

幽门螺杆菌抗体谱组分类型与妊娠剧吐反应的相关性研究

李 军¹ 许元峰² 帖红莉³

摘 要 目的 通过生物芯片对孕妇血清进行幽门螺杆菌(Hp)抗体谱分型,探讨 Hp 感染抗体谱与妊娠剧吐的相关性。方法 病例对照法,采用幽门螺杆菌抗体谱检测蛋白芯片分析,一次检测 Hp 的多种血清学标志 CagA、VacA、Ure、Hsp60 等抗体。结论 妊娠剧吐与 HP 感染抗体谱分型中 CagA + 型、VacA 型显著相关,同时 HP 感染与 O 型血孕妇更为相关。

关键词 幽门螺杆菌抗体谱 妊娠剧吐 相关研究

Study on relationship between antibody spectrum of *Helicobacter pylori* with Hyperemesis gravidarum

LI Jun¹ XU Yuan-feng TIE Hong-li

ABSTRACT Objective To explore the relationship of spectral types of Hp antibodies repertoire with hyperemesis gravidarum. Through bio-chip with maternal serum, the *Helicobacter pylori* (Hp) antibody spectral types were determined. **Methods** Using *Helicobacter pylori* antibody protein-chip, we can detect various antibodies of Hp serum markers at one time. Those Hp serum markers include CagA, VacA, Ure, Hsp60 etc. **Conclusions** This study showed that HP-CagA infection and HP-VacA infection are correlated with hyperemesis gravidarum, and more related significance to pregnant women with serum group O.

KEY WORDS Antibody spectrum of *Helicobacter pylori* Hyperemesis gravidarum Correlation study

妊娠剧吐是指孕妇早孕反应严重,恶心呕吐频繁、不能进食,影响身体健康的综合征。妊娠剧吐多见于年轻的初孕孕妇,起始于妊娠 6 周左右,一般在妊娠 12 周后症状消失。至今病因不明,一般认为与孕期血中绒毛膜促性腺激素(Human Chorionic Gonadotropin, HCG)及雌激素水平升高有关。这种变化可能导致孕妇胃肠道潜在的 Hp 感染发作,引起胃粘膜的炎症反应,临床上出现恶心、呕吐等表现^[1]。本研究通过生物芯片对孕妇血清进行检测,对孕妇感染的幽门螺杆菌(Hp)进一步抗体谱分型,探讨 Hp 感染抗体谱与妊娠剧吐的相关性。

1 资料与方法

1.1 病例 2007 年 6 月—2008 年 3 月在陕西咸阳计生服务站和咸阳市妇幼保健院妇科门诊诊断为妊娠剧吐的孕妇共 30 例,为停经 45 ~ 90 d 的宫内妊娠者,年龄 22 ~ 31 岁。均初次妊娠,厌食、反复呕吐 8 ~ 25 d,不能进食^[1]。

1.2 方法 采用病例对照法,对照组为同期常规产前检查,年龄及孕周相近的正常孕妇 30 例。第 1 次就诊时,抽取肘静脉血 2 mL,离心取血清置零下 20℃冰箱中保存。采用深圳欣康基因数码科技有限公司生产的 Hp 抗体谱检测蛋白芯片分析。一次检

测 Hp 的多种血清学标志-细胞毒素相关基因 A (Cytotoxin associated gene A, CagA)、细胞空泡毒素 A 蛋白 (Vacuolating Cytotoxin A, VacA)、尿素酶 (Ure)、热休克蛋白 60 (Heat Shock protein 60, Hsp60) 和氮素还原酶 RdxA 等抗体(按照说明常规操作)。(1) Ure 阳性者确立为 Hp 感染。(2) 抗 Hp 细胞毒素相关基因 A (CagA) 蛋白 IgG、细胞空泡毒素 A 蛋白 (VacA) IgG、热休克蛋白 60 (Hsp60) 是 HP 致病性的进一步分型。

解决的关键技术:幽门螺杆菌蛋白芯片采用基因工程技术表达 Hp 特异性抗原 (CagA、VacA、Ure、Hsp60 和 RdxA 等),将具有抗原性的蛋白以方阵形式固定于硝酸纤维素膜 (NC 膜) 上,待检标本中的特异性抗体与之发生特异性免疫结合反应,并在 NC 膜上形成抗原-抗体免疫复合物,再用胶体金标记的葡萄球菌 A 蛋白 (作为二抗) 与该免疫复合物特异性结合,最终出现肉眼可见的红色斑点。通过特定的仪器如激光共聚焦扫描或电荷偶联摄影像机 (CCD) 对杂交信号的强度进行快速、并行、高效地检测分析,从而判断样品中靶分子的数量^[4]。

1.3 统计 采用 χ^2 检验及 *t* 检验。

2 结果

2.1 Hp 感染抗体谱检测结果 研究组 Hp 阳性 27 例,阳性率为 90% (27/30),对照组 Hp 阳性 18 例,ure 阳性率为 60% (18/30),两组阳性率比较,差异

作者单位 1. 陕西中医学院体质与疾病遗传学基础研究室
2. 深圳欣康基因数码科技有限公司
3. 陕西咸阳计生委科技科

有统计学意义 ($P < 0.01$)。CagA + Hp、VacA + Hp、Hsp60 + Hp 感染检测结果: 研究组中 CagA + Hp、VacA + Hp、Hsp60 + Hp 至少有一项为阳性的毒力株感染率为 83.3% (25/30), 对照组中 CagA + Hp、VacA + Hp、Hsp60 + Hp 至少有一项为阳性的毒力株感染率为 30% (9/30), 两组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.2 HP 与血型的关系 在(剧吐)研究组中, O 型血 60% (18/30), A 型血 13.3% (4/30), B 型血 16.7% (5/30), AB 型血 10% (3/30)。在(正常)对照组中, O 型血 43.3% (13/30), A 型血 26.7% (8/30), B 型血 23.3% (7/30), AB 型血 6.67% (2/30)。两组差异具有统计学意义, ($P < 0.05$)。

3 讨论

目前已有多种方法用于诊断 Hp 感染, 但是由生物芯片法才能同步检测 Hp 菌株抗体谱性, 其敏感性和特异性分别为 97.2% 及 96.6%^[5]。其 Hp 感染后, 由于 Hp 本身是一个复合抗原, 所含有的多种抗原蛋白可以在不同阶段刺激机体免疫系统, 产生各种针对不同抗原决定簇的抗体, 在体液中组成了特殊的 Hp 抗体谱。这一组人体产生的血清学标志—抗体, 其组分包括: 细胞毒素相关基因 A 编码蛋白(CagA)、细胞空泡毒素 A 蛋白(VacA)、尿素酶(Ure)、热休克蛋白 60 (Hsp60) 和氮素还原酶 RdxA 等。对幽门螺杆菌抗体谱检测, 不仅能提高对 Hp 检测的敏感性、特异性, 而且能够获得更多的 Hp 和疾病相关信息, 有益于进一步深入研究 HP 感染类型与妊娠剧吐反应的相关性、明确诊断、药物选择、判断预后和疗效跟踪。

3.1 Hp 抗体分型(抗体谱)的临床意义 Hp 为革兰阴性菌, 定植于胃粘膜表面, 大约占 HP 40% 是能分泌细胞毒素相关蛋白 A 编码蛋白或细胞空泡毒素 A 蛋白的毒力株, 是引起慢性胃炎、溃疡病的主要病因, 而热休克蛋白 60 与胃癌发生有关^[3]。

CagA 这种幽门螺杆菌编码蛋白具有很强的免疫原性, 能诱导宿主胃黏膜局部产生多种细胞因子, 进而通过促进中性粒细胞的聚集和活化启动炎症过程。CagA 与幽门螺杆菌毒力呈高度相关, CagA 蛋白与消化道溃疡有密切关系^[4]。所有幽门螺杆菌都含 VacA 基因, 但只有约一半表达 VacA 蛋白, 合成后被分泌到菌体外。VacA 因其可致细胞空泡变性而得名, 与消化性溃疡密切相关。在小鼠动物模

型中, 纯化的 VacA 能诱导小鼠形成胃溃疡。CagA 蛋白和 VacA 蛋白配合检测, 有利于对病菌分型, 判断病人的感染类型等^[4]。Hsp60 是一类蛋白家族, 幽门螺杆菌特有的 Hsp60 与十二指肠溃疡、胃溃疡、十二指肠炎、黏膜相关性淋巴组织淋巴瘤及功能性消化不良有相关性, 与胃癌的关系更为密切。在胃癌病人中, Hsp60 B 亚单位的抗体阳性率为 78.6%, 远高于十二指肠病人的 36.7% 的阳性率^[6]。尿素酶是幽门螺杆菌主要抗原之一, 所有的野生型幽门螺杆菌均产生尿素酶, 尿素酶阳性意味着有 HP 感染^[2]。含有 RdxA 蛋白的菌株, 对甲硝唑敏感, 而不含 RdxA 的菌株则对甲硝唑有抗药性。可通过患者血清中抗-RdxA 抗体的检测来初步判断其所感染的 Hp 对甲硝唑的耐药性^[2]。

3.2 Hp 感染抗体谱与妊娠剧吐的关系 妊娠剧吐至今病因不明。一般认为, 早孕期间的恶心、呕吐可能与妊娠引起的内分泌变化有关, 但并无结论性证据。由于呕吐的发展和消失过程与孕妇 hCG 的上升和下降时间相吻合, 尤其患滋养细胞肿瘤、多胎妊娠时, 孕妇 HCG 显著升高, 其剧吐发生率也显著升高。妊娠终止后, 症状立即消失, 故目前多认为 HCG 水平升高与妊娠剧吐关系密切。也有人提出, 妊娠剧吐是由于雌二醇水平迅速升高引起^[1]。Frigo 等研究认为, 在早孕期间由于类固醇激素水平上升, 导致水钠潴留, 细胞内、外液体比例失调, 从而引起孕妇体内酸碱度变化^[1]。胃肠道的这种变化可能导致这类孕妇潜在的 Hp 感染发作, 引起胃粘膜的炎症反应, 临床上出现恶心、呕吐等表现^[5]。本研究结果也提示, Hp 感染及 CagA + Hp、VacA + Hp 感染与妊娠剧吐有关。值得注意的是, 也有 Hp 及 CagA + Hp、VacA + Hp 感染者, 临床上并未出现妊娠剧吐的症状。此外, 研究组中没有感染 Hp 的孕妇, 也出现了恶心、呕吐等临床表现, 其原因不完全明了, 提示妊娠剧吐的原因是多方面的。有研究显示, 在中国约半数人群感染 Hp, 但感染者中只有约 16% 的人发病^[2], 其中 O 型血的人发病率明显高于其它血型。所以认为 Hp 的致病性与环境因素、宿主血型易感性及 Hp 菌株毒力等因素有关^[5]。本研究数据分析也显示幽门螺杆菌感染的抗体组份 CagA + Hp 和 VacA + Hp 与孕妇妊娠反应相关, O 型血孕妇相关性更强。

如果婚检或孕前干预可以考虑将幽门螺杆菌检测项目列入, 目前对幽门螺杆菌的检测和根治都很

(下转第 21 页)

是不可能的,因二者临床表现,外周血象,线表现很相似,鉴别还需参考年龄,呼吸道病毒检测及血清学检查。

本研究在检测 PCT 的同时检测血清 CRP、WBC 计数。WBC 计数用于诊断感染的准确性较低,因为全身感染时白细胞既可升高,又可减少,而且一些细胞因子和粒细胞集落刺激因子都可引起白细胞计数的改变。CRP 在炎症过程中,迟于 PCT 的升高。而且它的检测是一种非特异性检测,不适用于诊断疾病,但可用于监测组织的损伤。我们认为,仍适用于临床,因为患儿并非起病即入院,往往在发热数日后入院,此时查 CRP,仍有一定的临床意义。本结果显示,CRP 急性期、恢复期差异有统计学意义 ($P < 0.01$),提示 CRP 可用于评价疗效。在分辨感染是细菌性或非细菌性方面,CRP、血 WBC 计数差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。因此,联合检测 PCT 和 CRP 的水平,同时检测血 WBC 计数,有助于小儿细菌性肺炎的诊断,并可进行病情监测和疗效的判断。

小儿肺炎,尤其婴幼儿肺炎,多以病毒感染为主,但临床上常使用了抗生素,且广谱抗生素应用较多。而 PCT 的检测可为临床医务工作者解决这一难题,可以根据以上因素综合分析考虑是否使用抗菌药物,使用哪一类抗菌药物,严防滥用抗生素。临床意义重大。

参考文献

- [1] 张健东,刘树业. 降钙素原的临床应用. 医学综述, 2004, 10 (4):246.
- [2] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学(上册). 第 7 版,北京:人民卫生出版社,2002,1205.
- [3] 杨会炜,汪明明,徐皖苏. 血清降钙素原检测在临床中的应用. 医学综述,2005,11 (9):841.
- [4] Gramm HS, Dollinger P, Beierw. procalcitonin; a new marker of inflammation wirtsantwort longitudinalstudien in patient with sepsis and peritonitis. *Chugas troeterol*, 1995, 11:51-54.

[本文编辑] 谈湧佈

(上接第 18 页)

方便,且无创伤、易推广,又符合我国国情,对提高母婴的健康,降低孕期不良反应和预防母婴口-口相传的致病风险有益。只需加强健康保健的理念宣传,让育龄妇女知道这种相关性就能尽早采取措施,提前根除幽门螺杆菌,并在怀孕期间食用膳食纤维等方法,就能减少并改善妊娠剧吐的反应。

参考文献

- [1] Frigo P, Lang C, Reisenberger K, et al. Hyperemesis gravidarum associated with Helicobacter pylori seropositivity. *Obstet Gynecol*, 1998, 91 (4):615-617.
- [2] 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染的基础和与临床. 北京:中国科

学技术出版社, 1997.399.

- [3] 蒋理. 蛋白芯片技术检测幽门螺杆菌的毒素抗体. 南京医科大学学报, 2003, 23 (7):402.
- [4] 孙晨光. 蛋白芯片检测系统在幽门螺旋杆菌诊断中的应用, 现代检验医学杂志, 2004, 19 (9):17.
- [5] Xiang Z, Bugnoli M, Ponzetto A, et al. Detection in an enzyme immunoassay of an immune response to a recombinant fragment of the 128 Kilodalton protein (CagA) of Helicobacter pylori. *Eur J Clin Microbial Infect Dis*, 1993, 12 (10):739-745.
- [6] 龚兴国. 热休克蛋白 60 的研究进展. 中国病理生理杂志, 2004, 20 (11):2151-2154.

[本文编辑] 吴超群