

# DEC205在幽门螺杆菌感染的胃黏膜中的表达

魏晓晴, 吕广艳, 金海威, 崔颖, 赵莹

## ■背景资料

*H. pylori*感染的胃组织可通过淋巴细胞和巨噬细胞的大量浸润进行免疫调节。表达于树突状细胞的DEC205是一种完整的膜糖蛋白,与抗原摄取、处理和提呈相关,能够诱导抗原特异性T细胞免疫。*H. pylori*感染与DEC205的关系目前尚不清楚。

魏晓晴, 崔颖, 赵莹, 辽宁省医学细胞分子生物学重点实验室 辽宁省大连市 116044

吕广艳, 大连医科大学中心实验室 辽宁省大连市 116044  
金海威, 大连医科大学口腔医学院基础教研室 辽宁省大连市 116044

魏晓晴, 硕士, 主要从事幽门螺杆菌与胃疾病关系的研究。

辽宁省教育厅2009年度高等学校科研项目计划基金资助项目, No. 2009A195

作者贡献分布: 此课题由赵莹设计; 魏晓晴、吕广艳、金海威及崔颖操作完成; 数据分析由魏晓晴完成; 本论文写作由赵莹与魏晓晴完成。

通讯作者: 赵莹, 讲师, 116044, 辽宁省大连市, 辽宁省医学细胞分子生物学重点实验室. zhaoying2000@yahoo.com.cn

电话: 0411-86110291-606

收稿日期: 2011-07-22 修回日期: 2011-12-09

接受日期: 2011-12-18 在线出版日期: 2011-12-28

## Expression of DEC205 in the gastric mucosa of *Helicobacter pylori*-infected patients

Xiao-Qing Wei, Guang-Yan Lv, Hai-Wei Jin, Ying Cui, Ying Zhao

Xiao-Qing Wei, Ying Cui, Ying Zhao, Liaoning Provincial Key Laboratory of Cell and Molecular Biology, Dalian 116044, Liaoning Province, China

Guang-Yan Lv, Central Laboratory, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China

Hai-Wei Jin, Department of Basic Sciences, School of Stomatology, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China

Correspondence to: Ying Zhao, Liaoning Provincial Key Laboratory of Cell and Molecular Biology, Dalian 116044, Liaoning Province, China. zhaoying2000@yahoo.com.cn

Received: 2011-07-22 Revised: 2011-12-09

Accepted: 2011-12-18 Published online: 2011-12-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of DEC205 in the gastric mucosa of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)-infected patients.

**METHODS:** Thirteen *H. pylori*-positive patients with gastritis received eradication therapy. Gastroscopy was performed in all the 13 patients before eradication therapy and in 7 patients after treatment to take gastric mucosa samples, which were used to prepare frozen section to detect the expression of DEC205 and CD14 in human gastric mucosa by immunofluorescence.

**RESULTS:** Cells which were positive for both DEC205 and CD14 in the gastric mucosa significantly increased in *H. pylori*-infected patients. Furthermore, DEC205-positive macrophages invaded into gastric pits in the gastric mucosa of *H. pylori*-positive patients.

**CONCLUSION:** Macrophage expressing DEC205 in the gastric mucosa may play an immunological role in *H. pylori* infection.

**Key Words:** *Helicobacter pylori*; DEC205; Gastric mucosa

Wei XQ, Lv GY, Jin HW, Cui Y, Zhao Y. Expression of DEC205 in the gastric mucosa of *Helicobacter pylori*-infected patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(36): 3692-3695

## 摘要

**目的:** 探讨幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染的胃黏膜与DEC205的关系。

**方法:** 对13名*H. pylori*感染阳性患者的胃黏膜进行内窥镜活检,以及对这13例中7例被根除*H. pylori*的患者的胃黏膜进行二次内窥镜活检,活检标本行冰冻组织切片后,分别进行DEC205抗体的免疫组织化学染色,以及进行DEC205抗体和CD14抗体的免疫荧光染色。

**结果:** 对比除菌成功*H. pylori*阴性的患者,*H. pylori*阳性患者胃小凹处的胃黏膜上皮细胞间DEC205的表达明显增多。胃黏膜中,DEC205与CD14表达在同一个位置,而且DEC205与CD14的表达在*H. pylori*感染胃黏膜中明显高于除菌成功的*H. pylori*阴性的患者。

**结论:** 胞吞受体DEC205在*H. pylori*感染的胃黏膜巨噬细胞中呈高表达。

**关键词:** 幽门螺杆菌; DEC205; 胃黏膜

魏晓晴, 吕广艳, 金海威, 崔颖, 赵莹. DEC205在幽门螺杆菌感染的胃黏膜中的表达. *世界华人消化杂志* 2011; 19(36): 3692-3695

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/3692.asp>

## ■同行评议者

白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所; 陈国忠, 副教授, 广西中医学院第一附属医院消化内科; 田文静, 副教授, 哈尔滨医科大学

## 0 引言

在幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染中, 巨噬细胞分泌的细胞因子产物明显升高<sup>[1]</sup>. *H. pylori*感染的胃组织中会通过淋巴细胞和巨噬细胞的大量浸润来进行免疫调节<sup>[2]</sup>. 然而, 胃黏膜中巨噬细胞和*H. pylori*的关系并不是十分清楚. DEC205属于甘露糖家族中C型凝集素超家族中的一个亚族, 与B细胞一样存在于巨噬、胸腺、肺及肠上皮细胞表面<sup>[3]</sup>. DEC205作为树突状细胞表面的膜糖蛋白, 具有抗原提呈作用, 能够诱导抗原特异性T细胞免疫<sup>[4]</sup>. 人类的DEC205是一个200 kDa的糖蛋白, 表达于胸腺、树突状细胞及少量T细胞中<sup>[5]</sup>. 我们已经报道了*H. pylori*的刺激能够明显增强DEC205在单核细胞中的表达, 而*H. pylori*和*H. pylori*-HSP60的刺激能够明显增强DEC205在巨噬细胞中的表达<sup>[6]</sup>. 这些数据表明了*H. pylori*感染与巨噬细胞表面的胞吞受体DEC205有着密切的关系. 然而, DEC205在胃黏膜的分布仍然不清楚. 本研究调查了胃黏膜中*H. pylori*感染与DEC205表达的关系.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 内窥镜的活检标本来源于日本Kokan Fukuyama医院, 用于实验前保存于-80 ℃. 其中包括13名*H. pylori*感染阳性的胃黏膜活检, 以及这13例中7例被根除*H. pylori*的患者的胃黏膜组织再次取样的活检标本. DEC205抗体购于BD公司; CD14抗体购于R&D公司; TRITC-IgG, FITC-IgG购于MP Biomedicals公司.

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学染色:** 具体过程详见文献<sup>[5]</sup>, 冰冻切片室温放置30 min后, 入4 ℃丙酮固定10 min, PBS洗3次, 每次5 min. 用含有100 mL/L羊血清的PBS室温封闭30 min, PBS-Tween洗2次, 每次5 min. 加入鼠抗人的DEC205抗体4 ℃过夜孵育, PBS-Tween洗3次, 每次5 min. 加入羊抗鼠IgG 37 ℃孵育30 min, PBS-Tween洗3次, 每次5 min. DAB发色后, 进行核染色, 然后用梯度酒精脱水, 梯度二甲苯透明, 封片, 显微镜观察结果并拍照. 在每切片中随机选择5个视野计数阳性细胞数.

**1.2.2 免疫荧光染色:** 冰冻切片首先用4 ℃丙酮固定15 min, 置PBS中浸泡10 min后, 用含有10%羊血清的PBS室温封闭30 min. 然后分别加入鼠抗人的DEC205抗体和羊抗人的CD14抗体37 ℃

表 1 萎缩性胃炎*H. pylori* (+)患者阳性细胞数

病例	阳性细胞数	
	CD14	DEC205
1	19	14
2	20	15
3	8	10
4	4	0
5	8	9
6	8	7
7	13	12
8	2	20
9	5	12
10	8	5
11	14	13
12	12	29
13	6	10

表 2 *H. pylori* (-)患者阳性细胞数

病例	疾病	阳性细胞数	
		CD14	DEC205
1	除菌41 mo	1	1
2	除菌48 mo	6	4
3	除菌84 mo	0	2
4	除菌70 mo	2	1
5	除菌112 mo	1	0
6	除菌10 mo	0	0
7	除菌36 mo	6	5

下共同孵育1 h, PBS洗3次, 每次10 min, 加入TRITC标记的牛抗鼠的IgG和FITC标记的兔抗羊的IgG二抗室温下孵育1 h, PBS洗3次, 每次15 min. DAPI染色30 min后, PBS洗涤. 用抗荧光淬灭剂封片后, 荧光显微镜观察结果并拍照.

**统计学处理** 实验结果以mean±SD表示. 数据通过Student's *t*检验进行统计学处理,  $P<0.05$ 为有显著性差异.

## 2 结果

**2.1 DEC205蛋白在*H. pylori*感染的胃黏膜中的表达** 分别对13例*H. pylori*阳性的萎缩性胃炎患者(表1)及7例除菌成功*H. pylori*阴性的患者(表2)进行内窥镜活检组织的免疫组织化学染色, 数据显示, 对比除菌成功*H. pylori*阴性的患者(图1A)(数据只显示了7个样本中的1个), *H. pylori*阳性患者胃小凹处的胃黏膜上皮细胞间DEC205的表达明显增多(图1B)(数据只显示了13个样本中的1个).

## ■创新盘点

本研究对*H. pylori*感染阳性患者的胃黏膜活检组织, 以及这13名中7名被根除*H. pylori*的患者的胃黏膜二次活检组织进行免疫组化染色分析*H. pylori*感染的胃黏膜中DEC205的变化, 揭示*H. pylori*的致病机制, 国内外尚未见相关报道.

### ■应用要点

本研究通过探讨胃疾病重要致病因子 *H. pylori* 与甘露糖受体家族成员之一的 DEC205 的关系, 揭示 *H. pylori* 感染所致胃炎中 DEC205 扮演的免疫调节角色, 为临床治疗提供新的靶点。

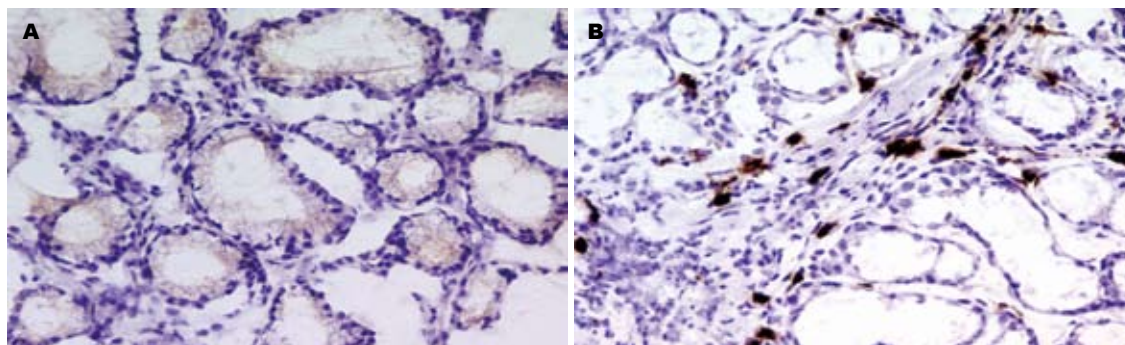


图 1 *H. pylori* 感染的胃黏膜中 DEC205 蛋白表达. A: 除菌成功, *H. pylori*(-); B: 萎缩性胃炎, *H. pylori*(+).

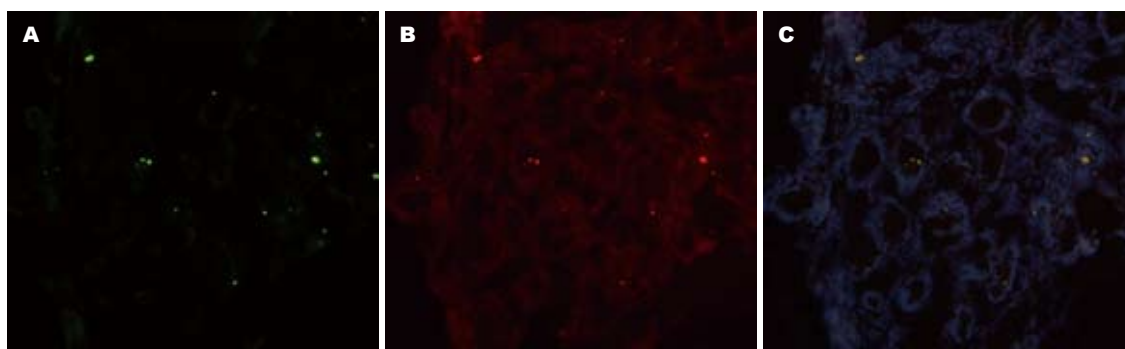


图 2 DEC205 和 CD14 共同表达于 *H. pylori* 感染的巨噬细胞中. A: CD14; B: DEC205; C: Merge.

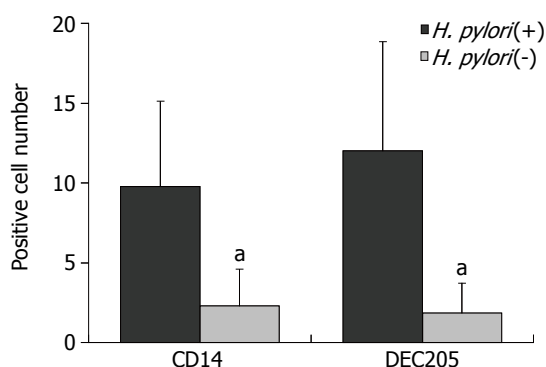


图 3 DEC205 和 CD14 表达于 *H. pylori* 感染的巨噬细胞的数量. <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs *H. pylori*(+).

**2.2 DEC205 蛋白在 *H. pylori* 感染的胃黏膜巨噬细胞中的表达** CD14 在巨噬细胞中高表达, 为了确定 DEC205 在胃黏膜细胞中的位置, 我们对样本进行了双重免疫荧光染色, 结果显示胃黏膜中, DEC205 与 CD14 表达在同一个位置(图2)(数据只显示了13个样本中的1个). 说明 DEC205 蛋白表达于胃黏膜中的巨噬细胞中. 而且 DEC205 与 CD14 的表达在 *H. pylori* 感染胃黏膜中明显高于除菌成功的 *H. pylori* 阴性的患者(数据未显示), 具体的细胞数量见表2, 统计学结果见图3.

### 3 讨论

*H. pylori* 的慢性感染是慢性活动性胃十二指肠

炎、胃十二指肠溃疡、胃 MALT 淋巴瘤以及胃癌发生发展的重要致病因子. 其中, MALT 淋巴瘤的患者, 经除菌治疗后, 6-7 成患者的淋巴瘤消失, 考虑是由于 *H. pylori* 感染刺激后引起胃淋巴瘤组织增生.

甘露糖受体(MR)家族广泛地分布于巨噬细胞或树突状细胞表面. MR 与白色念珠菌、卡氏肺囊虫、结核分支杆菌、克雷白(氏)杆菌属等的各种微生物结合后表达于巨噬细胞<sup>[7-9]</sup>.

此次研究, 我们显示了, 甘露糖受体(MR)家族其中成员之一的 DEC205, 因为 *H. pylori* 的感染使之表达于巨噬细胞表面. 表明 DEC205 表达阳性的巨噬细胞可能在 *H. pylori* 感染的胃黏膜上也有着重要的免疫作用. DEC205 的表达与 IL-4 受体的信号传导相关, 阻断 DEC205 可以减少 IL-4 从淋巴细胞中的分泌<sup>[10]</sup>. 有研究曾报道胃 MALT 淋巴瘤患者的淋巴细胞中 IL-4 的分泌产物增多, 而胃炎的患者却没有增多, 此外, 胃 MALT 淋巴瘤中, 外周血单核细胞的 DEC205 表达明显减少. DEC205 可能与胃 MALT 淋巴瘤中 B 细胞增殖有关. 另一方面, 在肿瘤的发展中, DEC205 与 IL4 受体紧密相关<sup>[11]</sup>. 在一些病例中, DEC205 表达缺失与乳腺和直肠浸润性癌有关<sup>[12]</sup>. 此次研究我们只调查了胃炎的病例和 *H. pylori* 阴性的胃黏膜, 我们将会在今后的工作中

进一步调查胃癌和MALT淋巴瘤与DEC205的关系. 免疫系统如何认识胃中*H. pylori*早期感染以及其对菌体的反应, 目前还不是很清楚. 因为胃MALT淋巴瘤并不真正存在于胃中, 通常肠内淋巴组织免疫反应发生于回肠末端的肠道集合淋巴结内<sup>[13]</sup>. 目前的研究表明DEC205表达于胃黏膜的巨噬细胞. DEC205通过网格蛋白介导的胞吞作用从细胞表面陷于细胞内, 他局限于细胞内到后来的内涵体/溶媒体包含MHC类II分子<sup>[14]</sup>. 此外, DEC205为表达T淋巴细胞内含于MHC类II分子<sup>[15]</sup>.

因此, 通过抗原提呈细胞和T细胞的特殊的免疫反应可能占据于胃黏膜. *H. pylori*感染的胃黏膜中阳性的巨噬细胞数量也在增多. DEC205在免疫反应或癌症的发生发展中具有许多功能. 我们认为目前探讨DEC205在胃炎中的角色只是第一步, 在今后的研究中我们还将继续探讨更深更广的*H. pylori*病理过程.

#### 4 参考文献

- Harris PR, Smythies LE, Smith PD, Dubois A. Inflammatory cytokine mRNA expression during early and persistent *Helicobacter pylori* infection in nonhuman primates. *J Infect Dis* 2000; 181: 783-786
- Suzuki T, Kato K, Ohara S, Noguchi K, Sekine H, Nagura H, Shimosegawa T. Localization of antigen-presenting cells in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. *Pathol Int* 2002; 52: 265-271
- East L, Isacke CM. The mannose receptor family. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1572: 364-386
- Heath WR, Belz GT, Behrens GM, Smith CM, Forehan SP, Parish IA, Davey GM, Wilson NS, Carbone FR, Villadangos JA. Cross-presentation, dendritic cell subsets, and the generation of immunity to cellular antigens. *Immunol Rev* 2004; 199: 9-26
- Shimizu K, Fujii S. An adjuvant role of in situ dendritic cells (DCs) in linking innate and adaptive immunity. *Front Biosci* 2008; 13: 6193-6201
- 赵莹, 魏晓晴, 崔颖, 高颖. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2037-2041
- Zhao Y, Yokota K, Ayada K, Yamamoto Y, Okada T, Shen L, Oguma K. *Helicobacter pylori* heat-shock protein 60 induces interleukin-8 via a Toll-like receptor (TLR)2 and mitogen-activated protein (MAP) kinase pathway in human monocytes. *J Med Microbiol* 2007; 56: 154-164
- van de Veerdonk FL, Marijnissen RJ, Kullberg BJ, Koenen HJ, Cheng SC, Joosten I, van den Berg WB, Williams DL, van der Meer JW, Joosten LA, Netea MG. The macrophage mannose receptor induces IL-17 in response to *Candida albicans*. *Cell Host Microbe* 2009; 5: 329-340
- Swain SD, Lee SJ, Nussenzweig MC, Harmsen AG. Absence of the macrophage mannose receptor in mice does not increase susceptibility to *Pneumocystis carinii* infection in vivo. *Infect Immun* 2003; 71: 6213-6221
- McKay PF, Imami N, Johns M, Taylor-Fishwick DA, Sedibane LM, Totty NF, Hsuan JJ, Palmer DB, George AJ, Foxwell BM, Ritter MA. The gp200-MR6 molecule which is functionally associated with the IL-4 receptor modulates B cell phenotype and is a novel member of the human macrophage mannose receptor family. *Eur J Immunol* 1998; 28: 4071-4083
- Al-Tubuly AA, Spijker R, Pignatelli M, Kirkland SC, Ritter MA. Inhibition of growth and enhancement of differentiation of colorectal carcinoma cell lines by MAb MR6 and IL-4. *Int J Cancer* 1997; 71: 605-611
- Tunçekar MF, Gatter KC, Ritter MA. Bladder carcinomas and normal urothelium universally express gp200-MR6, a molecule functionally associated with the interleukin 4 receptor (CD 124). *Br J Cancer* 1996; 73: 429-432
- Santacroce L, Cagiano R, Del Prete R, Bottalico L, Sabatini R, Carlaio RG, Prejbeanu R, Vermesan H, Dragulescu SI, Vermesan D, Motoc A, Losacco T. *Helicobacter pylori* infection and gastric MALTo-mas: an up-to-date and therapy highlight. *Clin Ter* 2008; 159: 457-462
- Mahnke K, Guo M, Lee S, Sepulveda H, Swain SL, Nussenzweig M, Steinman RM. The dendritic cell receptor for endocytosis, DEC-205, can recycle and enhance antigen presentation via major histocompatibility complex class II-positive lysosomal compartments. *J Cell Biol* 2000; 151: 673-684
- Jiang W, Swiggard WJ, Heufler C, Peng M, Mirza A, Steinman RM, Nussenzweig MC. The receptor DEC-205 expressed by dendritic cells and thymic epithelial cells is involved in antigen processing. *Nature* 1995; 375: 151-155

#### 同行评价

本文探讨了胞吞受体DEC205在*H. pylori*感染的胃黏膜巨噬细胞中的表达情况, 有一定的特色及研究价值.

编辑 李军亮 电编 闫晋利