

# 肠化胃黏膜病变组织HSP60的表达与幽门螺杆菌感染的相关性

刘东屏, 吕晓辉, 张艳梅, 王炳元

## ■背景资料

热休克蛋白(HSP)是一种高水平表达的蛋白, HSP在分子伴侣及细胞保护方面的作用日益受到重视。HSP在肠化胃黏膜中的表达及与幽门螺旋杆菌(*H pylori*)的关系的研究报道较少, HSP在*H pylori*感染过程中生物和免疫反应可能对疾病的治疗有重要的指导意义。

刘东屏, 吕晓辉, 张艳梅, 王炳元, 中国医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001

通讯作者: 刘东屏, 110001, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属第一医院消化内科. dpl19632003@yahoo.com.cn  
电话: 024-83282199

收稿日期: 2006-11-14 接受日期: 2006-12-18

## Expression of heat shock protein 60 in gastric mucosa with intestinal metaplasia and its correlation with *Helicobacter pylori* infection

Dong-Ping Liu, Xiao-Hui Lv, Yan-Mei Zhang, Bing-Yuan Wang

Dong-Ping Liu, Xiao-Hui Lv, Yan-Mei Zhang, Bing-Yuan Wang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Dong-Ping Liu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. dpl19632003@yahoo.com.cn

Received: 2006-11-14 Accepted: 2006-12-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of heat shock protein 60 (HSP60) and *H pylori* infection in gastric mucosa with intestinal metaplasia (IM).

**METHODS:** A total of 171 IM mucosa (54, 76, and 41 cases for type I, II, and III, respectively) and 89 controls (40 and 49 cases for superficial gastritis and gastric cancer, respectively) were included in this study. SP immunohistochemistry was used to detect the expression of HSP60 and *H pylori* infection was judged by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), anti-*H pylori* IgG detection and *H pylori* -DNA polymerase chain reaction (PCR), respectively.

**RESULTS:** HSP60 expression was moderately positive in gastric mucosa with type I and II and III IM; the positive rate was 35.19% and 51.32% and 75.61%, and the over-expression rate was 1.9%, 3.9% and 19.5%, respectively. HSP60

expression was weak or moderately positive in superficial gastritis, and the positive rate was 30.00%. The positive rate of HSP60 expression in IM mucosa was increased statistically as compared with that in superficial gastritis ( $P < 0.01$ ). Moderately or strongly positive expression of HSP60 was predominant (73.47%) in gastric cancer, and the over-expression rate was 34.69%, which was markedly higher than that in type I and type II IM. There was a negative relationship between HSP60 expression and *H pylori* infection of IM mucosa ( $r = -0.191$ ,  $P = 0.012$ ).

**CONCLUSION:** HSP60 over-expression occurs in the progression of gastric mucosal lesions, and *H pylori* infection of IM mucosa is associated with HSP60 expression.

**Key Words:** Heat shock protein 60; Intestinal metaplasia; Gastric cancer; *Helicobacter pylori*

Liu DP, Lv XH, Zhang YM, Wang BY. Expression of heat shock protein 60 in gastric mucosa with intestinal metaplasia and its correlation with *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(7):758-761

## 摘要

**目的:** 探讨HSP60在肠化胃黏膜组织中的表达及与*H pylori*感染之间的关系。

**方法:** 对171例肠化胃黏膜组织其中I型肠化54例、II型肠化76例、III型肠化41例, 对照组浅表性胃炎40例, 胃癌49例, 采用SP免疫组织化学技术进行胃黏膜HSP60的检测, 用ELISA, *H pylori* IgG抗体检测及*H pylori*-DNA PCR方法进行*H pylori*感染情况的判定。

**结果:** HSP60在肠化胃黏膜组织中的表达主要为中等强度阳性, I, II, III型肠化胃黏膜组织的阳性率分别为35.19%, 51.32%, 75.61%, 过表达率分别为1.9%, 3.9%和19.5%; 浅表性胃炎组织中的表达多为弱阳性或中等强度阳性, 阳性表达率为30.00%, 与浅表性胃炎相比肠化胃黏膜组织中HSP60的表达显著增加

( $P < 0.01$ ); HSP60在胃癌组织的表达以强阳性和中等强度阳性为主, 阳性表达率为73.47%, 过表达率为34.69%, 明显高于I, II型肠化胃黏膜组织中的表达, 与III型肠化胃黏膜组织相比差异不显著( $P > 0.05$ ), 肠化胃黏膜组织的*H. pylori*感染和HSP60表达有明显的相关性( $r = -0.191$ ,  $P = 0.012$ ).

**结论:** HSP60的过度表达发生在胃黏膜病变的进展过程中; 肠化胃黏膜组织中*H. pylori*感染和HSP60表达有明显的相关性.

**关键词:** 热休克蛋白60; 肠化胃黏膜; 胃癌; 幽门螺杆菌

刘东屏, 吕晓辉, 张艳梅, 王炳元. 肠化胃黏膜病变组织HSP60的表达及与幽门螺杆菌的相关性. 世界华人消化杂志 2007;15(7):758-761

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/758.asp>

## 0 引言

热休克蛋白(heat shock proteins, HSP)是生物细胞在生理应激或病理状态以及各种环境因素的刺激下所产生的一类蛋白质, 按其分子质量不同可分为HSP27, HSP60, HSP70, HSP90等, 各具特定的表达位置和生理功能<sup>[1]</sup>. 其中HSP60蛋白家族是存在于所有活的生物组织中最保守的蛋白, 无论是在原核生物还是真核生物, 动物还是植物中都广泛存在. HSP通过对多种蛋白质的构象影响参与细胞生长、繁殖等重要生命过程, 具有细胞保护和免疫调节作用<sup>[2-3]</sup>. 研究表明胃黏膜在接触各种外源性刺激物和内源性刺激因素后将迅速合成HSP60, 以发挥对胃黏膜细胞的保护作用<sup>[4]</sup>. *H. pylori*感染在胃疾病发生中的病因学意义已经得到共识. *H. pylori*感染后机体产生免疫反应, 这种反应是否诱发了HSP的表达, 有研究发现抗HSP免疫反应在*H. pylori*感染的胃疾病中有一定作用<sup>[5]</sup>. 本实验对HSP60在肠化胃黏膜、浅表性胃炎和胃癌组织中的表达进行了测定, 并同步检测了*H. pylori*感染, 以此探讨HSP60在不同肠化胃黏膜病变时的表达以及肠化胃黏膜组织中HSP60与*H. pylori*感染之间的相互关系.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2001-07/2003-05我院外科手术标本, 其中肠化胃黏膜171例, 浅表性胃炎胃黏膜40例, 胃癌组织49例, 所有标本均经HE染色对所取组织进行了病理学诊断. 即用型mAb HSP60、即用型SP(链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶法,

Streptavidin Peroxidase, SP)试剂盒、DAB底物试剂盒均购于福州迈新生物技术开发公司. *H. pylori*-DNA PCR试剂盒购于上海复华公司. 血清抗*H. pylori*-IgG抗体ELISA检测试剂盒购于华美生物工程天津分公司.

**1.2 方法** 利用HID-ABpH2.5-PAS黏蛋白组织化学染色进行肠化分型, 根据形态学、细胞分化程度及分泌黏蛋白不同将肠化分为三型: I型(完全性): 腺管直, 结构规整, 腺上皮由成熟的吸收细胞和杯状细胞分泌唾液酸黏液为主, 呈蓝色着色. II型(不完全性): 腺管伸长, 弯曲并可见轻度结构变形, 腺上皮以缺乏或极少吸收细胞和出现不同分化阶段的柱状黏液细胞为主着色以蓝色为主, 少量红色或黑色. III型(不完全性)腺管结构变形, 细胞不典型性和细胞去分化程度较II型显著, 柱状细胞分泌硫酸黏液为主, 也可分泌中性黏液, 潘氏细胞缺如, 着色以黑色为主, 少量蓝色或红色; 利用SP免疫组织化学技术进行HSP60检测, 对胃黏膜组织石蜡包埋切片, 以PBS置换一抗作为空白对照, 已知阳性切片作为阳性对照, DAB显色后细胞核呈棕黄色或伴有胞核棕黄色颗粒者为阳性细胞, 光学显微镜下计数20个以上高倍视野阳性细胞. 阴性(-): 为无阳性细胞或阳性细胞数小于5%, 弱阳性(+): 阳性细胞数6%-30%, 中等强度阳性(++): 阳性细胞数为31%-60%, 强阳性(+++): 阳性细胞数大于60%, 以中等强度阳性和强阳性为过表达<sup>[4]</sup>. 利用HE, *H. pylori*-DNA PCR及血清ELISA检测*H. pylori* IgG抗体3种方法进行*H. pylori*感染情况的判定, HE染色后, 光学显微镜下观测*H. pylori*感染后, 胃黏膜表面黏液层及小凹上皮内可见“S”型弯曲杆状细菌阳性标本, *H. pylori*-DNA PCR扩增片段为430 bp, 取10  $\mu$ L扩增产物与1  $\mu$ L溴酚蓝混匀, 用20 g/L琼脂糖凝胶电泳30 min, 电压5 V/cm, 用紫外线透射仪检查, 若标本扩增带与阳性扩增带处同一位置, 判断为阳性, 否则为阴性.

**统计学处理** 采用秩和检验和Spearman秩相关检验,  $P < 0.05$ 有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 不同胃黏膜病变组织中HSP60的表达** 浅表性胃炎和肠化胃黏膜组阳性率比 $U = 2.308$ ,  $P = 0.021 < 0.05$ ; 浅表性胃炎和胃癌组比较 $U = 4.549$ ,  $P = 5 \times 10^{-6} < 0.001$ ; 肠化黏膜和胃癌阳性率比 $U = 4.458$ ,  $P = 8 \times 10^{-6} < 0.001$ ; I, II型肠化胃黏膜与III型肠化相比 $U = 5.326$ ,  $P = 1 \times$

### ■同行评价

本文研究了,*H. pylori*感染对胃黏膜肠化生及胃癌的影响进行探讨, 选题有其新颖之处.

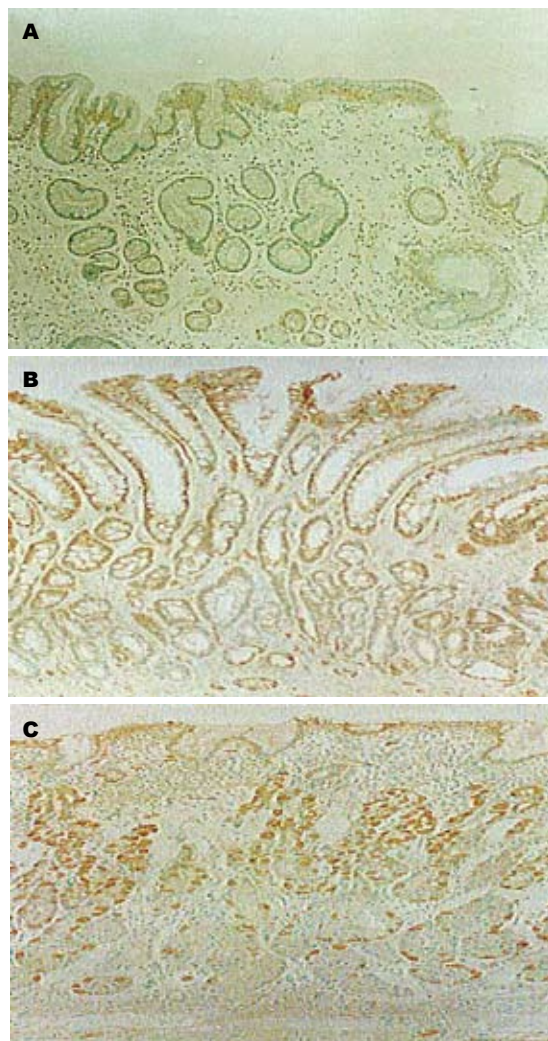


图1 不同分型的肠化胃黏膜组织中的HSP60的表达。A: (×10); B: II型胃黏膜上皮细胞的细胞核内可见棕黄色颗粒(×20); C: III型(×10)。

$10^{-7} < 0.001$ ; III型肠化与胃癌相比  $U = 1.005$ ,  $P = 0.315 > 0.05$ ; HSP60在肠化胃黏膜组织中表达主要为中等强度, 不同分型的肠化胃黏膜组织中的HSP60表达(图1), 浅表性胃炎组织中的表达多为弱阳性或中等强度阳性, HSP60在胃癌组织的表达以强阳性和中等强度阳性为主(表1)。浅表性胃炎的阳性过表达率为5%, I型、II型、III型过表达率分别为1.9%、3.9%和19.5%, 胃癌组织的阳性过表达率为34.69%。

**2.2 *H. pylori*感染与HSP60表达的相关性** HSP60的表达与*H. pylori*感染具有相关性( $r_s = -0.191$ ,  $P = 0.012 < 0.05$ )(表2)。

### 3 讨论

热休克蛋白, 又称应激蛋白(stress protein, SP)。在应激因素作用下, 细胞可在翻译和转录水平调整蛋白合成, 改变细胞的代谢和功能, 可以提供结合

表1 HSP60在不同胃黏膜病变组织中的表达

疾病类型	n	HSP60表达(n)				阳性百分比(%)
		-	+	++	+++	
浅表性胃炎	40	28	7	3	2	30.00(12/40)
肠化胃黏膜						
I型	54	35	16	2	1	35.19(19/54)
II型	76	37	27	9	3	51.32(39/76)
III型	41	10	12	11	8	75.61(31/41)
胃癌	49	13	8	11	17	73.47(36/49)

表2 HSP60的表达与*H. pylori*感染的同步检测结果

分组	n	HSP60表达(n)				阳性百分比(%)
		-	+	++	+++	
<i>H. pylori</i> 阳性肠化胃黏膜组织	109	44	40	16	9	59.63(65/109)
<i>H. pylori</i> 阴性肠化胃黏膜组织	62	38	15	6	3	38.71(24/62)

蛋白, 协同参与抗原加工、递呈、免疫球蛋白装配及“T”细胞导航, 在机体的抗感染免疫、自身免疫特别是肿瘤免疫中起重要作用<sup>[6-7]</sup>。胃癌形成、发展的多阶段模式是: 浅表性胃炎-萎缩性胃炎-肠上皮化生-不典型增生-胃癌, 其中肠上皮化生是胃黏膜良性病变向胃癌演变的中间过程, 不同类型的肠化是胃黏膜病变的不同阶段。本研究发现, HSP60在浅表性胃炎-不同分型的肠化胃黏膜组织-胃癌组织中的表达阳性率呈逐渐增高趋势分别为30.00%, 35.19%, 51.32%, 75.61%, 73.47%, 其中肠化胃黏膜和胃癌组织中的HSP60表达阳性率显著高于浅表性胃炎组、III型肠化胃黏膜的阳性表达率高于I, II型肠化胃黏膜阳性表达率的总和, 肠化黏膜组HSP60表达阳性率明显高于胃癌组差异显著( $P < 0.05$ )。提示HSP60的表达发生在胃黏膜病变的进展过程中, HSP60表达与细胞的转化和恶变过程密切相关。本研究检测了肠化胃黏膜中*H. pylori*感染组与非感染组中HSP60表达情况, 结果显示肠化胃黏膜中*H. pylori*阳性组的HSP60阳性表达率和*H. pylori*阴性组相比差异显著。考虑其机制可能为: (1)文献报道*H. pylori*作为一种外源性刺激能够引起正常胃黏膜产生炎症, 诱导机体产生体液免疫和细胞免疫反应, 产生应激蛋白HSP(包括HSP60), 肠化胃黏膜组织仍然具有这种应答反应。(2)*H. pylori*的HSPB与人的HSP60同源, 可能通过免疫交叉反应上调胃黏膜HSP60表达水平, 故宿主对*H. pylori*的反应, *H. pylori*感染诱导的HSP60的表达, 可能参与了胃黏膜损伤、修复、癌变的形成过程。

#### 4 参考文献

- 1 Dhaubhadel S, Browning KS, Gallie DR, Krishna P. Brassinosteroid functions to protect the translational machinery and heat-shock protein synthesis following thermal stress. *Plant J* 2002; 29: 681-691
- 2 Moseley PL. Heat shock proteins and the inflammatory response. *Ann NY Acad Sci* 1998; 856: 206-213
- 3 Kamoshida S, Satoh Y, Kamiya S, Tsutsumi Y. Heat shock protein 60 (HSP60) immunoreactivity in gastric epithelium associated with *Helicobacter pylori* infection: a pitfall in immunohistochemically interpreting HSP60-mediated autoimmune responses. *Pathol Int* 1999; 49: 88-90
- 4 Rokutan K. Role of heat shock proteins in gastric mucosal protection. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15 Suppl: D12-D19
- 5 Takenaka R, Yokota K, Ayada K, Mizuno M, Zhao Y, Fujinami Y, Lin SN, Toyokawa T, Okada H, Shiratori Y, Oguma K. *Helicobacter pylori* heat-shock protein 60 induces inflammatory responses through the Toll-like receptor-triggered pathway in cultured human gastric epithelial cells. *Microbiology* 2004; 150: 3913-3922
- 6 Hauet-Broere F, Wieten L, Guichelaar T, Berlo S, van der Zee R, Van Eden W. Heat shock proteins induce T cell regulation of chronic inflammation. *Ann Rheum Dis* 2006; 65 Suppl 3: iii65-iii68
- 7 Ehrenfried JA, Herron BE, Townsend CM Jr, Evers BM. Heat shock proteins are differentially expressed in human gastrointestinal cancers. *Surg Oncol* 1995; 4: 197-203

电编 李琪 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

### 《世界华人消化杂志》简介

《世界华人消化杂志》创刊于1993-01-15, 原刊名《新消化病学杂志》, 1999-03-25经国家科学技术部和国家新闻出版总署批准更名为《世界华人消化杂志》, 国科发财字[1999] 071号, 国内统一刊号CN 14-1260/R, 国际标准刊号ISSN 1009-3079, 国内外公开发行的大型综合性消化病学类学术期刊. 2002-11-14经国家工商行政管理总局商标局核定使用商品(第16类), 获得商标注册证第2001071号. 《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被中国科技论文统计源核心期刊和中文核心期刊要目总览收录的学术类期刊. 《世界华人消化杂志》发表的英文摘要被美国《化学文摘(Chemical Abstracts)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica)》, 俄罗斯《文摘杂志(Abstracts Journals)》收录. 《世界华人消化杂志》综合介绍消化病学前沿基础与临床研究的发现, 覆盖消化病学领域中经临床实验证明的技术进展. 从1993-2005《世界华人消化杂志》发表的文章可以在线<http://www.wjgnet.com>免费阅读全文. 《世界华人消化杂志》综合介绍以下内容: 消化基础研究、消化临床研究、消化内科、消化内镜、消化外科、消化肿瘤、消化介入治疗、消化护理、消化医学影像、消化病理、消化预防医学、消化误诊误治、消化中西医结合、消化检验、消化新技术应用、消化病诊断、消化病治疗、消化新药应用、消化专家门诊. 《世界华人消化杂志》开通了<http://www.wjgnet.com/wcjd/ch/index.aspx>在线办公系统, 实现了在线投稿和审稿等功能.