DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.09.005
第23卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 9
2001年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2001

文章编号:1000-5404(2001)09-1015-03

论著

胃粘膜癌前病变 Hp 感染与 bax 蛋白表达及细胞凋亡的关系

刘海峰,刘为纹,房殿春 (第三军医大学附属西南医院全军消化专科中心,重庆 400038)

提 要:目的 研究幽门螺杆菌(Hp)感染后胃粘膜癌前病变中bax蛋白表达状态及其与细胞凋亡的关系,了解Hp在胃癌发生过程中的作用。方法 采用免疫组织化学等方法检测83例经病理证实为慢性胃炎病人胃粘膜上皮细胞中bax蛋白的表达情况,并采用凋亡细胞原位检测方法对组织切片中的凋亡细胞进行观察和比较。结果 在浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠化生及异型增生中,bax蛋白表达率分别为26.67%、45.45%、70.00%、56.25%,bax蛋白在肠化生组织中的表达率显著高于浅表性胃炎($P<0.01$)。Hp感染者bax蛋白表达率为64.28%,显著高于未感染者的29.62%($P<0.01$)。在萎缩、肠化生及异型增生等癌前病变中,Hp感染者与未感染者bax蛋白表达率分别为70.21%及33.33%($P<0.01$)。凋亡细胞原位检测结果显示,bax蛋白表达阳性肠化生和异型增生组织中的凋亡细胞指数显著高于bax蛋白阴性组($P<0.05$及$P<0.01$)。结论 Hp感染对bax蛋白表达有一定的影响,bax基因对胃粘膜上皮细胞凋亡具有促进性调控作用,Hp感染可促进bax蛋白表达增加,这可能是Hp感染诱导胃粘膜上皮细胞凋亡的机制之一。

关键词:螺杆菌,幽门;胃肿瘤;癌前状态;细胞凋亡;基因
中图法分类号:R377;R394.2;R735.2 文献标识码:A

Relationship of bax protein expression with *Helicobacter pylori* infection and apoptosis in gastric precancerous lesions of gastritis patients

LIU Hai-feng, LIU Wei-wen, FANG Dian-chun (Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract Objective To study the expression of bax protein and its relationship with apoptosis in precancerous lesions after *Helicobacter pylori* (Hp) infection for the role of Hp in the progression of gastric carcinogenesis. Methods The expression rates of bax protein in gastric epithelial tissues from 83 histopathologically-proven chronic gastritis patients were detected with immunohistochemical staining. *In situ* apoptotic cell detection method was employed to detect the apoptotic cells in these tissues, and the number of apoptotic cells was compared with the bax gene expression in each case. Results The expression rates of bax protein were 26.67%, 45.45%, 70.00% and 56.25% respectively for chronic superficial gastritis, chronic atrophic gastritis, intestinal metaplasia and dysplasia, with that of intestinal metaplasia significantly higher than that in chronic superficial gastritis ($P<0.01$). The positive rates of bax protein were markedly higher in patients infected with Hp than those without (64.28% *vs* 29.62%). In the precancerous lesions of atrophy, intestinal metaplasia and dysplasia, the expression rates of Hp infected patients were significantly higher (70.21%) than those uninfected patients (33.33%, $P<0.01$). The apoptotic index in bax expression positive intestinal metaplasia and dysplasia tissues was higher than that in bax negative tissues ($P<0.01$ and $P<0.05$). Conclusion Results indicate that Hp enhances the expression of bax gene which can promote the apoptosis in gastric precancerous lesions. This may be one of the mechanisms by which Hp infection induces the apoptosis of gastric epithelial cell.

Key words: *Helicobacter pylori*; stomach neoplasms; precancerous lesion; apoptosis; gene

许多流行病学及组织病理学的研究资料证实幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*,Hp)感染在胃粘膜癌变过程中是一发病因素或触发因素,长期感染可导致胃粘膜的萎缩、肠化生及异型增生,但其作用的确切机制尚不清楚。已有研究表明,Hp可能通过某些环节造成胃粘膜组织癌基因的突变、细胞信号转导异常等导致胃粘膜细胞发生癌前变化。本研究拟通过对Hp感染与细胞凋亡调控基因bax蛋白表达关系的研究,探讨Hp在胃粘膜癌变过程中可能的致病机制。

基金项目:全军"九五"医药卫生重点课题资助项目(96Z047);重庆市应用基础研究项目

作者简介:刘海峰(1965-),男,河北省景县人,博士,副主任医师,副教授,主要从事胃癌及胃癌前病变的基础与临床研究,发表论文47篇。电话:(023)65318301-73055

收稿日期:2001-05-30;修回日期:2001-08-31

1 对象和方法

1.1 对象

研究对象为以上消化道症状在我院行胃镜检查的近期未服用抗生素的慢性胃炎患者。入选病人83例,男50例,女33例,平均年龄46.7岁。经内镜及病理证实为浅表性胃炎者15例;慢性胃炎伴萎缩者22例;伴肠化生者30例;伴异型增生者16例。每例在胃窦部取活检组织3块,进行病理组织学检查,Warthin-starry银染色,尿素酶试验及免疫组织化学染色。

1.2 方法

1.2.1 Hp检查 采用尿素酶试验、Warthin-starry银染色两种方法检测Hp,两种方法均阳性者判为Hp感染,两种方法均阴性性者判为Hp阴性,单项阳性者退出试验。

1.2.2 免疫组织化学 采用链霉菌素-生物素过氧化物酶(S-P)染色法。抗bax多克隆抗体及免疫组化试剂盒(Immunostain S-P Kit)均为美国Santa Cruz公司产品。染色程序按S-P法操

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

作常规进行。抗 bax 多克隆抗体 1∶100 稀释。以 PBS 代替一抗为阴性对照，以已知 bax 蛋白阳性的胃癌为阳性对照。根据染色强度分为强阳性(++)，中等阳性(++)，弱阳性(+)。以同一切片阳性细胞>10%同类病变细胞为阳性病例。

1.2.3 TUNEL 染色 细胞凋亡原位检测试剂盒(*In situ* cell death detection kit, POD)为德国 Boehringer Mannheim 公司产品，染色步骤：①切片经二甲苯脱蜡，梯度乙醇水化；②3 ml/L H_2O_2 封闭 30 min；③20 mg/L 蛋白酶 K 消化液作用 20 min；④TUNEL 反应液 37 ℃孵育 60 min；⑤过氧化物酶连接的抗荧光素抗体 37 ℃孵育 30 min；②至⑤步后均以 10 mmol/L PBS(pH 7.4)振洗 3 次，每次 5 min；⑥DAB 显色，苏木素复染，脱水透明，封片。以 PBS 替代 TUNEL 反应液作阴性对照，阳性对照切片经 DNaseⅠ预处理 10 min，再接 TUNEL 染色步骤。光镜下观察 TUNEL 染色切片的显色反应，数 5 个以上高倍视野，不少于 400 个胃粘膜上皮细胞，记数阳性细胞数并以百分数表示，作为 TUNEL 阳性细胞(凋亡细胞)指数。

1.2.4 统计学处理 采用 χ^2 检验、t 检验。

2 结果

2.1 bax 蛋白在不同胃粘膜病变中的表达情况

bax 蛋白阳性反应物质呈棕黄色，主要位于腺上皮细胞浆内，偶可伴胞核着色，见图 1。免疫组织化学方法检测 bax 蛋白表达结果见表 1。bax 蛋白在肠化生中的表达率显著高于浅表性胃炎($P<0.01$)，亦高于萎缩性胃炎及异型增生，但相差无统计学意义。



图 1 肠化生组织，**bax** 蛋白阳性反应物质位于腺上皮细胞浆内 (S-P× 200)

Fig 1 bax protein positive substance located in cytoplasm of gastric epithelium of intestinal metaplasia (S-P× 200)

表 1 不同胃粘膜病变中 **bax** 蛋白免疫组织化学结果

Tab 1 Results of bax protein expression in gastric epithelial cells of precancerous lesions

Group	*n*	bax protein expression				bax positive	
		−	+	++	++	*n*	Rate(%)
CSG	15	11	2	2	0	4	26.67
CAG	22	12	4	3	3	10	45.45
IM	30	9	8	7	6	21	70.00 *
Dys	16	7	3	4	2	9	56.25

CSG: Chronic superficial gastritis; CAG: Chronic atrophic gastritis; IM: Intestinal metaplasia; Dys: Gastric dysplasia; *: $P<0.01$ *vs* CSG

2.2 Hp 感染与不同胃粘膜病变 bax 蛋白表达的关系

Hp 阳性者 56 例，阴性者 27 例。56 例 Hp 阳性者 bax 蛋白表达 36 例，占 64.28%，27 例 Hp 阴性者 bax 蛋白表达 8 例，占 29.62%，两者比较差异非常显著($P<0.01$)。在萎缩性胃炎、肠化生及异型增生等癌前病变中，Hp 感染者与未感染者 bax 蛋白表达率分别为 70.21%及 33.3%，两者比较差异亦非常显著($P<0.01$)，见表 2。

表 2 **Hp** 感染与不同胃粘膜病变中 **bax** 蛋白免疫组化结果

Tab 2 Results of bax protein expression and Hp infection in gastric lesions

Group	*n*	Hp-infected patients		Hp-uninfected patients	
		n	bax expression+	*n*	bax expression+
CSG	15	9	3	6	1
CAG	22	15	8	7	2
IM	30	21	18	9	3
Dys	16	11	7	5	2
Total	83	56	36 *	27	8

*: $P<0.01$ *vs* Hp-uninfected group

2.3 不同胃粘膜病变中 bax 蛋白表达与细胞凋亡的关系

比较不同胃粘膜病变中 bax 蛋白表达阳性组和阴性组的细胞凋亡指数，发现肠化生及异型增生组织中 bax 蛋白表达阳性组显著高于其阴性组($P<0.01$ 及 $P<0.05$)，浅表性胃炎、萎缩性胃炎组织中 bax 蛋白表达阳性组亦高于其阴性组，但相差无统计学意义，见表 3。经连续切片观察，bax 蛋白表达与细胞凋亡在多数病例具有同域性。

表 3 不同胃粘膜病变中 **bax** 蛋白表达与细胞凋亡的关系

Tab 3 Relationship between bax protein expression and apoptosis in gastric lesions

Group	bax protein positive		bax protein negative	
	n	Apoptotic index(%)	*n*	Apoptotic index(%)
CSG	4	5.03±3.75	11	3.93±2.34
CAG	10	13.98±5.20	12	10.85±3.61
IM	21	16.52±6.27 **	9	11.03±4.22
Dys	9	9.93±3.54 *	7	6.18±2.79

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* bax protein negative

3 讨论

bax 是编码 bcl-2 相关 X 蛋白(bcl-2 associated X protein, bax)的基因。bax 蛋白与 bcl-2 蛋白有 21%的同源性，具有对抗 bcl-2 蛋白抑制细胞凋亡的作用。研究发现 bcl-2/bax 两蛋白之间的比例是决定对细胞凋亡抑制作用强弱的关键因素，因此认为 bax 是重要的促细胞凋亡基因之一[1]。本研究结果显示，bax 蛋白在不同胃粘膜病变中均有不同程度的表达，bax 蛋白表达状态与细胞凋亡指数呈正相关，bax 蛋白表达阳性肠化生和异型增生组织中的凋亡细胞指数显著高于其阴性组。表明 bax 基因参与了对胃粘膜细胞恶性转化过程中细胞凋亡的调控，对胃粘膜上皮细胞凋亡具有促进性调控作用，细胞凋亡调控异常在胃粘膜癌变过程中可能具有重要作用。

由于既往认为胃癌的发生是由于细胞的异常增殖所致，因此探讨 Hp 感染与胃粘膜上皮细胞增殖间的关系成为近年来 Hp 研究中的热点之一。已有较多的研究结果显示，Hp 感染可促进胃粘膜上皮细胞过度增殖[2,3]。晚近，我们研究发现 Hp 感染不仅可以促进胃

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

粘膜上皮细胞过度增殖，同时也可诱导胃粘膜上皮细胞凋亡[4]。Hp 感染诱导胃粘膜上皮细胞凋亡的机制尚不清楚，目前认为可能与 Hp 分泌的细胞毒素如cagA 和 vacA 等、Hp 尿素酶分解尿素产生的氨、Hp 感染后炎症反应中释放的细胞因子和氧自由基、胃腔中维生素 C 含量减低有关[5]。本研究发现，Hp 感染者 bax 蛋白表达率显著高于未感染者的表达率，特别是伴有肠化生（85.71%与 33.33%），与异型增生（63.63%与 40.00%）者更为明显。提示 Hp 感染可促进 bax 蛋白的表达，这可能是 Hp 感染诱导胃粘膜上皮细胞凋亡的重要机制之一。

细胞凋亡是一种生理性/非生理性的具有特定形态学特征的细胞死亡现象，细胞凋亡过程的异常与肿瘤发生有密切关系[6]。近年来，随着胃肠道上皮细胞凋亡研究的深入，人们发现细胞凋亡是胃肠道上皮细胞丢失的主要途径，胃肠道上皮细胞凋亡异常，便会导致胃肠疾病的发生[7]。Hp 感染与胃癌发生的关系密切。已有研究表明，Hp 感染可以诱导胃粘膜上皮细胞凋亡[4,5]。本研究发现 Hp 感染可以促进 bax 蛋白表达。因此推测 Hp 通过促进细胞凋亡调控基因 bax 的表达诱导胃粘膜上皮细胞凋亡可能是 Hp 参与胃癌发生的重要机制之一。因此，从细胞凋亡的角度探讨 Hp 感染与胃癌发生的关系将有助于揭示 Hp 的致病机制及胃癌的发生机制，为胃癌及胃癌前病变的防治研究提供新的思路。

参考文献：

[1] Oltval Z N, Milliman C L, Korsmeyer S J. Bcl-2 heterodimerizes *in vivo* with a conserved homolog, bax, that accelerates programmed cell death[J]. Cell, 1993, 74(4): 609－619.
[2] Fan X G, Kelleher D, Fan X J, *et al*. Helicobacter pylori increase proliferation of gastric epithelial cells[J]. Gut, 1996, 38(1): 19－22.
[3] Cahill R J, Kilgallen C, Beattie S, *et al*. Gastric epithelial cell kinetics in the progression from normal mucosa to gastric carcinoma[J]. Gut, 1996, 38(2): 177－181.
[4] 刘海峰，刘为纹，房殿春 等. 幽门螺杆菌感染对胃粘膜上皮细胞增殖和凋亡的影响[J]. 中华消化内镜杂志，1998, 15(2): 91－93.
[5] Moss S F, Calam J, Agarwal B, *et al*. Induction of gastric epithelial apoptosis by *Helicobacter pylori*[J]. Gut, 1996, 38(4): 498－501.
[6] Solary E, Dubrez L, Eymin B. The role of apoptosis in the pathogenesis and treatment of diseases[J]. Eur Respir J, 1996, 9(8): 1 293－1 305.
[7] Que F G, Gores G J. Celldeath by apoptosis: basic concepts and disease relevance for the gastroenterologist[J]. Gastroenterology, 1996, 11(4): 1 238－1 243.

（编辑　郭建秀）

文章编号：1000-5404(2001)09-1017-01

个案与短篇

宫角足月妊娠 2 例报告

Two cases report of full-term cornual pregnancy

王　琳，常　青　（第三军医大学附属西南医院妇产科，重庆 400038）

例 1：28 岁，孕 39 周，孕 2 产 1 临产，于 1993-07-02 入院。妊期无腹痛及阴道流血史，入院 4 h 后顺产一女活婴，重 3 450 g，评 10 分。胎儿娩出后即给产妇静脉推注麦角 0.2 mg 以促进宫缩，但产后 30 min 胎盘仍未娩出，手取和卵圆钳取胎盘均告失败。因阴道流血较多，考虑胎盘部份植入，立即行剖腹探查术，术中见子宫收缩好，子宫右侧角明显突出，圆韧带位于包块外侧，其表面肌层菲薄，血管充盈，即行子宫次全切除术，手术顺利。术后剖视子宫，发现胎盘位于右宫角，轻轻剥离即娩出胎盘，未发现胎盘植入，术后诊断：右宫角妊娠。

例 2：26 岁，孕 39 周，孕 2 产 0，于 2001-02-16 入院，当日顺产一女活婴，重 3 255 g，评 10 分，产后给产妇麦角 0.2 mg 静脉推注。产后 30 min 仍无胎盘剥离征象，B 超提示胎盘位于左侧宫角处，在 B 超监视下手取胎盘及用卵圆钳取胎盘均未成功。立即行剖腹探查术，术中见子宫左侧角明显突出，圆韧带向包块外侧移位，表面肌层薄，血管充盈。在宫角处纵行切开4 cm，轻易取出胎盘。术后诊断：左宫角妊娠。

讨论

宫角妊娠是指孕卵附着在输卵管口近宫腔侧，向宫腔侧发育。宫角妊娠因种植部位异常，孕早期易发生流产，文献[1]报道的宫角妊娠，绝大多数在早孕期发生流产或破裂，妊娠持续至足月者罕见。Jansen 等[2]提出的诊断标准为：①腹痛伴有子宫不对称性增大，继以流产或阴道分娩；②直视下发现子宫角一侧扩大，伴圆韧带外侧移位；③胎盘滞留在子宫角部。符合上述任何一项即可考虑为子宫角妊娠，本组两例均符合上述诊断标准。宫角妊娠胎儿自然分娩后，因胎盘位于一侧宫角，导致子宫不对称收缩，易致胎盘嵌顿，产后取胎盘困难。因术前不能排除有无胎盘植入，宜剖腹探查以明确诊断，若不伴植入，胎盘容易取出，可保留子宫。第 1 例因经验不足，直接进行了子宫次全切除术，剖视子宫取出胎盘后才明确诊断，应引以为戒。

收稿日期：2001-03-10；修回日期：2001-06-21

关键词：宫角妊娠；异位妊娠
中图法分类号：R714.22　　文献标识码：B

作者简介：王　琳（1964－），女，四川省巴中市人，博士，副主任医师，副教授，主要从事子宫内膜异位症导致不孕机制方面的研究，发表论文 17 篇。电话：(023)68754409

参考文献：

[1] 陈惠君，陈云琴，胡　燕. 宫角妊娠 17 例临床分析[J]. 现代妇产科进展，2000, 9(3): 227.
[2] Jansen R P S, Elliot P M. Angulus intrauterine pregnancy[J]. Obstet Gynecol, 1981, 58(2): 197.

（编辑　陈聪连）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net