

• 短篇论著 •

消化性溃疡患者中幽门螺杆菌感染与细胞因子水平关系研究

陈 涛, 李甫罡, 刘 森, 卢 峰, 王 钢, 郭晓兰, 罗志刚[△]

(简阳市人民医院中心实验室, 四川简阳 641400)

摘要:目的 探讨消化性溃疡患者中幽门螺杆菌(Hp)感染与血清细胞因子水平变化的关系。方法 选取简阳市人民医院 2018 年 1 月至 2019 年 4 月收治确诊的消化性溃疡患者 94 例, 作为观察组; 同时期来该院体检经胃镜检查未发现消化性溃疡的健康者 28 例, 作为对照组。并根据 14 碳尿素呼气试验、免疫印迹法将消化性溃疡患者分为 Hp 感染阳性患者及 Hp 感染阴性患者、I 型 Hp 感染患者与 II 型 Hp 感染患者, 对各组之间血清细胞因子水平进行对比分析。结果 观察组血清白细胞介素(IL)-2、IL-4、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、 γ -干扰素(IFN- γ)水平明显高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。消化性溃疡患者中, Hp 阳性患者血清 IL-2、IL-4、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 的水平明显高于 Hp 阴性患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。消化性溃疡 Hp 阳性患者中, I 型 Hp 感染患者血清 IL-2、IL-4、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 水平明显高于 II 型 Hp 感染患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 消化性溃疡患者血清细胞因子水平明显升高, 在 Hp 感染尤其是 I 型 Hp 感染患者中升高更加明显, 提示细胞因子水平改变可能参与到消化性溃疡的发病机制中。

关键词:消化性溃疡; 幽门螺旋杆菌; 细胞因子

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.07.025

文章编号:1673-4130(2020)07-0880-04

中图法分类号:R573.1

文献标识码:B

消化性溃疡是一种具有慢性、复发性特点的临床常见病和多发病, 在全世界范围内都具有较高的发病率和复发率, 消化性溃疡以胃溃疡和十二指肠溃疡最为常见, 其发病机制较复杂, 目前尚未完全阐明。目前的研究认为, 消化性溃疡的发生与幽门螺旋杆菌(Hp)感染密切相关^[1]。Hp 是一种革兰阴性菌, 定植于胃黏膜表面, 自 1983 年被首次发现后, 众多研究表明, Hp 与多种消化性疾病、甚至与肠外免疫疾病相关^[2-4]。Hp 感染率在全球范围内都非常高, 发达国家成人的感染率约 50%, 而发展中国家成人感染率达 60%~90%^[5]。Hp 感染可介导免疫炎症发生, 炎症细胞因子的释放可能导致胃黏膜损伤、溃疡的加重。本研究对消化性溃疡患者的 Hp 感染与血清细胞因子水平关系进行分析, 对消化性溃疡的发病机制进行初步的探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取简阳市人民医院 2018 年 1 月至 2019 年 4 月收治确诊的消化性溃疡患者 94 例, 作为观察组; 同时期来本院体检经胃镜检查未发现消化性溃疡的健康者 28 例, 作为对照组。观察组男性 54 例、女性 40 例, 年龄 24~77 岁、平均(47.25±13.12)岁; 对照组男性 16 例、女性 12 例, 年龄 25~71 岁、平均(45.13±15.74)岁。两组年龄、性别构成比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究均取得受试者知情同意, 符合医学伦理学标准, 并经医院伦理委员

会批准。

1.2 纳入标准与排除标准 纳入标准: (1) 消化性溃疡诊断标准参考《内科学》^[6]; (2) Hp 感染根据 14 碳尿素呼气试验检测(¹⁴C-UBT)作为金标准; Hp 感染亚型根据免疫印迹法检测血清 Hp 抗体分型。排除标准: (1) 有严重基础疾病患者, 有精神、认知功能障碍患者; (2) ¹⁴C-UBT 与 Hp 抗体分型检测结果不符者。

1.3 观察指标及检测方法 (1) ¹⁴C-UBT(深圳市中核海得威生物科技有限公司, 批号 20180109001): 受检者接受胃镜检查后, 口服一粒尿素胶囊, 静坐 25 min 后向集气瓶吹气, 约 1~3 min, 气体收集完毕后向瓶内加入稀释闪烁液, 在中核海得威闪烁仪上进行测定¹⁴C 放射性, 根据结果进行判定。(2) Hp 抗体分型检测: 采用抗体分型免疫印迹试剂盒(深圳伯劳特生物有限公司, 批号 171025)进行检测, 采集受检者静脉血约 2~4 mL, 分离血清, 按照说明书操作。根据反应条带上细胞毒素相关蛋白(CagA)、空泡毒素 A(VacA)、尿素酶 A(UreA)、尿素酶 B(UreB)条带进行结果判读, 出现 CagA、VacA 任意一条条带, 则为 I 型 Hp 感染; 仅出现 UreA、UreB, 不出现 CagA、VacA 条带则为 II 型 Hp 感染。(3) 血清细胞因子检测: 采用 Th1/Th2 亚群检测试剂盒(杭州赛基生物科技有限公司, 批号 20180301)进行检测, 取外周静脉血约 4 mL, 于 4 °C 下 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清

[△] 通信作者, E-mail: 358424970@qq.com.

本文引用格式: 陈涛, 李甫罡, 刘森, 等. 消化性溃疡患者中幽门螺杆菌感染与细胞因子水平关系研究[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(7):

后编号分装保存于 -70 °C 冰箱待检测;血清白细胞介素(IL)-2、IL-4、IL-6、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、γ-干扰素(IFN-γ)水平严格根据试剂说明书,利用流式微球技术进行检测。

1.4 统计学处理 所有的数据采用 SPSS21.0 软件分析,正态分布的定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验; $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 观察组与对照组细胞因子水平比较 观察组血清 IL-2、IL-4、IL-6、TNF-α、IFN-γ 水平明显高于对照

组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 消化性溃疡患者中 Hp 阳性与 Hp 阴性患者细胞因子水平比较 消化性溃疡患者中, Hp 阳性患者血清 IL-2、IL-4、IL-6、TNF-α、IFN-γ 水平明显高于 Hp 阴性患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 消化性溃疡患者中 I 型 Hp 感染与 II 型 Hp 感染患者细胞因子比较 消化性溃疡 Hp 阳性患者中, I 型 Hp 感染患者血清 IL-2、IL-4、IL-6、TNF-α、IFN-γ 的水平明显高于 II 型 Hp 感染患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 1 观察组与对照组细胞因子水平比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-2	IL-4	IL-6	TNF-α	IFN-γ
观察组	94	8.74 ± 3.54	10.56 ± 3.77	44.92 ± 16.79	9.81 ± 5.56	12.02 ± 5.23
对照组	28	3.77 ± 0.85	3.88 ± 0.87	21.23 ± 4.18	3.63 ± 0.87	3.54 ± 0.86
<i>t</i>		7.35	9.29	7.38	5.85	8.50
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 2 消化性溃疡患者中 Hp 阳性与 Hp 阴性患者细胞因子水平比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

项目	<i>n</i>	IL-2	IL-4	IL-6	TNF-α	IFN-γ
Hp 阳性	76	9.62 ± 3.31	11.67 ± 3.16	48.31 ± 16.34	10.77 ± 5.72	13.21 ± 5.02
Hp 阴性	18	5.02 ± 1.43	5.86 ± 2.17	30.61 ± 9.77	5.81 ± 1.88	6.97 ± 2.35
<i>t</i>		5.75	7.39	4.40	3.62	5.13
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 3 消化性溃疡患者中 I 型 Hp 感染与 II 型 Hp 感染患者细胞因子水平比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

项目	<i>n</i>	IL-2	IL-4	IL-6	TNF-α	IFN-γ
I 型 Hp 感染	52	10.82 ± 3.01	12.43 ± 2.95	54.02 ± 15.04	12.55 ± 5.89	14.50 ± 5.27
II 型 Hp 感染	24	7.02 ± 2.31	10.04 ± 3.03	35.96 ± 11.66	6.70 ± 2.67	10.41 ± 2.92
<i>t</i>		6.03	3.23	5.71	5.76	4.33
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

3 讨 论

消化性溃疡的发病机制较复杂,目前并未完全阐明,近年来越来越多的研究表明免疫机制在消化性溃疡的发生、发展、修复过程中起到重要作用。消化性溃疡的病变部位存在以 T 细胞为主的大量淋巴细胞^[7],大量表达和分泌的炎性细胞因子会在消化性溃疡特异性和非特异性炎性反应中起重要作用。Shay 氏平衡学说认为攻击因子和保护因子失衡在消化性溃疡的发生中起重要作用,攻击因子过强、保护因子减弱则会削弱黏膜屏障而导致溃疡的发生。

研究显示消化性溃疡患者血清 IL-2、IL-4、IL-6、TNF-α、IFN-γ 的水平均要高于对照组,这些细胞因子主要由人辅助性 CD4⁺ T 细胞分泌, Th1/Th2 为两个不同功能的 T 细胞亚群, Th1 细胞亚群分泌 IL-2、

IFN-γ、TNF-α 等细胞因子,促进自然杀伤(NK)细胞、细胞毒 T 细胞的活化、增殖, Th2 细胞亚群分泌 IL-4、IL-6 等细胞因子刺激 B 细胞增殖,介导体液免疫。Hp 感染导致的消化性溃疡患者会出现 Th1/Th2 失衡^[8-9],可能参与到致病的机制中,然而在研究中消化性溃疡患者未出现单一的 Th1 应答加强或 Th2 应答的抑制,代表 Th1 与 Th2 细胞分泌的上述细胞因子均出现了明显的升高,提示炎症免疫参与到消化性溃疡的致病过程中,同时并非单独某一种细胞因子或细胞群体的表达水平改变,而可能是复杂的细胞因子网络调控,多种细胞因子参与消化性溃疡的发病机制中。

本研究中,消化性溃疡患者具有非常高的 Hp 感染率(76/94, 80.9%), Hp 感染与胃炎、消化性溃疡甚至胃癌的发生密切相关, Hp 感染定植胃黏膜后可产

生 CagA、VacA、尿素酶、炎症因子等多种毒性物质,并参与免疫反应, Hp 感染同时可以引起人体免疫应答改变、诱发宿主的适应性免疫,导致 Th1/Th2、Th17/Treg 免疫失衡,从而导致大量炎症介质释放,导致或加重胃黏膜的损伤^[10-11]。研究提示, Hp 感染的消化性溃疡患者, IL-2、IL-4、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 的水平明显高于 Hp 阴性的消化性溃疡患者,在多数的研究报告中提示 Hp 感染主要引发 Th1 为主的免疫应答^[9]。IL-2 主要由 T 细胞分泌,可以刺激 T 细胞活化,促进 B 细胞、NK 细胞增殖,可诱导 T 细胞分泌 IFN- γ 、TNF- α 等细胞因子。IFN- γ 可作为免疫刺激因子引起 IL-2、IL-12、TNF- α 等细胞因子上调,通过抑制 CD4⁺ Th2 细胞的增殖而抑制其分泌 IL-10、IL-4、IL-5 等激活 B 细胞的细胞因子。但同时,在研究中也观察到 Hp 阳性的消化性溃疡患者血清 IL-4、IL-6 水平升高,表明 Hp 感染可能同时诱导了 Th1 细胞和 Th2 细胞的激活和分化,有研究指出,机体在 Hp 感染后,可能在 IL-10 的参与下, Th1 单一应答向 Th1/Th2 混合应答漂移^[12-13]。既往的研究显示, Hp 通过免疫反应致病,而且机体的免疫反应状态和程度与疾病的严重程度及预后相关。而研究同样提示,在消化性溃疡患者中 Hp 感染的状态与免疫反应相关,但不足的是试验未进行消化性溃疡的严重程度比较,可在后续的研究中进一步完善相关资料的收集和分析。

研究中观察到 I 型 Hp 感染较 II 型 Hp 感染患者的细胞因子水平更高,提示毒力株 Hp 感染参与到消化性溃疡的致病机制可能与大量细胞因子的释放有关。临床上根据 Hp 是否具有毒力,将 Hp 分为产生细胞毒素的 I 型 Hp 和不产生细胞毒素的 II 型 Hp, I 型 Hp 感染及 CagA 和(或) VacA 阳性, CagA 是 Hp 感染引起炎症反应的重要效应蛋白,具有强免疫原性。VacA 为分泌性蛋白,可导致细胞发生空泡变性。CagA 与 VacA 均为消化性溃疡的致病因子,而两者的致病性均可能通过促进炎症因子的释放实现,毒力株 Hp 的 CagA 可导致 NF- κ B 的激活,从而引起 TNF- α 、IL-1b、IL-6 和 IL-8 的表达增加^[14],而诱导产生高水平的细胞因子又可导致 Hp 炎症反应的放大^[15]。VacA 可影响 T 细胞表达细胞因子和趋化因子,这种调节会影响 Hp 在胃黏膜的定植^[16]。此外,毒力株 Hp 存在着 iceA 基因及结构, iceA1+Hp 菌株的消化性溃疡发生率明显增加,而其致病的机制可能与促进 IL-6、IL-8 一类的炎症因子释放有关^[17]。

研究提示细胞因子参与到消化性溃疡的发病机制中,而 Hp 感染,尤其是毒力株 Hp 的感染细胞因子水平更加与消化性溃疡的发病相关。不足的是未对细胞因子水平与消化性溃疡的严重程度进行分析,可在后续的研究中完善。

消化性溃疡患者血清细胞因子明显升高,在 Hp 感染尤其是 I 型 Hp 感染患者中升高更加明显,提示

细胞因子水平改变可能参与到消化性溃疡的发病机制中,对于 Hp 感染及消化性溃疡而言,提供了一条新的机制与治疗研究思路。

参考文献

- [1] 杨艺,孟宪生. 消化性溃疡的研究进展[J]. 世界中医药, 2017, 22(4): 951-955.
- [2] 杨敏,陈艳萍. 幽门螺杆菌感染与儿童支气管哮喘发病的相关性研究[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2014, 20(6): 712-714.
- [3] WANG Y C, LIN T Y, SHANG S T, et al. Helicobacter pylori infection increases the risk of adult-onset asthma: a nationwide cohort study[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2017, 36(9): 1587-1594.
- [4] 张丽文,蒋瑾瑾. 儿童免疫性血小板减少性紫癜与幽门螺旋杆菌感染的相关性分析[J]. 安徽医药, 2015, 30(11): 2159-2161.
- [5] SALARI M H, SHIRAZI M H, HADAITI M A, et al. Frequency of Helicobacter pylori vacA genotypes in Iranian patients with gastric and duodenal ulcer[J]. J Infect Public Health, 2009, 2(4): 204-208.
- [6] 葛均波. 内科学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2014.
- [7] GAWRONSKA-SZKLARZ B, SIUDA A, KURZAWSKI M, et al. Effects of CYP2C19, MDR1, and interleukin 1-B gene variants on the eradication rate of Helicobacter pylori infection by triple therapy with pantoprazole, amoxicillin, and metronidazole[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2010, 66(7): 681-687.
- [8] LARUSSA T, LEONE I, SURACI E, et al. Enhanced expression of indoleamine 2, 3-dioxygenase in Helicobacter pylori-infected human gastric mucosa modulates Th1/Th2 pathway and interleukin 17 production[J]. Helicobacter, 2015, 20(1): 41-48.
- [9] 秦臻,吴成,陈苗苗. 幽门螺杆菌感染对消化性溃疡患儿免疫功能的影响[J]. 辽宁医学院学报, 2016, 23(2): 58-60.
- [10] 吴雅莹,黄永德. 幽门螺杆菌感染与消化性溃疡患者血清中 IL-6、IL-8、IL-2 相关性临床观察[J]. 临床军医杂志, 2017, 30(1): 38-41.
- [11] 杨清峰,江泳,张旭,等. 幽门螺杆菌感染者 Th1/Th2 细胞免疫应答变化[J]. 中国微生态学杂志, 2011, 32(10): 914-915.
- [12] DAVINELLI S, MELVANG H M, ANDERSEN L P, et al. Astaxanthin from shrimp cephalothorax stimulates the immune response by enhancing IFN- γ , IL-10, and IL-2 secretion in splenocytes of helicobacter pylori-infected mice[J]. Mar Drugs, 2019, 17(7): 381-384.
- [13] JOHNSON K S, OTTEMANN K M. Colonization, localization, and inflammation: the roles of H. pylori chemotaxis in vivo[J]. Curr Opin Microbiol, 2018, 41(1): 51-57.
- [14] LEE M H, YANG J Y, CHO Y, et al. Inhibitory effects of menadione on helicobacter pylori growth and Helicobacter pylori-induced inflammation via NF- κ B inhibition[J].

Int J Mol Sci, 2019, 20(5):1169.

[15] BLASER M J, BERG D E. Helicobacter pylori genetic diversity and risk of human disease[J]. J Clin Invest, 2001, 107(7):767-773.

[16] 师梦, 谢庆芝. 幽门螺杆菌毒力基因与致病性研究进展[J]. 临床儿科杂志, 2019, 32(3):233-236.

[17] PEEK R M, THOMPSON S A, DONAHUE J P, et al.

• 短篇论著 •

Adherence to gastric epithelial cells induces expression of a Helicobacter pylori gene, iceA, that is associated with clinical outcome[J]. Proc Assoc Am Physicians, 1998, 110(6):531-544.

(收稿日期:2019-09-28 修回日期:2020-01-13)

41 例 Rh-HDFN 血清学试验和临床检验结果的分析研究

陈盈盈, 周超, 徐军, 尹明伟, 马继华, 陈学军[△]

(浙江大学医学院附属儿童医院实验检验中心输血科/国家儿童健康与疾病临床医学研究中心, 浙江杭州 310000)

摘要:目的 探讨 Rh 新生儿溶血病(Rh-HDFN)血清学试验和临床检验结果及治疗情况,为临床诊治和预后的改善提供一定参考。方法 选取 2015—2018 年该院明确诊断的 41 例 Rh-HDFN 新生儿,系统回顾性分析所有患儿临床资料,根据结果分为抗-D 组,非抗-D 单个抗体组(抗-E/c 组),联合抗体组(抗-Ec 组)。结果 90.24%(37/41)的患儿血清直抗试验阳性 2+或以上,放散试验和不规则抗体筛查全部阳性;抗-D 组、抗-E/c 组、抗-Ec 组分别占病例的 43.90%(19/41)、34.15%(14/41)、21.95%(9/41),其中各组中男女、日龄和血红蛋白水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),胆红素峰值水平抗-E/c 组和抗-Ec 组高于抗-D 组,差异有统计学意义($P<0.05$);不同治疗组中,换血组患儿日龄和胆红素峰值较非输血换血组和输血组高,换血组和输血组血红蛋白水平较非输血换血组低,差异有统计学意义($P=0.037, 0.010$)。结论 通过研究加深对 Rh-HDFN 的认识,根据患儿具体情况进行合适的实验室诊断和治疗,同时加强对产妇的血型和不规则抗体的检查,有利于 Rh-HDFN 的及时诊治,减少相应并发症。

关键词:Rh 新生儿溶血病; 血清学试验; 临床检验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.07.026

中图法分类号:R722.18

文章编号:1673-4130(2020)07-0883-03

文献标识码:B

新生儿溶血病(HDFN)是一种严重的妊娠并发症,指母体内产生针对胎儿红细胞抗原的同种免疫抗体,从而破坏胎儿红细胞而引起新生儿溶血,表现为黄疸、贫血、水肿等症状,甚至造成核黄疸及死亡^[1-2],其中最常见的是母婴 ABO 新生儿溶血病(ABO-HDFN),其次为 Rh 新生儿溶血病(Rh-HDFN)。ABO-HDFN 发生的原因是母婴 ABO 血型不合,而非 ABO-HDFN 的发生除此之外,还包括孕妇因不相容性输血史或怀孕史而产生不规则抗体。研究普遍表明 Rh-HDFN 所引起的溶血反应程度相对于 ABO 系统、MNS 系统、Kell 系统等均较严重^[3-4],因此人们对 Rh-HDFN 的重视程度越来越高。

Rh 血型系统具有高度多态性和高度免疫源性,主要包括 D、E、C、c、e 这 5 类抗原,这也是与临床患儿发生 Rh-HDFN 关系最为密切的抗原^[5]。若对这些抗原相应抗体导致溶血病发生的临床检验结果进行分析,将有利于对患儿进行早诊断、早干预、早治疗,降低患儿的病死率。为此,首先通过血清学对本院疑似 Rh-HDFN 的患儿血清进行不规则抗体筛查及鉴

定,随后对各抗体类型组患儿的基本情况、临床检验及治疗情况进行回顾性分析,从而为 Rh-HDFN 提供诊断经验,为临床治疗提供一定参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015—2018 年在输血科检测并确诊为新生儿 Rh-HDFN 的患儿 41 例为研究对象,患儿入院时无明显其他重大疾病并发症。其中男患儿 24 例、女患儿 17 例,日龄 1~16 d、平均(3.78±3.80)d。新生儿 Rh-HDFN 诊断标准参照《实用新生儿学》的标准^[5]。

1.2 方法 实验室检查:对疑有患新生儿溶血的患儿,本科室对收到母亲与患儿血标本进行溶血全套检测,包括母子血型、Coombs 试验、游离抗体试验、放散试验及同时送检血常规和胆红素检测。检测到不规则抗体后,将血标本送至浙江省血液中心血站检测具体特异性抗体类型,将其分为抗-D 组、非抗-D 单个抗体组(抗-E/c 组)、联合抗体组(抗-Ec 组)。实验严格按照试剂说明书及《全国临床检验操作规程》(第 4 版)进行操作。

[△] 通信作者, E-mail: CHXJS@zju.edu.cn.