

# Using Western Blot Assay to Analyze *H. pylori* Antibody and Toxicity Typing of Health Check-Up Group

Hui Liu, Jianwen Bai

Department of Physical Examination, Shanghai East Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai  
Email: 15900508330@163.com

Received: Nov. 15<sup>th</sup>, 2016; accepted: Dec. 16<sup>th</sup>, 2016; published: Dec. 19<sup>th</sup>, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

---

## Abstract

**Objective:** To analyze the infection types of *Helicobacter pylori* in different age groups from December 2014 to December 2012, i.e. antibodies and characteristics of toxicity distribution after infection. **Methods:** We use Western blotting method to detect and classify the immunophenotype of serum of physical examination population. Age is used as the statistical unit, results are tested and analyzed by  $\chi^2$ , and  $P < 0.05$  means that the difference has statistical sense. **Results:** The positive rate of type II Hp infection of A urease or/and urease B for the check-up was 33.27% (5674/17,052), and age distribution ranging from 30 to 69 enjoys the highest positive rate; the positive rate of type I Hp infection of cytotoxin A or/and vacuolate cytotoxin A was 10.58% (1804/17,052), and age ranging from 30 - 49 enjoys the highest positive rate. In different age groups of I and II, there exist differences ( $P < 0.05$ ): low age group (18 - 30 years old) and old age group (>70 years) have lower possibilities to infect Hp. **Conclusion:** Among physical examination population, the rate of Hp infection and the immune typing results after infection, compared with clinical cases, both have some differences. Hp infection, as well as immune typing, exists special distribution characteristics among physical examination population.

## Keywords

*Helicobacter pylori*, Health Check-Up Group, Immune Phenotype, Immune Typing

---

# 免疫印迹法测定健康体检人群幽门螺旋杆菌抗体及毒性分型结果分析

柳 晖, 白建文

同济大学医学院附属上海市东方医院体检科, 上海  
Email: 15900508330@163.com

收稿日期: 2016年11月15日; 录用日期: 2016年12月16日; 发布日期: 2016年12月19日

## 摘要

目的: 本文回顾性分析2012年12月至2014年12月健康体检人群不同年龄段幽门螺旋杆菌感染类型的情况, 即感染后产生的抗体及毒性的分布特征。方法: 采用免疫印迹法对健康体检人群的血清进行免疫表型检测和分型, 以年龄进行分组统计, 检测结果采用 $\chi^2$ 检验进行分析,  $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。结果: 17,052体检者II型Hp感染尿素酶A或/和尿素酶B的阳性率为33.27% (5674/17,052), 阳性率最高的年龄分布是30~69岁; I型Hp感染细胞毒素A或/和空泡毒素A的阳性率为10.58% (1804/17,052), 阳性率最高的年龄分布是30~49岁; II型Hp感染及I型Hp感染的阳性率在不同的年龄组之间存在差异( $P < 0.05$ ), 低年龄组(18~30岁)和高年龄组(>70岁) Hp感染的阳性率低。结论: 在健康体检的人群中, 无论是Hp感染率, 还是Hp感染后的免疫分型结果, 都与临床病例存在一定的差异, Hp的感染及免疫分型在健康体检的人群中存在特殊的分布特征。

## 关键词

幽门螺旋杆菌, 体检人群, 免疫表型, 免疫分型

## 1. 引言

胃幽门螺旋杆菌(Hp)是一种严重影响公众健康的细菌, 具有很强的活性与繁殖能力。它是引起慢性胃炎、消化性溃疡的主要病原菌, 也是引发胃癌、胃粘膜相关性淋巴样组织恶性淋巴瘤(MALT 淋巴瘤)的危险因子; 目前幽门螺旋杆菌感染已成为胃肠及胃肠外相关疾病研究的热点, 世界卫生组织已将幽门螺旋杆菌列入 I 类致癌因子[1]。因此, 检测 Hp 抗体的毒性对正确治疗并根除幽门螺旋杆菌至关重要; 为了了解健康体检人群的 Hp 感染后的免疫表型及分型特点, 我们选择免疫印迹法对无症状的体检人群进行血清学分型, 以揭示不同年龄体检人群 Hp 感染的免疫表型及分型的分布特征。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 调查对象

随机选择 2012 年 12 月~2014 年 12 月间在我院进行健康体检自然人群, 共 7954 名, 性别及年龄不限, 无明显的消化道症状及病史者。

### 2.2. 检测方法

血清 Hp 抗体分型检测采用上海赛科医疗发展有限公司生产的 Hp 免疫印迹试剂盒; 具体方法是: 抽取体检人员空腹静脉血 3 毫升, 静置 2 小时后分离血清, 应用酶联免疫吸附反应, 就会在抗原相应的位置出现显色区域, 通过此种方法, 可测定细胞毒素相关基因蛋白(CagA)、空泡毒素(VacA)、尿素酶 A (UreA) 和尿素酶 B (UreB), 并可以判断 Hp 感染的类型。(其敏感性: 96.8%, 特异性: 97.6%, 阳性预测值: 99.2%, 阴性预测值: 90.7%, 符合率: 97%, 符合普查要求)。

### 2.3. 结果判断(Result Judgment)

通过从分子水平对 Hp 的基因特征和表型特性进行检测, 可测定细胞毒素相关基因蛋白(CagA)、空

泡毒素(VacA)和尿素酶亚单位 A (UreA)和 B (UreB)抗体, 以此可以判断体检者的 Hp 感染的类型, 由于 Hp 感染的类型代表着不同的意义及流行病学的特点(如表所示), 故可以为下一步的预防及治疗提供依据。

分型	说明
CagA (I 型 Hp 感染)	细胞毒素: 会引起炎症, 与疾病密切相关
VacA (I 型 Hp 感染)	空泡毒素: 主要毒力致病因子, 与疾病密切相关
UreA (II 型 Hp 感染)	尿素酶 A: Hp 感染存在的依据
UreB (II 型 Hp 感染)	尿素酶 B: Hp 感染存在的依据
判断	UreA 和/或 UreB: 说明有感染 CagA 和/或 VacA: 说明有毒性

## 2.4. 统计学分析

Hp 抗体分型的阳性结果用百分率表示, 以年龄进行分组统计, 检测结果采用  $\chi^2$  检验进行分析,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 3. 结果

### (1) 健康体检人群 Hp 感染的抗体及毒性检测结果

17,052 例体检者中, II 型 Hp 感染尿素酶 A 或/和尿素酶 B 的阳性率为 33.3% (5674/17,052), 阳性率最高的年龄分布是 30~69 岁; I 型 Hp 感染细胞毒素 A 或/和空泡毒素 A 的阳性率为 10.6% (1804/17,052), 17,502 例体检者中各年龄组 Hp 感染率随着年龄增高而上升( $P < 0.05$ ), 总的感染率为 43.9%, 与文献报道一致[2]。阳性率最高的年龄分布是 30~69 岁, 体检人群性别与 Hp 感染后的免疫表型及分型的阳性率差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 见表 1、表 2。

### (2) 不同年龄组体检人群 II 型 Hp 尿素酶 A 或/和尿素酶 B 感染的情况, 见表 3。

### (3) 不同年龄组体检人群 I 型 Hp 细胞毒素 A 或/和空泡毒素 A 感染的情况, 见表 4。

## 3. 讨论

幽门螺旋杆菌是 1983 年由澳大利亚学者 Warren 和 Marshall 从慢性胃炎和消化性溃疡病人的胃粘膜中分离出的一种螺旋杆菌[3]。幽门螺旋杆菌具有感染后顽固, 自愈率较低, 根治后复发率高的特点; 流行病学研究表明幽门螺旋杆菌已感染世界范围内一半以上的人口, 发展中国家高于发达国家, 我国人群感染率达 50%~80% [4], 并且其感染率的比例有随年龄的增长而增长及呈慢性致病的特点。本文对健康体检人群以年龄进行分组, 然后进行 Hp 感染后免疫表型及免疫分型的调查, 结果表明: 体检人群中 Hp 感染率随年龄增高而呈上升趋势(结果见表 3、表 4;  $P < 0.05$ ), 由于此次是在健康体检人群中做的检测, 结果显示健康体检人群性别与 Hp 感染率有差异, 与文献报道有差别[2]; 同时, 本文对 17,502 例健康体检人群 Hp 感染者进行分型时发现, I 型及 II 型感染的比例分别为 10.6% 及 33.3%, 明显低于临床病例的感染率[5]; 近年来, 越来越多的研究表明, 幽门螺旋杆菌感染不仅与胃肠道疾病相关, 还与许多胃肠道以外的疾病如动脉粥样硬化、高脂血症、高血压、胆囊炎、牙周疾病等密切相关[6]; 最新研究表明, HP 与肝癌的发生也存在一定的联系[7], 因此, 明确 Hp 感染的类型比早期诊断更重要[8]。

众所周知, 幽门螺杆菌感染(Hp)被认为与胃癌的发生有一定的关系; 大量流行病学资料提示 Hp 是胃癌发病的危险因素。Hp 具有对胃粘膜的粘附性, 其在体内能分解尿素产生的氨以及其产生的毒素、酶等, 有致病性, 直接损伤胃黏膜上皮细胞, 能使正常的胃粘膜自活动性浅表性炎症发展为萎缩、肠化与不典型增生, 并在这基础上易发生癌变, Hp 还是一种硝酸盐还原剂, 具有催化亚硝化着手而起致癌作用。Hp

**Table 1.** The situation of type II Hp infection in different sexual health check-up**表 1.** 不同性别体检人群 II 型 Hp 感染的情况

性别	受检人数(n)	II 型 Hp 感染阳性数	II 型 Hp 感染阳性(%) <sup>*</sup>
男性	9765	2137	21.9
女性	7287	3537	48.5
合计	17,052	5674	33.3

注: <sup>\*</sup>P < 0.05。**Table 2.** The situation of type I Hp infection in different sexual health check-up**表 2.** 不同性别体检人群 I 型 Hp 感染的情况

性别	受检人数(n)	I 型 Hp 感染阳性数	I 型 Hp 感染阳性(%) <sup>*</sup>
男性	9765	802	8.2
女性	7287	1002	13.8
合计	17,052	1804	10.6

注: <sup>\*</sup>P < 0.05。**Table 3.** Type II Hp infection of urease A or/and urease B, or both, in different age groups**表 3.** 不同年龄组体检人群 II 型 Hp 尿素酶 A 或/和尿素酶 B 感染的情况

年龄段(岁)	受检人数(n)	II 型 Hp 感染阳性数	II 型 Hp 感染阳性(%) <sup>*</sup>
20~29	2471	512	20.7
30~39	4135	1340	32.4
40~49	4153	1570	37.8
50~59	3201	1210	37.8
60~69	2217	783	35.3
70~79	708	205	29.0
>80	167	54	32.3
合计	17,052	5674	33.3

注: <sup>\*</sup>P < 0.05。**Table 4.** Type I Hp infection of cytotoxin A or vacuolate cytotoxin A, or both, in different age groups**表 4.** 不同年龄组体检人群 I 型 Hp 细胞毒素 A 或/和空泡毒素 A 感染的情况

年龄段(岁)	受检人数(n)	I 型 Hp 感染阳性数	I 型 Hp 感染阳性(%) <sup>*</sup>
20~29	2471	215	8.7
30~39	4135	486	11.7
40~49	4153	513	12.3
50~59	3201	302	9.4
60~69	2217	221	10
70~79	708	58	8.2
>80	167	9	5.4
合计	17,052	1804	10.6

注: <sup>\*</sup>P < 0.05。

感染后若干年, 甚或二三十年后可能诱发胃癌。另外 Hp 还可以诱导上皮细胞释放 IL-8, 诱导炎症反应, 引起宿主细胞损害和持续的炎症反应, 其中细胞毒素(CagA)和空泡毒素(VacA)是主要的致病毒素[9], 是 Hp 感染的毒力标志, 这也是一直以来对幽门螺旋杆菌研究的重点。由于胃镜的检查及粘膜的活检, 是目前诊断胃癌的最可靠的诊断, 有胃肠道疾病的患者近 100% 都会有 Hp 的感染, 但并非感染 Hp 的人都会有症状, 因此早期确诊 Hp 的感染类型与毒性能够帮助医生进行早期的胃癌的筛查, 由于早期胃癌手术后 5 年的生存率可达 90%~95%; 而目前我国胃癌的早期诊断率不足 10%, 要想获得治疗胃癌的最佳治疗时机, 很大程度取决于对胃癌早期筛查的重视程度, 因此, 防治胃癌, 早诊早治是关键; 后续研究, 拟扩大样本, 并遴选 200 例检测具有细胞毒素(CagA)和/或空泡毒素(VacA)阳性的无症状的体检人群, 尿素酶阳性? 通过进一步的沟通及解释, 给予胃镜、胃蛋白酶元(I, II)、胃泌素、粪便隐血、癌胚抗原(CEA)及 Ca199 等检查、随访, 总结分析检测的数据, 为科学有效地开展胃病的防控提供有价值的依据。

目前幽门螺旋杆菌的检测方法主要有侵入性和非侵入性两种, 侵入性检查包括胃镜组织病理; 非侵入性检查包括  $^{14}\text{C}$ -尿素呼气实验、血清 Hp 抗体检测、粪便检查幽门螺旋杆菌抗原及 PCR 技术, 免疫印迹法血清 Hp 抗体检测属于非侵入性检查, 是从分子水平对 Hp 的基因特征和表型特性进行检测, 具有简单、快速、准确和价廉等优点, 适用于临床辅助诊断及健康人群感染 Hp 的流行病学调查。另有研究表明, 确诊 Hp 感染的消化性溃疡的患者接受根除 Hp 的治疗, 治疗后出现了 CagA 和 VagA 抗体转阴早于其他抗体的特征性变化, 并且, 根除 Hp 后可以促进正常的肠上皮化生, 愈合溃疡; 由此可以判断, 治疗前后抗体谱的变化可以作为疗效和预后评估的依据[10], 因此, Hp 分型能为临床开展“选择性根治 Hp”提供重要的实验诊断依据, 有利于胃癌、消化性溃疡的预防并合理节约医疗资源, 避免滥用抗生素及 HP 对抗生素耐药持续上升。当前我国正处在“医改”的关键时期, 面临各种慢性病人数量剧增和人口老龄化的严峻挑战[11]; 同时, 随着人们生活水平和防病意识的提高, 在健康管理及健康促进的过程中, 如何做到能有效切断 Hp 的传播途径, 及时、正确地进行 Hp 的检测和治疗, 减少和预防各种胃肠道疾病的发生, 科学合理地指导人们的健康生活方式是摆在我们面前的主要问题, 改“以疾病为中心”为“以防病为中心”, 建立以“治未病与健康管理”为契机的新的医疗模式推进我国的医改工作, 实现以人为本、和谐发展的目标。

## 参考文献 (References)

- [1] Murakami, K., Kodama, M. and Fujioka, T. (2006) Latest Insight into the Effects of Helicobacter pylori Infection on Gastric Carcinogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, **12**, 2713-2720.
- [2] 张忠夫, 戴玉柱, 金美彤, 等. 幽门螺杆菌粪便抗原和血清抗体胶体金试验联合检测在体检人群的应用价值[J]. 现代检验医学杂志, 2009, 24(4): 54-56.
- [3] Warren, J.R. and Mashall, B. (1983) Unidentified Curved Bacilli on Gastric Epithelium in Active Chronic Gastritis. *The Lancet*, **2**, 1273-1275.
- [4] 武子涛, 崔新娟, 姜涛, 等. 健康体检人群幽门螺旋杆菌抗体检测 1501 例分析[J]. 人民军医, 2010, 61(9): 701.
- [5] 孙艳艳, 王雅杰, 康熙雄. 蛋白芯片技术检测幽门螺杆菌感染的临床价值[J]. 中华医院感染杂志, 2006, 16(12): 1347-1349.
- [6] 胡伏莲, 周殿元, 主编. 幽门螺旋杆菌感染的基础与临床[M]. 第 3 版. 北京: 中国科学技术出版社, 2009: 367.
- [7] 刘栋, 翟笑枫. 幽门螺旋杆菌与肝癌相关性的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2011, 19(05): 1011-1013.
- [8] De Freitas, D., Urbano, M., Goulao, M.H., et al. (2004) The Effect of *Helicobacter pylori* Infection on Apoptosis and Cell Proliferation in Gastric Epithelium. *Hepato-Gastroenterology*, **51**, 876-882.
- [9] 吴水河, 刘家双, 张阳德, 等. 幽门螺杆菌 CagA, VagA 抗体与胃十二指肠疾病的相关性研究[J]. 中国内镜杂志, 2003, 9(3): 11-13.

- [10] 伍建业, 马淑珍, 施嫣红, 等. 免疫印迹法测定血清幽门螺旋杆菌抗体及其临床意义[J]. 同济大学学报(医学版), 2005, 26(4): 60-62.
- [11] 郭清. 以健康管理促慢性病防控 探索中国特色医改新模式[J]. 健康研究, 2012, 32(3): 161-164.

**期刊投稿者将享受如下服务:**

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [acm@hanspub.org](mailto:acm@hanspub.org)