

幽门螺杆菌感染对胃黏膜组织 TGF- β RI 表达的影响

刘爱军, 越 飞, 李展君

(深圳市龙岗区葵涌人民医院 消化内科, 深圳 龙岗 518100)

[摘 要] 目的: 探讨幽门螺杆菌(Hp)感染对 Hp 相关性胃炎与胃黏膜癌前病变组织中转化生长因子 β I 型受体(TGF- β RI)表达水平的影响。方法: 采用 PCR-Hp-16SrRNA 检测、Hp 快速尿素酶试验(HpRUT)和 14 C-尿素呼气试验(14 C-UBT)同步检测 49 例慢性浅表性胃炎(CSG)、39 例重度肠化生(IM)和 20 例中重度不典型增生(Dys)患者胃黏膜组织中 Hp 感染情况,并以免疫组化方法分别检测其中 TGF- β RI 的表达。结果: 各组患者 Hp 阳性率对比无显著性差异($\chi^2 = 3.825, P = 0.148$),CSG、IM 到中度、重度 Dys 组 Hp 阳性者的 TGF- β RI 表达水平与病变的严重程度呈负相关($r = -0.707, P < 0.001$)。结论: Hp 感染在 Hp 相关性胃炎与胃黏膜癌前病变中可明显下调 TGF- β RI 的表达。

[关键词] 螺杆菌,幽门;胃炎;转化生长因子 β

[中图分类号] R573 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1000-2707(2012)06-0639-03

Effects of *Helicobacter pylori* Infection on the Expression of TGF- β RI in Gastric Mucosa Tissue

LIU Aijun, YUE Fei, LI Zhanjun

(Department of Gastroenterology, Kuoyong People's Hospital of Longgang District, Shenzhen 518100, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of *Helicobacter pylori* (Hp) infection on expression level of transforming growth factor β type I receptor (TGF- β RI) in gastric mucosa tissues of patients with Hp-related gastritis and gastric precancerous lesions. **Methods:** PCR-Hp-16SrRNA assay, Hp rapid urease test (HpRUT) and 14 C-urea breath test (14 C-UBT) were applied for synchronous detection of Hp infection condition of 49 patients with chronic superficial gastritis (group CSG), 39 patients with severe intestinal metaplasia (group IM) and 20 patients with moderate or severe atypical hyperplasia (group Dys). Immunohistochemical method was used to detect the TGF- β RI expression in gastric mucosa tissues of these patients. **Results:** No statistical difference was found in Hp positive rates among the three groups ($\chi^2 = 3.825, P = 0.148$). The TGF- β RI expression levels were negatively related with the severity of the lesions. **Conclusions:** Hp infection can significantly down-regulate the TGF- β RI expression in Hp-related gastritis and precancerous lesions.

[Key words] *Helicobacter pylori*; gastritis; transforming growth factor beta

幽门螺杆菌(*helicobacter pylori*, Hp)感染是慢性胃炎的主要病因,已被世界卫生组织列为胃癌的 I 类致癌危险因素^[1]。胃癌的发生是一个多阶段渐进的过程, Hp 在正常胃黏膜向癌前病变和胃癌转化过程中对细胞生长的影响尚不明确。转化生长因子 β (transforming growth factor beta, TGF- β) 是重要的细胞生长调控成分,与肿瘤的发生关系密切。研究发现,在慢性浅表性胃炎(chronic superfi-

cial gastritis, CSG)组织和重度肠化生(intestinal metaplasia, IM)胃黏膜组织中, Hp 感染与 TGF- β I 表达的上调有关,而重度不典型增生(dysplasia, Dys)胃黏膜组织及胃腺癌(gastric adenocarcinoma, GAC)胃黏膜组织中则没有发现这种相关性,提示 Hp 对 TGF- β I 的影响可能主要作用于胃癌发生的早期^[2]。因此,研究 Hp 相关性胃炎及伴有癌前病变的胃黏膜对了解 Hp 与 TGF- β I 的关系更为重

要。TGF- β 受体(TGF- β R)是介导 TGF- β 作用的关键结构,有关 Hp 感染与 TGF- β RI 表达水平的关系尚未受到重视。本文采用 Hp 快速尿素酶试验(HpRUT)、PCR-Hp-16SrRNA 检测和 14 C-尿素呼气试验(14 C-UBT)同步检测 CSG、重度 IM 和中重度 Dys 胃黏膜组织中 Hp 感染情况,并以免疫组化方法分别检测其中 TGF- β RI 的表达,探讨 Hp 感染对 TGF- β RI 表达的影响。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2008 年 2 月~2009 年 4 月胃镜活检标本,筛选 108 例纳入研究。49 例 CSG(Hp 阴性的 16 例轻度 CSG 为对照组,Hp 相关性 CSG 33 例),39 例重度 IM,20 例中重度 Dys(中度 13 例,重度 7 例)。所有标本为胃窦距幽门 3 cm 以内取 2 块胃黏膜组织,1 块组织行 HpRUT,1 块组织 -7°C 保存,备 PCR 检测。另各取病灶胃黏膜组织 2 块,100 ml/L 中性福尔马林固定,常规石蜡包埋,连续切片,片厚 5 μm 。

1.2 Hp 感染的确定

1.2.1 Hp 检测 Hp-RUT:采用 HpUT-H104 试剂盒(分析化学法,福建三强生化有限公司),5 min 以内呈黄至棕黄色为阳性,不变色为阴性。PCR-Hp-16SrRNA 检测:采用 PE9600PCR 仪(Perkin-Elmer 公司),PCR-Hp-16SrRNA 引物序列 CP-1 为 5'-GCC CAA TCA GCG TCA GGT AAT G-3',CP-2 为 5'-GCT AAG AGA TCA GCCTAT GTC C-3',扩增片段 500 bp,产物 2% 琼脂糖凝胶电泳,紫外透射仪下呈与阳性对照相同位置的明显条带为阳性。 14 C-UBT:患者在检查前 4 周内未服用抗 Hp 药物,以 100 dpm/mmol CO_2 为诊断阈值,大于诊断阈值判为 Hp 阳性。

1.2.2 Hp 诊断标准 Hp-RUT、PCR-Hp-DNA 和 14 C-UBT 3 项检测中,2 项以上阳性者判为 Hp 阳性;均阴性判为 Hp 阴性,仅 1 项阳性者未进入本研究。

1.3 TGF- β RI 检测

采用免疫组织化学 SP 法,即用型 TGF- β RI 抗体及 SP 试剂盒,PBS 代替一抗为阴性对照,室温下操作。切片脱蜡至水,每步用 PBS 工作液洗 3 次,每次 3 min;过氧化酶阻断剂 10 min,10% 非免疫血

清孵育 10 min;第一抗体孵育 60 min,生物素标记的第二抗体孵育 10 min;链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶孵育 10 min,DAB 显色,苏木素复染、中性树胶封固。免疫组织化学染色结果判断:A:无染色为 0 分,细胞膜或细胞质内见淡黄色颗粒、明显高于背景为 1 分,较多棕黄色颗粒为 2 分,大量深棕黄色颗粒为 3 分;B:每片随机观察 5 个视野,计数 500 个细胞中染色阳性细胞数,阳性细胞数 $< 30\%$ 为 1 分,31%~75% 为 2 分, $> 76\%$ 为 3 分。 $A \times B$ 得 0 为“-”,1~4 分为“+”,4 分以上“++”。

1.4 统计学处理

资料采用 SPSS 10.0 软件进行处理,组间比较采用 χ^2 检验、spearman 等级相关分析及 Kolmogorov-Smirnov 检验。

2 结果

2.1 Hp 感染情况

CSG 组 67.35% (33/49) Hp 阳性,IM 组为 82.05% (32/39);Dys 组为 60% (12/20),其中中度 Dys 组为 53.85% (7/13),重度 Dys 组为 71.43% (5/7)。组间比较发现,3 组 Hp 阳性率无显著性差异($\chi^2 = 3.825, P = 0.148$)。

2.2 TGF- β RI 表达与 Hp 感染

TGF- β RI 阳性反应产物呈深棕色,分布于细胞膜及细胞质。等级相关分析发现,从 CSG、IM 到中度、重度 Dys 组,各组中 Hp 阳性者 TGF- β RI 的表达水平与病变的严重程度呈负相关,随黏膜病变程度的加重,TGF- β RI 表达呈减少趋势($r = -0.707, P < 0.001$),见表 1;而各组中 Hp 阴性者无 TGF- β RI 表达缺失,Kolmogorov-Smirnov 检验显示各病例组 Hp 阴性者 TGF- β RI 表达无显著差异(Kolmogorov-Smirnov $Z = 1.162, P = 0.134$),见表 2。

表 1 各病例组 Hp 阳性者 TGF- β RI 表达

Tab. 1 TGF- β RI expression levels in Hp positive patients of each group

TGF- β RI	病例(n)			
	CSG	IM	中度 Dys	重度 Dys
-	1	3	3	5
+	7	24	4	0
++	25	5	0	0

表 2 各病例组 Hp 阴性者 TGF- β RI 表达Tab. 2 TGF- β RI expression levels in Hp negative patients of each group

TGF- β RI	病例(n)			
	CSG	IM	中度 Dys	重度 Dys
+	3	5	5	2
++	13	2	1	0

3 讨论

目前公认 Hp 持续感染可引起慢性胃炎,进而引起胃黏膜细胞代谢改变,阻断胃液中抗坏血酸的主动分泌机制,当 Hp 感染慢性胃炎发展至萎缩和肠化时,胃酸分泌减少,胃内 pH 值升高,不但降低了胃中和环境致癌原的能力,而且有利于细菌繁殖,并促进 N-亚硝基化合物的形成,从而有利于胃癌的发生。在这一过程中, Hp 对胃黏膜上皮细胞增殖调控的影响机制十分复杂。研究发现, Hp 阳性的 IM 及 Dys 胃黏膜组织中, PCNA 高表达者显著多于 Hp 阴性组,提示 Hp 感染可增加胃黏膜细胞的增殖,同时发现在 GAC 组中 PCNA 的表达与 Hp 的感染情况无关,提示 Hp 主要作用于胃癌发生的早期^[3]。TGF- β 家族是一类多功能的细胞因子,哺乳动物表达其中的 TGF- $\beta_{1,2,3}$ 。TGF- β 家族有 I、II、III 型受体,其中 III 型受体不直接传递信号, TGF- β 的信号是通过 I、II 型受体与 TGF- β 配体形成复合物,活化 I 型受体的 STK 激酶而传递到细胞内。TGF- β 及其受体的功能是影响细胞生长调控的重要因素,参与了胃癌的发生^[4]。本次对 Hp 与 TGF- β_1 表达进行的研究发现, Hp 感染可上调胃黏膜 TGF- β_1 的表达,但这一作用主要出现在癌前病变组织^[2]。TGF- β_1 的表达存在反馈调节机制, TGF- β_1 的高表达可能与组织获得产生 TGF- β_1 的能力有关。作为致癌危险因子的 Hp 感染是否通过影响 TGF- β 受体在胃黏膜癌前病变的表达进而影响胃癌的发生,应是了解 Hp 在胃癌发生过程中作用的一个重要内容。本研究发现,在 Hp 阳性病例的 CSG、IM 到中度、重度 Dys 组,随黏膜病变程度的加重, TGF- β RI 表达呈减少趋势,病变程度与 TGF- β RI 表达之间呈负相关关系,各组间 Hp 阳性率对比无显著性差异 ($\chi^2 = 3.825$, $P = 0.148$)。CSG、IM 及中度、重度 Dys 组 Hp 阳性者 TGF- β RI 的表达水平与病变的严重程度呈负相关

($r = -0.707$, $P < 0.001$),提示 Hp 感染明显下调了 TGF- β RI 的表达,这种情况下,高水平的 TGF- β_1 可能对自身无抑制效应,但可抑制周围组织的增殖和淋巴细胞的免疫作用,从而有利于肿瘤的生长。大量的 TGF- β_1 一方面可减轻机体产生的炎症反应,另一方面可能通过抑制 TH1 型和增强 TH2 型的免疫应答调低免疫反应,导致 Hp 感染慢性化^[5]。Hp 持续感染不但可诱导有丝分裂,且慢性炎症过程中 DNA 链断裂和染色体损伤的积累,有利于内源性突变发生。与此同时,发现各病例组中 Hp 阴性者无 TGF- β RI 表达缺失,各病例 TGF- β RI 表达无显著差异。因此认为, Hp 感染可能是诱发胃黏膜癌前病变组织 TGF- β RI 表达缺失,进而逃避 TGF- β_1 诱导的细胞凋亡,丧失胃黏膜高增殖状态下 DNA 复制的精密性,从而向癌变演化过程的重要影响因素^[6]。

资料中 CSG、IM 到中度、重度 Dys 组 Hp 阳性者 TGF- β RI 的表达水平与病变的严重程度呈负相关,表明 Hp 感染在 Hp 相关性胃炎与胃黏膜癌前病变中可明显下调 TGF- β RI 的表达。

4 参考文献

- [1] 朱亚杰,邱萌,周继陶,等. 胃癌中 P53 蛋白转录调控活性的分析及其临床意义[J]. 中华医学遗传杂志, 2010(1):60-65.
- [2] Gu YM, Ma YH, Zhao WG, et al. Dickkopf3 over expression inhibits pancreatic cancer cell growth *in vitro* [J]. World J Gastroenterol, 2011(33):3810-3817.
- [3] Tsai KW, Wu CW, Hu LY, et al. Epigenetic regulation of miR-34b and miR-129 expression in gastric cancer[J]. Int J Cancer, 2011(11):2600-2610.
- [4] Ding WJ, Fang JY, Chen XY, et al. The expression and clinical significance of DNA methyltransferase proteins in human gastric cancer[J]. Dig Dis Sci, 2008(8):2083-2089.
- [5] Yokobori T, Mimori K, Iwatsuki M, et al. p53-Altered FBXW7 expression determines poor prognosis in gastric Cancer cases[J]. Cancer Res, 2009(9):3788-3794.
- [6] Sirak I, Petera J, Hatlova J, et al. Expression of p53, p21 and p16 does not correlate with response to preoperative chemoradiation in gastric carcinoma[J]. Hepatogastroenterology, 2009(93):1213-1218.

(2012-09-25 收稿, 2012-11-13 修回)

编辑:潘 娅