

## Baicalein Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Mucin 5 Subtype AC Expression and Hypersecretion in Human Bronchial Epithelial Cells

Chunxia YANG<sup>1</sup>\*, Jie BAI<sup>1</sup> & Yali CHEN<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Traditional Chinese Medicine, <sup>2</sup> Department of Infectious disease, Beijing Luhe Hospital, Capital Medical University. No. 82, Rd. Xinhua South, Tongzhou, 101100, Beijing, China

**SUMMARY.** Chronic airway diseases are often accompanied by the hyperproduction of airway mucus. Mucin 5 subtype AC (MUC5AC) is a predominant mucin protein in airway mucus. Lipopolysaccharide (LPS) is an essential substance in the cell wall of Gram-negative bacteria. Baicalein is a bioactive component of some traditional Chinese medicines with multiple pharmacological activities including anti-bacteria property. In this text, we further investigated whether baicalein could suppress LPS-induced MUC5AC expression and hypersecretion via Toll like receptor 4 (TLR4)/MyD88 and nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) pathways in human bronchial epithelial cells. The mRNA levels of MUC5AC, TLR4 and MyD88 were detected by RT-qPCR assay. Protein levels of TLR4, MyD88, phosphorylated-IRAK1 (p-IRAK1), phosphorylated-NF- $\kappa$ B p65 (p-p65), and p65 were determined by western blot assay. MUC5AC promoter activity and NF- $\kappa$ B binding activity were detected by luciferase assay. MUC5AC protein secretion level was examined by ELISA assay. Cell viability was assessed by CCK-8 assay. LPS induced MUC5AC production and improved MUC5AC promoter activity in BEAS-2B cells, while these effects were weakened by baicalein. LPS stimulated MUC5AC expression and secretion by activating TLR4/MyD88 pathway in BEAS-2B cells. Baicalein inhibited the activation of TLR4/MyD88 signaling pathway induced by LPS in BEAS-2B cells. Moreover, baicalein hampered the activation of NF- $\kappa$ B pathway induced by LPS in BEAS-2B cells. In conclusion, baicalein inhibited LPS-induced MUC5AC expression and hypersecretion by inactivating TLR4/MyD88 and NF- $\kappa$ B pathways in human bronchial epithelial cells, further elucidating the molecular basis of baicalein in protecting airways from bacterial infection.

**RESUMEN.** Las enfermedades crónicas de las vías respiratorias suelen ir acompañadas de la hiperproducción de moco. El subtipo AC de mucina 5 (MUC5AC) es una proteína de mucina predominante en el moco de las vías respiratorias. El lipopolisacárido (LPS) es una sustancia esencial en la pared celular de las bacterias Gram negativas. La baicaleína es un componente bioactivo de algunas medicinas tradicionales chinas con múltiples actividades farmacológicas, incluida la propiedad antibacteriana. En este texto investigamos más a fondo si la baicaleína podría suprimir la expresión de MUC5AC inducida por LPS y la hipersecreción a través de las vías del receptor 4 (TLR4)/MyD88 del factor Toll y factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) en células epiteliales bronquiales humanas. Los niveles de ARNm de MUC5AC, TLR4 y MyD88 se detectaron mediante el ensayo RT-qPCR. Los niveles de proteína de TLR4, MyD88, IRAK1-fosforilado (p-IRAK1), NF- $\kappa$ B p65 (p-p65) fosforilado y p65 se determinaron mediante ensayo de transferencia Western. La actividad del promotor MUC5AC y la actividad de unión a NF- $\kappa$ B se detectaron mediante el ensayo de luciferasa. El nivel de secreción de proteína MUC5AC se examinó mediante ELISA. La viabilidad celular se evaluó mediante el ensayo CCK-8. LPS indujo la producción de MUC5AC y mejoró la actividad del promotor de MUC5AC en las células BEAS-2B, mientras que la baicaleína debilitó estos efectos. LPS estimuló la expresión y secreción de MUC5AC activando la ruta TLR4/MyD88 en células BEAS-2B. La baicaleína inhibió la activación de la vía de señalización TLR4/MyD88 inducida por LPS en las células BEAS-2B. Además, la baicaleína obstaculizó la activación de la vía NF- $\kappa$ B inducida por LPS en las células BEAS-2B. En conclusión, la baicaleína inhibió la expresión e hipersecreción de MUC5AC inducida por LPS al inactivar las vías TLR4/MyD88 y NF- $\kappa$ B en las células epiteliales bronquiales humanas, aclarando aún más la base molecular de la baicaleína en la protección de las vías respiratorias de la infección bacteriana.

**KEY WORDS:** baicalein, lipopolysaccharide, MUC5AC, MyD88, NF- $\kappa$ B, TLR4.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: hj73161823gangxi@163.com