

幽门螺杆菌毒力与胃十二指肠疾病相关性分析^①

唐艳波, 韦照勇, 覃启鲜, 潘丽莹, 朱华

(广西科技大学第一附属医院消化内科, 广西 柳州 545002 E-mail: doctyb@126.com)

摘要: **目的** 通过分析门诊患者所感染幽门螺杆菌(*H. pylori*)菌株毒力与上消化道病变关系, 探讨柳州地区 *H. pylori* 的致病特点。 **方法** 收集2014年6月—2015年5月于我院经¹⁴C-UBT检测证实为 *H. pylori* 感染后经胃镜证实为慢性胃炎或消化性溃疡的门诊患者共125例, 采集静脉血用蛋白芯片技术行 *H. pylori* 毒力细胞毒素相关蛋白(CagA)、空泡细胞毒素(VacA)、尿素酶(Ure)及热休克蛋白60(Hsp60) IgG检测, 钳取胃黏膜组织行 *H. pylori* 银盐染色及病理检查。 **结果** 125例患者以青年和中年为主, 分别占48.00%和45.60%, 均检出 *H. pylori* 相关毒力 IgG 抗体, 其中 CagA、VacA、CagA⁺/VacA⁺、Hsp60、Ure 阳性率分别为92.80%、20.00%、19.20%、27.20%及96.80%; 慢性胃炎、十二指肠溃疡及复合性溃疡 CagA 阳性率较胃溃疡高; 所有病变中, 消化性溃疡占86.40%(108/125); 有123例患者完成病理检查, 黏膜炎症程度表现为轻度、中度及重度的分别为17.90%(22/123)、75.61%(93/123)及6.50%(8/123); 81.30%(100/123)患者 *H. pylori* 染色阳性, 为(+)~(++++)。 **结论** 在广西柳州地区, 上消化道幽门螺杆菌相关性疾病患者以中青年居多, 感染 Hsp60 及 VacA 阳性菌株低, 发病主要以消化性溃疡为主, 胃黏膜炎症程度以中度为主。

关键词: 幽门螺杆菌; 毒力蛋白; 消化性溃疡

中图分类号: R377; R574.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2016)06-0583-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2016.06.009

Correlative analysis of *Helicobacter pylori* virulence and gastroduodenal diseases

Tang Yanbo, Wei Zhaoyong, Qin Qixian, Pan Liying, Zhu Hua

(Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545002, Guangxi, China E-mail: doctyb@126.com)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between gastroduodenal diseases and *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) virulence infected by outpatient patients and showed the role of *H. pylori* in pathogenesis of gastroduodenal diseases in Liuzhou. **Methods** From June 2014 to May 2015 a total of 125 outpatient patients infected with *H. pylori* proven by ¹⁴C-UBT at our hospital and then diagnosed with chronic gastritis or peptic ulcer by gastroscopy were enrolled in this study. The vein blood was drawn and *H. pylori* virulence cytotoxin associated protein (CagA), vaculating cytotoxin A (VacA), urease (Ure), heat shock protein (Hsp60) IgG were checked by protein combined array chip method. Gastric mucosal tissues were clamped for silver staining and pathological examination for *H. pylori*. **Results** The majority of 125 patients were young and middle aged patients, accounting for 48.00% and 45.60% respectively. All of them were found with *H. pylori* associated virulence IgG antibodies. Among them, the positive rates of CagA, VacA, CagA⁺/VacA⁺, Hsp60, Ure were 92.80%, 20.00%, 19.20%, 27.20% and 96.80%. The positive rates of CagA in chronic gastritis, gastroduodenal ulcer and complex ulcer were higher than that in gastric ulcer. In all the lesions, 86.40%(108/125) of them were peptic ulcer. A total of 123 patients finished pathologic examination. The percentages of mild-, moderate- and severe-mucosal inflammation were 17.90%(22/123), 75.61%(93/123) and 6.50%(8/123), respectively. The percent of patients with *H. pylori*-positive staining was 81.30%(100/123), the staining-positive indicated from (+) to (+++). **Conclusion** Gastroduodenal diseases associated with *H. pylori* is common in young and middle aged people in Guangxi Liuzhou, with low infection with Hsp60 and VacA pos-

① 基金项目: 广西壮族自治区卫生厅科研课题(Z2014446)

itive strains. Mainly patients with *H. pylori* developed into peptic ulcer; and the gastric mucosal inflammation was moderate.

Key words: *Helicobacter pylori*; virulence protein; peptic ulcer

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是引起慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌及胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤(MALT)的主要病因^[1],感染呈世界性分布,在卫生条件差的发展中国家感染率较发达国家明显要高。在中国的一项流行病学调查发现,各省区成人感染率波动于40.50%~90.00%,在广西,成人及老人*H. pylori*感染率分别为62.35%和53.40%^[2]。不同地区感染的*H. pylori*菌株类型是有差异的,致病性主要是其不同毒力所致。本研究主要是通过蛋白芯片技术检测广西地区患者所感染的*H. pylori*毒力抗体及胃黏膜表现来探讨*H. pylori*的致病性。

1 对象与方法

1.1 研究对象 入选对象为2014年6月—2015年5月因上消化道症状来我院门诊就诊并经¹⁴C-UBT检测证实为*H. pylori*感染的慢性胃炎及消化性溃疡患者共125例。本研究经我院医学伦理会批准,每位入选患者均签署知情同意书。

1.2 实验方法 每位患者各采集静脉血3 ml及取胃窦黏膜组织2块,如患者为胃溃疡患者则取溃疡边缘及胃窦黏膜组织6块,所收集的静脉血以3 000 r/min离心10 min,后用蛋白芯片技术检测*H. pylori*毒力蛋白:细胞毒素相关蛋白(cytotoxin associated protein, CagA)、空泡细胞毒素(vacuating cytotoxin A, VacA)、尿素酶(urease, Ure)及热休克蛋白60(heat shock protein 60, Hsp60)的IgG。

所获得的组织用福尔马林液固定后切片行病理及用Warthin-Sharry(W-S)银盐染色法进行*H. pylori*染色(染色步骤按说明书操作),结果由病理医生评估,炎症程度及*H. pylori*染色根据中国慢性胃炎共识意见(2012,上海)分级^[3]。*H. pylori*感染是通过观察胃黏膜黏液层、表面上皮、小凹上皮和腺管上皮表面的*H. pylori*来判断。感染分级,0:特殊染色片上未见*H. pylori*;+:偶见或小于标本全长1/3有少数*H. pylori*;++:*H. pylori*分布达到或超过标本全长1/3而未达2/3或连续性、薄而稀疏地存在于上皮表面;+++:*H. pylori*成堆存在,基本分布于标本全长。病理分级是根据黏膜层慢性炎性细胞的密集程度和浸润深度分级,+:慢性炎性细胞较少并局限于黏膜浅层,不超过黏膜层的1/3;++:慢性炎性细胞较密集,不超过黏膜层的2/3;+++:慢性炎性细胞密集,占据黏膜全层。

1.3 统计学方法 应用SPSS 17.0统计软件进行数

据分析,计数资料的比较采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法,采用双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 125例入选患者中男性91例,女性34例,男:女=2.68:1,年龄为18~68岁,平均年龄(42.75±11.46)岁,按年龄段分为青年组(18~40岁)、中年组(41~60岁)、老年组(≥61岁)。与老年组比较,青年组、中年组的*H. pylori*感染率明显增多,差异有统计学意义($P < 0.001$),见表1。

表1 各年龄组幽门螺杆菌感染构成比

年龄分组(岁)	感染人数(<i>n</i>)	构成比(%)
青年组	60	48.00 ^a
中年组	57	45.60 ^a
老年组	8	6.40
合计	125	100.00

注:与老年组比较,a: $P < 0.001$

2.2 *H. pylori*毒力IgG检测 125例患者均检出*H. pylori*相关毒力抗体,其中CagA-IgG阳性率为92.80%(116/125),VacA-IgG阳性率为20.00%(25/125),CagA⁺/VacA⁺阳性率为19.20%(24/125),Hsp60-IgG阳性率为27.20%(34/125),Ure-IgG阳性率为96.80%(121/125)。

2.3 *H. pylori*毒力IgG与病变的关系

2.3.1 各疾病组CagA-IgG阳性率 慢性胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡、复合性溃疡、CagA-IgG构成比比较差异有统计学意义($\chi^2 = 10.925$, $P = 0.012 < 0.05$)。慢性胃炎、十二指肠溃疡及复合性溃疡CagA-IgG阳性率较胃溃疡高,其中十二指肠溃疡CagA-IgG阳性率高于胃溃疡,差异有统计学意义($\chi^2 = 7.963$, $P = 0.005 < 0.01$),见表2。

表2 CagA-IgG与各病变的关系

病变类型	<i>n</i>	CagA(IgG)		阳性率(%)
		(+)	(-)	
慢性胃炎	17	16	1	94.10
胃溃疡	22	17	5	77.30
十二指肠溃疡	62	61	1	98.40
复合性溃疡	24	22	2	91.70

2.3.2 各种病变类型VacA阳性率比较 慢性胃炎、

胃溃疡、十二指肠溃疡、复合性溃疡 VacA 阳性率构成比比较差异无统计学意义($\chi^2 = 1.666, P = 0.644$), 见表3。

表3 VacA-IgG 与各病变的关系

病变类型	n	VacA		阳性率 (%)
		(+)	(-)	
慢性胃炎	17	3	14	17.60
胃溃疡	22	6	16	27.30
十二指肠溃疡	62	13	49	21.00
复合性溃疡	24	3	21	12.50

2.4 胃镜下表现 镜下表现共有17例慢性胃炎,22例胃溃疡,62例十二指肠溃疡,24例复合性溃疡,在所有病变中以消化性溃疡占主要部分,为86.40%(108/125),在消化性溃疡中又以十二指肠溃疡为主,占57.40%(62/108)。

2.5 病理检查 有123例患者完成病理检查,黏膜炎症程度均为慢性,分别有17.90%(22/123)、75.60%(93/123)及6.50%(8/123)表现为轻度(+)、中度(++)及重度(+++),其中合并萎缩或肠化生的11例,轻度不典型增生的1例,有100例患者 H. pylori 染色阳性,分别为+~+++不等,阳性率81.30%。

3 讨论

在广西,成人及老人 H. pylori 感染率相差不大^[2],本观察发现,老年组 H. pylori 感染并发病的患者明显低于中青年组,说明有相当一部分老年人虽然感染了 H. pylori 却没有发病。

CagA 基因和 VacA s2m2 阳性菌株^[4]与慢性胃炎的发生有关,感染 CagA 或者 VacA s1m1 和 s1m2 基因阳性菌株与消化性溃疡高发生率相关。在巴西北部^[5],人群主要以感染 VacA s1m1CagA+ 菌株为主,与发生消化道严重病变有关。

本实验发现在门诊患者所感染的 H. pylori 以 CagA-IgG 阳性为主,达到92.80%,其致病性主要是引起消化性溃疡,以往也有研究表明^[6],即使 H. pylori 感染菌株存在地区差异性,但是感染 CagA 阳性与它产生的细胞毒性蛋白的菌株与消化性溃疡的发生密切相关。伊朗 Souod N 等^[7]对 H. pylori 感染患者进行毒力基因检测,发现92%患者为 CagA 基因阳性,这些研究和本研究类似。

VacA 是 H. pylori 非常重要的致病因子^[8],表现出空泡毒素活性的称为产毒菌 Tox⁺ 菌,所有的 H. pylori 都有 VacA 基因,但只有50%~60%的 H. pylori 为 Tox⁺ 菌,表达 VacA 蛋白,故行 VacA 基因检测对分型是有帮助的。本实验检测的 VacA-IgG 阳性率偏低,可能与 VacA 基因不表达 VacA 蛋白或

者存在假阴性所致,进一步研究本地区 H. pylori vacA 基因显得十分必要。

研究人员发现^[9],Hsp60 与胃癌有密切关系,H. pylori Hsp60 通过诱导促炎细胞因子的释放及促进血管生成及转移促进胃癌的生成,这种细胞外获得的致病原作为致癌物是胃癌发生的重要毒力因子。在本研究中 Hsp60 抗体阳性率只有27.20%,表明广西地区感染 Hsp60 抗体阳性菌株低,从而可以解释为什么虽然广西地区 H. pylori 感染率高,但不是胃癌高发区。Hsp60 抗体作为胃癌风险因子是否可以作为胃癌标志物还不得知,通过增加样本量并检测其基因型或者抗体滴度,增加胃癌与非胃癌患者的对照研究。

Iizumi T^[10] 研究发现,在体内,H. pylori 是通过尿素酶特异性抗 IgG 诱导在胃内定植。本实验 Ure 抗体阳性率96.80%,在所有毒力抗体中最高,这与 H. pylori 在胃内粘附定植引起胃黏膜炎症有关。

H. pylori 感染与胃黏膜组织炎症程度、中性粒细胞浸润、淋巴滤泡形成有关;腺体萎缩、肠上皮化生不仅与 H. pylori 感染有关,年龄亦是其影响因素。随着年龄的增大,胃黏膜萎缩发生率增加。在我们的研究中,H. pylori 感染的胃黏膜炎症程度主要以中度为主,占75.60%,表现为重度的8例均为中青年,这可能与样本量少及所感染的菌株类型不同而致黏膜炎症程度不同,是否随着年龄的增大,H. pylori 相关性疾病患者的胃黏膜炎症程度越低,目前尚缺乏相关报道。

在消化内科门诊就诊的患者中,H. pylori 相关性疾病主要是慢性胃炎及消化性溃疡,尤其是消化性溃疡,本研究为86.40%,以中青年为主,中青年患者是家庭主要劳动力,消化性溃疡并发消化道出血及穿孔等严重影响了患者的身心健康及增加医疗费用的支出,深入研究 H. pylori 相关性消化性溃疡的发病机制为减少患者的痛苦及降低医疗费用有着积极的意义。

研究发现^[11],幽门螺杆菌耐药性存在地区差异性,H. pylori 致病性是否也存在地区差异性仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] Malfertheiner P, Selgrad M, Bornschein J. Helicobacter pylori: clinical management[J]. Curr Opin Gastroenterol, 2012,28(6): 608-614.
- [2] 张万岱,胡伏莲,萧树东,等. 中国自然人群幽门螺杆菌感染的流行病学调查[J]. 现代消化及介入诊疗,2010,15(5):265-270.
- [3] 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见(2012年,上海)[J]. 中华消化杂志,2013,33(1):5-16.

(下转第594页)

进肝细胞损伤的原因之一,那么抑制其在 CHB 患者体内的分化则有可能成为一个潜在的治疗靶点。陈松林等^[8]的研究表明中药组方鳖甲煎丸治疗 CHB 疗效确切,其作用机理可能与 Th17 细胞降低有关。是否存在可能,抑制 Th17 细胞在体内的分化可以抑制 CHB 的发展?

在一些体外研究发现 TGF- β 和 IL-6 可以取代活化 DC 培养液,诱导 Th17 细胞的分化^[9]。而体内的 IL-6 主要是由 CD3⁺T 细胞分泌,因此 CD3⁺T 细胞可能可以通过分泌 IL-6 来诱导 Th17 的分化,进而可能参与了 CHB 的发生发展。为此本研究同时检测了各研究对象外周血中 CD3⁺IL-6⁺T 细胞频数。结果表明 CD3⁺IL-6⁺T 细胞频数同样随着 CHB 患者疾病严重程度增加而增加。与此同时,通过相关分析也发现,CD3⁺IL-6⁺T 细胞频数也与 Th17 细胞频数呈正相关关系。这提示,CD3⁺IL-6⁺T 细胞频数可能可以通过分泌 IL-6 来影响 Th17 细胞在体内的分化,进而参与 CHB 的进程。

综上所述,Th17 细胞可能是 CHB 进展的原因之一。此外,Th17 细胞频数与 CD3⁺IL-6⁺T 细胞频数存在正相关关系,提示 CD3⁺IL-6⁺T 细胞可能通过诱导 Th17 的分化来影响 CHB 进程。

参考文献:

- [1] Roark CL, Huang Y, Jin N, et al. A canonical V γ 4V δ 4 + $\gamma\delta$ T cell population with distinct stimulation requirements which promotes the Th17 response[J]. Immunol
- [4] Pajavand H, Alvandi A, Mohajeri P, et al. High Frequency of vacA s1m2 Genotypes Among Helicobacter pylori Isolates From Patients With Gastrointestinal Disorders in Kermanshah, Iran[J]. Jundishapur J Microbiol, 2015,8(11):e25425.
- [5] Vinagre ID, Queiroz AL, Silva Júnior MR, et al. Helicobacter pylori infection in patients with different gastrointestinal diseases from Northern Brazil[J]. Arq Gastroenterol, 2015,52(4):266-271.
- [6] Figueroa G, Troncoso M, Toledo MS, et al. Prevalence of serum antibodies to Helicobacter pylori VacA and CagA and gastric diseases in Chile[J]. J Med Microbiol, 2002,51(4):300-304.
- [7] Souod N, Kargar M, Doosti A, et al. Genetic Analysis of cagA and vacA Genes in Helicobacter Pylori Isolates and Their Relationship with Gastrointestinal Diseases in

Res, 2013,55(1-3):217-230.

- [2] Torchinsky MB, Blander JM. T helper 17 cells: discovery, function, and physiological trigger[J]. Cell Mol Life Sci, 2010,67(9):1407-1421.
- [3] Yang W, Ding X, Deng J, et al. Interferon-gamma negatively regulates Th17-mediated immunopathology during mouse hepatitis virus infection[J]. Mol Med (Berl), 2011,89(4):399-409.
- [4] Wu WL, Li J, Chen F, et al. Circulating Th17 cells frequency is associated with the disease progression in HBV infected patients[J]. Gastroenterol Hepatol, 2010,25(4):750-757.
- [5] Bian ZL, Guo Y, Ha B, et al. Regulation of the inflammatory response: enhancing neutrophil infiltration under chronic inflammatory conditions[J]. Immunol, 2012,188(2):844-853.
- [6] 徐文鑫,梅序桥. 支气管哮喘患者外周血 Th17 细胞及相关趋化因子表达水平检测[J]. 右江民族医学院学报, 2015,37(4):533-535.
- [7] 丁庆莉,唐古生,贺铮雯,等. 慢性乙型肝炎患者外周血 Th17 细胞比例和 IL-17 表达水平的临床意义[J]. 检验医学, 2014,29(1):15-20.
- [8] 陈松林,林英辉,杨德芬,等. 鳖甲煎丸对淤血阻络型慢性乙型肝炎患者外周血 Th17 细胞表达水平的影响[J]. 中医药导报, 2016,22(4):24-26.
- [9] 张康. 调节性 T 细胞在肿瘤免疫治疗中的研究进展[J]. 右江民族医学院学报, 2015,37(4):635-637.

收稿日期:2016-08-09;修回日期:2016-11-24

(上接第 585 页)

- [4] Pajavand H, Alvandi A, Mohajeri P, et al. High Frequency of vacA s1m2 Genotypes Among Helicobacter pylori Isolates From Patients With Gastrointestinal Disorders in Kermanshah, Iran[J]. Jundishapur J Microbiol, 2015,8(11):e25425.
- [5] Vinagre ID, Queiroz AL, Silva Júnior MR, et al. Helicobacter pylori infection in patients with different gastrointestinal diseases from Northern Brazil[J]. Arq Gastroenterol, 2015,52(4):266-271.
- [6] Figueroa G, Troncoso M, Toledo MS, et al. Prevalence of serum antibodies to Helicobacter pylori VacA and CagA and gastric diseases in Chile[J]. J Med Microbiol, 2002,51(4):300-304.
- [7] Souod N, Kargar M, Doosti A, et al. Genetic Analysis of cagA and vacA Genes in Helicobacter Pylori Isolates and Their Relationship with Gastrointestinal Diseases in

the West of Iran[J]. Iran Red Crescent Med J, 2013,15(5):371-375.

- [8] 胡伏莲,周殿元. 幽门螺杆菌感染的基础与临床[M]. 3版. 北京:中国科学技术出版社, 2013:108-109.
- [9] Lin CS, He PJ, Tsai NM, et al. A potential role for Helicobacter pylori heat shock protein 60 in gastric tumorigenesis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010,392(2):183-189.
- [10] Iizumi T, Yamanishi S, Kumagai Y, et al. Augmentation of Helicobacter pylori urease activity by its specific IgG antibody: implications for bacterial colonization enhancement[J]. Biomed Res, 2005,26(1):35-42.
- [11] 唐艳波,林中,张剑波,等. 桂林地区幽门螺杆菌的耐药性分析[J]. 右江民族医学院学报, 2014,36(2):211-212.

收稿日期:2016-07-26;修回日期:2016-11-10