

# 原发性胆汁反流性胃炎胃黏膜ghrelin的表达

李凌燕, 王青, 许琳

李凌燕, 王青, 许琳, 青岛大学医学院附属青岛市立医院东区消化科 山东省青岛市 266071

作者贡献分布: 此课题由李凌燕, 王青及许琳设计; 研究过程由李凌燕, 王青及许琳操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由许琳提供; 数据分析由李凌燕完成; 本论文的写作由李凌燕与许琳完成。

通讯作者: 王青, 266071, 山东省青岛市东海中路5号, 青岛大学医学院附属青岛市立医院东区消化科。

wangq2008001@163.com

电话: 0532-88905630

收稿日期: 2008-09-23 修回日期: 2008-10-14

接受日期: 2008-10-27 在线出版日期: 2008-12-18

## Expression of ghrelin in gastric mucosa of patients with primary bile reflux gastritis

Ling-Yan Li, Qing Wang, Lin Xu

Ling-Yan Li, Qing Wang, Lin Xu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Municipal Hospital of Qingdao University, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Correspondence to: Dr. Qing Wang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Municipal Hospital of Qingdao University, 5 Donghaizhong Road, Qingdao 266071, Shandong Province, China. wangq2008001@163.com

Received: 2008-09-23 Revised: 2008-10-14

Accepted: 2008-10-27 Published online: 2008-12-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of ghrelin in gastric mucosa of primary bile reflux gastritis.

**METHODS:** Ninety-six patients with primary bile reflux gastritis at our hospital from June 2007 to November 2007 were divided two groups: low reflux group and high reflux group. Thirty subjects with similar endoscopic findings and without bile reflux were taken as control group. The expression of ghrelin in biopsy specimens were detected by immunohistochemistry.

**RESULTS:** The expression of ghrelin was lower in the superficial gastritis group, the atrophy group, the intestinal metaplasia group, and the atypical hyperplasia group than in the control subjects ( $653.822 \pm 99.303$ ,  $98.913 \pm 14.079$ ,  $65.875 \pm 13.844$ ,  $52.290 \pm 11.463$  vs  $884.420 \pm$

$126.362$ , all  $P < 0.05$ ). In the superficial gastritis group, the atrophy group and the intestinal metaplasia group, the expression of ghrelin was significantly different between the *H pylori* positive group and the *H pylori* negative group ( $599.320 \pm 87.300$  vs  $721.950 \pm 67.836$ ,  $47.157 \pm 9.582$  vs  $55.283 \pm 11.580$ ,  $92.700 \pm 10.372$  vs  $107.600 \pm 17.560$ , all  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Bile reflux is a risk factor for gastric mucosa injury. Gastric mucosa atrophy is increased with bile reflux and decreased expression of ghrelin.

**Key Words:** Primary bile reflux gastritis; Ghrelin; *Helicobacter pylori*; Immunohistochemistry

Li LY, Wang Q, Xu L. Expression of ghrelin in gastric mucosa of patients with primary bile reflux gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(35): 3993-3996

## 摘要

**目的:** 探讨原发性胆汁反流性胃炎患者胃黏膜ghrelin的表达变化。

**方法:** 选取我院2007-06/2007-11就诊的原发性十二指肠胃返流患者96例, 分为低反流组和高反流组, 同时选取胃镜检查大致正常, 没有胆汁反流者30例为对照组。免疫组化法检测胃黏膜ghrelin的表达。

**结果:** ghrelin在浅表性胃炎组、肠上皮化生组、不典型增生组和萎缩性胃炎组中的表达均低于正常对照组( $653.822 \pm 99.303$ ,  $98.913 \pm 14.079$ ,  $65.875 \pm 13.844$ ,  $52.290 \pm 11.463$  vs  $884.420 \pm 126.362$ , 均 $P < 0.05$ )。浅表性胃炎组、萎缩性胃炎组和肠上皮化生组中的*H pylori*阳性组的ghrelin表达与*H pylori*阴性组比较均有显著性差异( $599.320 \pm 87.300$  vs  $721.950 \pm 67.836$ ,  $47.157 \pm 9.582$  vs  $55.283 \pm 11.580$ ,  $92.700 \pm 10.372$  vs  $107.600 \pm 17.560$ , 均 $P < 0.05$ )。

**结论:** 胆汁反流是造成胃黏膜损伤的危险因素, 随着胆汁反流程度加重, 胃黏膜萎缩程度加重, ghrelin表达减少。

## ■背景资料

胆汁反流性胃炎是由于含有胆酸、溶血磷脂酰胆碱及胰液的十二指肠内容物反流入胃, 破坏胃黏膜屏障, 引起氢离子向胃上皮细胞内反渗, 造成胃黏膜慢性炎症、糜烂。发生于非手术胃的胆汁反流性胃炎, 称为原发性胆汁反流性胃炎。在20世纪70年代, 合成了几种新的刺激和增加生长素分泌波动变化, 而不依赖于生长素释放激素作用的肽类和非肽类衍生物。这些分子家族已被命名为生长素促泌物。随后发现了他们的天然受体, 生长素促泌物受体, 这意味着新的调节系统参与生长素分泌的调控。3年后, 生长激素促泌物受体的天然配体被发现并定义为ghrelin。

## ■同行评议者

戈之铮, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

## ■研发前沿

ghrelin是一种内源性生长激素释放肽,近年来的研究已对其与消化系统的关系有了较为广泛的认识,而ghrelin的具体作用机制、调节方式、受体的种类及分布等问题还有待进一步阐明.这将为胃肠动力疾病如原发性胆汁反流性胃炎等的治疗开辟新的前景.

## ■相关报道

Tatsuguchi *et al*调查了61例*H pylori*阳性患者;22名*H pylori*阴性健康者作为对照.结果显示*H pylori*阳性患者的胃黏膜和血浆ghrelin含量均低于*H pylori*阴性者,差异有统计学显著性.*H pylori*根除后,胃组织ghrelin mRNA的表达明显增加,ghrelin水平亦显著提高,同时患者的食欲和体质量也相应增加.

**关键词:** 原发性胆汁反流性胃炎; Ghrelin; 幽门螺杆菌; 免疫组化法

李凌燕, 王青, 许琳. 原发性胆汁反流性胃炎胃黏膜ghrelin的表达. 世界华人消化杂志 2008; 16(35): 3993-3996  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/3993.asp>

## 0 引言

十二指肠内容物反流入胃,引起的胃黏膜慢性炎症、糜烂,称胆汁反流性胃炎(bile reflux gastritis).胃-幽门-十二指肠协调运动失调被认为是原发性胆汁反流性胃炎的主要发病机制.ghrelin是近年来新发现的一种由28个氨基酸残基组成的脑肠肽激素,主要由胃底部黏膜分泌腺X/A细胞合成并分泌入血,表现出与胃动素类似的加速胃排空的作用.胆汁反流是否影响胃黏膜ghrelin的表达及幽门螺旋杆菌(*H pylori*)的感染目前文献报道较少,本文就原发性胆汁反流性胃炎与ghrelin的表达及*H pylori*三者的关系作一初步探讨.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取于我院2007-06/2007-11就诊的原发性十二指肠胃反流患者96例,男56例,女40例,年龄24-76(平均44.75±14.13)岁.纳入标准:具有上腹痛、腹胀、吐苦水、体质量下降、烧心、早饱、恶心等症状,且至少存在4 wk以上.胃镜检查具备以下4个特征:(1)胃黏膜,尤其是胃窦黏膜水肿、充血或脆性增加;(2)胃镜插至胃内静止不动1 min后,仍可见到DGR;(3)胃黏液湖有黄色或绿色胆汁染色;(4)胃黏膜有胆汁染色.且胃镜检查除外上消化道其他器质性病变,无胃肠道手术史,经超声、血液生化等检查除外其他器质性疾病.然后行便携式胆汁监测仪(Bilitec 2000)检测确诊为胆汁反流:胃内记录到胆红素吸收值≥0.25为胆汁反流.胆红素吸收值以0.25为界值时,取反流时间百分比的中位数(23.60%)作为分界将反流分为低反流组(反流时间百分比小于23.60%者)和高反流组(反流时间百分比大于23.60%者).选择胃镜检查大致正常,没有胆汁反流者30例做对照组,其中男16例,女14例,年龄28-72(平均48.33±14.69)岁.免疫组化广谱试剂盒, DAB显色剂均购自福州迈新生物技术开发公司.兔抗人ghrelin多克隆抗体购自英国剑桥科学园的Abcam公司.便携式胆汁监测仪(Bilitec 2000)由瑞典Medtronic Syntectics公司生产.病理图像分析采用德国生产的VIDAS计算机图像分

析系统.

## 1.2 方法

**1.2.1 标本采集:** 受试者行胃镜检查时活检取材,根据新悉尼系统取胃窦胃小弯处黏膜2块,深达黏膜肌层.活检标本经甲醛固定,行胃黏膜垂直包埋、切片,分别用于HE染色、AB-PAS染色和改良Giemsa染色.其中快速尿素酶实验阳性和改良Giemsa染色镜检找到*H pylori*同时成立作为*H pylori*阳性标准<sup>[1]</sup>.

**1.2.2 免疫组织化学染色:** 采用SP法,一抗浓度为2 mg/L. ghrelin阳性染色主要位于固有层腺体内,为棕黄色颗粒沉积,免疫组织化学结果定量判断标准:染色后先在光镜下做定性观察,然后于高倍镜下(×200)观察胃黏膜ghrelin阳性表达情况,并随机选取互不重叠的5个视野,用VIDAS计算机图像分析系统测定每个视野阳性染色的积分光吸光度(积分吸光度=染色强度×染色面积),取其平均值作为该切片胃黏膜ghrelin表达的定量指标.

**统计学处理** 应用SPSS11.5软件,对所得计数资料的阳性率的比较采用 $\chi^2$ 检验.计量资料数据均以mean±SD表示,多组资料间比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 作为差异有显著意义的检验标准.

## 2 结果

**2.1 高反流组和低反流组胃黏膜萎缩、肠化生、不典型增生检出率的比较** 低反流组与高反流组相比,其胃窦部黏膜萎缩检出率(29.2% vs 50.0%),肠上皮化生检出率(20.8% vs 45.8%),不典型增生检出率(4.2% vs 12.5%),高反流组胃窦部黏膜萎缩检出率和肠上皮化生检出率显著高于低反流组( $P<0.05$ ),高反流组胃窦部黏膜不典型增生检出率与低反流组之间无显著性差异( $P>0.05$ ,表1).

**2.2 高反流组和低反流组*H pylori*感染的比较** 高反流组感染*H pylori*的阳性率为37.5%,低于低反流组感染*H pylori*的阳性率62.5%,两组之间有显著性差异( $P<0.05$ ).

**2.3 ghrelin在正常对照组,浅表性胃炎组,萎缩性胃炎组,肠上皮化生组,不典型增生组的表达** 浅表性胃炎组、肠上皮化生组、不典型增生组和萎缩性胃炎组的ghrelin积分吸光度均较正常对照组显著下降( $P<0.05$ ).肠上皮化生组、不典型增生组和萎缩性胃炎组的ghrelin积分吸光度均较浅表性胃炎组明显降低( $P<0.05$ ).不典型增生

表 1 高反流组和低反流组胃黏膜萎缩、肠化生、不典型增生比较 ( $n = 48$ , %)

分组	萎缩 检出率	肠上皮化生 检出率	不典型增生 检出率
低反流组	14(29.2)	10(20.8)	2(4.2)
高反流组	24(50.0) <sup>a</sup>	22(45.8) <sup>a</sup>	6(12.5)

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 低反流组.表 2 不同胃黏膜病变中ghrelin的表达 (mean  $\pm$  SD)

分组	$n$	ghrelin积分吸光度
正常对照组	30	884.420 $\pm$ 126.362
浅表性胃炎组	18	653.822 $\pm$ 99.303 <sup>a</sup>
肠上皮化生组	32	98.913 $\pm$ 14.079 <sup>ac</sup>
不典型增生组	8	65.875 $\pm$ 13.844 <sup>ace</sup>
萎缩性胃炎组	38	52.290 $\pm$ 11.463 <sup>aceg</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常对照组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 浅表性胃炎组; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs 肠上皮化生组; <sup>g</sup> $P < 0.05$  vs 不典型增生组.

组和萎缩性胃炎组的ghrelin积分吸光度均较肠上皮化生组显著下降( $P < 0.05$ ). 萎缩性胃炎组的ghrelin积分吸光度较不典型增生组亦有明显下降( $P < 0.05$ , 表2).

2.4 *H pylori*感染对胃黏膜不同病变中ghrelin表达的影响 浅表性胃炎组、萎缩性胃炎组和肠上皮化生组中, *H pylori*阳性组的ghrelin积分吸光度均较*H pylori*阴性组显著下降, 两组之间有显著性差异( $P < 0.05$ ). 不典型增生组中*H pylori*阳性组与*H pylori*阴性组的ghrelin积分吸光度无明显差异( $P > 0.05$ , 表3). 可能为例数过少, 不足说明.

### 3 讨论

原发性胆汁反流性胃炎目前还没有明确的发病机制, 胆汁反流、*H pylori*感染是胃黏膜损伤的重要致病因素. 胆汁反流在胃良性或恶性病变中所起的作用越来越受到重视, 他与非酸反流不是同一概念<sup>[1]</sup>. 探讨胆汁反流严重程度、*H pylori*感染和胃黏膜病理组织学之间的关系是目前特别受关注的课题, 此方面的研究有所报道<sup>[2]</sup>.

本研究发现, 高反流组胃窦部黏膜萎缩检出率和肠上皮化生检出率显著高于低反流组, 过多的胆汁反流都与胃窦黏膜损伤相关, 随着胆汁反流程度加重, 胃窦部黏膜损伤程度加重. 国外学者报道, 存在胃黏膜肠上皮化生的患者其胃内总

表 3 *H pylori*感染对胃黏膜病变中ghrelin表达的影响 (mean  $\pm$  SD)

分组	$n$	<i>H pylori</i>	$n$	ghrelin积分吸光度
浅表性胃炎组	18	阳性	10	599.320 $\pm$ 87.300 <sup>a</sup>
		阴性	8	721.950 $\pm$ 67.836
萎缩性胃炎组	38	阳性	14	47.157 $\pm$ 9.582 <sup>a</sup>
		阴性	24	55.283 $\pm$ 11.580
肠上皮化生组	32	阳性	20	92.700 $\pm$ 10.372 <sup>a</sup>
		阴性	12	107.600 $\pm$ 17.560
不典型增生组	8	阳性	4	64.350 $\pm$ 16.454
		阴性	4	67.400 $\pm$ 13.048

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 同组*H pylori*阴性.

胆酸的浓度显著高于无肠上皮化生者<sup>[3]</sup>.

*H pylori*是慢性胃炎重要的致病因素之一, *H pylori*与胆汁反流的关系目前还存在争议, 体外研究已经证明, 胆汁中的胆汁酸对*H pylori*的生长有抑制作用<sup>[4-5]</sup>, 通常认为大量的胆汁反流可使*H pylori*的生存环境丧失, 因而胆汁反流的反流量与*H pylori*感染呈反比<sup>[6]</sup>. 一些学者研究发现, 部分胃切除术后反流性胃炎患者中*H pylori*的感染率较高<sup>[7-8]</sup>, Kawai *et al*<sup>[9]</sup>报道反流性胃炎患者*H pylori*感染率减低. 但有研究显示, 胆汁反流可与*H pylori*感染并存, 而胆汁不会影响*H pylori*定植<sup>[10]</sup>. 本研究中高反流组*H pylori*感染率显著低于低反流组, 说明胆汁反流可能抑制胃内*H pylori*的生长. 并且随着胆汁反流程度的增加, 这种抑制作用也随着增加. *H pylori*在高浓度的胆汁酸作用下, 其外形由原来的杆状变成表面带有气泡的球状, 最后浓缩呈团块状而失去活性. 因此, 在原发性胆汁反流性胃炎患者中*H pylori*感染率较低.

ghrelin是由28个氨基酸组成的小分子多肽, 由胃黏膜内分泌细胞(主要为x/A样细胞)分泌, 在小肠、肾脏、下丘脑、胰腺、心脏、卵巢及胎盘等处有少量分泌, 通过内分泌或旁分泌形式作用于受体, 在局部发挥作用. ghrelin的生物学作用十分广泛, 可调节GH、催乳素、肾上腺素等多种激素释放, 维持体内激素平衡; 促进摄食, 减少脂肪利用, 影响能量代谢; 调节血流动力, 降低平均动脉压, 增加心脏指数和心搏出量; 调节胃动力和胃酸分泌, 发挥胃黏膜保护作用; 抑制肿瘤细胞增殖; 对肝脏甲状腺和肾脏的功能亦有一定的调节作用<sup>[11]</sup>. 本研究发现, 胆汁反流患者的胃黏膜ghrelin的表达较正常对照组减少, 从浅表性胃炎、肠上皮化生到不典型

### ■创新盘点

本文将胆汁反流性胃炎分为高低反流两个组别进行对比研究, 然后按内镜下病理改变进行分组, 并研究其ghrelin的表达及其与*H pylori*感染的关系.

### ■应用要点

本文初步探讨了原发性胆汁反流性胃炎与ghrelin的表达及*H pylori*三者的关系, 在临床与基础结合的基础上, 对原发性胆汁反流性胃炎的诊断及治疗提供了新的思路.

## ■名词解释

ghrelin: 1999年 Kojima *et al*发现的第一个生长激素促分泌(GHSs)受体的内源性配体,是由28个氨基酸组成的小分子多肽,结构不同于其他合成的GHSs. 他的序列为GSSFLSPEQKAQQKESKPPAKLQPR,第3位丝氨酸上有酰化基团,该基团对于其生理活性很重要. 具有调节GH分泌、摄食、能量代谢、内分泌、记忆、睡眠、胃肠功能等多种生物学作用,已引起人们广泛的关注,成为近年来的研究热点.

增生、萎缩性胃炎中ghrelin表达呈下降趋势,各组之间差异均有显著性. Osawa *et al*<sup>[12]</sup>报道一个160例患者的*H pylori*感染对ghrelin影响的对照研究,结果*H pylori*阳性患者ghrelin转录水平和血清浓度均较*H pylori*阴性患者下降,并且与萎缩程度相关. 但是,此实验所选择的患者中包括消化性溃疡、息肉和胃癌的患者,其中单纯慢性胃炎患者仅23例,总体*H pylori*阳性患者的ghrelin水平下降是*H pylori*感染的原因,还是因为胃黏膜萎缩或其他原因(如肿瘤)所造成,未能明确. Nwokolo *et al*<sup>[13]</sup>报道,10例无症状*H pylori*阳性志愿者根治*H pylori*后,血清ghrelin水平明显升高. 但此实验样本量较小,并且受试者均为无症状的志愿者,与慢性胃炎患者结果是否一致待研究. Tatsuguchi *et al*<sup>[14]</sup>研究发现独立于胃黏膜萎缩等因素,*H pylori*感染对ghrelin的表达呈负面影响. 本研究显示,在浅表性胃炎组、萎缩性胃炎组和肠上皮化生组中,*H pylori*感染组的ghrelin表达均较*H pylori*阴性组明显下降,推测*H pylori*所致的萎缩性胃炎使胃产生ghrelin的功能受损,导致ghrelin表达下降. 在不典型增生组无明显差异,可能与胃黏膜萎缩程度、幽门螺杆菌致病力、取材部位等因素有关,其具体机制有待进一步研究.

总之,胆汁反流是造成胃黏膜损伤的危险因素,胆汁反流可能导致肠上皮化生,随着胆汁反流程度加重,胃黏膜损伤程度加重. 胆汁反流可能抑制胃内*H pylori*的生长,并且随着胆汁反流程度的增加,这种抑制作用也随着增加. ghrelin随着胃黏膜萎缩程度的加重,表达逐渐减少,而感染*H pylori*后,表达亦减少,即胃黏膜ghrelin的表达可能与*H pylori*感染呈负相关,有待进一步探讨研究.

## ■同行评价

本文总体设计合理,文字表达清晰流畅,学术价值较好.

## 4 参考文献

- 1 Pace F, Sangaletti O, Pallotta S, Molteni P, Porro GB. Biliary reflux and non-acid reflux are two distinct phenomena: a comparison between 24-hour

- multichannel intraesophageal impedance and bilirubin monitoring. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 1031-1039
- 2 林金坤, 曾志荣, 高修仁, 陈为, 胡品津. 十二指肠胃反流与胃黏膜炎症关系探讨. *中华消化杂志* 2004; 24: 87-89
- 3 Nakamura M, Haruma K, Kamada T, Mihara M, Yoshihara M, Imagawa M, Kajiyama G. Duodenogastric reflux is associated with antral metaplastic gastritis. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 53-59
- 4 Han SW, Evans DG, el-Zaatari FA, Go MF, Graham DY. The interaction of pH, bile, and *Helicobacter pylori* may explain duodenal ulcer. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 1135-1137
- 5 Itoh M, Wada K, Tan S, Kitano Y, Kai J, Makino I. Antibacterial action of bile acids against *Helicobacter pylori* and changes in its ultrastructural morphology: effect of unconjugated dihydroxy bile acid. *J Gastroenterol* 1999; 34: 571-576
- 6 O'Connor HJ, Dixon MF, Wyatt JL, Axon AT, Ward DC, Dewar EP, Johnston D. Effect of duodenal ulcer surgery and enterogastric reflux on *Campylobacter pyloridis*. *Lancet* 1986; 2: 1178-1181
- 7 Nagahata Y, Azumi Y, Numata N, Yano M, Akimoto T, Saitoh Y. *Helicobacter pylori* may cause "reflux" gastritis after gastrectomy. *J Gastrointest Surg* 1997; 1: 479-486
- 8 Charitopoulos NC, Karkanas GG, Dimitraki TV, Papadimitriou C, Golematas BC. Postoperative alkaline reflux gastritis following vagotomy. *Hepatogastroenterology* 1994; 41: 542-545
- 9 Kawai Y, Tazuma S, Inoue M. Bile acid reflux and possible inhibition of *Helicobacter pylori* infection in subjects without gastric surgery. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 1779-1783
- 10 饶正伟, 姚芳, 冯远碧, 冯刚, 王克兵. 幽门螺杆菌与胆汁反流性胃炎关系的探讨. *临床消化病杂志* 2005; 17: 179-181
- 11 Katargari SA, Milousis A, Pagonopoulou O, Asimakopoulos B, Nikolettos NK. ghrelin in pathological conditions. *Endocr J* 2008; 55: 439-453
- 12 Osawa H, Nakazato M, Date Y, Kita H, Ohnishi H, Ueno H, Shiya T, Satoh K, Ishino Y, Sugano K. Impaired production of gastric ghrelin in chronic gastritis associated with *Helicobacter pylori*. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 10-16
- 13 Nwokolo CU, Freshwater DA, O'Hare P, Randeva HS. Plasma ghrelin following cure of *Helicobacter pylori*. *Gut* 2003; 52: 637-640
- 14 Tatsuguchi A, Miyake K, Gudis K, Futagami S, Tsukui T, Wada K, Kishida T, Fukuda Y, Sugisaki Y, Sakamoto C. Effect of *Helicobacter pylori* infection on ghrelin expression in human gastric mucosa. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2121-2127

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕