

- 2 李继强. 脂肪肝的影像学诊断. 范建高, 曾民德:脂肪肝. 上海: 上海医科大学出版社, 2000:187-190
- 3 曾民德. 脂肪肝. 中华消化杂志 1999;19:120-122
- 4 范建高, 曾民德, 王国良. 脂肪肝的发病机制. 世界华人消化杂志 1999;7:75-76
- 5 钟岚, 王国良, 范建高. 非酒精性脂肪性肝炎的研究进展. 肝脏 1999;4:177
- 6 曾民德. 降血脂药物在脂肪肝治疗中的应用. 中华肝脏病杂志 2000;8:116-117
- 7 张学武, 周敏, 胡国启. 熊去氧胆酸联合护肝片治疗非酒精性脂肪性肝炎. 中西医结合肝病杂志 2003;13:8-9
- 8 刘燕玲, 陈玉华. 浅谈脂肪肝的中医药治疗. 北京中医药大学学报 1995;18:54-55
- 9 殷国健, 朱向前, 徐力. 中西医结合治疗高脂血症脂肪肝疗效观察. 实用中西医结合杂志 1994;7:104-105
- 10 王浴生, 邓文龙, 薛春生. 中药药理与应用. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1998:70-77
- 11 罗国钧, 罗海琪. 脂肪肝的诊治思路及临床研究进展. 山西中医 1999;15:51-53
- 12 汪萌, 鞠传兰. 中医药治疗脂肪肝近况. 山东中医杂志 1999;18:239-240
- 13 于英春(译). 高脂血症与汉方. 国外医学·中医中药分册 1986;2:19
- 14 钟岚, 范建高, 王国良. 熊去氧胆酸在慢性肝病中的应用及机制. 国外医学·消化系疾病分册 1999;19:91-94
- 15 Elsing C, Sagesser H, Reichen J. Ursodeoxycholate-induced hypercholesterolemia in cirrhotic rats; Further evidence for cholehepatic shunting. *Hepatology* 1994;20:1048-1054
- 16 Rodrigues CMP, Fan G, Ma X, Kren BT, Steer CJ. A novel role for ursodeoxycholic acid in inhibiting apoptosis by modulating mitochondrial membrane perturbation. *J Clin Invest* 1998;101:2790-2799
- 17 Yerushalmi B, Dahl R, Devereaux MW, Gumprecht E, Sokol RJ. Bile acid-induced rat hepatocyte apoptosis is inhibited by antioxidants and blockers of the mitochondrial permeability transition. *Hepatology* 2001;33:616-626
- 18 Guldiituna S, Zimmer G, Imhof M, Bhatti S, You T, Leuschner U. Molecular aspects of membrane stabilization by ursodeoxycholate. *Gastroenterology* 1993;104:1736-1744
- 19 Calmas Y, Gane P, Rouger P, Poupon R. Hepatic expression of class I and class II major histocompatibility complex molecules in primary biliary cirrhosis: Effect of ursodeoxycholic acid. *Hepatology* 1990;11:12-15
- 20 Yoshikawa M, Tsujii T, Matsumura K, Yamao J, Matsumura Y, Kubo R, Fukui H, Ishizaka S. Immunomodulatory effects of ursodeoxycholic acid on immune response. *Hepatology* 1992;16:358-364
- 21 Keith BD. Ursodeoxycholic acid to inhibit the growth of hepatic metastases. *Med Hypotheses* 2000;55:379-382

编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 临床经验 •

## *H pylori* iceA 基因与慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌的关系

张彩凤, 林志辉, 吴芳, 陈明红, 王辛, 付丹, 潘秀珍, 彭孝纬

张彩凤, 林志辉, 吴芳, 陈明红, 王辛, 付丹, 潘秀珍, 彭孝纬, 福建医科大学福建省立临床医院消化内科 福建省福州市 350001  
福建省卫生厅科研基金项目, No. 200022

项目负责人: 林志辉, 350001, 福建省福州市东街134号, 福建医科大学福建省立临床医院消化内科.

电话: 0591-87699780

收稿日期: 2004-11-12 接受日期: 2004-11-29

### 摘要

**目的:** 研究幽门螺杆菌(*H pylori*)的 iceA 基因与慢性胃炎、消化性溃疡和胃癌的关系。

**方法:** 从胃十二指肠疾病的患者胃镜活检标本中分离培养 *H pylori*, PCR 扩增检测 *H pylori* 的 iceA 基因共 138 例, 其中慢性浅表性胃炎 47 例、慢性萎缩性胃炎 22 例、消化性溃疡 49 例和胃癌 20 例。

**结果:** 138 例中 iceA1 基因、iceA2 基因总的阳性率分别为 47.1% 和 47.8%, 其中 36 例(26.1%)为 iceA1 和 iceA2 均阳性, 43 例(31.2%)为 iceA1 和 iceA2 均阴性。iceA1 在慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎、消化性溃疡及胃癌患者 *H pylori* 中的

阳性率分别为 44.7%、40.1%、59.2%、30.0%, iceA2 基因的阳性率分别为 53.2%、31.8%、65.3%、10.0%, iceA1 和 iceA2 在消化性溃疡中的检出率明显高于其他疾病组。

**结论:** *H pylori* 的 iceA1 和 iceA2 基因与消化性溃疡的发病相关。

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(5): 685-687

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/685.asp>

### 0 引言

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, 被认为可能是 *H pylori* 的又一致病因子. iceA 基因能不能作为 *H pylori* 致病性和毒力的流行病学标志, 其等位基因的类型及意义有待于进一步研究确定. 我们分析福建地区临床分离的 *H pylori* 菌株的 iceA 基因类型, 探讨其与胃十二指肠疾病关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 分离的 *H. pylori* 菌株来自 2003-2004 年在我院接受内镜检查的 138 例患者, 其中慢性浅表性胃炎 47 例, 慢性萎缩性胃炎 22 例, 消化性溃疡 49 例和胃癌 20 例. 疾病的诊断依据胃镜和病理学检查.

**1.2 方法** 胃窦黏膜活检标本接种于选择性琼脂培养基上 (含 75 mL/L 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. 用一次性 DNA 抽提试剂盒提取冻存 *H. pylori* 菌株的基因组 DNA, 保存于 -70℃ 备用. iceA 基因 PCR 引物设计由博亚生物有限公司合成 (表 1). PCR 反应总体积为 25 μL. iceA 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, TaqE1U, 模板 DNA 4 μL. iceA 的扩增条件为 94℃ 40 s, 54℃ 40 s, 72℃ 1 min, 共 35 个循环. PCR 扩增产物经 20 g/l 的琼脂糖凝胶电泳, 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  $\chi^2$  检验和 Fisher 精确检验,  $P < 0.05$  为差异有显著性.

## 2 结果

在 138 株 *H. pylori* 临床菌株中, iceA1 和 iceA2 的总检出率分别为 47.1% 和 47.8%, 其中 36 例 (26.1%) 为 iceA1 和 iceA2 均阳性, 43 例 (31.2%) 为 iceA1 和 iceA2 均阴性. 图 1 为 iceA1 和 iceA2 基因片段扩增结果. iceA1 和 iceA2 基因消化性溃疡组 (59.2%, 65.3%) 的检出率显著高于慢性胃炎 (43.5%, 46.4%) 和胃癌 (30%, 10%) 组 ( $P < 0.05$ ), 其他疾病组之间的 iceA1 和 iceA2 的检出率无显著性差异 ( $P > 0.05$ ). iceA1 基因和 iceA2 基因同时阳性的菌株有 36 例, 其中慢性浅表性胃炎有 12 (33.3%) 例, 慢性萎缩性胃炎有 4 例 (11.1%), 消化性溃疡有 20 例 (55.6%), 没有发现胃癌患者中有混合感染. iceA2 基因表现为 229 bp 和 334 bp 的片段, 部分菌株可同时具有 229 bp 和 334 bp 的基因片段. iceA2 的基因片段扩增结果在不同疾病的检出率有差别 (表 2).

表 1 iceA 基因 PCR 引物

目的基因	引物序列	产物的大小
iceA1F	5' GTGTTTTTAACCAAAGTATC3'	246 bp
iceA1R	5' CTATAGCCAGTCTCTTTGCA3'	
iceA2F	5' GTTGGGTATATCACAATTTAT3'	
iceA2R	5' TTGCCCTATTTTCTAGTAGGT3'	229 bp 334bp

表 2 iceA2 基因片段在不同疾病中的检出 n(%)

诊断	229 bp	334 bp	229 bp+334 bp	合计
慢性浅表性胃炎	9(36.0)	7(28.0)	9(36.0)	25(37.9)
慢性萎缩性胃炎	2(28.0)	4(57.1)	1(14.3)	7(10.6)
消化性溃疡	7(21.9)	13(40.6)	12(37.5)	32(48.5)
胃癌	1(50.0)	1(50.0)	0(0.0)	2(3.0)

## 3 讨论

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, 可表现为 229 bp、334 bp、549 bp 不同长度基因片段. iceA1 被认为与十二指肠球部溃疡的发生密切相关, 而具有 iceA2 的 *H. pylori* 菌株与慢性胃炎的发生相关, 也有学者认为 iceA2 基因与消化性溃疡相关, 因此被认为是 *H. pylori* 的又一致病基因<sup>[4-9]</sup>. iceA1 与编码乳糖奈瑟菌的核酸内切酶基因 nla III R 同源, 但在蛋白水平的同源性仅有 52%, iceA2 基因的变异较大, 基因库中尚未见其有同源序列的存在<sup>[11-15]</sup>. 由于文献所报告的结果差异较大, iceA 基因能不能作为 *H. pylori* 致病性和毒力的流行病学标志, 其等位基因类型的相关研究的意义有待于进一步研究确定. 不同国家的学者报告的 iceA1、iceA2 检出率及其与消化系统疾病的关系也不尽相同. 在巴西<sup>[1]</sup> iceA2 型 *H. pylori* 菌株的检出率为 90.1%, 与消化性溃疡关系密切. Van Doorn *et al*<sup>[2]</sup> 报道 iceA1 基因的检出率为 56.4%, iceA2 基因的检出率为 26.6%, iceA1 基因和 iceA2 基因都为阳性的检出率为 14.9%, 提示部分患者可能存在 iceA1 和 iceA2 阳性的混合感染情况. iceA1 基因和消化性溃疡相关. iceA1、iceA2 何者与消化性溃疡有关, 或二者都有关, 有待进一步研究. 国内 iceA 基因的研究较少, 有限的文献认为 iceA 基因与消化系统疾病没有关系<sup>[3]</sup>.

迄今为止, 关于 *H. pylori* iceA 基因与胃十二指肠疾病关系有大量截然相反的研究报道, 这些相反结果可能与下列因素有关: (1) 不同地区的 *H. pylori* 菌株的 iceA 基因表达与否及表达类型不同; (2) iceA 基因可能

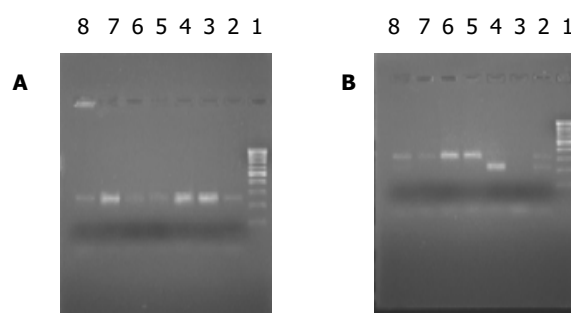


图 1 基因片段的扩增结果. A: iceA1: 1 为 100 bp 标志, 2-8 iceA1 扩增片段; B: iceA2: 1 为 100 bp 标志, 2、8 为同时有 229 bp 和 334 bp, 3 为 iceA2 阴性, 4 为 229 bp, 5-7 为 334 bp.

和 *H. pylori* 菌株的其他基因存在协同作用. 或存在更重要的毒力基因; (3) *H. pylori* 感染个体的宿主因素、环境因素等相互作用的相互作用的结果. 本结果显示在福建地区人群中, *iceA1* 基因总的阳性率为 47.1%, *iceA2* 基因总的阳性率为 47.8%. 慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎、消化性溃疡和胃癌患者中分离的 *H. pylori* 菌株中, 消化性溃疡患者感染的 *H. pylori* 菌株 *iceA1* 基因和 *iceA2* 基因的阳性率均明显高于其他组. 对 *iceA2* 基因进行扩增时, 只出现了 229 bp 和 334 bp, 而没有发现文献中所报道的 549 bp 片段<sup>[2]</sup>, 日本分离的 *H. pylori* 也不具有 549 bp 的 *iceA2* 基因片段<sup>[4]</sup>. 我们发现 26.1% 患者同时存在 *iceA1+* 和 *iceA2+* 菌株混合性感染<sup>[10]</sup>, 高于多数文献报道情况<sup>[2]</sup>. 其原因除地域差异外, 尚需进一步研究分析. 我们认为 *iceA* 基因(包括 *iceA1*, *iceA2*) 在消化性溃疡的发病中起着重要作用, *iceA1*, *iceA2* 阳性的 *H. pylori* 菌株感染者将更有可能发生消化性溃疡. *iceA1*, *iceA2* 阳性的 *H. pylori* 菌株可以在同一患者中出现, 因此在 *H. pylori* 的防治中也应重视混合感染的存在.

#### 4 参考文献

- 1 Ashour AA, Collares GB, Mendes EN, de Gusmao VR, Queiroz DM, Magalhaes PP, de Carvalho AS, de Oliveira CA, Nogueira AM, Rocha GA, Rocha AM. *iceA* genotypes of *Helicobacter pylori* strains isolated from Brazilian children and adults. *J Clin Microbiol* 2001;39:1746-1750
- 2 Van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, Pena S, Midolo P, Ng EK, Atherton JC, Blaser MJ, Quint WG. Expanding allelic diversity of *Helicobacter pylori* *vacA*. *J Clin Microbiol* 1998;36:2597-2603
- 3 Perng CL, Lin HJ, Lo WC, Tseng GY, Sun IC, Ou YH. Genotypes of *Helicobacter pylori* in patients with peptic ulcer bleeding. *World J Gastroenterol* 2004;10:602-605
- 4 Yamaoka Y, Malaty HM, Osato MS, Graham DY. Conservation of *Helicobacter pylori* genotypes in different ethnic groups in houston, texas. *J Infect Dis* 2000;181:2083-2086
- 5 Ryan KA, van Doorn LJ, Moran AP, Glennon M, Smith T, Maher M. Evaluation of clarithromycin resistance and *cagA* and *vacA* genotyping of *Helicobacter pylori* strains from the west of Ireland using line probe assays. *J Clin Microbiol* 2001;39:1978-1980
- 6 Warburton-Timms VJ, Charlett A, Valori RM, Uff JS, Shepherd NA, Barr H, McNulty CA. The significance of *cagA*(+) *Helicobacter pylori* in reflux oesophagitis. *Gut* 2001;49:341-346
- 7 Kidd M, Lastovica AJ, Atherton JC, Louw JA. Conservation of the *cag* pathogenicity island is associated with *vacA* alleles and gastroduodenal disease in South African *Helicobacter pylori* isolates. *Gut* 2001;49:11-17
- 8 Tombola F, Pagliaccia C, Campello S, Telford JL, Montecucco C, Papini E, Zoratti M. How the loop and middle regions influence the properties of *Helicobacter pylori* *VacA* channels. *Biophys J* 2001;81:3204-3215
- 9 Gonzalez-Valencia G, Atherton JC, Munoz O, Dehesa M, la Garza AM, Torres J. *Helicobacter pylori* *vacA* and *cagA* genotypes in Mexican adults and children. *J Infect Dis* 2000;182:1450-1454
- 10 Kidd M, Peek RM, Lastovica AJ, Israel DA, Kummer AF, Louw JA. Analysis of *iceA* genotypes in South African *Helicobacter pylori* strains and relationship to clinically significant disease. *Gut* 2001;49:629-635
- 11 Kuipers EJ, Israel DA, Kusters JG, Gerrits MM, Weel J, van Der Ende A, van Der Hulst RW, Wirth HP, Hook-Nikanne J, Thompson SA, Blaser MJ. Quasispecies development of *Helicobacter pylori* observed in paired isolates obtained years apart from the same host. *J Infect Dis* 2000;181:273-282
- 12 Netzer P, Gut A, Brundler R, Gaia C, Halter F, Inauen W. Influence of pantoprazole on oesophageal motility, and bile and acid reflux in patients with oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:1375-1384
- 13 Zheng PY, Hua J, Yeoh KG, Ho B. Association of peptic ulcer with increased expression of Lewis antigens but not *cagA*, *iceA*, and *vacA* in *Helicobacter pylori* isolates in an Asian population. *Gut* 2000;47:18-22
- 14 Gottke MU, Fallone CA, Barkun AN, Vogt K, Loo V, Trautmann M, Tong JZ, Nguyen TN, Fainsilber T, Hahn HH, Korber J, Lowe A, Beech RN. Genetic variability determinants of *Helicobacter pylori*: influence of clinical background and geographic origin of isolates. *J Infect Dis* 2000;181:1674-1681
- 15 Tombola F, Del Giudice G, Papini E, Zoratti M. Blockers of *VacA* provide insights into the structure of the pore. *Biophys J* 2000;79:863-873

编辑 潘伯荣 审读 张海宁