Hp感染AGS和SGC-7901细胞,RTCA和CCK-8检测细胞增殖。最后,利用UALCAN数据库中TCGA样本分析4个指标在胃癌组织中的表达。结果 Hp感染能显著促进C57BL6/J小鼠胃上皮细胞、人胃癌细胞AGS和SGC-7901线粒体中ATF5、mtHSP60、mtHSP70、ClpP的表达,促进胃癌细胞增殖。与TCGA样本中人正常胃组织比较,ATF5、mtHSP60、mtHSP70、ClpP在胃癌组织中高表达,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$ )。结论 Hp感染能够诱导胃上皮细胞及胃癌细胞发生UPR<sup>MT</sup>,促进细胞增殖。

**关键词** 幽门螺杆菌;胃癌细胞;线粒体未折叠蛋白反应;细胞增殖;线粒体蛋白;激活转录因子5

**中图分类号** R 378

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2025)02-0300-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.02.016

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)在胃组织中可以存活数十年,可利用各种毒力因子破坏胃黏膜,影响胃的生理和病理功能,导致胃相关疾病和胃癌的发生<sup>[1]</sup>。我国是Hp感染的高发国家,感染的患病率为44.2%。其中,贵州地区Hp感染患病率高达60.5%<sup>[2]</sup>。线粒体未折叠蛋白反应(mitochondrial unfolded protein response, UPR<sup>MT</sup>)是一种线粒体应激反应,在多种内外因素的刺激下,启动核DNA编码的线粒体伴侣蛋白和蛋白酶等基因群的转录,翻译后进入线粒体,参与线粒体蛋白质的正确折叠,维持线粒体蛋白稳态<sup>[3]</sup>。当UPR<sup>MT</sup>被激活时,线粒体伴侣蛋白能够帮助错误折叠的蛋白质恢复正常构象及新合成的蛋白质正确折叠,而蛋白酶降解未折叠或错误折叠蛋白,如定位于线粒体的伴侣蛋白热休克蛋白60(heat shock protein 60, mtHSP60)、热休克蛋白70(heat shock protein 70, mtHSP70)以及线粒体Lon蛋白和线粒体蛋白酶(caseinolytic protease

P, ClpP)<sup>[4-5]</sup>。这些反应可以由哺乳动物细胞中定位于细胞核和线粒体的激活转录因子5(activating transcription factor 5, ATF5)调控。该研究用Hp灌胃C57BL6/J小鼠及感染胃癌细胞,提取小鼠胃组织及细胞线粒体蛋白,检测ATF5、mtHSP60、mtHSP70和ClpP的表达,探讨Hp感染后细胞增殖的可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 细胞株与菌株** 人胃癌细胞系AGS及SGC-7901细胞分别购于美国ATCC细胞库及中国科学院上海细胞库。Hp GZ7由本课题组分离自临床胃癌组织,经测序证实为典型东亚株(GenBank登录号:KR154737.1),西方株Hp 26695购于美国ATCC细菌库(GenBank登录号:KR154758.1)。

**1.1.2 Hp GZ7感染C57BL6/J小鼠模型构建** SPF级雄性C57BL6/J小鼠10只,周龄6~8周,体质量(20±5)g,购于江苏集萃药康生物科技有限公司[实验动物生产许可证号:SCXK(苏)2023-009,实验动物使用许可证号:SYXK(苏)2023-0036]。C57BL6/J小鼠禁食4h后,实验组小鼠用Hp GZ7和Hp 26695以浓度为 $1 \times 10^9$  CFU/ml(400 μl)进

2024-09-20 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:32160166,82260405);贵州省科技计划项目(编号:黔科合支撑[2020]4Y026号)

作者简介:陈吉丽,女,硕士研究生;

周建奖,女,教授,博士生导师,通信作者, E-mail: 851827202@qq.com

行灌胃,对照组小鼠用等量 0.9% 氯化钠溶液灌胃,灌胃后小鼠禁食 4 h。每 2 天灌胃 1 次,共 5 次,以第 1 次灌胃后 4 周对小鼠进行颈椎脱臼处死,处死前小鼠禁食 12 h。本研究已获得贵州医科大学实验动物伦理委员会批准,批准号:2100909。

**1.1.3 主要试剂** DMEM 高糖培养基、胎牛血清 (foetal bovine serum, FBS) 及胰蛋白酶 (货号: C1195500BT、N2765792P、C2520056, 美国 Gibco 公司); 哥伦比亚血琼脂培养基和 Hp 培养选择剂 (货号: CM0331B、3802425, 英国 Oxoid 公司); 无菌脱纤维羊血 (货号: MP20026, 南京便诊生物科技有限公司); 0.45  $\mu\text{m}$  PVDF 膜和超敏 ECL 化学发光试剂盒 (货号: 0000237993、P90719, 美国 Millipore 公司); mtHSP60、mtHSP70、ClpP、VDAC1 鼠/兔单/多克隆抗体、羊抗兔二抗、羊抗鼠二抗 (货号: 66041-1-Ig、14887-1-AP、15698-1-AP、55259-1-AP、SA00001-2、SA00001-2, 美国 Proteintech 公司), ATF5 抗体 (货号: EPR18286, 美国 Abcam 公司); 牛血清白蛋白 BSA、膜再生液、RIPA 裂解液、BCA 试剂盒及青-链霉素 (货号: A8020、SW3020、R0010、PC0020、P1400, 北京索莱宝科技有限公司); 蛋白酶抑制剂 (货号: P1010, 上海碧云天生物技术股份有限公司); 线粒体提取试剂 (货号: C0010, 北京普利莱基因技术有限公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 Hp 感染胃癌细胞 AGS 和 SGC-7901** AGS 和 SGC-7901 细胞在含 10% FBS、100 U/mL 青霉素和 100 U/mL 链霉素的 DMEM 高糖培养液中, 于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养。于感染前将细胞培养液换成无双抗培养液, 实验组中 Hp GZ7 菌株以感染复数 (multiplicity of infection, MOI) 为 50 感染细胞, 对照组中加入等体积的磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffered saline, PBS), 感染 6 h 后更换新培养液, 继续培养细胞 24 h 和 72 h。

**1.2.2 小鼠胃组织及人胃癌细胞线粒体蛋白提取** 用 0.25% 乙二胺四乙酸胰酶消化细胞, 收集细胞置于预冷的 1.5 ml 离心管中, 4  $^{\circ}\text{C}$ 、2 720 r/min 离心 5 min, 弃上清液; 取 100 mg 新鲜小鼠胃组织剪成大小为 0.5  $\text{cm}^2$  组织块。将细胞或者组织块用预冷 1  $\times$  PBS 重悬, 4  $^{\circ}\text{C}$ 、2 720 r/min 离心 5 min, 沉淀加入 1.5 ml Mito Solution, 冰上静置 10 min 后匀浆, 4  $^{\circ}\text{C}$ 、2 720 r/min 离心 5 min, 收集上清液于 4  $^{\circ}\text{C}$ 、9 630 r/min 离心 10 min, 弃上清液, 沉淀中加入 200  $\mu\text{l}$  Mito Solution 清洗线粒体, 4  $^{\circ}\text{C}$ 、10 550 r/min 离

心 10 min, 在线粒体沉淀中加入线粒体裂解液备用。

**1.2.3 Western blot 实验** 细胞及线粒体裂解液用 BCA 试剂盒定量蛋白浓度后, 取等量的蛋白质样品用 10% SDS-PAGE 胶电泳分离, 转移到 PVDF 膜上, 用 5% 脱脂牛奶在室温下封闭 2 h 后, 分别用 ATF5 抗体 (1 : 2 000)、ClpP 抗体 (1 : 4 000)、mtHSP60 抗体 (1 : 6 000) 和 mtHSP70 抗体 (1 : 5 000) 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜, 室温下与 HRP 偶联的羊抗兔二抗 (1 : 10 000) 或羊抗鼠二抗 (1 : 10 000) 孵育 2 h, 用 ECL 发光液检测目的蛋白。

**1.2.4 实时无标记细胞活性检测 (real time cellular analysis, RTCA)** 检测孔中加入 50  $\mu\text{l}$  的无双抗培养液测基线后, 用胰酶消化 AGS 及 SGC-7901 细胞, 离心收集细胞, 细胞计数后每孔加入 15 000 个细胞 (培养液不超过 180  $\mu\text{l}$ ), 静置 15 min, 放入 RTCA 检测仪中并将检测仪放入 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱, 6 h 细胞贴壁后, 以 MOI 为 5、10 及 30 的密度加入 Hp 作为实验组, 对照组中加入等体积的 PBS, 监测细胞培养至相应时间。

**1.2.5 免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC) 染色** 小鼠胃组织取出后立即用 10% 中性甲醛固定、石蜡包埋及切片。组织切片依次进行脱蜡、水化及高压锅加热修复抗原, 用 10% 的山羊血清对组织进行封闭, 分别加入 ATF5 抗体 (1 : 500)、ClpP 抗体 (1 : 200)、mtHSP60 抗体 (1 : 500) 和 mtHSP70 抗体 (1 : 1 000) 孵育过夜, 根据一抗种属加入对应二抗, 室温孵育 2 h, 滴入 DAB 显色液, 用苏木精复染后脱水透明, 封片后置于显微镜下观察拍照。用 Image J 软件测量累积光密度值 (integrated option density, IOD) 及阳性区面积 (area), 计算平均光密度 (mean density, MOD),  $\text{MOD} = \text{IOD}/\text{area}$ 。

**1.3 统计学处理** 所有数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 实验重复 3 次。用 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计及绘图, 数据符合正态分布的多组间比较用单因素方差分析, 非正态分布或方差不齐数据采用非参数检验分析。  $P < 0.05$  示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 Hp 感染对 C57BL6/J 小鼠胃组织发生 UPR<sup>MT</sup> 的影响** 为了研究 Hp 感染对小鼠胃组织中 UPR<sup>MT</sup> 的影响, 用东方株 Hp GZ7 和西方株 Hp 26695 感染 C57BL6/J 小鼠 1 个月, 脱颈处死后分离鼠胃, 提取胃组织细胞线粒体蛋白, 用 Western blot 检测 mtHSP60、mtHSP70、ClpP、ATF5 的表达。结果

显示:与未感染 Hp 的对照组比较, Hp GZ7 和 Hp 26695 感染均能促进 mtHSP60、mtHSP70、ClpP、ATF5 的表达, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 1。提示 Hp 感染诱导小鼠胃组织发生 UPR<sup>MT</sup>, 但是 Hp GZ7 与 Hp 26695 菌株之间差异无统计学意义, 本实验选择 Hp GZ7 用于后续研究。

**2.2 IHC 定位 4 种 UPR<sup>MT</sup> 蛋白质在小鼠胃组织中的表达部位** 小鼠胃壁从外向内分为外膜层、肌层、

黏膜下层和黏膜层, 主要由主细胞、壁细胞、黏液细胞及内分泌细胞等腺上皮细胞组成。为了进一步研究 Hp 感染诱导 C57BL6/J 小鼠胃组织哪个部位发生 UPR<sup>MT</sup>, 本研究用东亚株 Hp GZ7 灌胃感染 C57BL6/J 小鼠 1 个月, 分离胃组织, 用 IHC 染色定位检测胃组织中 ATF5、mtHSP60、mtHSP70、ClpP 的表达。结果如图 2 所示, ATF5、mtHSP60、mtHSP70、ClpP 的阳性表达主要在小鼠胃黏膜层的胃上皮细

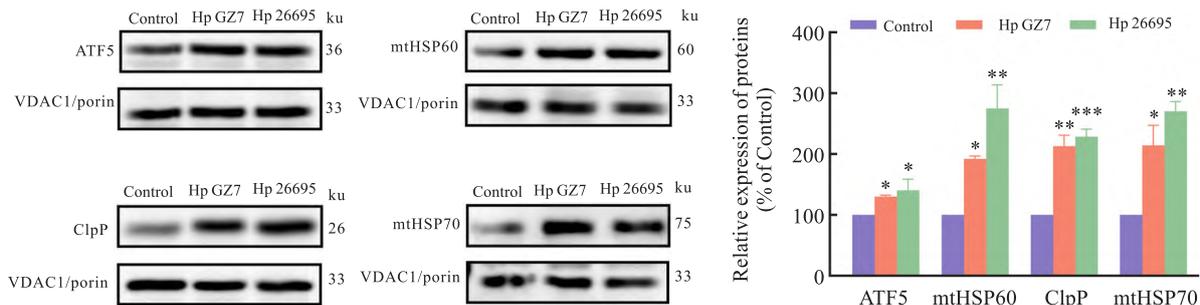


图 1 Western blot 检测 Hp 感染 C57BL6/J 小鼠胃组织细胞线粒体中 ATF5、mtHSP60、ClpP、mtHSP70 的表达

Fig. 1 Western blot detection of the expressions of ATF5, mtHSP60, ClpP and mtHSP70 in the mitochondria of gastric tissue cells of C57BL6/J mice infected with Hp

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  vs Control group.

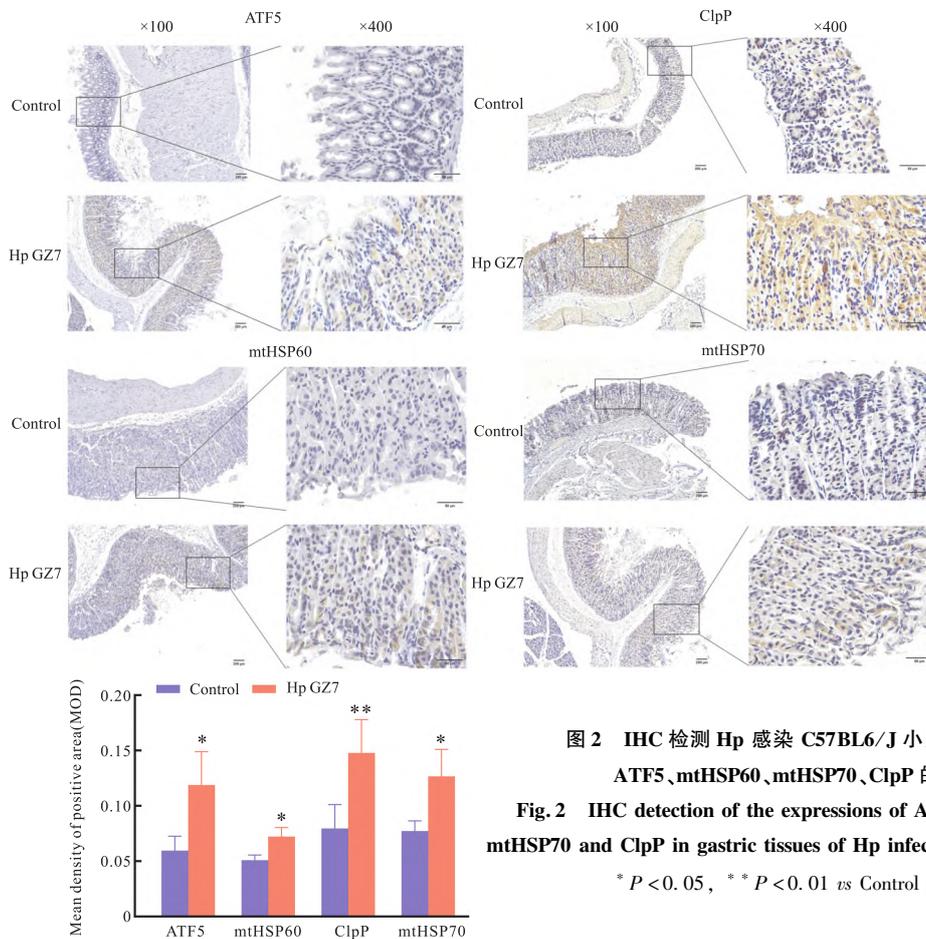


图 2 IHC 检测 Hp 感染 C57BL6/J 小鼠胃组织中 ATF5、mtHSP60、mtHSP70、ClpP 的表达

Fig. 2 IHC detection of the expressions of ATF5, mtHSP60, mtHSP70 and ClpP in gastric tissues of Hp infected C57BL6/J mice

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs Control group.

胞的胞质中,与未感染 Hp 的 C57BL6/J 小鼠比较, Hp 感染小鼠胃上皮细胞中 ATF5、mtHSP60、mtHSP70、ClpP 表达增强,用 Image J 软件进行定量显示,两组之间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。证实 Hp 感染主要诱导小鼠胃黏膜层胃上皮细胞发生 UPR<sup>MT</sup>。

**2.3 Hp 感染对胃癌细胞发生 UPR<sup>MT</sup> 的影响** 为了探讨体外 Hp 感染对人胃癌细胞 UPR<sup>MT</sup> 影响,本研究用 Hp GZ7 感染胃癌细胞 AGS 和 SGC-7901 24 和 72 h,提取细胞线粒体蛋白,Western blot 检测 ATF5、mtHSP60、mtHSP70、ClpP 的表达。结果与上述小鼠体内实验一致,无论是 Hp 感染 24 h 还是 72 h,4 种蛋白质的表达水平均高于未感染 Hp 的对照组细胞,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 3,证实 Hp 感染诱导胃癌细胞发生 UPR<sup>MT</sup>。

**2.4 Hp 感染对胃癌细胞增殖的影响** 本研究用 Hp GZ7 分别以 MOI = 5、10、30 持续感染胃癌细胞 AGS 和 SGC-7901,RTCA 检测细胞的增殖。结果显

示:与未感染 Hp 的对照组比较, Hp 以 MOI = 5、10、30 感染细胞均能促进细胞增殖,但是随着感染时间延长,MOI = 30 组细胞增殖能力低于 MOI = 5 组和 MOI = 10 组,见图 4A。随后用 CCK-8 检测 Hp 感染胃癌细胞 24、48、72 h 的细胞增殖情况。结果如图 4B 所示:除了 AGS 细胞中 MOI = 30,72 h 组及 SGC-7901 细胞中 MOI = 30,24 h 组外,其余各组中细胞的增殖能力均高于对照细胞,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**2.5 UPR<sup>MT</sup> 相关指标在胃癌组织中表达情况** 细胞无限增殖是恶性肿瘤细胞的重要特征。本研究利用 UALCAN 数据库(<https://ualcan.path.uab.edu/>)中 TCGA 样本探讨 ATF5、mtHSP60、mtHSP70、ClpP 在胃癌与正常组织间的表达差异。结果如图 5 显示,ATF5、mtHSP60、mtHSP70、ClpP 在胃癌组织中的表达高于正常组织,差异均有统计学意义(均  $P < 0.01$ )。

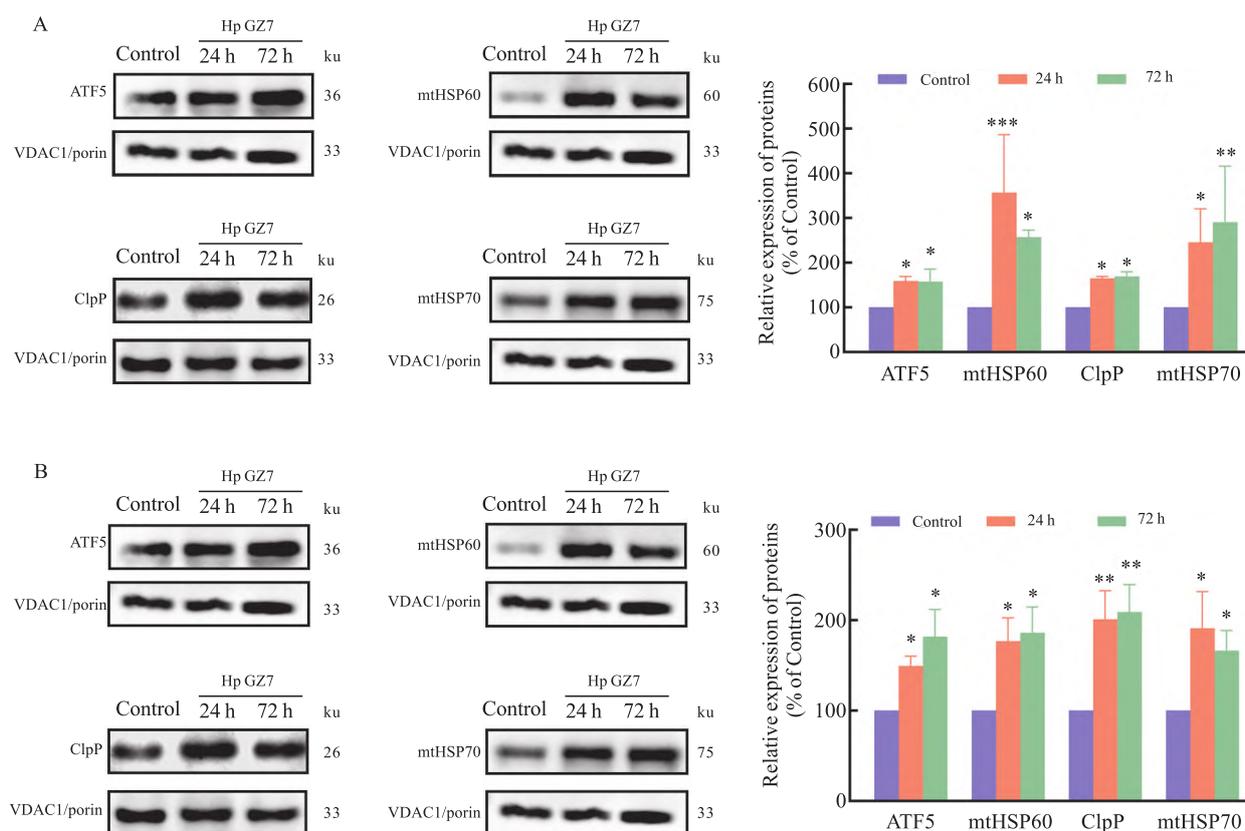


图3 Western blot 检测 Hp 感染胃癌细胞线粒体中 ATF5、mtHSP60、ClpP、mtHSP70 的表达

Fig. 3 Western blot detection of the expressions of ATF5, mtHSP60, ClpP and mtHSP70 in the mitochondria of Hp-infected gastric cancer cells

A: AGS cells; B: SGC-7901 cells; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  vs Control group.

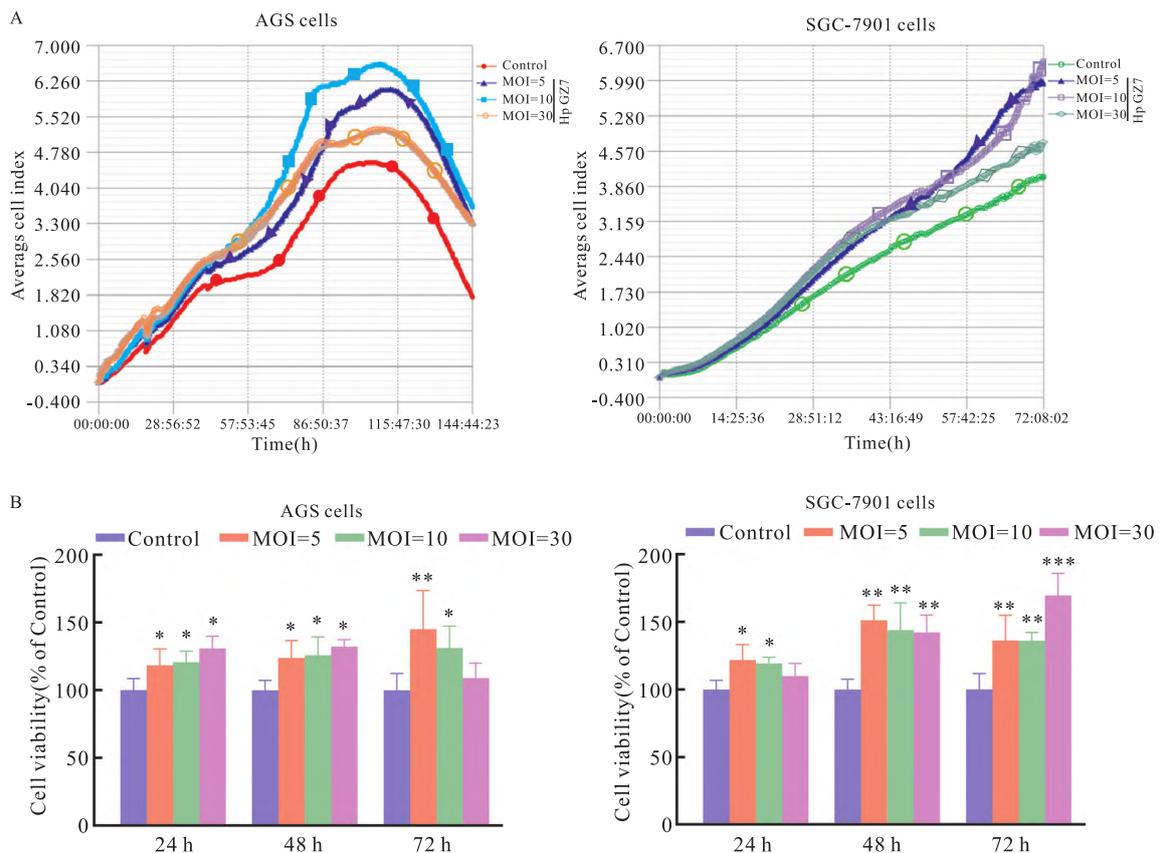


图4 Hp感染对癌症细胞增殖的影响

Fig. 4 Effect of Hp infection on gastric cancer cell proliferation

A: RTCA detection of the proliferation of Hp-infected cells; B: CCK-8 detection of the proliferation of Hp-infected cells; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  vs Control group.

### 3 讨论

胃癌是世界上第五大常见的恶性肿瘤,且是导致患者死亡的第四大原因<sup>[6]</sup>。虽然 Hp 感染与胃癌发展之间的关联已被充分证实<sup>[7]</sup>,但是致病机制仍不完全清楚。线粒体是满足细胞生物能量和生物合成需求的关键细胞器,其功能障碍会导致细胞环境变化引起多种疾病<sup>[8-9]</sup>。

UPR<sup>MT</sup>是一种线粒体蛋白质质量控制系统,通过防止受损蛋白的累积来维持线粒体及细胞功能。经典的UPR<sup>MT</sup>激活途径由ATF5促进线粒体伴侣蛋白及线粒体蛋白酶的转录来实现。ATF5是真核细胞中发现的第1个UPR<sup>MT</sup>的调控蛋白,含有线粒体靶向序列及核定位序列。生理条件下,细胞质中的ATF5通过线粒体靶向序列定位于线粒体,但在各种内、外应激因素作用下,细胞质中ATF5通过核定位

信号逆向转位到细胞核,促进 mtHSP60、mtHSP70、ClpP 等蛋白表达,激活 UPR<sup>MT</sup><sup>[10]</sup>。研究<sup>[11-13]</sup>发现,ATF5 在多种肿瘤中高表达,可调控细胞因子促进癌细胞的增殖,而敲除 ATF5 能降低线粒体呼吸,抑制细胞增殖。mtHSP60 持续高表达是 UPR<sup>MT</sup>的激活标志,通过调控线粒体蛋白稳态及翻译促进卵巢癌的生长,而敲低 mtHSP60 能抑制结肠癌细胞的增殖<sup>[14-15]</sup>。总之,UPR<sup>MT</sup>能稳定线粒体功能,促进癌细胞增殖,而抑制 UPR<sup>MT</sup>能抑制肿瘤进展。

本研究的结果显示 Hp 感染不仅能上调小鼠胃上皮细胞及人胃癌细胞线粒体中 ATF5、mtHSP60、mtHSP70 和 ClpP 的表达,还能促进细胞增殖,并且发现 ATF5、mtHSP60、mtHSP70 和 ClpP 在人胃癌组织中高表达,证明 Hp 感染能够激活胃癌细胞中 UPR<sup>MT</sup>,促进细胞增殖,引发胃疾病,最终导致胃癌发生。

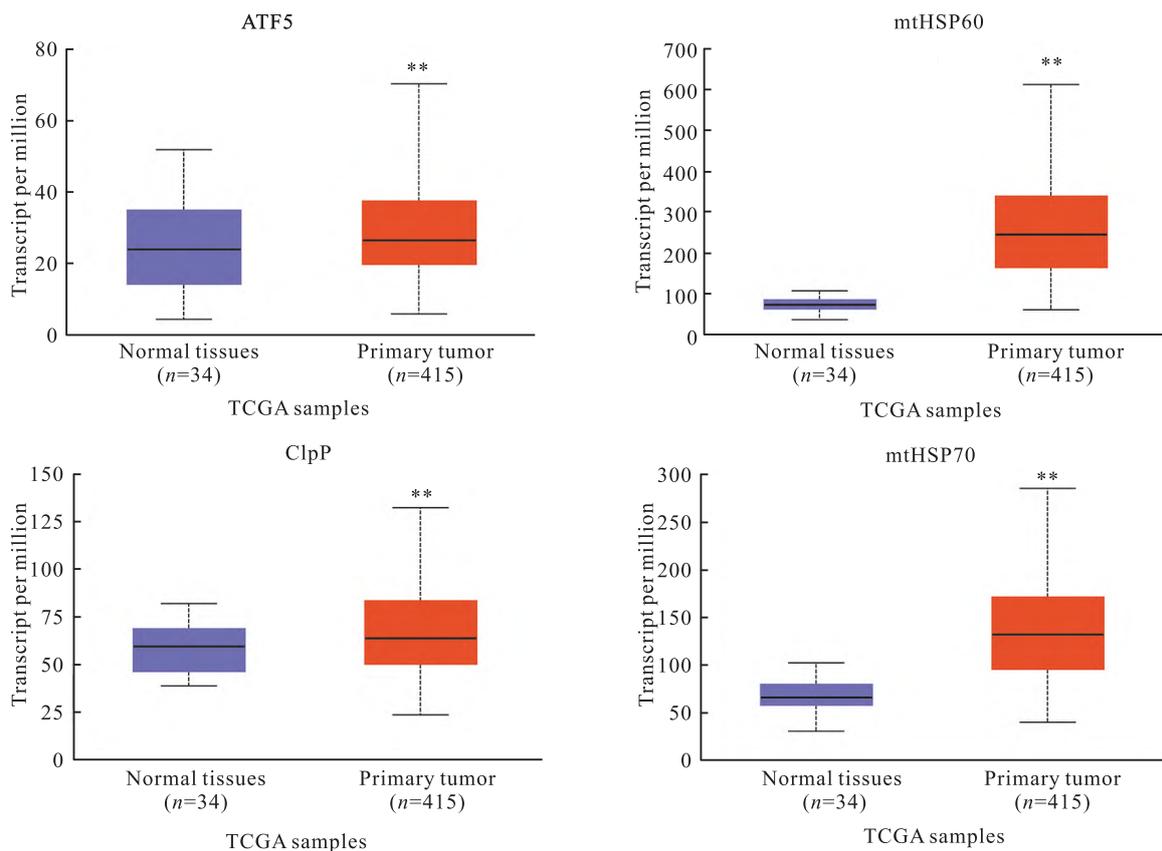


图5 ATF5、mtHSP60、ClpP、mtHSP70 在 TCGA 胃癌组织样本中高表达

Fig. 5 ATF5, mtHSP60, ClpP, and mtHSP70 were highly expressed in TCGA gastric cancer tissue samples

\*\*  $P < 0.01$  vs Normal tissues.

## 参考文献

- [1] Lee Y C, Chiang T H, Chou C K, et al. Association between *Helicobacter pylori* eradication and gastric cancer incidence: a systematic review and meta-analysis [J]. *Gastroenterology*, 2016, 150 (5): 1113 - 24. doi:10.1053/j.gastro.2016.01.028.
- [2] Ren S, Cai P, Liu Y, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in China: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2022, 37 (3): 464 - 70. doi:10.1111/jgh.15751.
- [3] Zhu L, Zhou Q, He L, et al. Mitochondrial unfolded protein response: an emerging pathway in human diseases [J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 163: 125 - 34. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.013.
- [4] Fiorese C J, Haynes C M. Integrating the UPR<sup>MT</sup> into the mitochondrial maintenance network [J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2017, 52 (3): 304 - 13. doi: 10.1080/10409238.2017.1291577.
- [5] Nargund A M, Pellegrino M W, Fiorese C J, et al. Mitochondrial import efficiency of ATF5-I regulates mitochondrial UPR activation [J]. *Science*, 2012, 337 (6094): 587 - 90. doi:10.1126/science.1223560.
- [6] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71 (3): 209 - 49. doi:10.3322/caac.21660.
- [7] Vogelmann R, Amieva M R. The role of bacterial pathogens in cancer [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2007, 10 (1): 76 - 81. doi: 10.1016/j.mib.2006.12.004.
- [8] Guo B, Huang Y, Gao Q, et al. Stabilization of microtubules improves cognitive functions and axonal transport of mitochondria in Alzheimer's disease model mice [J]. *Neurobiol Aging*, 2020, 96: 223 - 32. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2020.09.011.
- [9] Koike N, Hatano Y, Ushimaru T. Heat shock transcriptional factor mediates mitochondrial unfolded protein response [J]. *Curr Genet*, 2018, 64 (4): 907 - 17. doi:10.1007/s00294 - 018 - 0809 - 9.
- [10] Smyrnias I. The mitochondrial unfolded protein response and its diverse roles in cellular stress [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2021, 133: 105934. doi:10.1016/j.biocel.2021.105934.
- [11] Fiorese C J, Schulz A M, Lin Y F, et al. The transcription factor ATF5 mediates a mammalian mitochondrial UPR [J]. *Curr Biol*, 2016, 26 (15): 2037 - 43. doi:10.1016/j.cub.2016.06.002.
- [12] Angelastro J M. Targeting ATF5 in cancer [J]. *Trends Cancer*, 2017, 3 (7): 471 - 4. doi:10.1016/j.trecan.2017.05.004.

- [13] Sun X, Jefferson P, Zhou Q, et al. Dominant-negative ATF5 compromises cancer cell survival by targeting CEBPB and CEBPD[J]. *Mol Cancer Res*, 2020, 18(2): 216–28. doi:10.1158/1541-7786.MCR-19-0631.
- [14] Guo J, Li X, Zhang W, et al. HSP60-regulated mitochondrial proteostasis and protein translation promote tumor growth of ovarian cancer[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12628. doi:10.1038/s41598-019-48992-7.
- [15] Guo J, Zhu S, Deng H, et al. HSP60-knockdown suppresses proliferation in colorectal cancer cells *via* activating the adenine/AMPK/mTOR signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2021, 22(2): 630. doi:10.3892/ol.2021.12891.

## Effect of *Helicobacter pylori* induced mitochondrial unfolded protein response on gastric cancer cell proliferation

Chen Jili<sup>1,2</sup>, Li Leilei<sup>1,2,3</sup>, Chen Yuanjia<sup>1,2</sup>, Zhao Yan<sup>1,2</sup>, Xie Yuan<sup>1,2</sup>, Zhou Jianjiang<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>*School of Basic Medical Sciences*, <sup>2</sup>*Key Laboratory of Molecular Biology, Guizhou Medical University, Guiyang 550000*; <sup>3</sup>*Dept of Oncology, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550000*)

**Abstract Objective** To explore the mechanism of proliferation of gastric cancer cells induced by *Helicobacter pylori* (Hp) from the perspective of the mitochondrial unfolded protein response (UPR<sup>MT</sup>). **Methods** C57BL6/J mice, human gastric cancer cells AGS and SGC-7901 cells were infected with Hp, mitochondrial proteins were extracted, and the expressions of UPR<sup>MT</sup>, including activation of transcription factor 5 (ATF5), heat shock protein 60 (mtHSP60), heat shock protein 70 (mtHSP70) and mitochondrial protease (ClpP), were detected by Western blot. Immunohistochemistry was used to locate the expression sites of 4 proteins in mouse gastric tissue. AGS and SGC-7901 cells were infected with Hp, and cell proliferation was detected by RTCA and CCK-8. Finally, the expression of four indexes in gastric cancer tissues was analyzed by TCGA samples in the UALCAN database. **Results**

Hp infection could significantly promote the expression of ATF5, mtHSP60, mtHSP70 and ClpP in the mitochondria of gastric epithelial cells of C57BL6/J mice, AGS and SGC-7901 cells, and promote the proliferation of gastric cancer cells. When compared to normal gastric tissues in TCGA samples, ATF5, mtHSP60, mtHSP70, and ClpP were highly expressed in gastric cancer tissues, with statistically significant difference (all  $P < 0.01$ ). **Conclusion**

Hp infection can induce UPR<sup>MT</sup> in gastric epithelial cells and gastric cancer cells, which in turn promotes cell proliferation.

**Key words** Hp; gastric cancer cells; UPR<sup>MT</sup>; cell proliferation; mitochondrial proteins; activating transcription factor 5

**Fund programs** National Natural Science Foundation of China (Nos. 32160166, 82260405); Scientific and Technological Project of Guizhou Province (No. QianKehe Support [2020]4Y026)

**Corresponding author** Zhou Jianjiang, E-mail: 851827202@qq.com