

幽门螺杆菌iceA基因型与胃黏膜病变的相关性

张彩凤, 夏永华, 韩宇, 常廷民

■背景资料

iceA基因是*H. pylori*与胃黏膜细胞接触后诱导表达的基因, 包括iceA1、iceA2两个等位基因, 分别存在于不同的*H. pylori*菌株中, 被认为是*H. pylori*的又一致病因子。目前国内外关于iceA基因与胃黏膜病变相关性的研究较少。

张彩凤, 韩宇, 常廷民, 新乡医学院第一附属医院消化科 河南省卫辉市 453100

夏永华, 新乡医学院第一附属医院皮肤科 河南省卫辉市 453100

作者贡献分布: 张彩凤对文章的贡献最大, 其他作者贡献率按排序依次递减。此课题由张彩凤、夏永华设计; 研究过程由张彩凤、常廷民、韩宇操作完成; 数据分析由张彩凤、夏永华完成; 本论文写作由张彩凤、夏永华、韩宇完成。

通讯作者: 张彩凤, 453100, 河南省卫辉市, 新乡医学院第一附属医院消化科。zhangcaifeng666@163.com

电话: 0373-4404195

收稿日期: 2008-03-08 修回日期: 2008-04-18

接受日期: 2008-04-28 在线出版日期: 2008-07-18

Correlation between iceA genotypes of *Helicobacter pylori* and gastric mucosal lesion

Cai-Feng Zhang, Yong-Hua Xia, Yu Han, Ting-Min Chang

Cai-Feng Zhang, Yu Han, Ting-Min Chang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, He'nan Province, China

Yong-Hua Xia, Department of Dermatology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, He'nan Province, China

Correspondence to: Cai-Feng Zhang, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, He'nan Province, China. zhangcaifeng666@163.com

Received: 2008-03-08 Revised: 2008-04-18

Accepted: 2008-04-28 Published online: 2008-07-18

Abstract

AIM: To determine the correlation between iceA genotypes of *H. pylori* and gastric mucosal lesion.

METHODS: *H. pylori* strains were isolated from 552 patients with chronic gastritis. The iceA gene was amplified using PCR. The correlation between iceA genotypes and gastric mucosal lesion was analyzed.

RESULTS: Single iceA1 detected was 67.21%, single iceA2 detected was 21.74%, double infection of iceA1 and iceA2 detected was 7.61%, and iceA1 and iceA2 absent was 3.44%. There was significant difference between the positive rate of iceA1 and that of other genotypes, the positive rate of iceA1 was higher in severe inflamma-

tory cases than in moderate inflammatory cases (83.1% vs 10.8%, 85.5% vs 10.5%, 75.6% vs 13.0%, 75.6% vs 13.0%, all $P < 0.05$). The positive rate of iceA1 in gland analosis, intestinal metaplasia was higher than that of other groups ($P < 0.05$). The iceA1 in gastric mucosal lesion was significantly different from those uninfected ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The iceA1 is the dominant genotype of *H. pylori* in He'nan Province, China. The positive rate of iceA1 increases as inflammation degree becomes severe. The positive of iceA1 has close relationship with hyperphlogosis, especially in gland analosis and intestinal metaplasia.

Key Words: *Helicobacter pylori*; iceA Genotypes; Gastric mucosal lesion; Polymerase chain reaction

Zhang CF, Xia YH, Han Y, Chang TM. Correlation between iceA genotypes of *Helicobacter pylori* and gastric mucosal lesion. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(20): 2312-2315

摘要

目的: 研究幽门螺杆菌(*H. pylori*)iceA基因型与胃黏膜病变的相关性。

方法: 用PCR方法检测552例慢性胃炎患者胃黏膜活检标本中*H. pylori*的iceA基因在慢性炎症、活动性炎症、腺体萎缩和肠上皮化生中的存在情况。

结果: 在552例样本中, iceA1和iceA2亚型菌株单独检出率分别为67.2%, 21.7%, iceA1和iceA2亚型均阳性的检出率7.6%, iceA1和iceA2亚型均阴性的比率3.4%。在*H. pylori*感染的慢性炎症、活动性炎症、腺体萎缩、肠上皮化生的重度炎症iceA1的阳性率明显高于中度炎症, 两者比较差异有统计学意义(83.1% vs 10.8%, 85.5% vs 10.5%, 75.6% vs 13.0%, 75.6% vs 13.0%, 均 $P < 0.05$)。腺体萎缩和肠上皮化生iceA1的阳性率明显高于其他组($P < 0.05$)。感染iceA1亚型菌株与未感染iceA1亚型的胃黏膜病变程度差异有显著性($P < 0.05$)。

■同行评议者

沈薇, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科; 白爱平, 副教授, 南昌大学第一附属医院消化病研究所

结论: iceA1是河南地区的优势基因亚型, iceA1阳性率随炎症程度加重逐渐升高. iceA1亚型菌株与重度炎症特别是腺体萎缩和肠上皮化生关系密切.

关键词: 幽门螺杆菌; iceA; 胃黏膜病变; 聚合酶链反应

张彩凤, 夏永华, 韩宇, 常廷民. 幽门螺杆菌iceA基因型与胃黏膜病变的相关性. 世界华人消化杂志 2008; 16(20):2312-2315
http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/2312.asp

0 引言

幽门螺杆菌(*H pylori*)感染是慢性胃炎的主要病因已得到国内外大多数学者的认可, 被世界卫生组织定义为 I 类致癌因子, 有关*H pylori*感染与不同类型胃黏膜病变相关性研究也有较多报道. iceA基因是*H pylori*与胃黏膜细胞接触后诱导表达的基因, 包括iceA1、iceA2两个等位基因, 分别存在于不同的*H pylori*菌株中, 被认为是*H pylori*的又一致病因子^[1]. 目前国内外关于iceA基因与胃黏膜病变相关性的研究较少. 我们采用病理组织切片、Giemsa染色检测*H pylori*, 按照2006年全国慢性胃炎研讨会病理诊断分级标准定义胃黏膜病变^[1], 分析我院临床分离的*H pylori*菌株的iceA基因类型, 探讨其与胃黏膜病变相关性.

1 材料和方法

1.1 材料 我院2003-07/2007-12期间慢性胃炎患者的胃黏膜活检标本共552例, 均分离培养出*H pylori*菌株. 男283例, 女269例, 年龄13-85(平均47.6±15.7)岁. 其中慢性炎症组148例, 活动性炎症组136例, 腺体萎缩组130例, 肠上皮化生组138例, 疾病的诊断依据胃镜和胃黏膜活检组织学检查^[1].

1.2 方法 取胃黏膜活检组织4块(胃窦大、小弯侧、胃角和胃体各1块), 经常规切片厚约5 μm, 进行Giemsa染色, 病理检查按照2006年全国慢性胃炎研讨会病理诊断分级标准, 将胃黏膜炎症分为*H pylori*感染合并慢性炎症、活动性、萎缩和肠化, 分为轻度、中度和重度4级^[1].

*H pylori*菌株的培养与鉴定^[2,8]胃窦黏膜活检标本接种于选择性琼脂培养基上(含7.5%羊血及抗生素), 于37℃微需氧环境中培养3-5 d, 分离菌落, 经菌落形态、涂片染色以及生化反应(尿素酶、过氧化氢酶、氧化酶)证实, 冻存于-70℃备用. 模板DNA的制备^[2,8]用1次性DNA抽提试

表 1 iceA基因PCR引物序列

目的基因	引物序列	产物的大小(bp)
iceA1F	5'-GTGTTTTTAACCAAAGTATC-3'	246
iceA1R	5'-CTATAGCCAGTCTCTTTGCA-3'	
iceA2F	5'-GTTGGGTATATCACAATTTAT-3'	
iceA2R	5'-TTGCCCTATTTTCTAGTAGGT-3'	229
		334
F1	5'-GATAACAGGCAAGCTTTTGAGG-3'	349
B1	5'-CTGCAAAAGATTGTTTGGCAGA3'	

表 2 在各种胃黏膜病变中iceA的检出情况

基因型	慢性炎症	活动性炎症	腺体萎缩	肠上皮化生	总计
iceA1	80	73	106	112	371
iceA2	23	25	33	39	120
iceA1+iceA2	3	3	17	19	42
总计	106	101	156	170	533

剂盒提取冻存*H pylori*菌株的基因组DNA, 保存于-70℃备用. iceA基因PCR引物设计(表1)^[2,8], 由傅亚生物有限公司合成. PCR反应^[2,8]: 总体积为25 μL. iceA、cagA的反应条件为10*反应缓冲液2.5 μL, dNTP 0.5 μL, 引物1、引物2各0.5 μL, TaqE 1 U, 模板DNA 4 μL. iceA、cagA的扩增条件为94℃ 40 s、54℃ 40 s、72℃ 1 min, 共35个循环. PCR扩增产物均在傅亚生物有限公司进行测序, 并经20 g/L的琼脂糖凝胶电泳分析, 电脑图像分析仪观察、分析和摄像记录结果.

统计学处理 采用SPSS10.0软件包进行数据处理, 各组间比较用 χ^2 检验, $P<0.05$.

2 结果

iceA1亚型菌株单独检出率67.2%(371/552), iceA2亚型菌株单独检出率21.7%(120/552), iceA1和iceA2亚型均阳性的检出率7.6%(42/552), iceA1和iceA2亚型均阴性的比率3.4%(19/552), iceA1亚型阳性率与其他基因亚型相比较, 差异有显著性($P<0.05$); iceA1亚型是河南地区感染*H pylori*的优势基因亚型(表2). 图1-2为iceA1、iceA2基因片段扩增结果. 在*H pylori*感染的慢性炎症组、活动性炎症组、腺体萎缩组和肠上皮化生组iceA1的阳性率分别为56.1%(83/148), 55.9%(76/136), 94.6%(123/130)和94.9%(131/138), 其中重度炎症组明显高于轻度和中度炎症组, 两者比较差异

■应用要点

本文从*H pylori*致病基因iceA着手, 研究其与胃黏膜病变的相关性, 可以进一步了解*H pylori*对慢性胃炎的致病机制并指导临床合理抗*H pylori*治疗.

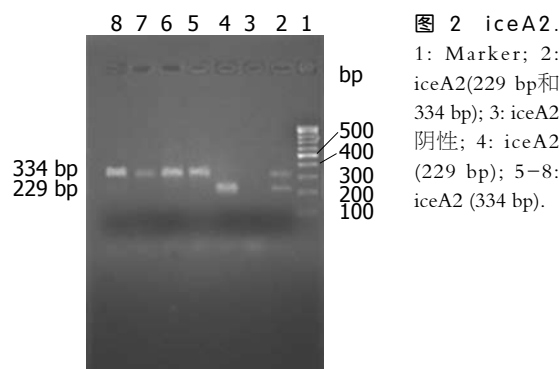
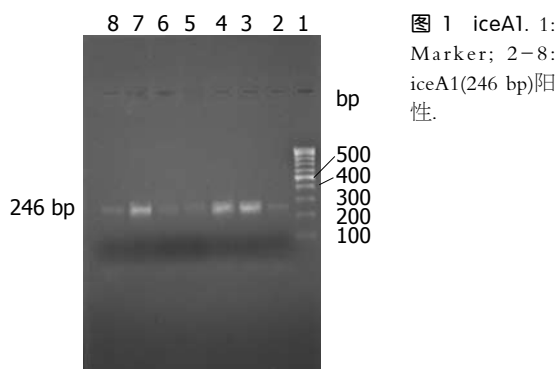
同行评价

本文选题准确, 相关研究报道不多见, 有一定新意及科学价值.

表 3 在各种胃黏膜病变中iceA1检出率比较 $n(\%)$

程度	慢性炎症	活动性炎症	腺体萎缩	肠上皮化生	总计
轻度	5(6.0)	3(4.0)	14(11.4)	15(11.5)	37(9.0)
中度	9(10.8)	8(10.5)	16(13.0)	17(13.0)	50(12.1)
重度	69(83.1) ^a	65(85.5) ^a	93(75.6) ^a	99(75.6) ^a	326(79.0)
总计	83(56.1)	76(55.9)	123(94.6) ^c	131(94.9) ^c	413

^a $P < 0.05$ vs 中度; ^c $P < 0.05$ vs 慢性炎症、活动性炎症.



有统计学意义($P < 0.05$). 腺体萎缩组和肠上皮化生组iceA1的阳性率明显高于其他组($P < 0.05$). 表明随着炎症程度加重, 其iceA1的阳性率逐渐升高, 其感染程度也明显加重. 感染iceA1亚型菌株与未感染iceA1亚型的胃黏膜病变程度差异有显著性(67.2% vs 21.7%, 67.2% vs 7.6%, 67.2% vs 3.4%, $P < 0.05$, 表3).

3 讨论

*H pylori*感染是造成胃黏膜炎症的明确病因, 感染越重, 其炎症程度也越重, 病理检查时如发现胃黏膜炎症程度较重时, 应警惕*H pylori*感染的存在. 有研究资料表明, 清除*H pylori*后胃黏膜炎症得到明显减轻^[4]. iceA基因是*H pylori*与胃黏膜细胞接触后诱导表达的基因, 包括iceA1、iceA2两个等位基因, 分别存在于不同的*H pylori*菌株中. 其中iceA2基因变异较大, 229、334、549 bp都可检测到. iceA1在大部*H pylori*菌株中并不是编码一个功能蛋白, 而是在转录水平调节其下游HpyIM基因的表达, 通过DNA甲基化水平的改变来调控相关毒力基因的表达, 从而间接参与*H pylori*的致病作用^[10]. 在不同地区有不同的优势菌株^[10-12], iceA1亚型的菌株被认为与十二指肠球部溃疡的发生密切相关, Wu et al^[9]认为, iceA1与慢性胃炎相关, iceA2亚型的菌株与慢性胃炎的发生相关, 被认为是*H pylori*的又一致病因子, 而且和细胞毒素相关蛋白基因cagA, 空泡

细胞毒素基因vacA关系密切^[2,13-14]. 但国内关于iceA基因型与各种胃黏膜病变的研究较少.

胃黏膜病变中慢性萎缩性胃炎和肠上皮化生的出现一直为众多学者所关注. Correa提出了胃癌发病的过程, 即慢性胃炎→萎缩→肠化生→异型增生→胃癌. 感染*H pylori*后, 可引起胃黏膜长期慢性炎症反应, 产生氧自由基, 胃黏膜上皮细胞增殖和凋亡程度也发生改变, 且易于导致腺体萎缩和肠化生, 诱导DNA发生突变, 最终发生癌变. 阻断胃黏膜萎缩和肠化生的进一步发展可预防胃癌的发生. 根除*H pylori*后胃黏膜腺体萎缩和肠化生可以得到不同程度改善^[16]. 周丽雅 et al^[5]的为期8年的随访研究中, *H pylori*阴性组胃体萎缩较阳性组显著减轻, 胃癌发生率显著降低, 提示根除*H pylori*能降低发生胃癌的风险. 吕宾 et al^[7]对胃窦部萎缩患者随访3年, 根除*H pylori*后萎缩评分明显下降, 而未行*H pylori*根除的治疗组萎缩评分无明显变化. 何家敏 et al^[6]认为对于慢性胃炎患者, 若合并胃黏膜萎缩和肠化生, 同时*H pylori*阳性, 根除*H pylori*治疗后, 胃黏膜萎缩和肠化生的程度明显改善, 部分逆转到正常. 李志义 et al^[3]研究发现伴淋巴滤泡形成或伴肠上皮化生病例中, 重度炎症的*H pylori*感染率均比中度炎症高, 和本试验持相同观点. 提示*H pylori*感染与胃黏膜萎缩和肠上皮化生关系密切, 根除*H pylori*可以改善预后.

我们的结果显示, iceA1亚型菌株是河南

地区感染*H pylori*的优势菌株, 炎症程度越重, iceA1亚型菌株的感染率越高。在腺体萎缩组和肠上皮化生组iceA1的阳性率明显高于慢性炎症组和活动性炎症组。而iceA被认为是*H pylori*的致病因子, 表明iceA1亚型菌株的感染是导致炎症程度较重的指标之一。此外, 我们观察到, 腺体萎缩组和肠上皮化生组中, 重度炎症的iceA1亚型菌株的感染率均明显比较轻、中度炎症高, 提示iceA1亚型菌株与炎症程度、腺体萎缩和肠上皮化生密切相关, 在胃黏膜病变程度中容易引起较严重的慢性胃炎。

总之, iceA1亚型菌株与中重度炎症特别是腺体萎缩和肠上皮化生关系密切, 根除*H pylori*可以阻断胃黏膜萎缩和肠化生的进一步发展, 从而改善预后, 特别是根除iceA1亚型菌株可能有重要的临床意义。

4 参考文献

- 1 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见. 现代消化及介入诊疗 2007; 12: 55-61
- 2 张彩凤, 林志辉. 幽门螺杆菌iceA、cagA相关性研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2006; 15: 584-586
- 3 李志义, 刘斌, 吴启峰. 幽门螺杆菌感染与胃黏膜病变的相关性研究. 中华消化杂志 2007; 27: 52-54
- 4 潭水港, 陈冷艳. 幽门螺杆菌根除治疗前后胃粘膜病变特点分析. 广东药学院学报 2001; 17: 229-230
- 5 周丽雅, 林三仁, 丁士刚, 黄雪彪, 郭长吉, 张莉, 崔荣丽, 金珠, 孟灵梅, 张静. 根除幽门螺杆菌对胃癌患病率及胃黏膜组织学变化的八年随访研究. 中华消化杂志 2005; 25: 324-327
- 6 何家敏, 姚忆蓉, 袁如华. 根除幽门螺杆菌对慢性胃炎胃黏膜萎缩、肠化生的影响. 中国临床实用医学 2007; 1: 50-51
- 7 吕宾, 王慧萍, 陈明涛, 范一宏, 孟立娜. 根除幽门螺杆菌对胃黏膜萎缩和肠化影响的随访研究. 中华内科杂志 2004; 43: 299-301
- 8 张彩凤, 林志辉, 吴芳, 陈明红, 王辛, 付丹, 潘秀珍, 彭孝纬. *H pylori* iceA基因与慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌的关系. 世界华人消化杂志 2005; 13: 685-687
- 9 Wu CC, Chou PY, Hu CT, Liu ZC, Lin CY, Tseng YH, Lin NT. Clinical Relevance of the vacA, iceA, cagA, and flaA genes of *Helicobacter pylori* strains isolated in Eastern Taiwan. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2913-2915
- 10 庄坤, 张军, 张玲霞, 张沥, 张建中. 西安地区幽门螺杆菌iceA1、iceA2和babA2基因型与致病性的研究. 细胞与分子免疫学杂志 2007; 23: 520-522
- 11 Nimri LF, Matalka I, Bani Hani K, Ibrahim M. *Helicobacter pylori* genotypes identified in gastric biopsy specimens from Jordanian patients. *BMC Gastroenterol* 2006; 6: 27
- 12 Smith SI, Kirsch C, Oyediji KS, Arigbabu AO, Coker AO, Bayerdörfer E, Miehke S. Prevalence of *Helicobacter pylori* vacA, cagA and iceA genotypes in Nigerian patients with duodenal ulcer disease. *J Med Microbiol* 2002; 51: 851-854
- 13 Caner V, Yilmaz M, Yoneti N, Zencir S, Karagenc N, Kaleli I, Bagci H. *H pylori* iceA alleles are disease-specific virulence factors. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2581-2585
- 14 Lin YF, Gong ST, Ou WJ, Pan RF, Huang H, He WE, Liu LY, Huo XH, Chen BX. [Genotypic study on the *Helicobacter pylori* vacA, cagA and iceA genes in the infected children in Guangzhou area] *Zhonghua Erke Zazhi* 2007; 45: 703-707
- 15 Wu CC, Chou PY, Hu CT, Liu ZC, Lin CY, Tseng YH, Lin NT. Clinical Relevance of the vacA, iceA, cagA, and flaA genes of *Helicobacter pylori* strains isolated in Eastern Taiwan. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2913-2915
- 16 Lin HJ, Perng CL, Lo WC, Wu CW, Tseng GY, Li AF, Sun IC, Ou YH. *Helicobacter pylori* cagA, iceA and vacA genotypes in patients with gastric cancer in Taiwan. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2493-2497

编辑 潘伯荣 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志作者贡献及同行评议公开政策

本刊讯 本刊实行作者贡献及同行评议公开政策, 具体格式如: (1)作者贡献分布: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川, 庞丽娟, 陈玲, 杨兰, 张金芳, 齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲, 杨兰, 张金芳, 蒋金芳, 杨磊, 李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川, 杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川, 庞丽娟及李洪安完成. (2)同行评议者: 房静远教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所; 韩新巍教授, 郑州大学第一附属医院放射科; 匡安仁教授, 四川大学华西医院核医学科. (常务副总编辑: 张海宁 2008-07-18)