维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2002)01-0023-03

幽门螺杆菌cagA基因与胃粘膜损伤及增殖间关系的探讨

张 霞，屈健宁，沈鼎明
（重庆医科大学第二临床学院消化内科 重庆 400010）

【摘 要】目的：探讨幽门螺杆菌(Hp)细胞毒素相关蛋白基因（cagA基因）与胃粘膜损伤及增殖的关系。方法：采用聚合酶链反应(PCR)法检测50例患者Hp的cagA基因，并经HE染色评定胃粘膜炎症程度、肠化生、淋巴小结及萎缩的发生率，免疫组化检测胃粘膜细胞核增殖抗原指数(PCNA LI%)。结果：37/50例含有cagA基因，消化性溃疡cagA基因阳性率高于慢性胃炎($P<0.01$)；cagA基因阳性者炎症程度和PCNA LI%均高于阴性者($P<0.05$)；但两组肠化生 淋巴小结及萎缩发生率差异无显著性（$P>0.05$）。结论：cagA基因阳性Hp感染后可增加胃粘膜的炎性损伤及细胞增殖。cagA基因为Hp毒力指标之一，但并非致病的单一指标。

【关键词】幽门螺杆菌； 聚合酶链反应； 细胞毒素相关蛋白基因
【中国图书分类法分类号】R378.2；R394.3 【文献标识码】A 【收稿日期】2001-04-27

The Inter-relationship between the cagA gene of Helicobacter pylori and the gastric mucosal damage, the gastric cell proliferation

ZHANG Xia, et al
(Department of Gastroenterology,Second College of Clinical Medicine,Chongqing Medical University)

【Abstract】 *Objective*: To investigate the inter-relationship between the cagA gene of Helicobacter pylori and the gastric mucosal damage, the gastric cell proliferation. *Methods*: The cytotoxin-associated gene (cagA) was detected by polymerase chain reaction in fifty patients infected with Helicobacter pylori. We investigated the degree of the gastric mucosal inflammation ,the prevalence of intestinal metaplasia,lymphoid follicles,atrophy and the gastric cell proliferation activity of all these patients. *Results*: Thirty-seven of the patients were cagA positive and thirteen of them were cagA negative.The positive rate of cagA gene in peptic ulcer patients was higher than that in chronic gastritis patients($P<0.01$). Individuals with $cagA^+$ strains had significantly higher degree of gastric mucosal inflammation and gastric mucosal proliferation cell nuclear antigen labeling indices (PCNA LI)than persons infected with $cagA^-$ strains($P<0.05$).There were no significant differences in the prevalence of intestinal metaplasia,lymphoid follicles and atrophy($P>0.05$). *Conclusion*: The cagA gene is one of the toxic items of Helicobacter pylori,but not the only element leading to the gastrointestinal disease.

【Key words】 Helicobacter pylori; Polymerase chain reaction; Cytotoxin-associated gene

据研究表明，部分Hp菌株具有细胞毒素相关蛋白基因(cagA)，该基因的表达可能与胃肠疾病的种类及胃肠粘膜的损伤程度有关。为了解胃肠疾病的发生与幽门螺杆菌(Hp)cagA基因的关系，本研究选取了50例Hp临床分离株，用聚合酶链反应(PCR)法检测细胞毒素相关蛋白基因(cagA)，初步分析评价该基因与不同胃肠疾病发生及胃粘膜病变程度的关系。

1 对象与方法

1.1 对象

于我院接受胃镜检查者中随机选取50例Hp阳性者，其中胃溃疡12例，十二指肠溃疡13例，复合性溃疡2例，慢性胃炎23例。所有胃活检标本经细菌培养涂片镜检及Hp尿素酶诊断为Hp阳性，且均经内镜和病理学证实。

1.2 方法

1.2.1 Hp培养和镜检 采用牛心脑琼脂培养基，以产气袋法于37℃培养4天，并作常规Gram染色油镜检查，经菌落形态、尿素酶及涂片观察形态等鉴定为Hp后，收集菌落于-20℃保存。

1.2.2 Hp DNA的提取 采用上海华舜生物工程有限公司的组织/细胞DNA提取试剂盒，提取好的DNA于-20℃保存。

1.2.3 寡核苷酸引物合成cagA基因引物序列如下：

引物I (D008)：5'- ATAATGCTAAATTAGACAACTTG

作者介绍：张 霞（1972- ），女，主治医师，博士。
主要研究方向：幽门螺杆菌与胃肠疾病。

维普资讯 http://www.cqvip.com

ATCGA-3'；引物2(R008)：5'-TTAGAATAATCAACAAACA TCACGCCAT-3'，该引物的扩增产物长度为298bp。

1.2.4 PCR扩增及产物分析 反应体系含10×PCR缓冲液5μl、100mM dNTPS 1μl、引物1、2各1μl、模板DNA 10μl、加蒸馏水至50μl，96℃预变性5min，加Taq酶2u，94℃变性1min，60℃退火1min，72℃延伸1min，72℃再延伸5min。取10μl PCR产物于1.5%的琼脂糖凝胶电泳后于凝胶成像仪上分析结果。

1.2.5 免疫组织化学法测定胃粘膜细胞核增殖抗原指数(PCNA LI%) 采用免疫组化S－P法。PCNA阳性细胞可见PCNA在腺上皮细胞核表达，呈棕黄色颗粒。由同一名医师在400倍视野下计数500个腺上皮细胞，其中PCNA阳性细胞占该500个细胞的百分率即为PCNA LI%。

1.3 结果评定

所有活检标本均经常规HE染色，并由同一名医师观察评定胃炎程度、肠化生、淋巴小结及萎缩的发生率。参照悉尼会议对胃炎的分类标准，分无，轻度，中度，重度四个等级。本研究无重度炎症病例，仅以中度炎症作为分析标准。

1.4 统计学处理

PCNA LI%以$\bar{x}\pm s$表示，采用t检验，其它数据采用χ^2检验。

2 结 果

2.1 PCR法检测到74.0%的Hp菌株具有cagA基因，其中消化性溃疡的cagA基因阳性Hp感染率为88.9%，显著高于慢性胃炎(56.5%，$P<0.01$)。见表1。

2.2 cagA基因阳性Hp感染组中度炎症的发生率为67.6%，显著高于cagA基因阴性Hp感染组(30.8%，$P<0.05$)。见表2。

2.3 cagA基因阳性Hp感染组PCNA LI%为18.14±9.19，显著高于cagA基因阴性Hp感染组(11.69±9.28，$P<0.05$)。见表3。

表1 慢性胃炎及消化性溃疡$cagA^+$ Hp感染率

疾病分组	Hp阳性病例数	cagA基因		$cagA^+$ Hp感染率(%)
		－	＋	
慢性胃炎	23	10	13	56.5
消化性溃疡	27	3	24	88.9*

注：与慢性胃炎组比较，* $P<0.01$

表2 $cagA^+$ Hp及$cagA^-$ Hp感染组中度炎症的发生率

疾病分组	病例数	炎症程度		中度炎症的发生率(%)
		轻度	中度	
$cagA^+$ Hp组	37	12	25	67.6
$cagA^-$ Hp组	13	9	4	30.8*

注：与$cagA^+$ Hp组比较，*$P<0.05$

表3 $cagA^+$ Hp及$cagA^-$ Hp感染组的PCNA LI%

疾病分组	病例数	PCNA LI%
$cagA^+$ Hp组	37	18.14±9.19
$cagA^-$ Hp组	13	11.69±9.28*

注：与$cagA^+$ Hp组比较，*$P<0.05$

2.4 cagA基因阳性Hp组肠化生、淋巴小结及萎缩的发生率分别为18.9%、40.5%及2.7%，cagA基因阴性Hp组分别为0.0%、38.5%及7.7%，两对应组比较差异均无显著性($P>0.05$)。见表4。

3 讨 论

目前在分子水平上可将Hp分为具有编码CagA、VacA的基因的产毒株和不具有编码CagA、VacA基因的非产毒株。本研究采用针对cagA基因保守区的特异性引物对我院收集的标本进行PCR检测，结果显示感染cagA基因阳性Hp菌株者约占74.0%，低于发达国家及本国部分其他城市(76%～

表4 cagA基因与肠化生、淋巴小结及萎缩发生率的关系

疾病分组	病例数	肠化生		发生率(%)	淋巴小结		发生率(%)	萎缩		发生率(%)
		－	＋		－	＋		－	＋	
$cagA^+$ Hp组	37	30	7	18.9	22	15	40.5	36	1	2.7
$cagA^-$ Hp组	13	13	0	0.0*	8	5	38.5△	12	1	7.7□

注：与$cagA^+$ Hp组比较，*△□ 均为$P>0.05$

维普资讯 http://www.cqvip.com

88%)[1]，以往研究提示Hp菌株的基因型可能受地理分布及环境影响，cagA基因序列的改变可能导致Hp菌株的不同基因型。

本研究结果显示消化性溃疡的cagA基因检出率高于慢性胃炎，且cagA基因阳性菌株感染者其胃粘膜炎症程度高于cagA基因阴性菌株感染者。以往的研究也证实了感染cagA基因阳性Hp会导致广泛性炎症，并刺激胃上皮细胞产生大量细胞因子，其中最显著的是白介素-8(IL-8)，它能使中性白细胞活化和聚集，且诱导急性炎症细胞产生强烈的突发性氧化作用，从而改变粘膜的生理化学性质，直接损伤上皮细胞促进消化性溃疡的发生[2,3]。对cagA基因和胃粘膜上皮细胞增殖活性的关系尚缺乏深入研究，本研究通过分析测定胃粘膜细胞核增殖抗原指数(PCNA LI%)发现，cagA基因阳性菌株刺激胃粘膜上皮细胞增生的能力强于cagA基因阴性菌株。cagA基因阳性菌株通过增加胃粘膜的炎性损伤及上皮细胞增殖而导致溃疡的发生。

本研究结果显示，cagA基因阳性及cagA基因阴性菌株在导致肠上皮化生，淋巴小结及胃粘膜萎缩的形成方面差异无显著性。关于Hp感染与胃粘膜肠上皮化生的关系目前尚无定论，本文结果不提示cagA基因阳性菌株感染与肠上皮化生有关联，与国内某些报道一致[4]。虽然cagA基因阳性菌株可增加胃粘膜的炎性损伤及上皮细胞增殖，但并不能增加肠上皮化生、淋巴小结及胃粘膜萎缩的形成。由此推测cagA基因并非Hp致癌的唯一因素。

研究认为cagA基因可作为Hp的毒性标记，但其确切的致病机制目前尚不清楚。目前多数认为cagA基因并非Hp感染致病的单一因素，尚存在其它毒性指标。对Hp致胃癌的相关研究发现：Hp感染可诱导胃粘膜上皮细胞凋亡，胃粘膜细胞增殖状态与细胞凋亡指数呈正相关，提示Hp诱导胃粘膜上皮细胞凋亡可能是促进胃粘膜细胞过度增殖的机制之一[5]；研究认为cagA基因可作为Hp的毒性标记，但其确切的致病机制目前尚不清楚，cagA基因为Hp的毒力指标之一，但并非导致胃肠疾病的单一指标，尚存在其它毒性指标，有待通过大量Hp菌株样本对其致病机制进行深入研究。

参 考 文 献

[1] Lage Ap, Godfroid E, Fauconnier A, et al. Diagnosis of Helicobacter pylori infection by PCR: comparison with other invasive techniques and detection of cagA gene in gastric biopsy specimens[J]. J Clin Microbiol, 1995;33:2752-2756.

[2] Husson M, Gottrand F, Vachee A, et al. Importance in diagnosis of gastritis of detction by PCR of the cagA gene in Helicobacter pylori strains isolated from children[J]. J Clin Microbiol, 1995;33(12):3300-3303.

[3] Crabtree JE,Covacci A,Farmery SM, et al. Helicobacter pylori induced interleukin-8 expression in gastric positive phenotype[J]. J Clin Pathol ,1995;48(5):41-45.

[4] 张小勇，张红杰，赵志泉. 具有cagA基因的幽门螺杆菌感染与胃十二指肠粘膜损伤的关系[J]. 中华消化杂志，1998;18:243-244.

[5] Anonymous.Induction of gastric epithelial apoptosis by Helicobacter pylori[J].Gut,1996;38:498.