

◆ 中医证候研究 ◆

Hp 相关胃病不同中医证候胃黏膜 MMP-7 及 TIMP-1 表达研究

鄢雪辉, 郭婷婷, 邓志燕, 王杰

金华市中医医院, 浙江 金华 321000

[摘要] 目的: 探讨幽门螺杆菌 (Hp) 相关胃病不同中医证候胃黏膜基质金属蛋白酶-7 (MMP-7) 和组织抑制物-1 (TIMP-1) 的表达, 同时总结中医证候与 Hp 感染的关系。方法: 将 Hp 相关胃病的患者 256 例按照中医证候分型分为脾胃不和证组 65 例, 脾胃湿热证组 75 例, 肝胃不和组 65 例, 脾气虚证组 51 例。选择同一时期的健康志愿者 60 例作为对照组。统计分析不同证型胃黏膜 Hp 感染、炎症影响程度以及活动度情况, 观察胃黏膜 MMP-7 和 TIMP-1 蛋白表达水平的变化。结果: 脾胃湿热证组 Hp 阳性率为 86.67%, 脾胃不和证组为 80.00%, 肝胃不和证组为 86.15%, 脾气虚证组为 80.39%, 4 组阳性率经 χ^2 检验, 脾胃湿热证和肝胃不和证患者 Hp 感染率及感染程度与脾气虚证和脾胃不和证比较略高, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。肝胃不和证与脾胃不和证比较, 其胃黏膜炎症程度更加严重, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其它 3 种证型比较无统计学意义 ($P > 0.05$); 胃黏膜炎症活动度比较为脾胃湿热证 > 肝胃不和证 > 脾胃不和证 > 脾气虚证, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 4 证候组患者的 TIMP-1 表达水平平均升高 ($P < 0.05$), 脾胃湿热证组 Hp 阴性患者 MMP-7 表达水平升高 ($P < 0.05$), 脾胃湿热证组中 Hp 阳性患者 MMP-7 表达水平低于阴性患者。结论: Hp 相关胃病的发病机制与 MMP-7 及 TIMP-1 的表达密切相关, 不同证候表达的差异性明显。

[关键词] Hp 相关胃病; 中医证候; 胃黏膜; 基质金属蛋白酶-7 (MMP-7); 组织抑制物-1 (TIMP-1)

[中图分类号] R573 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2019) 01-0018-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2019.01.005

Study on Expression of MMP -7 and TIMP -1 in Gastric Mucosa with Hp -related Gastropathy with Different Chinese Medicine Syndromes

YAN Xuehui, GUO Tingting, DENG Zhiyan, WANG Jie

Abstract: Objective: To explore the expression of matrix metalloproteinase (MMP-7) and tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1) in gastric mucosa with gastropathy related to Helicobacter pylori (Hp) with different Chinese medicine syndromes, and summarize the correlation between Chinese medicine syndrome and Hp infection. **Methods:** Divided 256 cases of patients with Hp-related gastropathy into four groups according to Chinese medicine syndrome typing, 65 cases in the spleen-stomach disharmony group, 75 cases in the dampness-heat in spleen and stomach group, 65 cases in the liver-stomach disharmony group and 51 cases in the spleen qi deficiency group. Selected 60 cases of healthy volunteers as the control group in the same period. Statistically analyzed such conditions as infection, inflammation degree and active degree in gastric mucosa with different syndromes, observed and compared the changes of protein expression of MMP-7 and TIMP-1 in gastric mucosa. **Results:** The positive rate of Hp was 86.67% in the dampness-heat in spleen and stomach group, 80.00% in the spleen-stomach disharmony group, 86.15% in the liver-stomach disharmony group and 80.39% in the spleen qi deficiency group, the rate and degree of Hp infection in the dampness-heat in spleen and stomach group and the liver-stomach disharmony group were slightly higher than those in the spleen qi deficiency group and the spleen-stomach disharmony group, difference being insignificant ($P > 0.05$). The inflammation degree in gastric mucosa of the liver-stomach disharmony group was severer than that of the spleen-stomach disharmony group, difference being significant

[收稿日期] 2018-03-12

[作者简介] 鄢雪辉 (1985-), 男, 主治中医师, 研究方向: 脾胃病学。

($P < 0.05$), and there was no significant difference being found in other types of comparison($P > 0.05$), the active degree of inflammation in gastric mucosa in the four groups was ranked as followed, the dampness-heat in spleen and stomach group $>$ the liver-stomach disharmony group $>$ the spleen-stomach disharmony group $>$ the spleen qi deficiency group, difference being significant($P < 0.05$). Comparing with the control group, the expression of TIMP-1 of patients in each group was increased($P < 0.05$), the expression of MMP-7 of patients negative for Hp with syndrome of dampness-heat in spleen and stomach was increased($P < 0.05$), and the expression of MMP-7 of patients positive for Hp with syndrome of dampness-heat in spleen and stomach was lower than that of patients negative for Hp. **Conclusion:** The pathogenesis of Hp-related gastropathy has close relevance with the expression of MMP-7 and TIMP-1, and there exists significant difference in expression with different syndromes.

Keywords: Hp-related gastropathy; Chinese medicine syndrome; Gastric mucosa; Matrix metalloproteinase(MMP-7); Tissue inhibitor of metalloproteinase 1(TIMP-1)

胃黏膜损伤主要因胃黏膜在各种内、外源性致病因素的作用下,其保护机制紊乱而出现的炎性或者萎缩性病变^[1],其中包括各种急慢性胃炎、消化性溃疡和胃癌等^[2]。消化性溃疡作为造成胃黏膜损伤的常见疾病,对于患者来说消化性溃疡疾病可以治愈,但是治愈后的复发率却非常高。中医学认为,脾胃为水谷之海,气血生化之源。胃黏膜损伤主要可以通过补充脾胃之气,使得气血生化旺盛后创面即可得到修复。中医辨证论治是中医学理论的主要表现形式,证候是疾病微观变化的一种动态反映。基质金属蛋白酶-7(MMP-7)和组织抑制物-1(TIMP-1)广泛参与到胃黏膜炎症的反应中^[3],但是幽门螺杆菌(Hp)相关胃病中医证候的资料研究尚未完整,因此本次研究以Hp相关胃病不同中医证候为基础,通过对MMP-7、TIMP-1蛋白表达水平检测,探讨Hp相关胃病不同证候的不同蛋白表达,以期对临床对症治疗提供参考依据。

1 临床资料

1.1 一般资料 选择本院2015年2月—2017年7月收治的256例Hp相关胃病的患者,选择同一时期的健康志愿者60例作为对照组。按照中医证候分型将256例患者分为脾胃不和证组65例,脾胃湿热证组75例,肝胃不和证组65例,脾气虚证组51例。对照组男30例,女30例;年龄32~56岁,平均(41.5±4.6)岁;平均病程(18.4±9.8)年。脾胃不和证组男32例,女33例;年龄31~57岁,平均(41.0±4.7)岁;平均病程(18.2±9.5)年。脾胃湿热证组男40例,女35例;年龄31~56岁,平均(41.1±4.6)岁;平均病程(17.9±9.4)年。肝胃不和证组男33例,女

32例;年龄30~57岁,平均(40.4±4.2)岁;平均病程(17.9±9.0)年。脾气虚证组男26例,女25例;年龄32~55岁,平均(41.5±4.5)岁;平均病程(18.0±9.3)年。5组患者性别、年龄、病程方面经统计学处理,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 诊断标准 Hp相关胃病诊断标准参照2007年江西庐山会议做出的诊断标准^[4]。脾胃不和、脾胃湿热、脾气虚、肝胃不和证的辨证诊断参照《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[5]的诊断标准。

2 观察指标与统计学方法

2.1 观察指标 各组均行电子胃镜检查,在胃窦距离幽门2cm左右处大弯和小弯处取胃黏膜组织2块,1块进行快速尿素酶检查,1块置于4.0%甲醛溶液中固定待检测。MMP-7鼠抗人MMP-7单克隆抗体试剂盒、TIMP-1兔抗人TIMP-1多克隆抗体试剂盒(北京生物技术有限公司),Hp试纸(珠海市科技开发有限公司),电子胃镜,双目显微镜。①Hp感染检测,采用快速尿素酶和美蓝染色检测Hp,2种方式检测Hp阳性者为阳性,Hp阴性者为阴性。②胃黏膜病理检测,常规HE染色方法,比较各组Hp阳性及阴性患者胃黏膜的炎症程度。③蛋白表达的检测,采用免疫组织化学标记方法,操作步骤按照试剂盒的说明书进行。**2.2 统计学方法** 采用SPSS15.0统计学软件对数据进行处理分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析。计数资料采用 χ^2 检验,等级资料进行秩和检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 研究结果

3.1 各中医证型组Hp感染情况 见表1。脾胃湿热证组Hp阳性率为86.67%,脾胃不和证组为80.00%,

肝胃不和证组为 86.15%，脾气虚证组为 80.39%，4 组阳性率经 χ^2 检验，脾胃湿热证和肝胃不和证患者 Hp 感染率及感染程度与脾气虚证和脾胃不和证比较略高，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各中医证型组 Hp 感染情况 例

组别	n	Hp 感染		阳性率(%)
		阳性	阴性	
脾胃湿热证组	75	65	10	86.67
脾胃不和证组	65	52	13	80.00
肝胃不和证组	65	56	9	86.15
脾气虚证组	51	41	10	80.39

3.2 各组胃黏膜炎症程度比较 见表 2。肝胃不和证组与脾胃不和证组比较，其胃黏膜炎症程度更加严重，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，其它 3 种证型比较无统计学意义 ($P > 0.05$)；胃黏膜炎症活动度比较为脾胃湿热证 > 肝胃不和证 > 脾胃不和证 > 脾气虚证，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 2 各组胃黏膜炎症程度比较 例

组别	n	胃黏膜炎症程度				
		无	轻度	中度	重度	
脾胃湿热证组	Hp 阳性	65	5	11	22	27
	Hp 阴性	10	2	7	1	0
脾胃不和证组	Hp 阳性	52	6	12	22	12
	Hp 阴性	13	0	4	6	3
肝胃不和证组	Hp 阳性	56	2	9	26	19
	Hp 阴性	9	0	3	5	1
脾气虚证组	Hp 阳性	41	7	7	14	13
	Hp 阴性	10	3	3	3	1
对照组	60	32	28	0	0	

3.3 各组 MMP-7、TIMP-1 水平表达比较 见表 3。与对照组比较，4 证候组患者的 TIMP-1 表达水平均升高 ($P < 0.05$)，脾胃湿热证组 Hp 阴性患者 MMP-7 表达水平升高 ($P < 0.05$)，脾胃湿热证组中 Hp 阳性患者 MMP-7 表达水平低于阴性患者。

4 讨论

Hp 被世界卫生组织列为诱发人类胃癌的 I 类致癌原，与胃癌的发生具有密切相关性，但是其在胃癌浸润以及转移过程中的作用目前尚无明确的研究报告。Hp 是胃黏膜损伤的主要致病因子，另一方面 Hp 感染与脾胃湿热证和脾气虚证患者的关系较肝胃不

表 3 各组 MMP-7、TIMP-1 水平表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MMP-7	TIMP-1
脾胃湿热证组	75	1.89 ± 0.69	1.59 ± 0.67 ^{①③}
Hp 阳性	65	1.80 ± 0.64 ^②	1.61 ± 0.71
Hp 阴性	10	2.43 ± 0.70 ^①	1.56 ± 0.52
脾胃不和证组	65	1.93 ± 0.65	1.95 ± 0.55 ^①
Hp 阳性	52	1.89 ± 0.62	1.97 ± 0.56
Hp 阴性	13	2.03 ± 0.85	1.52 ± 0.52
肝胃不和证组	65	1.91 ± 0.62	1.91 ± 0.54 ^①
Hp 阳性	56	1.88 ± 0.60	1.96 ± 0.55
Hp 阴性	9	2.01 ± 0.83	1.50 ± 0.54
脾气虚证组	51	2.02 ± 0.70	1.87 ± 0.58 ^①
Hp 阳性	41	1.95 ± 0.68	1.83 ± 0.54
Hp 阴性	10	2.18 ± 0.72	2.02 ± 0.65
对照组	60	1.80 ± 0.60	1.35 ± 0.50

与对照组比较，^① $P < 0.05$ ；与脾胃湿热证组 Hp 阴性患者比较，^② $P < 0.05$ ；与脾气虚证组比较，^③ $P < 0.05$

和、脾胃不和证患者更为紧密，这提示 Hp 可能类似于中医学中的“湿邪”，与脾胃湿热证和脾气虚证的发病机理具有一定的内在关联性，同时也诠释了中医学中“湿易困脾”的理论观点^⑥。《内经》曰：“正气存内，邪不可干”“邪之所凑，其气必虚”。《脾胃论》提出“内伤脾胃，百病由生”“百病皆由脾胃衰而生也”。Hp 感染相关性胃病属中医学胃脘痛、痞满、嘈杂、泛酸等病证的范畴，其多与饮食不节有关，脾胃升降失常、寒热虚实错杂、气机阻滞是其主要病机。

有研究证实，Hp 在体外可以直接或者通过诱导细胞因子生成而刺激胃上皮细胞产生 MMPs^⑦。Hp 阳性的胃癌患者与阴性患者比较，更加容易产生局部浸润和淋巴转移，同时与 MMPs 增高相关^⑧。大多 MMPs 由间质细胞产生，而 MMP-7 由腺上皮细胞产生，研究资料表明 Hp 感染可以使胃黏膜上皮细胞中 MMP-7 的表达增高，主要原因为需要细菌黏附于上皮及由 Rho 家族的小 GTP 酶介导 AP-1 产生活化，在促进上皮细胞迁移的过程中起到至关重要的作用^⑨。本研究结果发现，Hp 相关胃病胃黏膜 MMP-7 在上皮细胞、固有膜以及腺体上具有一定的表达，胃黏膜的程度越严重，则胃黏膜 MMP-7 在上皮细胞中的表达越明显。动物试验结果显示，炎症聚集可以上调 TIMP-1 的表达，同时 Hp 感染也可以诱导 TIMP-1 的表达，并且可能引起全身各个系统 MMPs、TIMPs 的

表达异常^[3,10]。在本研究中, MMP-7 保护胃黏膜作用类似于中医学中“正气”, TIMP-1 表达与慢性胃病胃黏膜炎症程度、Hp 感染呈正相关, 则类似于中医学“内邪”^[11]。MMP-7、TIMP-1 在脾胃湿热证、肝胃不和证、脾气虚证患者胃黏膜表达的差异, 可能在一定程度上体现了相关胃病不同中医证候的发病机制。

综合上述, 在对 Hp 相关胃病的治疗中应该首先观察胃黏膜损伤的修复, 胃黏膜 MMP-7 蛋白表达水平上调, 胃黏膜 TIMP-1 蛋白表达相对不足, 则可以促进胃黏膜损伤的修复。MMP-7、TIMP-1 在脾胃湿热证、肝胃不和证、脾气虚证、肝胃不和证患者胃黏膜表达的差异, 可能在一定程度上体现了慢性胃病不同中医证候的发病机制, 一方面对于“不同中医证候的形成”具有一定的影响, 另一方面对于“同病异证”的微观研究也有一定的阐发。

[参考文献]

- [1] 罗云坚, 余绍源. 消化科专病中医临床诊治[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 57.
- [2] 李欣, 张朝明. 胃癌早期诊断血清学指标研究进展[J]. 实用肿瘤杂志, 2015, 30(6): 577-579.
- [3] Bodger K, Ahmed S, Pazmany L, et al. Altered gastric corpus expression of tissue inhibitors of metalloproteinases in human and murine Helicobacter infection[J]. J Clin Pathol, 2012, 61(1): 72-78.
- [4] 中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌学组 / 全国幽门螺杆菌研究协作组. 第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告[J]. 中华消化杂志, 2012, 32(10): 655-659.
- [5] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 361-373.
- [6] 姜涛, 刘庆华, 陈峻青, 等. 残胃癌组织中 β -catenin 与 MMP-7 表达及其临床意义的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2008, 15(7): 511-513.
- [7] 魏礼清, 向春香, 胡建华, 等. DKK-1 在胃癌患者血清和组织中的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31(7): 1577.
- [8] 国芳, 姚玮艳, 戴欣, 等. 血清 miRNA 作为胃癌早期诊断标记物的初步研究[J]. 胃肠病学, 2014, 19(4): 198-202.
- [9] Hotchin NA, Cover TL, Akhtar N. Cell vacuolation induced by the VacA cytotoxin of Helicobacter pylori is regulated by the Rac1 GTPase[J]. J Biol Chem, 2012, 275 (19): 14009-14012.
- [10] Rautelin HI, Oksanen AM, Veijola LI, et al. Enhanced systemic matrix metalloproteinase response in Helicobacter pylori gastritis[J]. Ann Med, 2009, 41(3): 8-15.
- [11] 刘爱东, 庞久玲. 基质金属蛋白酶-7 在胃癌中的表达及意义[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(18): 2226-2227.

(责任编辑: 吴凌, 李海霞)