

原发性胆汁反流性胃炎胃黏膜胃动素、血管活性肠肽的表达

高瑞梅, 许琳, 孟欣颖, 王青

背景资料
临床工作中, 胆汁反流性胃炎的检出率在同期胃镜检出率中一直较高, 但其发病机制尚无定论。已有研究显示, 胆汁反流患者多伴有胃肠道运动功能障碍如胃窦功能减弱、胃窦幽门十二指肠协调运动障碍、幽门压力降低、胃排空延迟等, 部分胃肠激素亦参与了其发病。

高瑞梅, 许琳, 孟欣颖, 王青, 青岛大学医学院附属青岛市立医院东区消化内科 山东省青岛市 266071
作者贡献分布: 高瑞梅与王青对此文所作贡献均等; 此课题由高瑞梅、许琳及王青设计; 研究过程由高瑞梅与王青操作完成; 研究所用试剂及分析工具由王青提供; 数据分析由高瑞梅完成; 本论文的写作由高瑞梅、孟欣颖及王青完成。
通讯作者: 王青, 主任医师, 266071, 山东省青岛市东海中路5号, 青岛大学医学院附属青岛市立医院东区消化内科。
wangq2008001@163.com
电话: 0532-88905630
收稿日期: 2009-11-24 修回日期: 2010-01-15
接受日期: 2010-01-19 在线出版日期: 2010-03-08

Expression of motilin and vasoactive intestinal peptide in gastric mucosa of patients with primary bile reflux gastritis

Rui-Mei Gao, Lin Xu, Xin-Ying Meng, Qing Wang

Rui-Mei Gao, Lin Xu, Xin-Ying Meng, Qing Wang, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Qingdao 266071, Shandong Province, China
Correspondence to: Qing Wang, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, 5 Donghai Middle Road, Qingdao 266071, Shandong Province, China. wangq2008001@163.com
Received: 2009-11-24 Revised: 2010-01-15
Accepted: 2010-01-19 Published online: 2010-03-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of motilin and vasoactive intestinal peptide (VIP) in gastric mucosa of patients with primary bile reflux gastritis.

METHODS: Seventy-four patients with primary bile reflux gastric were divided into low reflux group ($n = 42$) and high reflux group ($n = 32$). A control group was composed of 28 subjects who showed no abnormalities during 24-hour gastric bilirubin monitoring with Bilitec 2000 and gastroscopic examination. The expression of motilin and VIP in biopsy specimens was detected by immunohistochemistry and analyzed using pathology image analysis software.

RESULTS: The expression levels of motilin in the high and low reflux groups were lower than that in the control group (558.93 ± 223.63 and 787.09 ± 252.97 vs 941.50 ± 275.87 , respectively; both $P < 0.05$), while the expression levels of VIP in the high and low reflux groups were higher than in the control group (1700.06 ± 486.55 and 1241.19 ± 359.34 vs 959.00 ± 335.78 , respectively; both $P < 0.01$). The detection rates of metaplasia atrophy in the high and low reflux groups were higher than that in the control group (50.0% and 26.2% vs 7.1%, respectively; $P < 0.01$ and 0.05). Patients with metaplastic atrophic gastritis had higher reflux rate than those with superficial gastritis (59.3% vs 30.5%, $P < 0.05$). The detection rate of *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) decreased with the aggravation of bile reflux (64.3% and 47.6% vs 25.0%, respectively; $P < 0.01$ and 0.05).

CONCLUSION: The parasecretion of motilin and VIP may play a role in the development of bile reflux gastritis. Bile reflux is one of the risk factors for gastric mucosa injury. Bile reflux can inhibit the infection of *H.pylori*.

Key Words: Duodenogastric reflux; Primary bile reflux gastritis; Motilin; Vasoactive intestinal peptide; *Helicobacter pylori*

Gao RM, Xu L, Meng XY, Wang Q. Expression of motilin and vasoactive intestinal peptide in gastric mucosa of patients with primary bile reflux gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(7): 722-725

摘要

目的: 探讨胃黏膜胃动素(MTL)、血管活性肠肽(VIP)的表达与原发性胆汁反流性胃炎之间的关系。

方法: 标本取自74例原发性胆汁反流性胃炎患者, 其中低反流组42例和高反流组32例, 24 h胃内胆红素监测及电子胃镜检查未见异常者28例为对照组。采用免疫组织化学法检测胃黏膜MTL和VIP表达, 并用病理图像分析软件进行分析。

同行评议者
戈之铮, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

结果: 高、低反流组较对照组胃黏膜MTL表达明显降低(558.93 ± 223.63 , 787.09 ± 252.97 vs 941.50 ± 275.87 , 均 $P < 0.05$); VIP表达较对照组明显增高(1700.06 ± 486.55 , 1241.19 ± 359.34 vs 959.00 ± 335.78 , 均 $P < 0.01$). 高、低反流组胃黏膜化生性萎缩检出率均较对照组高(50.0%, 26.2% vs 7.1%, $P < 0.01$ 或 0.05). 化生性萎缩组较浅表性胃炎组胆汁反流程度重(59.3% vs 30.5%, $P < 0.05$). 随着胆汁反流程度的加重, 幽门螺杆菌检出率下降(64.3%, 47.6% vs 25.0%, $P < 0.01$ 或 0.05).

结论: 胃黏膜MTL及VIP分泌紊乱可能在胆汁反流性胃炎发生中起作用. 胆汁反流是胃黏膜损伤的危险因素之一, 胆汁反流对幽门螺杆菌感染起抑制作用.

关键词: 十二指肠胃反流; 原发性胆汁反流性胃炎; 胃动素; 血管活性肠肽; 幽门螺杆菌

高瑞梅, 许琳, 孟欣颖, 王青. 原发性胆汁反流性胃炎胃黏膜胃动素、血管活性肠肽的表达. 世界华人消化杂志 2010; 18(7): 722-725

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/722.asp>

0 引言

原发性胆汁反流性胃炎(primary bile reflux gastritis, PBRG)的发病机制目前尚不明确, 国内外文献报道, 胆汁反流性胃炎占同期胃镜检出率的9.9%-24.2%, 研究其发病机制对于预防胆汁反流的发生有重要作用. 脑肠肽是一种具有神经递质和激素双重功能的小分子多肽, 在调节胃肠运动中起重要作用. 本研究通过对胃黏膜胃肠激素胃动素(motilin, MTL)和血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)半定量表达, 探讨胃黏膜中胃肠激素的变化及幽门螺杆菌(*H.pylori*)感染与PBRG发生的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 选择于2008-10/2009-04青岛市市立医院就诊的PBRG患者74例, 其中男35例, 女39例, 年龄18-70(平均 46.87 ± 14.40)岁. 纳入标准^[1]: 具有腹痛、腹胀、恶心、呕吐胆汁等4项症状中至少2项, 近3 mo每周症状发作不少于3次, 且胃镜检查发现黏液湖胆染同时伴胃窦黏膜糜烂和(或)明显充血, 并经24 h胆红素监测仪(Bilitec2000)检测证实存在病理性十二指肠反流的患者. 剔除标准: 近4 wk来曾用抗生素、铋剂或质子泵抑制剂者, 腹部手术史, 食管糜烂、上消化道狭

窄和肿瘤, 消化性溃疡, 肝、胆、胰等其他消化系统疾患, 严重心肺疾病、糖尿病、神经系统疾病等. 正常对照组选择无腹部手术史、无消化系统慢性病史、无糖尿病和肝、胆、胰疾患等病史, 近3 mo无消化系症状, 24 h胃内胆红素监测及电子胃镜检查未见异常且病理证实为非肿瘤者28例, 其中男13例, 女15例, 年龄25-68(平均 46.64 ± 13.70)岁. 免疫组织化学广谱试剂盒、DAB显色剂均购自福州迈新生物技术开发公司. MTL鼠抗人单克隆抗体购自中美科技公司. VIP兔抗人多克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司. 便携式胆汁监测仪(Bilitec2000)由瑞典Medtronic Synectics公司生产. 病理图像分析采用专业图像分析软件Image-ProPlus(IPP)6.0.

1.2 方法

1.2.1 分组: 根据中国慢性胃炎共识意见^[2]将PBRG患者按病理表现分为浅表性胃炎组、化生性萎缩组及非化生性萎缩组. 使用Bilitec2000以胃内记录到胆红素吸收值 ≥ 0.25 为胆汁反流, 计算胆红素吸收值 ≥ 0.25 的时间百分比, 胆红素吸收值以0.25为界值时, 取反流时间百分比的中位数23.60%作为分界, 将反流分为低反流组($< 23.60\%$)和高反流组($\geq 23.60\%$)^[3].

1.2.2 胃镜检查及黏膜活检: 所有受试者均接受Olympus260型电子胃镜检查, 常规在胃窦小弯侧和大弯侧距幽门2-3 cm处取3块组织, 垂直活检, 深达黏膜肌层. 其中1块作快速尿素酶试验, 其余2块活检标本经100 g/L甲醛固定, 行胃黏膜垂直包埋、切片, 分别用于苏木精伊红(HE)染色、AB-PAS染色、改良Giemsa染色及免疫组织化学检查.

1.2.3 24 h胃内胆红素监测: 所有受试者胃镜检查后1 wk内, 行便携式胆汁监测仪(Bilitec2000)检测, 连续记录24 h胃内胆红素浓度. 监测过程中三餐进半流质饮食. 不进食番茄、胡萝卜、香蕉、橙、蛋黄等光吸收特性与胆红素相近的食物及饮料. 连续监测24 h, 以胃内记录到胆红素吸收值 ≥ 0.25 诊断为胆汁反流, 计算胆红素吸收值 ≥ 0.25 的时间百分比.

1.2.4 *H.pylori*测定: 快速尿素酶试验阳性并改良Giemsa染色镜检找到*H.pylori*. 同时具备作为*H.pylori*阳性标准.

1.2.5 免疫组织化学染色: 按SP法免疫组化染色试剂盒操作步骤进行. MTL、VIP阳性染色主要位于胞质内, 为棕黄色颗粒沉积, 免疫组织化学结果定量判断标准: 染色后先在光镜下做

研发前沿

Bilitec2000胆红素监测仪是根据胆汁内胆红素在450 nm处存在特异吸收峰的特点, 利用分光光度计原理设计而成. 有研究表明Bilitec2000在监测胃内胆红素乃至胆汁反流中是一个比较可靠的设备, 可以应用于DGR的临床诊治和研究.

相关报道

Vere等研究发现胆汁反流性胃炎中组织学慢性炎症表现多于急性炎症, 肠化生发生比例为34.83%, 而*H.pylori*感染率为16.08%, 提示肠化生与胆汁反流关系更为密切. Taylor等在大鼠实验中发现空肠胃侧侧吻合后, 8 wk可发生肠化生, 56 wk发生率达10%, 认为胆汁反流因素促成了肠化生.

创新盘点

本文将高低反流组与正常对照组胃黏膜兴奋性和抑制性胃肠激素的变化做比较研究胆汁反流性胃炎的发病机制,并研究胃黏膜损伤程度与胆汁反流程度及*H.pylori*之间的关系。

表 1 胃黏膜MTL、VIP表达量及*H.pylori*检测结果 (mean ± SD)

| 分组 | <i>n</i> | MTL | VIP | <i>H.pylori</i> <i>n</i> (%) |
|------|----------|-------------------------------|---------------------------------|------------------------------|
| 对照组 | 28 | 941.50 ± 275.87 | 959.00 ± 335.78 | 18(64.3) |
| 低反流组 | 42 | 787.09 ± 252.97 ^a | 1 241.19 ± 359.34 ^a | 20(47.6) |
| 高反流组 | 32 | 558.93 ± 223.63 ^{ac} | 1 700.06 ± 486.55 ^{ac} | 8(25.0) ^{ac} |

^a*P*<0.05 vs 对照组; ^c*P*<0.05 vs 低反流组。

定性观察,然后于高倍镜下(×400)观察胃黏膜MTL、VIP阳性表达情况,并随机选取互不重叠的5个视野,用专业图像分析软件Image-Pro Plus(IPP)6.0测定每个视野阳性染色的累积光密度(累积吸光度 = 平均吸光度 × 面积),取其平均值作为该切片胃黏膜MTL、VIP表达的半定量指标。

统计学处理 应用SPSS11.5软件,对所得计数资料的阳性率的比较采用 χ^2 检验。计量资料数据均以mean ± SD表示,多组资料间比较采用单因素方差分析,以*P*<0.05作为差异有显著意义的检验标准。

2 结果

2.1 各组MTL和VIP的表达及*H.pylori*阳性率的比较 高、低反流组胃黏膜MTL表达均较对照组低($F = 17.85$, $q = 8.33$, 3.56 , $P < 0.01$, 0.05),而VIP表达较对照组高($F = 26.89$, $q = 10.17$, 4.11 , $P < 0.01$),且皆有统计学意义。高反流组胃黏膜MTL表达较低反流组低($q = 5.48$, $P < 0.01$),具有统计学意义;VIP表达较低反流组高($P = 6.94$, $P < 0.01$),具有统计学意义。高反流组*H.pylori*阳性检出率较对照组、低反流组低($\chi^2 = 9.386$, $P < 0.01$; $\chi^2 = 3.951$, $P < 0.05$)。低反流组与对照组*H.pylori*阳性检出率差别无统计学意义($\chi^2 = 1.880$, $P > 0.05$, 表1)。

2.2 不同类型萎缩性胃炎检出率的比较 高、低反流组胃黏膜化生性萎缩检出率均较对照组高($\chi^2 = 13.061$, 4.031 , $P < 0.01$, 0.05),且高反流组较低反流组胃黏膜化生性萎缩检出率高($\chi^2 = 4.443$, $P < 0.05$)。各组非化生性萎缩性胃炎检出率无统计学差异($\chi^2 = 0.026$ - 2.411 , $P > 0.05$, 表2)。

2.3 胃黏膜不同病变高反流率、*H.pylori*阳性率的比较 化生性萎缩组较浅表性胃炎组胆汁反流程度重($\chi^2 = 5.191$, $P < 0.05$);非化生性萎缩组与化生性萎缩、浅表性胃炎组胆汁反流程度无统计学差异($\chi^2 = 0.602$ - 0.833 , $P > 0.05$)。各组*H.pylori*阳性检出率无统计学差异($\chi^2 =$

表 2 不同类型萎缩性胃炎检出率 *n*(%)

| 分组 | <i>n</i> | 化生性萎缩 | 非化生性萎缩 |
|------|----------|------------------------|---------|
| 对照组 | 28 | 2(7.1) | 1(3.6) |
| 低反流组 | 42 | 11(26.2) ^a | 6(14.3) |
| 高反流组 | 32 | 16(50.0) ^{ac} | 5(15.6) |

^a*P*<0.05 vs 对照组; ^c*P*<0.05 vs 低反流组。

表 3 胃黏膜不同病变高反流率及*H.pylori*阳性率 *n*(%)

| 分组 | <i>n</i> | 高反流 <i>n</i> (%) | <i>H.pylori</i> <i>n</i> (%) |
|--------|----------|-----------------------|------------------------------|
| 浅表性胃炎组 | 36 | 11(30.5) | 14(38.9) |
| 化生性萎缩组 | 27 | 16(59.3) ^a | 10(37.0) |
| 非化生性萎缩 | 11 | 5(45.5) | 4(36.4) |

^a*P*<0.05 vs 浅表性胃炎组。

0.000-0.022, $P > 0.05$, 表3)。

3 讨论

正常生理条件下,机体存在十二指肠胃反流(duodenogastric reflux, DGR)^[4]。反流物不对胃黏膜造成损害。但PBRG患者,由于胃-幽门-十二指肠运动障碍,十二指肠内容物(胆汁酸、胆盐和溶血卵磷脂)反流入胃,在胃酸的作用下,破坏胃黏膜屏障,引起H⁺向上皮细胞内反渗,造成胃黏膜慢性炎症、糜烂甚至溃疡。

本研究发现,随着反流程度的逐渐加重,PBRG患者胃黏膜MTL的表达呈下降趋势,而VIP的表达依次增加,且组与组之间比较,具有统计学意义($P < 0.05$)。有研究证实MTL是兴奋性神经递质,MTL的生理作用是调节胃肠移行性运动复合波(migrating myoelectric complex, MMC),具有强烈刺激上消化系的机械活动和电活动的作用,从而起肠道清道夫的作用。有研究表明,MTL水平降低可使胃排空延缓^[5,6]。VIP是抑制性神经递质,许多研究已证明VIP在胃肠运动调节中主要起抑制效应^[7],可抑制下食管

应用要点

研究胃黏膜中胃肠激素的变化及*H.pylori*感染与PBRG发生的关系。初步了解胃肠激素变化在PBRG的发病中所起的作用,对于预防胆汁反流的发生提供了一定的理论基础。

括约肌、胃幽门括约肌和肠肌张力, 抑制胃酸及胃蛋白酶的分泌, 并能减慢胃排空、松弛消化系括约肌. 分析其机制可能是兴奋性递质的减少和抑制性递质的增加两者联合使胃排空延长, 胃收缩减弱, 胃III相的收缩缺乏或缩短使胃腔内压减低, 导致胃内容清除能力下降, 从而使十二指肠内容物反流机会增加, 故MTL较低及VIP较高者为高反流组. MTL及VIP可能在胆汁反流发生中起作用.

另一方面, 胃清除能力下降又延长了有害物质胆汁酸在胃内的滞留时间, 增加对胃黏膜的侵袭机会, 使胃黏膜损伤进一步加重. 从该研究看化生性萎缩性胃炎较浅表性胃炎组, 胆汁高反流患者所占的比例大(59.3% vs 30.5%), 比较具有统计学意义($P<0.05$), 非化生性萎缩与浅表性胃炎组比较虽无统计学意义, 但高反流患者比例也有增加(45.5% vs 30.5%), 即胃黏膜损伤重者, 胆汁反流程度重, 其胃内胆汁酸浓度也高, 这与国外研究报道的胃黏膜肠上皮化生的患者其胃内总胆酸的浓度显著高于无肠上皮化生者一致^[8]; 反之, 随着胆汁反流程度的逐渐加重, 胃黏膜损伤加重且以化生性萎缩为主, 且比较有统计学意义($P<0.05$), 非化生性萎缩之间无统计学意义. 本试验中, 高低反流组化生性萎缩检出率明显高于对照组(50.0%、26.2% vs 7.1%), 这与国内外文献报道胆汁反流性胃炎与胃黏膜肠化生、萎缩有关^[9,10]一致. 故胃黏膜损伤程度可能与胆汁反流程度相关, 胆汁反流使胃黏膜化生性萎缩风险率增加.

从*H.pylori*感染阳性率上看, PBRG患者不同胃黏膜病变, *H.pylori*表达阳性率之间无统计学差异($P>0.05$); 而化生性萎缩性胃炎组较浅表性胃炎组反流程度重($P<0.05$). 表明胆汁反流与PBRG的胃黏膜损害有明显利害关系, 而*H.pylori*感染似乎对其无明显影响, 从具体数据看, 化生性萎缩组高反流者占59.3%比浅表性胃炎(30.5%)高得多, 两者*H.pylori*检出率(37.0% vs 38.9%)无明显差异, 这与最近的文献报道一致^[11], 认为肠化生是胆汁反流的一种特异性表现, 而*H.pylori*感染与肠化生无因果关系. *H.pylori*感染与胆汁反流性胃炎的关系尚存在争议^[12]. 胆酸与*H.pylori*感染对胃黏膜损伤是协同作用还是互不干涉或胆酸抑制*H.pylori*生长尚不明确. 本研究发现, 高反流组*H.pylori*阳性检出率较对照组、低反流组低($P<0.05$), 即反流程度重者, *H.pylori*感染率下

降. 这与我国近几年的研究报道一致, 分析原因可能是: (1)*H.pylori*生存环境为 $\text{pH}\leq 4$ 的酸性环境中, 正常胃内的 pH 为2-3, 胆汁反流使胃酸中和, 不适宜*H.pylori*的生长. (2)*H.pylori*在高浓度的胆汁酸作用下, 其外形由原来的杆状变成表面带有气泡的球状, 最后浓缩呈团块状而失去活性. 使得高反流组较其他两组*H.pylori*感染检出率低.

总之, PBRG患者存在兴奋性激素MTL及抑制性激素VIP的分泌失调, MTL及VIP可能在胆汁反流发生中起作用. 随着胆汁反流程度的加重, 胃黏膜损伤程度加重, 可致胃萎缩、肠上皮化生的发生. 胆汁反流对*H.pylori*感染起抑制作用.

4 参考文献

- 1 孔建华, 杨昭徐. 胃排空障碍在胆汁反流性胃炎发病中的作用. 中华内科杂志 2005; 44: 852-853
- 2 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见. 胃肠病学 2006; 11: 674-684
- 3 姜东春, 韩俊岭, 李莉, 韩莹. 原发性病理性十二指肠反流致病的因素分析. 山东医药 2009; 49: 7-10
- 4 Bollschweiler E, Wolfgarten E, Pütz B, Gutschow C, Hölscher AH. Bile reflux into the stomach and the esophagus for volunteers older than 40 years. *Digestion* 2005; 71: 65-71
- 5 Esposito S, Valente G, Zavallone A, Guidali P, Rapa A, Oderda G. Histological score for cells with irregular nuclear contours for the diagnosis of reflux esophagitis in children. *Hum Pathol* 2004; 35: 96-101
- 6 Okamoto K, Iwakiri R, Mori M, Hara M, Oda K, Danjo A, Ootani A, Sakata H, Fujimoto K. Clinical symptoms in endoscopic reflux esophagitis: evaluation in 8031 adult subjects. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 2237-2241
- 7 Li LS, Qu RY, Wang W, Guo H. Significance of changes of gastrointestinal peptides in blood and ileum of experimental spleen deficiency rats. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 553-556
- 8 Nakamura M, Haruma K, Kamada T, Mihara M, Yoshihara M, Imagawa M, Kajiyama G. Duodenogastric reflux is associated with antral metaplastic gastritis. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 53-59
- 9 林金坤, 曾志荣, 高修仁, 陈为, 胡品津. 十二指肠胃反流与胃黏膜炎症关系探讨. 中华消化杂志 2004; 24: 87-89
- 10 Dixon MF, Mapstone NP, Neville PM, Moayyedi P, Axon AT. Bile reflux gastritis and intestinal metaplasia at the cardia. *Gut* 2002; 51: 351-355
- 11 朱元民, 刘玉兰, 吴南茜, 李菁. 胃黏膜肠化生与其它病理表现的相关性研究. 中国消化内镜 2008; 2: 35-37
- 12 Abe H, Murakami K, Satoh S, Sato R, Kodama M, Arita T, Fujioka T. Influence of bile reflux and *Helicobacter pylori* infection on gastritis in the remnant gastric mucosa after distal gastrectomy. *J Gastroenterol* 2005; 40: 563-569

同行评价
本文对胆汁反流性胃炎的病理生理机制的阐述提供了理论依据, 对该病的临床诊治具有一定潜在指导意义.

编辑 李军亮 电编 何基才