

胃黏膜细胞中Foxp3、TGF-β1、IL-10的表达及其与幽门螺杆菌感染的关系

苏国娟, 郭彦言

■背景资料

胃黏膜对胃有特殊的保护作用, 但胃黏膜很脆弱, 容易受环境因素、饮食、药物、吸烟、酗酒、细菌感染、情绪变化等多种因素的影响。一旦机体胃黏膜遭到破坏, 就会使得胃的动态平衡被打破, 胃黏膜受到损坏, 难以恢复如初。

苏国娟, 郭彦言, 唐山市丰南区医院检验科 河北省唐山市 063300

苏国娟, 副主任技师, 主要从事微生物的研究。

作者贡献分布: 本文由苏国娟与郭彦言共同写作完成。

通讯作者: 苏国娟, 副主任技师, 063300, 河北省唐山市丰南区新华大街9号, 唐山市丰南区医院检验科。

fnsuguojuan@163.com

电话: 0315-5377893

收稿日期: 2014-08-23 修回日期: 2014-09-25

接受日期: 2014-10-02 在线出版日期: 2014-11-18

Expression of Foxp3, TGF-β1 and IL-10 in the gastric mucosa of patients with *Helicobacter pylori* infection

Guo-Juan Su, Yan-Yan Guo

Guo-Juan Su, Yan-Yan Guo, Department of Laboratory Medicine, Fengnan District Hospital of Tangshan, Tangshan 063300, Hebei Province, China

Correspondence to: Guo-Juan Su, Associate Chief Technician, Department of Laboratory Medicine, Fengnan District Hospital of Tangshan, 9 Xinhua Street, Fengnan District, Tangshan 063300, Hebei Province, China. fnsuguojuan@163.com

Received: 2014-08-23 Revised: 2014-09-25

Accepted: 2014-10-02 Published online: 2014-11-18

Abstract

AIM: To explore the expression of fork head 3 (Foxp3), tumor growth factor-β1 (TGF-β1) and interleukin-10 (IL-10) in the gastric mucosa of patients with *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection.

METHODS: One hundred patients who underwent gastroscopy were divided into either an experiment group (patients with gastric cancer, $n = 30$) or a control group (patients with chronic superficial antral inflammation, chronic atrophic gastritis, gastric ulcer, or duodenal ulcer, $n = 70$) according to the operative and pathological findings. *H. pylori* infection status and the expression of Foxp3, TGF-β1 and IL-10 were compared for the two groups.

RESULTS: Of the 100 patients, 72 (72.00%) were positive for *H. pylori* infection. The rates of *H. py-*

lori infection for the experiment group and control group were 63.33% and 75.71%, respectively. Although there were no significant differences in the positive expression rates of Foxp3 and TGF-β1 mRNAs between the experiment group and control group (73.33% vs 54.29%, 73.33% vs 62.86%, $P > 0.05$), significant differences were noted between the *H. pylori* infection positive group and negative group (68.06% vs 39.29%, 75.00% vs 42.86%, $P < 0.05$). The protein level of IL-10 differed significantly between the experiment group and control group and between the *H. pylori* infection positive negative groups (3.58 pg/mL ± 0.65 pg/mL vs 0.58 pg/mL ± 0.03 pg/mL, 2.84 pg/mL ± 0.89 pg/mL vs 0.97 pg/mL ± 0.22 pg/mL, $P < 0.01$).

CONCLUSION: *H. pylori* infection may directly or indirectly induce the expression of TGF-β1, IL-10 and Foxp3, which can inhibit the immunity in the gastric mucosa and thus provide a micro-environment for sustained *H. pylori* infection.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Gastric mucosa; Foxp3; TGF-β1; IL-10

Su GJ, Guo YY. Expression of Foxp3, TGF-β1 and IL-10 in the gastric mucosa of patients with *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(32): 4964-4968 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4964.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i32.4964>

摘要

目的: 探讨幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与胃黏膜细胞叉头蛋白3(fork head 3, Foxp3)、肿瘤生长因子-β1(tumor growth factor-β1, TGF-β1)、白介素-10(interleukin-10, IL-10)表达的关系。

方法: 按照病理检查结果将100例胃镜检查患者分为实验组(胃癌)30例和对照组(慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎、胃溃疡、十二

■同行评议者
陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科

指肠溃疡)70例, 比较两组患者*H. pylori*感染情况及胃黏膜细胞Foxp3、TGF-β1及IL-10的表达。

结果: 本组100例患者*H. pylori*阳性72例(72.00%), 实验组感染率为63.33%, 对照组感染率为75.71%, 总感染率为72.00%; Foxp3 mRNA在实验组和对照组阳性表达率比较(73.33% vs 54.29%), 差异无统计学意义($P>0.05$); Foxp3 mRNA在*H. pylori*感染阳性组阳性表达率与*H. pylori*感染阴性组阳性表达率比较(68.06% vs 39.29%), 差异具有统计学意义($P<0.05$); TGF-β1 mRNA在实验组和对照组阳性表达率比较(73.33% vs 62.86%), 差异无统计学意义($P>0.05$); TGF-β1 mRNA在*H. pylori*感染阳性组阳性表达率与*H. pylori*感染阴性组阳性表达率比较, (75.00% vs 42.86%), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 两组患者*H. pylori*阳性IL-10蛋白含量均显著高于*H. pylori*阴性(3.58 pg/mL ± 0.65 pg/mL vs 0.58 pg/mL ± 0.03 pg/mL, 2.84 pg/mL ± 0.89 pg/mL vs 0.97 pg/mL ± 0.22 pg/mL), 差异具有统计学意义($P<0.01$)。

结论: *H. pylori*感染后, 可诱导Treg细胞Foxp3的高表达以及TGF-β1、IL-10表达上调, 抑制机体胃黏膜局部免疫功能, 为*H. pylori*的持续性感染提供了微环境。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 幽门螺杆菌; 胃黏膜; 叉头蛋白3; 肿瘤生长因子-β1; 白介素-10

核心提示: 本研究结果显示, 叉头蛋白3(fork head 3, Foxp3)mRNA在幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染阳性组阳性表达率显著高于*H. pylori*感染阴性组, 提示*H. pylori*感染的胃黏膜细胞具有聚集较多的Foxp3阳性表达的Treg细胞, 参与胃黏膜局部免疫功能的抑制。肿瘤生长因子-β1(tumor growth factor-β1, TGF-β1)mRNA在*H. pylori*感染阳性组阳性表达率显著高于*H. pylori*感染阴性组, *H. pylori*阳性组白介素-10(interleukin-10, IL-10)蛋白含量显著高于*H. pylori*阴性组, 提示*H. pylori*感染可诱导胃黏膜细胞局部TGF-β1与IL-10的分泌, TGF-β1和IL-10蛋白参与Treg抑制功能的发挥。

苏国娟, 郭彦言. 胃黏膜细胞中Foxp3、TGF-β1、IL-10的表达及其与幽门螺杆菌感染的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(32): 4964-4968 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4964.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i32.4964>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是慢性胃炎、消化性溃疡发病的主要原因, 随着对其致病机制研究的不断深入, 资料显示治疗中不能根除*H. pylori*将终生携带^[1]. 临床研究表明, *H. pylori*具有保护自身免受宿主清除的能力, 因此*H. pylori*感染后机体虽出现免疫应答反应, 但不足以清除*H. pylori*^[2]. 已有研究表明Treg细胞对*H. pylori*引发的损伤性免疫病理反应有抑制作用^[3]. 现对*H. pylori*感染患者的胃黏膜组织中叉头蛋白3(fork head 3, Foxp3)、肿瘤生长因子-β1(tumor growth factor-β1, TGF-β1)、白介素-10(interleukin-10, IL-10)的表达情况进行分析, 探讨Foxp3、TGF-β1、IL-10表达对*H. pylori*感染的影响, 为临床治疗提供参考, 报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-04/2014-04唐山市丰南区医院收治的行胃镜检查的100例患者作为研究对象. 所有患者入选前1 mo均未服用认可非甾体类抗炎药、抗生素、黏膜保护剂、质子泵抑制剂以及含硝基化合物的药物. 按照病理检查结果将100例患者分为实验组(胃癌)30例和对照组(慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡)70例. 实验组男性患者19例, 女性患者11例, 患者年龄为18-82岁, 平均年龄为47.96岁 ± 12.33岁; 对照组男44例, 女26例, 患者年龄为19-81岁, 平均年龄为48.33岁 ± 11.79岁. 两组患者在性别、年龄等上差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性. 本研究经唐山市丰南区医院伦理委员会审核通过, 所有患者均签署知情同意书。

标准菌株NCTC11637由中国疾病预防控制中心传染病预防控制所提供, 人Foxp3 ISH原位杂交试剂盒、人TGF-β1 ISH原位杂交试剂盒、人IL-10 ELISA试剂盒以及快速尿素酶试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 方法

1.2.1 检测: 所有患者均在胃镜直视下使用灭菌活检钳取胃黏膜活检组织备用. (1)采用*H. pylori*分离培养鉴定或特异性PCR联合尿素酶试验对两组胃黏膜活检组织*H. pylori*感染情况进行检测; (2)采用原位杂交技术对两组胃黏膜活检组织中Foxp3 mRNA、TGF-β1 mRNA的表达情况进行检测^[4]; (3)采用ELISA法检测两组胃黏膜活检组织中IL-10蛋白含量. 具体操作步骤按照试剂盒说明书进行。

■ 研发前沿

临床研究表明幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是引起慢性胃炎、消化性溃疡甚至胃黏膜相关淋巴瘤或胃癌的重要病因, 目前其作用机制尚未完全明确。

■相关报道

临床研究表明, *H. pylori*具有保护自身免受宿主清除的能力, 因此*H. pylori*感染后机体虽出现免疫应答反应, 但不足以清除*H. pylori*.

表 1 两组患者*H. pylori*感染情况比较 (*n*)

分组	<i>H. pylori</i> 阳性		<i>H. pylori</i> 阴性	感染率(%)
	分离培养阳性	PCR阳性且快速尿素酶阳性		
实验组	5	14	11	63.33
对照组	35	18	17	75.71
合计	40	32	28	72.00

H. pylori: 幽门螺杆菌.

表 2 两组患者原位杂交检测Foxp3 mRNA的表达情况比较 (*n*)

分组	<i>H. pylori</i> 感染	<i>n</i>	Foxp3杂交阳性	Foxp3杂交阴性	阳性率(%)
实验组	阳性	19	16	3	84.21 ^a
	阴性	11	6	5	54.55
对照组	阳性	53	33	20	62.26 ^a
	阴性	17	5	12	29.41
合计	阳性	72	49	23	68.06 ^a
	阴性	28	11	17	39.29

^a*P*<0.05 vs *H. pylori*感染阴性组. *H. pylori*: 幽门螺杆菌; Foxp3: 叉头蛋白3.

1.2.2 结果判定: *H. pylori*快速尿素酶试验: 试剂变红为阳性, 保持黄色不变为阴性^[5]. *H. pylori* PCR检测: *ureA*⁺: 紫外灯下298 bp处出现橙色荧光条且与阳性对照(标准菌株NCTC11637扩增产物)一致, 阴性对照(5 μL去离子水代替循环体系中模板)相应处没有; *cagA*⁺: 紫外灯下411 bp处出现橙色荧光条且与阳性对照处一致, 阴性对照相应处没有; *vacA*⁺: 紫外灯下289 bp处出现橙色荧光条且与阳性对照处一致, 阴性对照相应处没有^[6]. 原位杂交实验: 细胞胞浆内有着色为棕黄色或细胞内出现浅黄色到深棕黄色细颗粒为Foxp3 mRNA、TGF-β1 mRNA原位杂交阳性, 随机选择每张细胞片上10个视野, 每个视野观察100个细胞, 记录1000个细胞中阳性染色细胞数, 取各组平均值为最终结果^[7]. 阳性: 阳性细胞数>5%; 阴性: 阳性细胞数<5%.

统计学处理 使用SPSS23.0进行数据分析, 计数资料用百分比(%)表示, 采用 χ^2 检验, *P*<0.05表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者*H. pylori*感染情况 本组100例患者*H. pylori*阳性72例(72.00%), 其中分离培养阳性40例(55.56%), PCR阳性且快速尿素酶阳性32例(44.44%), 实验组感染率为63.33%, 对照组感染

率为75.71%, 总感染率为72.00%(表1).

2.2 两组患者原位杂交检测Foxp3 mRNA的表达 Foxp3 mRNA在实验组阳性表达22例(73.33%), 阴性表达8例(26.67%), 在对照组阳性表达38例(54.29%), 阴性表达32例(45.71%), Foxp3 mRNA在实验组与对照组阳性表达率比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05); Foxp3 mRNA在*H. pylori*感染阳性组阳性表达率为68.06%, 在*H. pylori*感染阴性组阳性表达率为39.29%, 两组间比较差异具有统计学意义(*P*<0.05)(表2).

2.3 两组患者原位杂交检测TGF-β1 mRNA的表达 TGF-β1 mRNA在实验组阳性表达22例(73.33%), 阴性表达8例(26.67%), 在对照组阳性表达44例(62.86%), 阴性表达26例(37.14%), TGF-β1 mRNA在实验组与对照组阳性表达率比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05); TGF-β1 mRNA在*H. pylori*感染阳性组阳性表达率为75.00%, 在*H. pylori*感染阴性组阳性表达率为42.86%, 两组间比较差异具有统计学意义(*P*<0.05)(表3).

2.4 两组患者ELISA法检测IL-10蛋白含量比较 两组患者*H. pylori*阳性IL-10蛋白含量均显著高于*H. pylori*阴性, 差异具有统计学意义(*P*<0.01)(表4).

3 讨论

胃黏膜对胃有特殊的保护作用, 但胃黏膜很脆

表 3 两组患者原位杂交检测TGF-β1 mRNA的表达情况比较 (n)

分组	<i>H. pylori</i> 感染	<i>n</i>	TGF-β1杂交阳性	TGF-β1杂交阴性	阳性率(%)
实验组	阳性	19	16	3	84.21 ^a
	阴性	11	6	5	54.55
对照组	阳性	53	38	15	71.70 ^a
	阴性	17	6	11	35.29
合计	阳性	72	54	18	75.00 ^a
	阴性	28	12	16	42.86

^a $P < 0.05$ vs *H. pylori*感染阴性组. *H. pylori*: 幽门螺杆菌; TGF-β1: 肿瘤生长因子-β1.

表 4 两组患者ELISA法检测IL-10蛋白含量比较 (mean ± SD, pg/mL)

分组	<i>H. pylori</i> 阳性	<i>H. pylori</i> 阴性
实验组	3.58 ± 0.65 ^b	0.58 ± 0.03
对照组	2.84 ± 0.89 ^b	0.97 ± 0.22
合计	3.02 ± 0.89 ^b	0.83 ± 0.25

^b $P < 0.01$ vs *H. pylori*感染阴性组. *H. pylori*: 幽门螺杆菌; IL-10: 白介素-10.

弱, 容易受环境因素、饮食、药物、吸烟、酗酒、细菌感染、情绪变化等多种因素的影响. 一旦机体胃黏膜遭到破坏, 就会使得胃的动态平衡被打破, 胃黏膜受到损坏, 难以恢复如初. 胃黏膜受到损坏, 临床表现为胃部不适、上腹部疼痛、恶心、腹泻、食欲不振等多种症状.

临床研究表明*H. pylori*感染是引起慢性胃炎、消化性溃疡甚至胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤或胃癌的重要病因, 目前其作用机制尚未完全明确^[8]. *H. pylori*分离培养是诊断*H. pylori*感染的金标准, 但易受实验条件影响而发生假阴性^[9]. 本研究在此基础上增加了PCR检测和快速尿素酶试验, 对*H. pylori*培养阴性及细菌涂片为球形的可疑阳性标本进行检测, 二者同为阳性可判断*H. pylori*感染阳性. 本研究中100例患者*H. pylori*感染阳性72例(72.00%), *H. pylori*感染率较高.

由于*H. pylori*感染与慢性胃炎和消化性溃疡等胃部疾病的发生有紧密联系, 因此抗*H. pylori*治疗已经成为了胃部疾病治疗的重要内容. *H. pylori*感染后可引发损伤性免疫病理反应, 从而在机体内持续存活^[10]. 目前已有研究表明Treg细胞对*H. pylori*引起的免疫病理反应有显著抑制效果^[11]. 历春等^[12]的研究表明, 对去胸腺的C57BL/6nu/nu小鼠回输淋巴细胞后发现, 回输剔除CD25⁺ T细胞的小鼠胃内黏膜*H. pylori*定植

的数量显著减少, 同时胃内炎症明显加重. 提示*H. pylori*感染后小鼠体内CD4⁺CD25⁺ Treg细胞增加, 对*H. pylori*引起的特异性Th1细胞反应产生抑制作用, 阻碍了γ干扰素(interferon-γ, IFN-γ)等炎症因子的生成, 改善了胃黏膜的病理损害, 但也相应的引起了*H. pylori*清除减少、胃黏膜*H. pylori*定植数量增加的结果^[13]. *Foxp3*基因高表达于淋巴组织, 是CD4⁺CD25⁺ Treg细胞的特异性标志. 李红平等^[14]的研究表明Foxp3过度表达的小鼠可以产生更多的Treg细胞并能抑制自身免疫性疾病的发生. 体外研究表明, 特异性抗CD3抗体和抗CD28单抗协同刺激人和鼠的CD4⁺CD25⁺ Treg细胞, 可引起人CD4⁺CD25⁺ Treg细胞Foxp3表达上升, 同时具有了抑制活性^[15]. 因此可以证明, *Foxp3*基因表达对调控CD4⁺CD25⁺ Treg细胞分化发育、表达及功能维持有重要影响, 但确切机制尚无明确研究结果. 另有研究表明Treg细胞主要通过分泌抑制性因子和通过细胞间直接接触介导抑制两种方式发挥抑制功能, 而IL-10和TGF-β是Treg细胞发挥抑制作用所必不可少的^[16].

本研究结果显示, *Foxp3* mRNA在*H. pylori*感染阳性组阳性表达率显著高于*H. pylori*感染阴性组, 提示*H. pylori*感染的胃黏膜细胞具有聚集较多的Foxp3阳性表达的Treg细胞, 参与胃黏膜局部免疫功能的抑制. TGF-β1 mRNA在*H. pylori*感染阳性组阳性表达率显著高于*H. pylori*感染阴性组, *H. pylori*阳性组IL-10蛋白含量显著高于*H. pylori*阴性组, 提示*H. pylori*感染可诱导胃黏膜细胞局部TGF-β1与IL-10的分泌, TGF-β1和IL-10蛋白参与Treg抑制功能的发挥.

总之, *H. pylori*感染后, 可诱导高表达Foxp3的Treg细胞、TGF-β1与IL-10表达上调, 抑制机体胃黏膜局部免疫功能, 为*H. pylori*的持续性感染提供了微环境.

■同行评价

本研究内容实用, 具有一定的临床参考价值.

4 参考文献

- 1 党海珍, 焦顺昌. 胃癌免疫与肿瘤细胞因子关系的研究进展. 军医进修学院学报 2011; 32: 1081-1084
- 2 周广玺, 张翠萍, 魏文超, 梁坤. 慢性胃炎及微环境与胃癌. 齐鲁医学杂志 2014; 29: 177-180
- 3 金瑞放, 黄智铭. 调节性T细胞与幽门螺杆菌持续感染的研究进展. 国际消化病杂志 2010; 30: 259-260, 286
- 4 Iwatani S, Nagashima H, Reddy R, Shiota S, Graham DY, Yamaoka Y. Identification of the genes that contribute to lactate utilization in *Helicobacter pylori*. *PLoS One* 2014; 9: e103506 [PMID: 25078575 DOI: 10.1371/journal.pone.0103506]
- 5 Kandulski A, Wex T, Kuester D, Peitz U, Gebert I, Roessner A, Malfertheiner P. Naturally occurring regulatory T cells (CD4+, CD25high, FOXP3+) in the antrum and cardia are associated with higher *H. pylori* colonization and increased gene expression of TGF-beta1. *Helicobacter* 2008; 13: 295-303 [PMID: 18665940 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2008.00612.x]
- 6 Lemke LB, Ge Z, Whary MT, Feng Y, Rogers AB, Muthupalani S, Fox JG. Concurrent *Helicobacter bilis* infection in C57BL/6 mice attenuates proinflammatory *H. pylori*-induced gastric pathology. *Infect Immun* 2009; 77: 2147-2158 [PMID: 19223483 DOI: 10.1128/IAI.01395-08]
- 7 马健, 孟欣颖, 王涛, 江晨, 纪萍, 周长宏. 慢性活动性胃炎患者血清IL-6、TGF-β1及IL-17的水平与幽门螺杆菌的关系及临床意义. 中华临床医师杂志(电子版) 2012; 6: 2908-2910
- 8 时昭红, 刘浩. 幽门螺杆菌感染与胃癌. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3327-3331
- 9 Kandulski A, Wex T, Kuester D, Mönkemüller K, Peitz U, Roessner A, Malfertheiner P. Chronic mucosal inflammation of the gastric cardia in gastroesophageal reflux disease is not regulated by FOXP3-expressing T cells. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1940-1946 [PMID: 19242793 DOI: 10.1007/s10620-009-0746-z]
- 10 金雷, 谢勇. 调节性T细胞与幽门螺杆菌感染. 国际消化病杂志 2008; 28: 486-488
- 11 朱振红, 唐旭东, 王凤云, 郭朋. 幽门螺杆菌免疫根除的研究与治疗. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2674-2678
- 12 历春, 盖晓东, 贾婷, 付海英, 李一. 小鼠Lewis肺癌细胞Foxp3的表达对T淋巴细胞增殖的影响及机制. 中国免疫学杂志 2010; 26: 986-991, 996
- 13 游海梅, 胡团敏. 幽门螺杆菌CagA基因与消化系统疾病关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1505-1510
- 14 李红平, 赵逵, 狄连君, 刘华庆, 张锚链. 幽门螺旋杆菌感染患者胃黏膜TGFβ1表达与细胞增殖活性的研究. 中国现代医学杂志 2011; 21: 1135-1139
- 15 张国胜. 三联疗法对老年幽门螺杆菌胃炎患者血清IL-10、TGF-β1及IL-17水平的影响. 重庆医学 2014; 43: 821-822, 825
- 16 Kandulski A, Malfertheiner P, Wex T. Role of regulatory T-cells in *H. pylori*-induced gastritis and gastric cancer. *Anticancer Res* 2010; 30: 1093-1103 [PMID: 20530414]

编辑 韦元涛 电编 闫晋利

