

# EB潜伏膜蛋白表达与肠上皮化生胃黏膜幽门螺杆菌感染的相关性

刘东屏, 于继红, 李茵茵, 王炳元

刘东屏, 于继红, 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

李茵茵, 鞍山曙光医院肿瘤内科 辽宁省鞍山市 114000

刘东屏, 女, 1963-11-14生, 辽宁省沈阳市人, 汉族, 1985年中国医科大学本科毕业, 1988年硕士研究生, 1998年博士研究生, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事消化道肿瘤的研究。

通讯作者: 刘东屏, 110001, 沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院消化内科, dongpingl@yahoo.com.cn

电话: 024-23256666-6199 传真: 23329171

收稿日期: 2005-05-23 接受日期: 2005-06-08

## Relationship between expression of Epstein-Barr virus latent membrane protein and *H pylori* infection in gastric mucosa with intestinal metaplasia

Dong-Ping Liu, Ji-Hong Yu, Yin-Yin Li, Bing-Yuan Wang

Dong-Ping Liu, Ji-Hong Yu, Bing-Yuan Wang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Yin-Yin Li, Department of Oncology, Shuguang Hospital of Anshan, Anshan 114000, Liaoning Province, China

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

Received: 2005-05-23 Accepted: 2005-06-08

### Abstract

**AIM:** To observe the expression of Epstein-Barr virus latent membrane protein(EBV-LMP) in different types of intestinal metaplasia(IM), and to explore its relation with *H pylori* infection.

**METHODS:** One hundred and seventy-one patients with IM were diagnosed using HE staining, and 30 normal cases were selected as controls. HID-AbpH2.5-PAS mucoprotein histochemical staining and SP histochemical staining were used to determine the subtypes of the IM and EBV-LMP, respectively. *H pylori* infection was examined by HE staining, *H pylori*-DNA polymerase chain reaction, and enzyme linked immunosorbent assay.

**RESULTS:** There was no expression of EBV-LMP in the normal gastric mucosa, while the positive rate of EBV-LMP in the IM ones was 33.3% and the EBV-LMP was mainly stained in the cell nuclei. The expression

of EBV-LMP in the IM mucosa was significantly higher than that in normal ones( $P = 0.000187$ ). The rate of *H pylori* infection was 63.7% in the IM mucosa, which was correlated with IM ( $r_s = 0.275$ ,  $P = 0.000755$ ). The rate of *H pylori* infection in the IM mucosa with EBV-LMP expression was 63.2% (36/57), which was significantly higher than that in normal mucosa( $P = 0.000445$ ). *H pylori* infection was significantly related to the expression of EBV-LMP in the IM mucosa ( $r_s=0.522$ ,  $P = 0.000001$ ).

**CONCLUSION:** EBV-LMP is expressed in IM mucosa, and latent infection of EBV exists in some of them. The expression of EBV-LMP is significantly higher in each subtype of the IM mucosa than that in the normal ones. *H pylori* expression is correlated with the expression of EBV-LMP in IM mucosa.

**Key Words:** Epstein-Barr virus latent membrane protein; Intestinal metaplasia; *H pylori*

Liu DP, Yu JH, Li YY, Wang BY. Relationship between expression of Epstein-Barr virus latent membrane protein and *H pylori* infection in gastric mucosa with intestinal metaplasia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(19):2323-2326

### 摘要

**目的:** 观察不同分型的肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)胃黏膜组织(肠化黏膜) EBV潜伏膜蛋白(Epstein-Barr virus latent membrane protein, EBV-LMP)的表达, 及其和*H pylori*感染的相关性。

**方法:** 正常胃黏膜30例、肠化黏膜171例, 用HE染色对所取标本进行组织病理学诊断; 肠上皮化生分型采用HID-AbpH2.5-PAS黏蛋白组织化学染色方法, EBV-LMP测定采用SP组织化学染色技术, *H pylori*感染判定采用HE, *H pylori*-DNA PCR和血清ELISA法测定*H pylori* IgG抗体3种方法。

**结果:** 正常胃黏膜未见EBV-LMP的表达, 肠化黏膜EBV-LMP表达阳性率为33.3%, EBV-LMP主要着色于细胞核, 肠化黏膜EBV-LMP表达明显高于正常胃黏膜, 差别非常显著( $P = 0.000187$ )。肠化黏膜*H pylori*的检出率为63.7%, *H pylori*感染与胃黏膜肠化有明显的相关性( $r_s = 0.275$ ,  $P = 0.000755$ )。EBV-LMP表达的肠化黏膜*H pylori*的检出率为63.2%(36/57), 与

正常胃黏膜相比有显著差异( $P = 0.000445$ ) ; *H pylori* 感染与EBV-LMP在肠化黏膜组织的表达具有明显的相关性( $r_s = 0.522$  ,  $P = 0.000001$ ).

**结论:** 胃黏膜肠上皮化生组织存在EBV-LMP表达, 部分肠化黏膜中存在着EBV的潜伏感染, 各型肠化黏膜中EBV-LMP表达明显高于正常胃黏膜组织, 肠化黏膜中*H pylori*感染与EBV-LMP表达具有明显的相关性.

**关键词:** EB潜伏膜蛋白; 肠上皮化生; 幽门螺杆菌

刘东屏, 于继红, 李茵茵, 王炳元. EB潜伏膜蛋白表达与肠上皮化生胃黏膜幽门螺杆菌感染的相关性. 世界华人消化杂志 2005;13(19):2323-2326  
http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2323.asp

## 0 引言

EB病毒(Epstein-Barr Virus, EBV)是最早发现的与人类肿瘤存在明显病因关系的病毒<sup>[1]</sup>. 近年来生物因素在胃炎和胃肿瘤发病中的作用受到了普遍的关注. 作为生物致癌因素的幽门螺杆菌(*H pylori*)和EBV其与胃癌的关系的研究也逐渐得到人们的重视. EB病毒潜伏膜蛋白(latent membrane protein, EBV-LMP)是EB病毒的癌基因, 也是确定EB病毒潜伏感染的主要指标. 国外90%的EB病毒相关性胃癌癌巢周围存在着肠上皮化生<sup>[2]</sup>, 而流行病学研究显示, 在胃癌和肠上皮化生的发生机制中*H pylori*感染起着重要作用. 那么作为胃癌癌前病变的肠上皮化生黏膜中是否也存在EB病毒感染, EB病毒与*H pylori*在肠化及胃癌的发生中是否有协同作用呢? 探讨如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 我院外科手术标本. 30例正常胃黏膜、肠化黏膜171例, 利用HE染色对所取标本进行组织病理学诊断.

**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, 呈兰色着色. 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, 少量兰色或红色; 利用S-P免疫组织化学技术进行EBV-LMPmAb检测, EBV-LMP抗体稀释度为1:50, 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为阳性, 光学显微镜下计数五个以上高倍视野不少于1000个细胞因行为无阳性细胞或阳性细胞数小于10%, 阳性为阳性细胞数大于10%; 利用HE, Hp-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, 胃黏膜表面粘液层及小凹上皮内可见“S”型弯曲杆状细菌阳性标本见图3A, Hp-DNA PCR扩增片断为430 bp, 取10 μL扩增产物与1 μL溴酚蓝混匀, 用2%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** SPSS11.5统计分析软件, 对资料进行 $\chi^2$ 检验及Spearman等级相关分析.

## 2 结果

**2.1 EBV-LMP的表达** 主要着色于细胞核中, 正常胃黏膜组织EBV-LMP表达为阴性见图1A, 肠化黏膜组织EBV-LMP表达见图1B, 肠化黏膜EBV-LMP表达明显高于正常胃黏膜表达 $P = 0.000187 < 0.01$  I, II, III型肠化中EBV-LMP表达均高于正常胃黏膜组织EBV-LMP表达见图2A-C差异有统计学意义( $P = 0.000445 < 0.01$ ), 各型间EBV-LMP表达差别无统计学意义(表1).

**2.2 *H pylori*感染肠化黏膜** EBV-LMP表达见图3A, 图3B中肠化黏膜中*H pylori*的检出率为63.7%; 肠化黏膜与*H pylori*感染具有良好的相关性

表1 胃黏膜、肠化黏膜EBV-LMP的表达

组别	n	阳性	阴性	阳性%
正常	30	0	30	
肠化	171	57	114	33.3
I型	54	16	38	
II型	76	25	51	
III型	41	16	25	

表2 肠化黏膜*H pylori*感染和EBV-LMP的相关性

肠化/EBV-LMP <i>H pylori</i>	n	正常				相关系数( $r_s$ )	P值
		正常	I型	II型	III型		
+ / 阳性	109	0	35	49	25	0.275	0.000755
+ / 阴性	62	30	19	27	16		
- / 阳性	0	0	10	16	10	0.522	0.000001
- / 阴性	0	30	16	25	16		

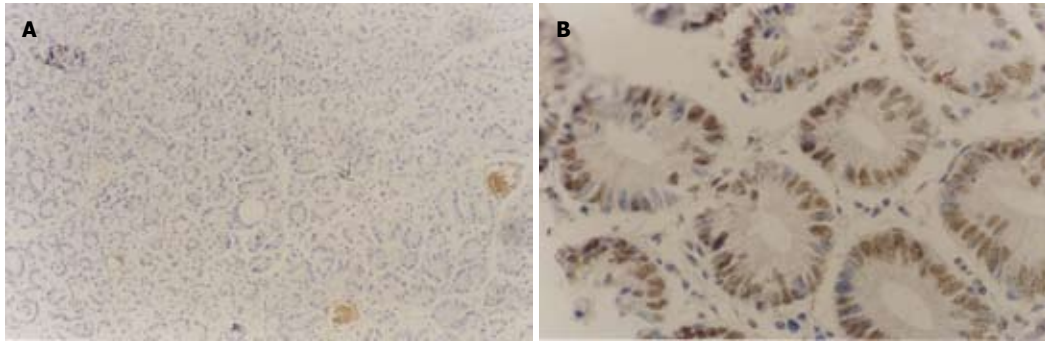


图1 SP免疫组化染色EBV-LMP表达. A:(x200) 正常胃黏膜阳性表达; B:(x400) 型肠化阳性表达.

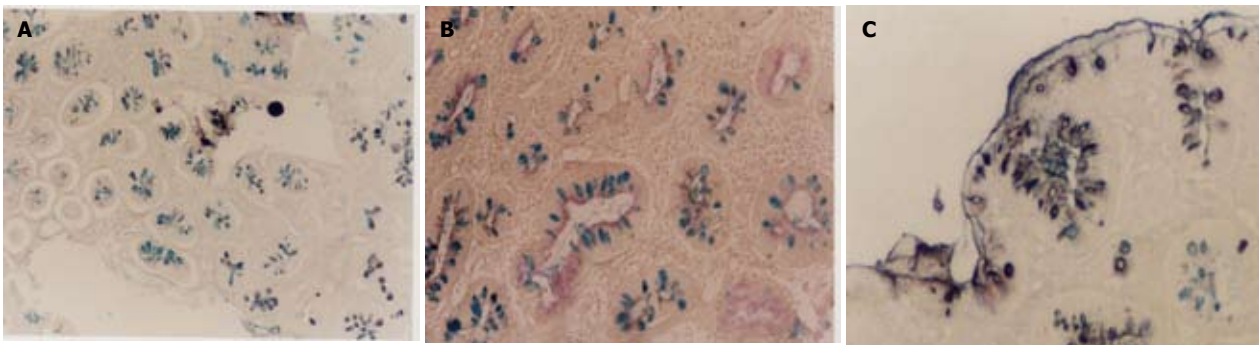


图2 :HID-ABpH2.5-PAS黏蛋白组织化学染色. A: 型肠化EBV-LMP阴性表达(x400); B: 型肠化EBV-LMP阳性表达(x400); C: 型肠化EBV-LMP阳性表达(x200).

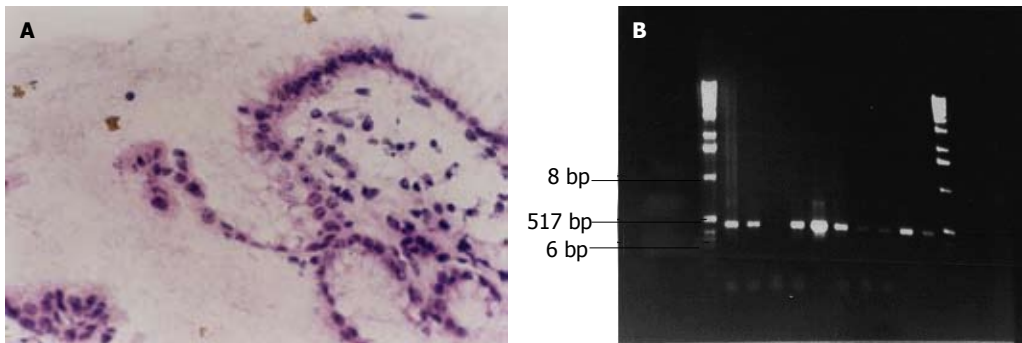


图3 :Hp检测. A :肠化黏膜中HE染色观察胃黏膜表层黏液内见到片状呈“S”型弯曲状幽门螺杆菌; B :肠化黏膜中Hp-DNA PCR扩增片段为430 bp ,若标本扩增带与阳性扩增带处同一位置 ,判断为阳性.

( $P = 0.000755 < 0.01$ , 表2), EBV-LMP表达的肠化黏膜 *H. pylori* 的检出率为 (36/57), 与正常胃黏膜相比有显著差异 ( $P < 0.01$ ); 有 *H. pylori* 感染组与无 *H. pylori* 感染组肠化黏膜的EBV-LMP表达阳性率均高于正常胃黏膜 ( $P = 0.000445 < 0.01$ ); *H. pylori* 感染与EBV-LMP在肠化黏膜组织的表达具有明显的相关性 ( $r_s = 0.522$ , ( $P = 1 \times 10^{-6} < 0.01$ , 表2).

### 3 讨论

Burke于1990年首次报告EBV与胃癌有关联, 目前已确定EBV阳性胃癌在全人类是普遍存在的. 我国是胃癌高发国, 同时也是EBV和 *H. pylori* 感染率均较高的国家, 因为胃黏膜肠上皮化生特别是III型肠化是

重要的癌前病变<sup>[3]</sup>我们发现胃黏膜肠上皮化生中存在着EBV潜伏膜蛋白的表达, 阳性率为33.3%, 正常胃黏膜无EBV-LMP表达, 统计学上差异有显著意义 ( $P = 0.000187 < 0.01$ ), 肠化黏膜中EBV-LMP的高表达, 提示肠化黏膜对EB病毒有较高的亲和性, 证明胃的癌前病变中存在着潜伏性EB病毒感染. 正常胃黏膜→肠化黏膜中EBV-LMP的表达阳性率呈现出由无→高的表达规律. 潜伏的EBV并非静止不动, 而是在进行缓慢的生物学活动, 在少数特定情况下由潜伏状态转变为增殖状态. 一旦机体免疫防御功能降低及遗传、环境因素的影响, 对于病毒的这种“永生”活性失控, 从而使其显性化则可引起细胞的无限增殖, 导致一部分肠化发生了EBV阳性胃癌<sup>[4]</sup>.

肠化是一种较为特殊的胃黏膜病变,一些研究从肠化分型的角度研究了肠化与胃癌的关系,发现不完全性结肠型肠化生(III型肠化)与胃癌的关系最为密切,这型肠化具有与胃癌相类似的生物学性状.我们应用HID-ABpH2.5-PAS黏蛋白组织化学染色的方法对171例肠化黏膜进行了分型,研究结果显示I→II→III型肠化组织中EBV-LMP的表达阳性率有由低→高的趋势,各型肠化EBV-LMP的表达与正常胃黏膜相比差异非常显著( $P = 0.000445 < 0.01$ ),由于EBV-LMP的癌基因活性,也提示部分肠化尤其是III型肠化可能与EB病毒阳性胃癌的发生有关.我们利用HE、Hp-DNA PCR及血清ELISA检测Hp IgG抗体3种方法对肠化黏膜进行*H pylori*感染情况的检测,证实本组病例中肠化黏膜Hp的检出率为63.7%,与正常胃黏膜相比 $P = 1 \times 10^{-6} < 0.01$ ;该结果显示*H pylori*感染与肠化的发生显著相关,而在肠化的具体类型的形成中可能不起明显作用.在III型肠化黏膜中*H pylori*检出率略有降低,同文献报告相仿,考虑III型肠化黏膜由于胃黏膜病变的加重,局部环境已经不利于*H pylori*的生长,而EBV感染上皮细胞后,则主要潜伏在细胞核内,外界环境对其影响较小,因此EBV-LMP在肠化黏膜的高表达,就可能与肠化的转化有关.

*H pylori*感染与胃黏膜肠上皮化生关系密切,虽

不是肠化向胃癌转化的唯一因素,但*H pylori*感染在肠化生的发展中起到启动因子的作用<sup>[4]</sup>,EBV感染上皮细胞后由于EBV-LMP的癌基因活性,在潜伏感染过程中使上皮细胞发生转化则可以直接导致癌的发生.国外认为在*H pylori*感染后容易发生EBV感染,从而引起EBV阳性胃癌的发生.在我们的实验中发现肠上皮化生组*H pylori*感染和EBV-LMP呈明显的相关性,差异显著,能有力地证实这一假说,*H pylori*与EBV对肠化的发生和发展的协同作用,其机制尚需进一步研究.

#### 4 参考文献

- 1 International Agency for Reserch on Cancer, Schistosomes, Liver flukes and Helicobacter Pylori. IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human. IARC Monogr Eval Carcinogenic Risks Hum 1994;61:1-241
- 2 Yanai H, Takada K, Shimizu N, Mizugaki Y, Tada M, Okita K. Epstein-Barr virus infection in non-carcinomatous gastric epithelium. *J Pathol* 1997;183:293-298
- 3 Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelman JH, Orentreich N, Sibley RK. Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991;325:1127-1131
- 4 Rowe M, Evans HS, Young LS, Hennessy K, Kieff E, Rickinson AB. Monoclonal antibodies to the latent membrane protein of EBV reveal heterogeneity of the protein and inducible expression in virus transformed cells. *J Gen Virol* 1987;68:1575-1586

电子编辑 李琪 编辑 潘伯荣 审读 张海宁

## 2006年即将召开的国际会议

10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus  
February 22-25, 2006  
isde@sapmea.asn.au  
www.isde.net

Easl 2006 - The 41st Annual Meeting  
April 26-30, 2006

Canadian Digestive Disease Week Conference  
March 4-12, 2006  
www.cag-acg.org

XXX pan-american congress of digestive diseases  
XXX congreso panamericano de enfermedades digestivas  
November 25-December 1, 2006  
amg@gastro.org.mx  
www.gastro.org.mx

World Congress on Gastrointestinal Cancer  
June 14-17, 2006  
c.chase@imedex.com

7th World Congress of the International Hepato - Pancreato - Biliary Association  
September 3 - 7, 2006  
convention@edinburgh.org  
www.edinburgh.org/conference

Annual Postgraduate Course  
May 25 - 26, 2006  
www.asge.org/education

71st ACG Annual Scientific Meeting and Postgraduate Course  
October 20 - 25, 2006