

多发性硬化患者幽门螺杆菌感染情况分析*

王玉飞¹, 白真², 朱晓雯¹, 刘淑静¹, 周金¹, 谷愉愉¹, 司学众¹, 张国军^{1△}

1. 首都医科大学附属北京天坛医院检验科/国家药监局体外诊断试剂质量控制重点实验室/

北京市免疫试剂临床工程技术研究中心, 北京 100070; 2. 首都医科大学临床检验诊断学系, 北京 100070

摘要:目的 探讨幽门螺杆菌(Hp)感染与多发性硬化(MS)易感性间的关系。方法 回顾性分析 2018 年 8 月至 2021 年 5 月于首都医科大学附属北京天坛医院就诊的 94 例 MS 患者(MS 组)的临床资料与实验室数据。另选取同时期就诊的 282 例体检健康者作为对照组。分析 MS 患者与体检健康者 Hp 阳性率的差异,并分析差异是否与性别有关。分析 Hp 阳性 MS 患者与 Hp 阴性 MS 患者淋巴细胞亚群、补体、细胞因子的水平是否有差异。结果 MS 组和对照组 Hp 阳性率分别为 37.23%和 45.04%,差异无统计学意义($P>0.05$)。女性 MS 组阳性率(30.88%)低于女性对照组(45.10%),差异有统计学意义($P<0.05$)。男性 MS 组与男性对照组 Hp 阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。Hp 阳性的 MS 患者和 Hp 阴性的 MS 患者在辅助性 T 细胞、辅助性 T 细胞/抑制性 T 细胞及补体 C3 水平方面差异均有统计学意义($P<0.05$),而在其他淋巴细胞亚群、补体、细胞因子方面差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 女性 MS 患者 Hp 的阳性率明显低于健康女性,提示 Hp 感染可能与女性 MS 有关。

关键词:多发性硬化; 幽门螺杆菌; 细胞因子; 淋巴细胞亚群; 补体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.19.003 **中图法分类号:**R446.5

文章编号:1673-4130(2021)19-2313-04 **文献标志码:**A

Analysis of Helicobacter pylori infection in multiple sclerosis patients*

WANG Yufei¹, BAI Zhen², ZHU Xiaowen¹, LIU Shujing¹, ZHOU Jin¹,

GU Yuyu¹, SI Xuezhong¹, ZHANG Guojun^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University/
NMPA Key Laboratory for Quality Control of In Vitro Diagnostics/Beijing Engineering Research

Center of Immunological Reagents Clinical Research, Beijing 100070, China;

2. Department of Clinical Laboratory Diagnosis, Capital Medical University, Beijing 100070, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between Helicobacter pylori (Hp) infection and susceptibility of multiple sclerosis (MS). **Methods** The clinical data and laboratory data of a total of 94 patients with MS (MS group) treated in Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University from August 2018 to May 2021 were analyzed retrospectively. 282 healthy persons were selected as the control group. The difference of Hp positive rate between MS patients and healthy persons was analyzed, and whether the difference was related to gender was analyzed. The levels of lymphocyte subsets, complement and cytokines between Hp positive MS patients and Hp negative MS patients were analyzed. **Results** The positive rates of Hp in MS group and control group were 37.23% and 45.04%, respectively, and the difference was not statistically significant ($P>0.05$). The positive rate in female MS group (30.88%) was lower than that in female control group (45.10%), and the difference was statistically significant ($P<0.05$). There was no significant difference in the positive rate of Hp between male MS group and male control group ($P>0.05$). There were significant differences in the levels of helper T lymphocytes, helper T lymphocytes/killer T lymphocytes and complement C3 between Hp positive MS patients and Hp negative MS patients ($P<0.05$), but there was no sig-

* 基金项目:国家自然科学基金项目(82002198)。

作者简介:王玉飞,女,住院医师,主要从事临床生化和免疫检验研究。△ 通信作者, E-mail: tiantanzgj@163.com。

本文引用格式:王玉飞,白真,朱晓雯,等.多发性硬化患者幽门螺杆菌感染情况分析[J].国际检验医学杂志,2021,42(19):2313-2316.

nificant difference in other lymphocyte subsets and cytokines ($P>0.05$). **Conclusion** The positive rate of Hp in female MS patients is significantly lower than that in healthy female, suggesting that Hp infection may be related to female MS.

Key words: multiple sclerosis; Helicobacter pylori; cytokines; lymphocyte subsets; complement

多发性硬化(MS)是一种以中枢神经系统炎性脱髓鞘病变为主要特点的免疫介导性疾病,好发于 20~40 岁正值工作巅峰状态的青壮年,女性多于男性。MS 是中青年神经源性残疾最常见的原因之一,全球约有两百多万人受累^[1-2],其发病机制复杂,为环境和遗传因素共同作用所致,具体病因尚不明确^[3]。幽门螺杆菌(Hp)是人体肠道内的一种革兰阴性微需氧菌,相比于发达国家,发展中国家 Hp 的阳性率更高^[4]。近年来,有研究认为 Hp 感染与肠外疾病(如冠心病、阿尔兹海默症及一些自身免疫疾病等)相关^[5]。且有研究发现, Hp 的感染与 MS 存在关联^[6-8],但并无一致结论。不同种族人群中 MS 发病率有较大差异,目前关于我国 MS 人群 Hp 阳性率的研究较少。本研究旨在通过分析相关临床资料和实验室数据,比较 Hp 阳性 MS 患者和 Hp 阴性 MS 患者在淋巴细胞亚群、补体、细胞因子等指标方面是否存在差异,以期 为 MS 治疗及后期药物靶点开发提供一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 8 月至 2021 年 5 月就诊于首都医科大学附属北京天坛医院的 94 例 MS 患者作为 MS 组, MS 的诊断根据 2017 年 McDonald 诊断标准^[9]。排除标准:(1)合并严重心、脑血管疾病,肝肾功能不全;(2)急、慢性感染;(3)合并肿瘤。选取同时期来院的健康体检者 282 例作为对照组,其中男 78 例,女 204 例。

1.2 仪器与试剂 淋巴细胞亚群(相对计数)采用免疫荧光 FACSCanto II 流式细胞仪(BD 公司),试剂为配套的 MultitestUIMK kit。细胞因子采用西门子 IMMULITE 1000 全自动分析仪及配套试剂盒。补体采用 BN II System 全自动蛋白分析仪及配套试剂盒。Hp 检测采用 Hp IgG 抗体检测试剂盒(MP Bio-medicals 公司)。

1.3 患者标本收集 采集患者空腹时肘静脉血 5 mL(黄帽管,共 3 管),3 500 r/min 离心 10 min 后获得血清,血清标本用来检测 Hp、细胞因子 6 项及补体 2 项。全血样本采用 EDTA 抗凝的紫帽管收集,用于淋巴细胞亚群的相对计数。所有标本均在 2 h 内完成检测。

1.4 观察指标 收集 MS 患者年龄、性别、MS 分型

等基本临床信息,以及 Hp 阳性情况、淋巴细胞亚群相对计数、6 项细胞因子和补体(C3 和 C4)的水平。收集对照组年龄、性别及 Hp 阳性情况。淋巴细胞亚群计数包括:辅助性 T 细胞(Th, CD3⁺CD4⁺)、抑制性 T 细胞(Ts, CD3⁺CD8⁺)、辅助性与抑制性 T 细胞比值(Th/Ts)、B 细胞(B, CD3⁻CD19⁺)和自然杀伤细胞(NK, CD3⁻CD16⁺CD56⁺)。细胞因子 6 项包括:肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、白细胞介素(IL)-6、IL-8、IL-10、IL-1β、IL-2R。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析,计量资料服从正态分布以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;计量资料为非正态分布的以 *M* (*P*₂₅, *P*₇₅)表示,组间比较采用非参数检验。计数资料以率或频数表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MS 患者一般情况 MS 患者共 94 例,年龄 16~27 岁,中位年龄 33 岁。MS 中男女比例为 1.0 : 2.6。MS 患者中复发缓解型 75 例,继发进展型 6 例,原发进展型 1 例,剩余 12 例分型信息不明确。

2.2 MS 组和对照组 Hp 阳性结果比较 94 例 MS 患者中 Hp 阳性 35 例,阳性率为 37.23%;282 例对照组中 Hp 阳性 127 例,阳性率为 45.04%。两组 Hp 阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。MS 患者中复发缓解型 Hp 阳性率为 34.67%(26/75),继发进展型 Hp 阳性率为 50.00%(3/6),两种型别间 Hp 阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 MS 组和对照组 Hp 阳性结果比较						
性别	MS 组			对照组		
	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阳性率(%)	<i>n</i>	阳性(<i>n</i>)	阳性率(%)
女	68	21	30.88	204	92	45.10
男	26	14	53.85	78	35	44.87
合计	94	35	37.23	282	127	45.04

2.3 不同性别 Hp 阳性率比较 女性 MS 组共 68 例, Hp 阳性 21 例,阳性率为 30.88%;女性对照组共 204 例, Hp 阳性 92 例,阳性率为 45.10%。女性 MS 组 Hp 阳性率低于对照组,差异有统计学意义($P=0.037$)。男性 MS 组 Hp 阳性率为 53.85%,与男性对照组的 44.87% 比较,差异无统计学意义($P=$

0.427)。女性 MS 组 Hp 阳性率低于男性 MS 组,差异有统计学意义($P=0.039$)。见表 1。

2.4 淋巴细胞亚群、细胞因子和补体在 MS 患者中的差异 经过数据筛选,只有 43 例 MS 患者有完整的细胞因子数据,将这 43 例患者分为 Hp 阳性 MS 患

者和 Hp 阴性 MS 患者,结果显示 Hp 阳性 MS 患者 Th、Th/Ts 和补体 C3 高于 Hp 阴性 MS 患者,在两组间的差异有统计学意义($P<0.05$),其他淋巴细胞亚群、补体、细胞因子比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 淋巴细胞亚群、细胞因子和补体在 MS 患者中的差异

指标	Hp 阳性 MS 患者($n=11$)	Hp 阴性 MS 患者($n=32$)	P
Th[$M(P_{25},P_{75})$, %]	47.07(41.17,52.9)	43.37(35.72,47.48)	0.027
Ts[$M(P_{25},P_{75})$, %]	27.03(22.00,33.54)	29.66(25.00,35.11)	0.164
Th/Ts[$M(P_{25},P_{75})$]	1.64(1.24,2.24)	1.41(1.09,1.82)	0.035
B[$M(P_{25},P_{75})$, %]	12.18(8.67,14.77)	13.07(7.93,17.20)	0.118
NK[$M(P_{25},P_{75})$, %]	8.75(6.82,11.44)	7.98(5.22,14.30)	0.850
TNF- α [$M(P_{25},P_{75})$, pg/mL]	5.35(4.66,5.83)	5.72(5.06,7.38)	0.210
IL-6[$M(P_{25},P_{75})$, pg/mL]	2.99(2.00,4.26)	2.80(2.00,4.39)	0.530
IL-8[$M(P_{25},P_{75})$, pg/mL]	11.10(6.61,52.70)	39.80(16.80,65.28)	0.250
IL-10(pg/mL)	5.00	5.00	—
IL-1 β [$M(P_{25},P_{75})$, pg/mL]	5.00(5.00,5.00)	5.00(5.00,6.01)	0.350
IL-2R[$M(P_{25},P_{75})$, U/mL]	256.00(50.00,335.00)	235.50(50.00,334.75)	0.890
补体 C3[$M(P_{25},P_{75})$, g/L]	1.07(0.96,1.18)	0.22(0.18,0.28)	0.008
补体 C4[$M(P_{25},P_{75})$, g/L]	0.96(0.88,1.05)	0.22(0.17,0.26)	0.561

注:—表示无数据;IL-10 在两组间的值均小于 5.00 pg/mL,无具体数值,因此未进行统计学检验。

3 讨 论

Hp 感染是世界上最常见的慢性感染之一,在全球范围内广泛流行。我国 Hp 的阳性率约为 56.0%^[10],远远高于发达国家(瑞士和澳大利亚,其为 18.9%和 15.1%)^[4,11]。研究发现, Hp 感染在某些神经系统疾病的发生、发展及转归中可能发挥着非常重要的作用^[12]。MS 是最常见的中枢神经系统炎性疾病之一。目前对于 Hp 感染与 MS 的关系尚有较大争议。MS 的动物模型,即实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)大鼠模型试验发现, Hp 感染可减轻大鼠的肢体瘫痪程度,提示 Hp 可减轻 EAE 的严重程度^[7]。JARUVONGVANICH 等^[13]及 YAO 等^[5]的 Meta 分析均表明 Hp 感染与 MS 呈负相关。RANJBAR 等^[14]对伊朗国家的人群(387 例 MS 患者和 420 例健康对照者)研究发现, Hp 感染可能是 MS 的保护性因素,这可能与一种“卫生理论”假说有关,该假说认为早期感染对自身免疫有至关重要的作用,机体感染病原体后可打破细胞因子间的平衡,使机体趋于低变应性状态,因而可减少后期的过敏及自身免疫反应^[11]。

然而也有研究得出相反的结论,GAVALAS 等^[8]研究发现,MS 组 Hp 阳性率明显高于对照组, Hp 感染可引起体液及细胞免疫反应,加重神经损伤。此外,国内 LONG 等^[15]的研究表明, Hp 感染与 MS 并

无任何关联。可见, Hp 感染与 MS 间的关系并无一致结论,不同地区和国家的数据与结论存在一定的差异。 Hp 具有明显的遗传多态性,不同亚型的 Hp 在细胞形态、激活免疫反应等方面存在差异^[16], Hp 感染患者可携带不同组合的 Hp 亚型,这种个体差异也可能是上述研究结论不一致的原因之一。

本研究纳入了 94 例 MS 患者,但并未发现 MS 组的 Hp 阳性率与对照组有明显差别。考虑到 MS 患者的性别差异较大,本研究分析了不同性别 MS 患者 Hp 阳性率与相应的对照组是否存在差异,发现女性 MS 患者的 Hp 阳性率明显低于健康女性,这一差异在男性 MS 患者中并未发现,这与澳大利亚 1 项更大人群(550 例 MS 患者和 299 例对照)的研究结论相似^[11]。LONG 等^[15]在国内开展的针对视神经脊髓炎(NMO)和 MS 患者 Hp 阳性率的研究发现, NMO 患者 Hp 的阳性率更高, Hp 感染可能是 NMO 的危险因素,而 Hp 感染与 MS 并无相关性。这项研究只纳入了 42 例 MS 患者,且未分析不同性别 MS 患者之间 Hp 阳性率的差异,这可能是与本研究结论不同的原因所在。

MS 发病机制并不明确,其为多基因遗传与环境因素共同作用所致。不同亚型的 T 细胞在 MS 的发病及进程中有不同作用。Th 细胞和 Ts 细胞数量、比

值等异常时, T 细胞调节失衡, 可诱发机体发病^[17]。本研究发现, Hp 阳性的 MS 患者中 Th 细胞明显高于 Hp 阴性的 MS 患者。有研究通过检测 Th1 和 Th2 型细胞因子发现, MS 组 γ 干扰素 (IFN- γ) 水平明显高于正常组, IL-10 和 IL-4 则明显降低, 推测通过调节 Th1/Th2 型细胞因子的平衡也是减轻 MS 免疫损伤的重要机制之一^[18]。RANJBAR 等^[14]的研究发现, 相比于 Hp 阴性 MS 患者, Hp 阳性 MS 患者中促炎性细胞因子 (IL-6、IL-17、IFN- γ 、TNF- α) 水平明显降低, 而抑炎性细胞因子 (IL-4、IL-10) 水平则明显升高。本研究并未发现 Hp 阳性与 Hp 阴性 MS 患者在相关细胞因子水平上有明显差异, 可能与样本量较少有关。补体系统是参与免疫调节的重要机制, 在识别和清除微生物方面有重要作用。本研究发现, Hp 阳性 MS 患者中 C3 水平明显高于 Hp 阴性 MS 患者, 提示 Hp 可能通过固有免疫途径参与相关炎症反应。

本文的局限性在于本研究为单中心, MS 病例较少, 相关结论还需要更大样本量的验证。本研究中淋巴细胞亚群的检测并不能进一步区分 Th1 和 Th2 细胞因子, 这是下一步的研究中需要改进的地方。综上所述, 女性 MS 患者 Hp 的阳性率明显低于健康女性, 提示 Hp 感染可能与女性 MS 有关。

参考文献

[1] REICH D S, LUCCHINETTI C F, CALABRESI P A. Multiple sclerosis[J]. New Engl J Med, 2018, 378 (2): 169-174.

[2] OH J, VIDAL-JORDANA A, MONTALBAN X. Multiple sclerosis: clinical aspects[J]. Curr Opin Neurol, 2018, 31 (6): 752-759.

[3] 邱伟, 徐雁. 多发性硬化诊断和治疗中国专家共识 (2018 版)[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2018, 25 (6): 6-13.

[4] HOOI J K, LAI W Y, NG W K, et al. Global prevalence of helicobacter pylori infection: systematic review and meta-analysis[J]. Gastroenterology, 2017, 153 (2): 420-429.

[5] YAO G, WANG P, LUO X D, et al. Meta-analysis of association between Helicobacter pylori infection and multiple sclerosis[J]. Neuroence Letters, 2016, 620 (14): 1-7.

[6] BENNETT K A, QIU W, TAY C Y, et al. Western Australian multiple sclerosis patients exhibit a lower prevalence of Helicobacter pylori infection[J]. Multiple Sclerosis, 2012, 18 (5): 2478-2484.

[7] COOK K W, CROOKS J, HUSSAIN K, et al. Helicobacter pylori infection reduces disease severity in an experimental model of multiple sclerosis[J]. Front Microbiol, 2015, 6 (2): 52-61.

[8] GAVALAS E, KOUNTOURAS J, BOZIKI M, et al. Relationship between Helicobacter pylori infection and multiple sclerosis[J]. Ann Gastroenterol Quart Public Hellen Soc Gastroenterol, 2015, 28 (3): 353-356.

[9] THOMPSON A J, BANWELL B L, BARKHOF F, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria[J]. Lancet Neurol, 2018, 17 (2): 162-173.

[10] 崔璨璨, 李长锋, 张斌. 幽门螺旋杆菌感染治疗方案的研究现状和进展[J]. 吉林大学学报 (医学版), 2017, 43 (6): 1287-1290.

[11] MOUJABER T, MACINTYRE C R, BACKHOUSE J, et al. The seroepidemiology of Helicobacter pylori infection in australia[J]. Int J Infect Dis, 2008, 12 (5): 500-504.

[12] GRAVINA A G, ZAGARI R M, MUSIS C D, et al. Helicobacter pylori and extragastric diseases: a review[J]. World J Gastroenterol, 2018, 24 (29): 3204-3221.

[13] JARUVONGVANICH V, SANGUANKEO A, JARUVONGVANICH S, et al. Association between Helicobacter pylori infection and multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis [J]. Mult Scler Relat Disord, 2016, 7 (4): 92-97.

[14] RANJBAR R, KARAMPOOR S, JALILIAN F A. The protective effect of Helicobacter pylori infection on the susceptibility of multiple sclerosis[J]. J Neuroimmunol, 2019, 337: 577069.

[15] LONG Y, CONG G, WEI Q, et al. Helicobacter pylori infection in neuromyelitis optica and multiple sclerosis[J]. Neuroimmunomodulation, 2013, 20 (2): 107-112.

[16] JACKSON L K, POTTER B, SCHNEIDER S, et al. Helicobacter pylori diversification during chronic infection within a single host generates sub-populations with distinct phenotypes [J]. PLoS Pathog, 2020, 16 (12): e1008686.

[17] PARK A M, OMURA S, FUJITA M, et al. Helicobacter pylori and gut microbiota in multiple sclerosis versus Alzheimer's disease: 10 pitfalls of microbiome studies [J]. Clin Exp Neuroimmunol, 2017, 8 (3): 215-232.

[18] 李丹. 31 例多发性硬化患者 T 淋巴细胞亚群及相关细胞因子的检测[J]. 天津医科大学学报, 2019, 25 (1): 86-89.