

度,影响分离结果;相同的pH条件下,从分离和峰形综合考虑,本实验选择30 mmol/L硼砂作运行缓冲液.pH对结果影响较大,在pH9.3-10.1的范围,分离效果逐渐改善,到pH 9.9时变化较明显.我们选择了一些有机溶剂和表面活性剂,除150 g/L异丙醇,分离效果未见改善.因此,用30 mmol/LpH9.9的硼砂溶液,150 g/L异丙醇作添加剂可成功分离17种氨基酸,缬氨酸和三种芳香族氨基酸基线分离,亮氨酸、异亮氨酸与其他成分基线分离,可准确定量15种氨基酸和支芳比,基本满足临床需要.用18种氨基酸标准液进行电泳,其中12种氨基酸可达到完全分离,得到15个峰,苯丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸和谷氨酰胺无法单独分离,另外,丝氨酸出现两个峰.我们采用的2,4-二硝基氟苯,最初被用来进行氨基酸的测序,该法稳定、摩尔吸光系数大,且能与二级氨基反应,其不足之处是与谷氨酸的衍生化反应较慢^[8],且衍生化反应容易使样品受到污染.鉴于此,人们一直在寻找无需衍生、简易的氨基酸分析方法.作为经典的判断肝病氨基酸代谢异常的指标,血清支链氨基酸与芳香氨基酸之比(BCAA/AAA)已被广泛应用.肝病时血浆氨基酸变化主要表现为支链氨基酸(亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸又称BCAA)降低,芳香族氨基酸(苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸又称AAA)升高,支/芳比降低^[9-10].在我们的研究中,支持这一结论.在肝硬化组丙氨酸明显下降;肝癌组苏氨酸明显升高,脯氨酸明显下降,缬氨酸有代偿性升高.

4 参考文献

- Ninomiya T, Yoon S, Sugano M, Kumon Y, Seo Y, Shimizu K, Nagano H, Kasuga M, Hayashi Y. Improvement of molar ratio of branched-chain amino acids to tyrosine(BTR)associated with liver fibrosis in chronic hepatitis C patients treated with interferon-alpha. *Dig Dis Sci* 1999;44:1027-1033
- Suzuki H, Mamata Y, Mizuno H, Tominaga T, Suga M, Suemori S, Sato A, Suzuki M. Influence of alcohol on branched-chain amino acid/tyrosine molar ratio in patients with cirrhosis. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22(3 Suppl):137S-140S
- Marchesini G, Bianchi G, Rossi B, Brizi M, Melchionda N. Nutritional treatment with branched-chain amino acids in advanced liver cirrhosis. *J Gastroenterol* 2000;35(Suppl 12):7-12
- Kawamura-Yasui N, Kaito M, Nakagawa N, Fujita N, Ikoma J, Gabazza EC, Watanabe S, Adachi Y. Evaluating response to nutritional therapy using the branched-chain amino acid/tyrosine ratio in patients with chronic liver disease. *J Clin Lab Anal* 1999;13:31-34
- Barbul A. Arginine:biochemistry, physiology, and therapeutic implications.(review No abstract). *J Parenter Enterol Nutr* 1986;10:227-238
- Yu M, Dovichi NJ. Attomole amino acid determination by capillary zone electrophoresis with thermo-optical absorbance detection. *Anal Chem* 1989;61:37-40
- Kuhr WG, Yeung ES. Indirect fluorescence detection of native amino acids in capillary zone electrophoresis. *Anal Chem* 1988;60:1832-1834
- She Z, Sun Z, Wu L, Wu K, Sun S, Huang Z. Rapid method for the determination of amino acids in serum by capillary electrophoresis. *J Chromatogr A* 2002;979:227-232
- 沈同,王镜岩,赵邦猷.生物化学.第二版.北京:高等教育出版社,1990:116-117
- Kano T, Nagaki M, Takahashi T, Ohnishi H, Saitoh K, Kimura K, Muto Y. Plasma free amino acid pattern in chronic hepatitis as a sensitive and prognostic index. *Gastroenterol Jpn* 1991;26:344-349

编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005年版权归世界胃肠病学杂志社

• 临床经验 •

胃癌高发区人群CagA⁺幽门螺杆菌与胃黏膜病变的关系

卢启明,张丽萍,姜瑞,张岫兰,李淑兰,曹萍,石丽清,陈翔,薛群基

卢启明,张丽萍,姜瑞,张岫兰,李淑兰,曹萍,石丽清,陈翔,甘肃省人民医院消化科 甘肃省兰州市 730000

薛群基,中国科学院兰州化学物理研究所 甘肃省兰州市 730000

项目负责人:卢启明,730000,甘肃省兰州市,甘肃省人民医院消化科,

luqim@163.com

收稿日期:2004-11-16 接受日期:2004-12-16

摘要

目的:探讨胃癌高发区CagA⁺*H pylori*菌株与胃黏膜病变的

相关性。

方法:对216例*H pylori*阳性的普通人群,行胃镜检查及胃黏膜HE染色明确胃黏膜病理学改变,同时用蛋白芯片技术检测*H pylori*的CagA抗体。

结果:在216例标本中,浅表性胃炎23例,萎缩性胃炎189例,中度以上萎缩性胃炎164例,占75.93%(164/216),中

度以上肠上皮化生(IM)31例,占14.81%(31/216),中度以上异型增生33例,占15.28%(33/216),胃癌4例。萎缩性胃炎、中度以上肠上皮化生和异型增生组 CagA⁺*H pylori* 阳性率均较浅表性胃炎组显著升高(71.43%, 67.74%, 72.73% vs 17.39%, $P < 0.05$)。

结论: CagA⁺*H pylori* 具有较强的促进胃黏膜萎缩、肠型化生和异型增生作用,感染 CagA⁺*H pylori* 可能是胃癌发生的危险因素之一。

卢启明,张丽萍,姜瑞,张岫兰,李淑兰,曹萍,石丽清,陈翔,薛群基.胃癌高发区人群 CagA⁺ 幽门螺杆菌与胃黏膜病变的关系.世界华人消化杂志 2005;13(3):408-410

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/408.asp>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H pylori*)感染与慢性胃炎、消化性溃疡及胃癌的发生密切相关,我国人群中 *H pylori* 感染率较高,发展为相关胃病的仍是少数,许多人感染 *H pylori* 可终生无症状,仅小部分 *H pylori* 感染者最终发展为胃癌.研究认为 *H pylori* 的毒力基因 CagA 与 *H pylori* 的致病密切相关^[1-2]. CagA⁺*H pylori* 也是癌前病变萎缩性胃炎、肠上皮化生和异型增生的重要病因和促进因子,可增加胃癌发生的危险性^[3-4],但有血清流行病学研究得出不同的结论.在我国 CagA⁺*H pylori* 菌株占绝大部分,未发现 CagA⁺*H pylori* 与特定的疾病存在相关性^[5].我们于2003年在胃癌高发区甘肃省河西走廊天祝县的 *H pylori* 感染流行病学调查中,开展了血清 *H pylori*-CagA 抗体测定及胃黏膜组织病理学检查,旨在探讨 CagA⁺*H pylori* 感染与胃黏膜肠上皮化生、异型增生及胃癌发生的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 选天祝县县城及近郊的两个乡镇行 *H pylori* 感染的流行病学调研,所有人群均行问卷调查、¹⁴C-UBT 和测定 *H pylori*-IgG 抗体,共调查 1 495 人。¹⁴C-UBT 和 *H pylori*-IgG 均阳性者,即纳入本研究范围.入选病例共 216 例,其中男 104 例,女 112 例,平均年龄 41.6 岁.胃镜检查时距幽门 5 cm 以内钳取胃黏膜组织,40 g/L 中性甲醛固定,石蜡包埋,切片行嗜伊红染色观察胃黏膜病理学改变,根据悉尼系统对胃黏膜进行组织学分型。

1.2 方法 血清金标渗滤斑点法测定 *H pylori*-IgG 抗体.抗-CagA 抗体测定:采用深圳欣康基因数码科技有限公司生

产的蛋白芯片技术,将 *H pylori* 特异性的五种蛋白(CagA、VacA、Ure、RdxA 及 *H pylori*s60)以微矩阵形成固定于硝酸纤维膜上,待检血清中的相应抗体与之结合形成抗原抗体复合物,再用胶体金标记后形成肉眼可见的红色斑点,用生物芯片阅读仪可对血清中的抗体进行分析。

统计学处理 采用 SPSS10.0 软件包处理数据,两个或两个以上的样本率比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为有显著性差异

2 结果

2.1 *H pylori* 感染率 ¹⁴C-UBT 或 *H pylori*-IgG 阳性人数 1106 例, *H pylori* 总感染率 74.0% (1106/1495),其中 5-12 岁儿童 *H pylori* 感染率为 31.9%, 13-19 岁 *H pylori* 感染率达 62.2%, 20-39 岁年龄组感染率最高,为 75.0%,到 60-70 岁年龄组时降至 67.7%。

2.2 胃镜检查结果 浅表性胃炎(CSG)124 例,萎缩性胃炎(CAG)63 例,胃溃疡 10 例,十二指肠溃疡 15 例,胃癌(GC)4 例。

2.3 胃黏膜 HE 染色病理学检查结果 浅表性胃炎 23 例,萎缩性胃炎 189 例,胃腺癌 4 例,其中中度以上萎缩性胃炎 164 例,占 75.93% (164/216),肠上皮化生(IM)40 例,中度以上 31 例,占 14.35% (31/216),异型增生(Dys)57 例,中度以上 33 例,占 15.28% (33/216)。

2.4 不同年龄组胃黏膜组织病理学检查结果 CSG 和 CAG 组在各年龄组均无差异 ($P > 0.05$), IM 在各年龄组均有差异 ($P < 0.01$), Dys 组在各年龄组均有差异 ($P < 0.05$),随着年龄增长肠上皮化生、异型增生及胃癌检出率明显上升(表 1)。

2.5 *H pylori*-CagA⁺ 检出率 CagA⁺ 总检出率为 66.20% (143/216),不同胃黏膜病变检出情况(表 2),其中萎缩性胃炎、中度以上肠化生、中度以上异型增生组 CagA⁺*H pylori* 感染率均较浅表性胃炎组明显升高 ($P < 0.05$),4 例胃癌 CagA⁺*H pylori* 阳性率为 100%。

表 2 不同胃黏膜病变 CagA⁺*H pylori* 检出结果

胃黏膜类型	n(%)	CagA ⁺ <i>H pylori</i> (n)	CagA ⁺ <i>H pylori</i> (%)
浅表性胃炎	23(10.65)	4	17.39
萎缩性胃炎	189(87.5)	135	71.43 ^a
中度以上肠化生	31(14.35)	21	67.74 ^c
中度以上异型增生	33(15.28)	24	72.73 ^e

^a $P < 0.05$, ^c $P < 0.05$, ^e $P < 0.05$ vs 浅表性胃炎。

3 讨论

H pylori 有多种类型菌株,感染后能否致病,除了与宿

表 1 不同年龄组胃黏膜病变检出率

年龄	n	CSG(%)	CAG(%)	IM(%)	Dys(%)	GC(%)
20-29	15	3(20.0)	12(80.0)	1(6.67)	2(13.33)	0(0)
30-39	67	10(14.92)	53(79.10)	6(8.96)	8(11.94)	0(0)
40-49	52	6(11.54)	43(82.70)	7(13.46)	13(25.0)	0(0)
50-59	48	7(14.58)	42(87.50)	16(33.33)	16(33.33)	1(2.08)
60以上	19	0(0)	18(60.0)	10(33.33)	10(33.33)	3(15.79)

主本身的遗传学因素及环境因素有关外, 主要取决于 *H pylori* 产毒菌株^[6] *H pylori* 的两个毒力基因, 即 CagA 基因和 VacA 基因, 分别表达两个毒力因子, 即 120-140 ku 的细胞毒素相关蛋白 (CagA) 和 87 ku 的细胞空泡毒素 (VacA), 这两种毒力型菌株具有很强的致病力, 其产生的细胞毒素, 能导致机体产生炎症及免疫反应, 从而产生胃黏膜及机体的损害。

一般认为, 胃癌的发生是一个多因素参与的多步骤、多阶段的演变过程, 即从慢性胃炎经历萎缩、肠上皮化生、异型增生, 最终发展为癌。*H pylori* 被认为是胃癌发生的启动因子和促进因子。王冠庭^[7]报道了 *H pylori* 阳性慢性胃病患者 149 例, 其中 CagA 和/或 VacA *H pylori* 阳性者 75 例, 胃镜活检证实 CAG35 例, 肠上皮化生 25 例, 异型增生 10 例, 随访中 2 例在癌前病变的基础上发生癌变, 占 3%; 74 例 *H pylori* 阳性而 CagA/VacA 毒力型菌株阴性组, 胃镜活检大多为 CSG 或 CSG+CAG, 无 1 例异型增生和消化性溃疡发生。同时报道的 135 例 *H pylori* 阴性慢性胃病对照组经胃镜及活检证实, 多为轻度 CSG, 无 1 例伴有肠上皮化生和异型增生, 临床症状轻微。研究结果说明, *H pylori* 毒力株感染可引起慢性胃黏膜炎症, 引起胃黏膜萎缩、肠上皮化生、异型增生和胃癌, *H pylori* 感染导致胃癌主要在早期阶段起作用。Parsonnet *et al*^[8] 研究发现, 感染 *H pylori* 的胃癌患者 CagA 抗体阳性率为 77.8%, 感染 CagA⁺ *H pylori* 的患者发生胃癌的风险性是对照组的 5.8 倍, 认为 CagA⁺ *H pylori* 与胃癌的发生明显相关。

本次 *H pylori* 流行病学调查, 天祝县 *H pylori* 感染率高达 74.0% (1106/1495), 这与当地地处干旱高寒地区, 卫生状况和生活条件较差相关。CagA⁺ *H pylori* 总阳性率为 66.20% (143/216), 经胃镜活检证实为萎缩性胃炎、中度以上肠上皮化生和异型增生 *H pylori* 阳性的病例中, CagA⁺ *H pylori* 阳性率分别为 71.43%、67.74%、72.73%, 而浅表性胃炎病例 CagA⁺ *H pylori* 阳性率仅 17.39%, 4 例胃癌 CagA⁺ *H pylori* 阳性率为 100%, 表明 CagA⁺ *H pylori* 菌株可促进胃黏膜萎缩、肠上皮化生和异型增生癌前病变的发生, 以上研究可解释 CagA⁺ *H pylori* 菌株感染进一步增加了 *H pylori* 致癌的危险性, CagA⁺ *H pylori* 可能与胃癌的发生发展密切相关。

在我们的研究中, 216 例 *H pylori* 阳性的胃镜组织病理学检查中, 萎缩性胃炎 189 例, 占 87.5%, 中度以上肠化生 31 例, 占 14.35%, 中度以上异型增生 33 例, 占 15.28%, 胃癌检出率 1.85% (4/216)。在 20-29 岁年龄组萎缩性胃炎检出率高达 80%, 异型增生检出率 13.33%, 到 40-49 岁年龄组异型增生检出率达 25.0%, 50-70 岁年龄组肠上皮化生和异型增生检出率达 33.33%。我们的流行病学调查结果显示天祝县儿童 5-12 岁 *H pylori* 感染率为 31.9%, 13-19 岁 *H pylori* 感染率高达 62.2%。由于少年时期 *H pylori* 的高感染率, 青年时期萎缩性胃炎及异型增生发生率就很高, 随着年龄增长, 肠上皮化生和异型增

生癌前病变及胃癌的发生率明显增加, 这符合 *H pylori* 感染后长期的慢性炎症易导致胃黏膜萎缩→肠化→异增生→胃癌这一病变模式, 也与 *H pylori* 感染后主要作用在癌变的起始阶段的观点一致^[9-11]。Blaser *et al*^[12] 研究结果认为, 感染 *H pylori* 的年龄越早, 发生胃癌的危险性越大。在发展中国家, 多数人获得感染的年龄在童年时期, 因此感染期很长, 30-40 a 的持续炎症可导致胃黏膜组织完整性受损, 引起胃体胃炎、萎缩、减少酸分泌, 如果有合适的致癌协同因素就会发展为胃癌。

总之, CagA⁺ *H pylori* 是 *H pylori* 的高毒力株, 在胃癌高发区甘肃省河西走廊天祝县严重胃黏膜病变及胃癌的发生可能与 CagA⁺ *H pylori* 有关, CagA⁺ *H pylori* 促癌变的详细机制尚不清楚。有文献报道认为可能与 Pic 基因及 NF- κ B 有关^[13]。另报道^[14-15] *H pylori* 的 CagA 促癌变的原因之一, 可能是通过癌基因 (*bcl-2*) 和抑癌基因 (p53) 蛋白表达异常使细胞增生与凋亡失衡, 导致细胞恶变形成胃癌。

4 参考文献

- Carratu R, Iuliano D, Ioverne MR, Ferraraccio F, Esposito P, Russo MI, Montella F, Abbate G, Tuffano MA. Peptic ulcer occurrence in follow-up of chronic gastritis in patients with treated and not eradicated CagA-positive *Helicobacter pylori* infection. *Dig Dis Sci* 2001;46:581-586
- Martin Guerrero JM, Hergueta Delgado P, Esteban Carretero J, Romero Castro R, Pellicer Bautista FJ, Herrerias Gutierrez JM. Clinical relevance of *Helicobacter pylori* CagA-positive strains: gastroduodenal peptic lesions marker. *Rev Esp Enferm Dig* 2000;92:160-173
- 刘海峰, 刘为纹, 房殿春, 王国安, 滕小春. 幽门螺杆菌感染与胃癌前病变变化的关系. *世界华人消化杂志* 2002;10:912-915
- Shimoyama T, Fukuda S, Tanaka M, Mikami T, Munakata A, Crabtree JE. CagA seropositivity associated with development of gastric cancer in a Japanese population. *J Clin Pathol* 1998;51:225-228
- Pan ZJ, Van der Hulst RW, Feller M, Xiao SD, Tytgat GN, Dabkert J, van der Ende A. Equally high prevalence of infection with CagA-positive *Helicobacter pylori* in Chinese patients with peptic ulcer disease and those with chronic gastritis-associated dyspepsia. *J Clin Microbiol* 1997;35:1344-1347
- 潘秀珍. 幽门螺杆菌的毒力研究. *华人消化杂志* 1998;6(特刊7): 20-21
- 王冠庭. 幽门螺杆菌产毒菌株 CagA / VacA 与慢性胃病的关系. *世界华人消化杂志* 2001;9:1335-1337
- Parsonnet J, Friedman GD, Orentreich N, Vogelman H. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997;40:297-301
- Gao HJ, Yu LZ, Bai JF, Peng YS, Sun G, Zhao HL, Miu K, Lu XZ, Zhang XY, Zhao ZQ. Multiple genetic alternation and behavior of cellular biology in gastric cancer and other gastric mucosal lesions: *Helicobacter pylori* infection, histological types and staging. *World J Gastroenterology* 2000;6:848-854
- 郭长青, 王玉萍, 刘国永, 马社旺, 丁贯一, 李继昌. 胃黏膜癌变过程中幽门螺杆菌感染与 p53, C-erbB-2 基因表达的研究. *世界华人消化杂志* 1999;7:313-315
- 全俊, 范学工. 幽门螺杆菌感染与胃癌发生的实验研究进展. *世界华人消化杂志* 1999;7:1068-1069
- Blaser MJ, Chyou PH, Nomura A. Age at establishment of *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma, gastric ulcer, and duodenal ulcer risk. *Cancer Res* 1995;55:562-565
- Munzenmaier A, Pahl HL, Covacei A, Bereswill S, Baeuerle PA, Kist M. *Helicobacter pylori* activates transcription factor NF- κ B in CATO-III cells. *Gut* 1996;39:55
- 夏华向, 张贵水. 细胞凋亡与增生在幽门螺杆菌感染致胃癌中的重要作用. *世界华人消化杂志* 1999;7:740-742