

幽门螺杆菌感染对葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠慢性结肠炎的保护作用

李 璟, 王蔚虹, 张鸿晨, 戴 芸, 刘 芸
北京大学第一医院 消化内科, 北京 100034

摘要: 目的 探讨幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 感染对葡聚糖硫酸钠 (dextran sodium sulphate, DSS) 诱导的小鼠慢性结肠炎的影响, 并初步探讨其机制。方法 建立 *H. pylori* 感染的 C57BL/6J 小鼠模型, 以 2% DSS 诱导慢性结肠炎。小鼠随机分为空白组、*H. pylori*(HP) 组、DSS 组和 HP+DSS 组。观察指标为小鼠结肠炎疾病活动度、结肠长度及组织病理学评分。免疫组化染色检测结肠黏膜层 CD3⁺ T 淋巴细胞浸润量, 流式细胞学检测结肠固有层 Th17 和 Treg 细胞亚群变化。**结果** 空白组和 HP 组小鼠结肠黏膜层 CD3⁺ T 淋巴细胞浸润量分别为 (10.83 ± 3.97)/HPF vs (30.67 ± 7.37)/HPF ($P < 0.01$)。与 DSS 组相比, HP+DSS 组小鼠疾病活动度指数降低 ($P < 0.05$), 结肠长度缩短减少 [(6.84 ± 0.64) cm vs (8.14 ± 0.42) cm, $P < 0.01$], 组织病理学评分下降 (9.50 ± 1.38 vs 6.83 ± 1.72, $P < 0.05$), CD3⁺ T 细胞数量减少 [(205.17 ± 32.28)/HPF vs (125.17 ± 15.66)/HPF, $P < 0.01$]。与 DSS 组比较, HP+DSS 组慢性结肠炎小鼠结肠固有层 Th17 细胞降低 (4.56% ± 0.34% vs 2.09% ± 0.35%, $P < 0.05$), Treg 细胞增加 (2.01% ± 0.30% vs 6.46% ± 0.33%, $P < 0.05$)。**结论** *H. pylori* 感染对 DSS 诱导的小鼠慢性结肠炎具有保护作用, 这种保护作用可能通过调节肠道 Th17 及 Treg 细胞免疫发挥作用。

关键词: 幽门螺杆菌; 慢性结肠炎; 细胞免疫

中图分类号: R 574.62 文献标志码: A 文章编号: 2095-5227(2017)07-0662-07 DOI: 10.3969/j.issn.2095-5227.2017.07.017
网络出版时间: 2017-04-27 10:56 网络出版地址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20170427.1056.008.html

Effect of *Helicobacter pylori* infection on dextran sulfate sulphate induced chronic colitis in mice

LI Jing, WANG Weihong, ZHANG Hongchen, DAI Yun, LIU Yun

Department of Gastroenterology, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China

Corresponding author: WANG Weihong. Email: wangweihong@medmail.com.cn

Abstract: Objective To investigate the effect of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection on dextran sulfate sulphate (DSS)-induced chronic colitis in mice, and explore its potential mechanism. **Methods** Chronic colitis was induced by three 5-day cycles of 2% DSS in C57BL/6J mice infected with *H. pylori*. Forty mice were randomly divided into 4 groups: normal control group, *H. pylori* infection group (HP group), DSS induced colitis group (DSS group), and DSS induced colitis with *H. pylori* infection group (HP+DSS group). The disease activity index (DAI), colon length and histopathologic scores of colitis in DSS group and HP+DSS group were evaluated. The degree of infiltration of CD3⁺ T lymphocytes was evaluated by immunohistochemical staining, and Th17 and Treg subsets in lamina propria were detected by flow cytometry. **Results** The amounts of CD3⁺ T lymphocyte infiltration in colon of control group and HP group were (10.83 ± 3.97)/HPF vs (30.67 ± 7.37)/HPF, respectively ($P < 0.01$). Compared with the DSS group, DAI ($P < 0.05$), shortening of colon length [(6.84 ± 0.64) cm vs (8.14 ± 0.42) cm, $P < 0.01$], histopathologic score [(9.50 ± 1.38) vs (6.83 ± 1.72), $P < 0.05$] and infiltration of CD3⁺ T cells in colon [(205.17 ± 32.28)/HPF vs (125.17 ± 15.66)/HPF, $P < 0.01$] decreased more significantly in HP+DSS group. *H. pylori* infection decreased Th17 subsets in lamina propria of HP+DSS group [(4.56% ± 0.34)% vs (2.09% ± 0.35)%], while it increased Treg subsets [(2.01% ± 0.30)% vs (6.46% ± 0.33)%], $P < 0.05$ as compared with DSS group. **Conclusion** *H. pylori* infection has a protective effect on DSS-induced chronic colitis in mice. The immune response mediated by Th17 and Treg in colon may be involved in the process.

Keywords: *Helicobacter pylori*; chronic colitis; cellular immunity

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 是定植于胃黏膜的最常见病原体, 与多种胃部疾病 (包括慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌和胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤) 的发病密切相关^[1]。近年大量研究提示, *H. pylori* 感染还可能与某些非胃部疾病的发生有关, 如胃食管反流病^[2]、哮喘、过敏性疾

病^[3]、炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 等。*H. pylori* 影响非胃部疾病的机制可能与其介导的免疫调节紊乱有关^[4]。IBD 多被认为是由于遗传易感个体对肠道菌群的抗原出现过度免疫反应所致。遗传学研究表明, 宿主-微生物的相互作用和由肠道菌群组成的天然免疫识别在 IBD 的发生发展中起重要作用。流行病学研究和 Meta 分析提示, *H. pylori* 感染可能对 IBD 有保护作用^[5-7]。然而, 由于临床研究中存在的混杂因素, 使得这一结果存在争议^[8]。既往研究表明, 胃内 *H. pylori* 感染可

收稿日期: 2017-02-20

作者简介: 李璟, 女, 在读博士。研究方向: 幽门螺杆菌相关疾病。
Email: lijing01_2007@126.com

通信作者: 王蔚虹, 女, 博士, 主任医师, 教授。Email: wangweihong@medmail.com.cn

上调胃黏膜 Treg 细胞介导的免疫反应, 导致机体 Th1/Th17 介导的免疫反应发生变化^[9-10]。然而, 胃内 *H. pylori* 感染对结肠局部细胞免疫的影响在 IBD 的发生发展中的作用尚不明确。本研究建立葡聚糖硫酸钠 (dextran sodium sulphate, DSS) 诱导的小鼠慢性结肠炎模型, 观察 *H. pylori* 感染对小鼠慢性结肠炎的影响, 探讨 *H. pylori* 感染对结肠黏膜局部免疫的影响。

材料和方法

1 实验动物 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 40 只, 5 周龄, 体质量 17 ~ 19 g。饲养于北京大学第一医院动物实验中心 SPF 级实验室。实验室条件符合国家 (GB14925-2001) 标准。本研究经北京大学第一医院实验动物福利伦理委员会审查通过, 伦理编号 J201632。

2 主要试剂和材料 *H. pylori* 菌株采用细胞毒素相关基因 A 阳性 (CagA⁺) 和空泡毒素 A 基因阳性 (VacA⁺) 的悉尼菌株 (SS1)。葡聚糖硫酸钠 (分子量 36 000 ~ 50 000) 购自美国 MP Biomedicals 公司。

3 小鼠模型建立 40 只小鼠分为 4 组, 分别为空白组 (n=8)、*H. pylori* 感染组 (HP 组, n=8)、单纯 DSS 结肠炎组 (DSS 组, n=12) 和 *H. pylori* 感染联合 DSS 结肠炎组 (HP+DSS 组, n=12)。适应性喂养 1 周后, HP 组和 HP+DSS 组给予含 1×10^9 CFU/ml *H. pylori* SS1 的布氏肉汤灌胃, 每次 0.3 ml, 隔日 1 次, 共 5 次。空白组和 DSS 组使用相同剂量不含 *H. pylori* 的布氏肉汤灌胃。灌胃结束后 1 周, 给予 DSS 组和 HP+DSS 组小鼠饮用 2% DSS 溶液 5 d, 饮用蒸馏水 7 d, 如此 3 个循环, 建立慢性结肠炎模型^[11]。空白组和 HP 组自由引用蒸馏水。所有小鼠于造模第 45 天处死。

4 标本的采集与处理 小鼠处死后解剖分离全胃及全结肠。全胃切开并清除内容物, 留取标本行快速尿素酶试验及组织病理学检测。分离全结肠, 自肛门至盲肠测量长度后, 纵行切开并清除肠内容物, 留取标本行流式细胞学检查及组织病理学检测。

5 *H. pylori* 定植及胃炎组织学评分 采用快速尿素酶试验及免疫组化法确认 *H. pylori* 定植。免疫组化采用 SP 法: 兔源抗 *H. pylori* (Abcam) 一抗浓度为 1 : 100。尿素酶试验和免疫组化染色均为阳性确认 *H. pylori* 感染。胃炎病理评分采用悉尼系统评分标准 (评分范围 0 ~ 15 分)^[12]。

6 结肠炎症程度评分 从小鼠体质量变化、疾病活动度评分 (disease activity index, DAI)、结肠长度及组织病理学评分 4 个方面评估模型小鼠慢性结肠炎程度。DAI 评分: 每天评估小鼠体质量 (0 ~ 4 分)、粪便性状 (0 ~ 4 分) 和血便 (0 ~ 4 分) 情况, 3 个指标之和即为 DAI (0 ~ 12 分)。结肠炎组织病理学评分: 按 Dieleman 等^[13] 评分方法, 根据炎症程度 (0 ~ 3 分)、病变深度 (0 ~ 3 分)、隐窝破坏度 (0 ~ 4 分) 和病变范围 (0 ~ 4 分) 对结肠病变进行评估, 所有指标之和即为组织病理学评分 (评分范围 0 ~ 14 分)。

7 免疫组化染色检测结肠 CD3⁺ T 淋巴细胞 结肠免疫组化染色兔源抗 CD3 (Abcam) 一抗浓度为 1 : 400, 山羊抗兔 (中杉金桥) 二抗浓度 1 : 300。以细胞核染成棕黄色为阳性细胞。每张切片随机选取 10 个高倍镜 (400 ×) 视野, 计数阳性细胞数 (每高倍镜视野细胞数)。

8 结肠固有层淋巴细胞 (lamina propria lymphocytes, LPL) 分离及流式细胞学检测 结肠组织切割后加入含有 5 mmol/L EDTA 和 1 mmol/L DTT 的预消化液, 37℃ 孵育 20 min。PBS 洗净后, 加入含有 0.5 mg/ml 胶原酶 IV、0.5 mg/ml DNA 酶 I 和 3 mg/ml 中性蛋白酶 II 的 RPMI 1640 消化液, 37℃ 孵育 20 min。70 μm 的细胞滤网收集细胞悬液。回收残余组织重复两次。40%/100% Percoll 细胞分离液梯度离心 (670 g, 30 min) 分离固有层淋巴细胞。LPL 重悬后台盼蓝染色计数。调整 LPL 浓度至 1×10^6 /ml。胞内染色: LPL 与细胞刺激剂 (含 RPMI 1640、10% 胎牛血清、1 μ/ml 离子霉素、50 ng/ml PMA) 置于细胞孵育箱中 37℃ 共孵育 4 h, 然后加入抗小鼠 FITC CD3、PE CD4 混合抗体染色, 避光孵育 25 min, PBS 洗涤, 加入胞内染色细胞膜固定液和细胞膜破膜液, 后加入 APC IL-17 抗体胞内染色。核内染色: LPL 加入抗小鼠 APC-cy7 CD3、PE CD4、FITC CD25 混合抗体, 避光孵育 25 min, PBS 洗涤, 加入核内染色核膜固定液和核膜破膜液, 后加入 APC Foxp3 抗体核内染色 (均购自 ebioscience)。上述细胞固定, 流式细胞仪 (BD Influx) 分选, FlowJo 7.6.1 软件进行数据分析。

9 统计学分析 应用 SPSS22.0 软件分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较使用 *t* 检验或 ANOVA 分析, 事后比较使用 LSD 法。非正态分布资料使用 Kruskal-Wallis 检验或 Mann-Whitney U 检验。相关性分析使用 Spearman 等级相关分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结果

1 H.pylori 定植及胃炎病理学 HP 组和 HP+DSS 组所有小鼠快速尿素酶试验及 H.pylori 免疫组化染色均阳性。H.pylori 定植导致胃黏膜上皮及固有层中性粒细胞及淋巴细胞浸润，未见到萎缩、肠化、异型增生等病理改变。HP 组和 HP+DSS 组小鼠胃炎病理评分分别为 2.17 ± 0.41 和 2.12 ± 0.64 ($P > 0.05$)。空白组和 DSS 组所有小鼠快速尿素酶试验及 H.pylori 免疫组化染色均阴性，胃黏膜未见明显病理组织学变化。

2 H.pylori 感染对小鼠一般状况的影响 空白组和 HP 组小鼠体质量变化无统计学差异 ($P > 0.05$)。DSS 组和 HP+DSS 组小鼠于造模第 3 天开始排便不成形，第 4 天出现体质量下降、稀水样便，至造模第 1 周期结束时，两组均有 83.3%(10/12) 的小鼠出现肉眼血便。两组小鼠体质量均于第 8 天降至最低，DSS 组体质量较 HP+DSS 组体质量下降更明显 ($P < 0.05$, 图 1)。每次给药循环后，小鼠上述症状均有所加重，循环间期各指标有所恢复。与 HP+DSS 组相比，DSS 组小鼠体质量下降、DAI 评分增高更明显 ($P < 0.05$, 图 1)。第 9 天及第 10 天

DSS 组小鼠分别死亡 2 只、1 只，造模期间空白组、HP 组和 HP+DSS 组小鼠均无死亡。

3 H.pylori 感染对小鼠结肠大体形态的影响 空白组、HP 组小鼠结肠长度分别为 (11.08 ± 0.80) cm 和 (11.16 ± 0.66) cm ($P > 0.05$)。DSS 和 HP+DSS 组小鼠结肠长度明显缩短，分别为 (6.84 ± 0.64) cm 和 (8.14 ± 0.42) cm ($P < 0.001$)。与 DSS 组相比，HP+DSS 组小鼠结肠缩短程度明显减少 ($P < 0.01$)，见图 2。

4 H.pylori 感染对小鼠结肠组织病理学的影响 HE 染色空白组和 HP 组小鼠结肠黏膜层及黏膜下层均有少量淋巴细胞浸润。免疫组化染色显示，与空白组相比，HP 组小鼠结肠黏膜层 CD3⁺T 细胞增多 [$(10.83 \pm 3.97)/HPF$ vs $(30.67 \pm 7.37)/HPF$, $P < 0.01$, 图 3]。与空白组相比，DSS 组小鼠结肠呈轻-中度炎症，结肠上皮损伤，杯状细胞减少，隐窝结构紊乱、减少，黏膜层和黏膜下层较多淋巴细胞浸润，可见淋巴滤泡形成 (图 4)。HP+DSS 组同样存在结肠炎症。DSS 组和 HP+DSS 组结肠炎病理学评分分别为 9.50 ± 1.38 和 6.83 ± 1.72 ($P < 0.05$, 图 4)。DSS 组、HP+DSS 组小鼠结肠黏膜层 CD3⁺T 细胞浸润数量分别为 $(205.17 \pm 32.28)/HPF$ 和

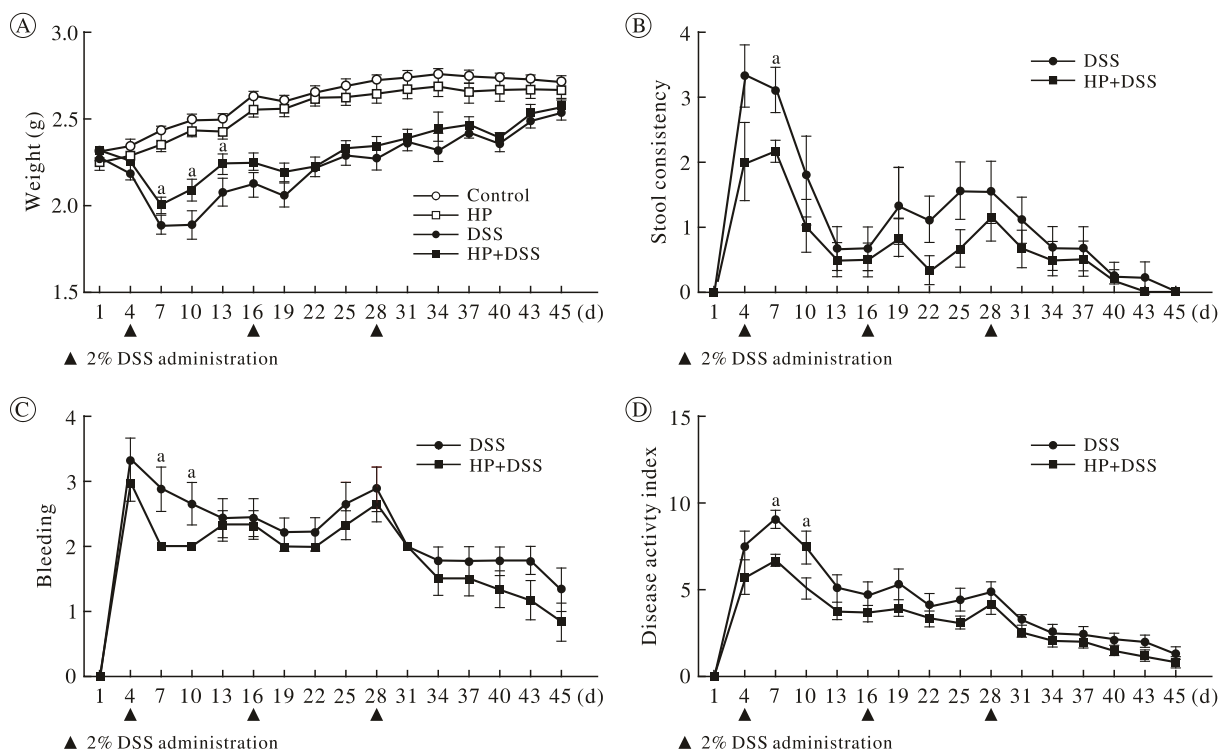


图 1 H.pylori 感染缓解 DSS 诱导小鼠慢性结肠炎疾病活动度

Fig.1 H.pylori-infection attenuated the disease activity of DSS-induced colitis

C57BL/6J mice were either received orogastric administration of live SS1 strain or Brucella Broth for 5 times, and then they were subjected to three 5-day cycles of 2% DSS. Mice were sacrificed on day 45. (A) weight of each four groups, (B) stool consistency, (C) bleeding, and (D) DAI in DSS group and HP+DSS group ($P < 0.05$, DSS group vs HP+DSS group)

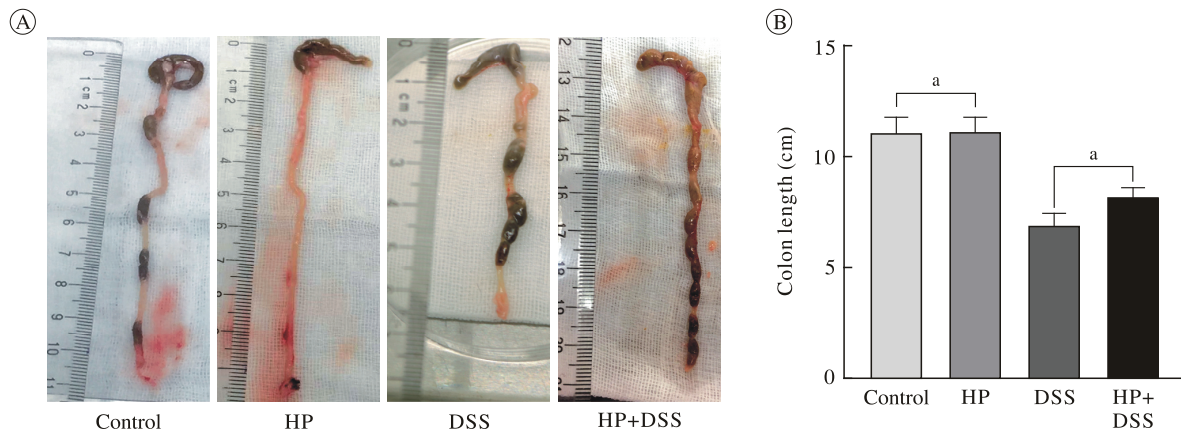


图 2 *H.pylori* 感染减轻 DSS 诱导小鼠慢性结肠炎结肠缩短

Fig.2 *H.pylori* infection reduced the shortening of colon length in DSS-induced chronic colitis ($P < 0.01$)

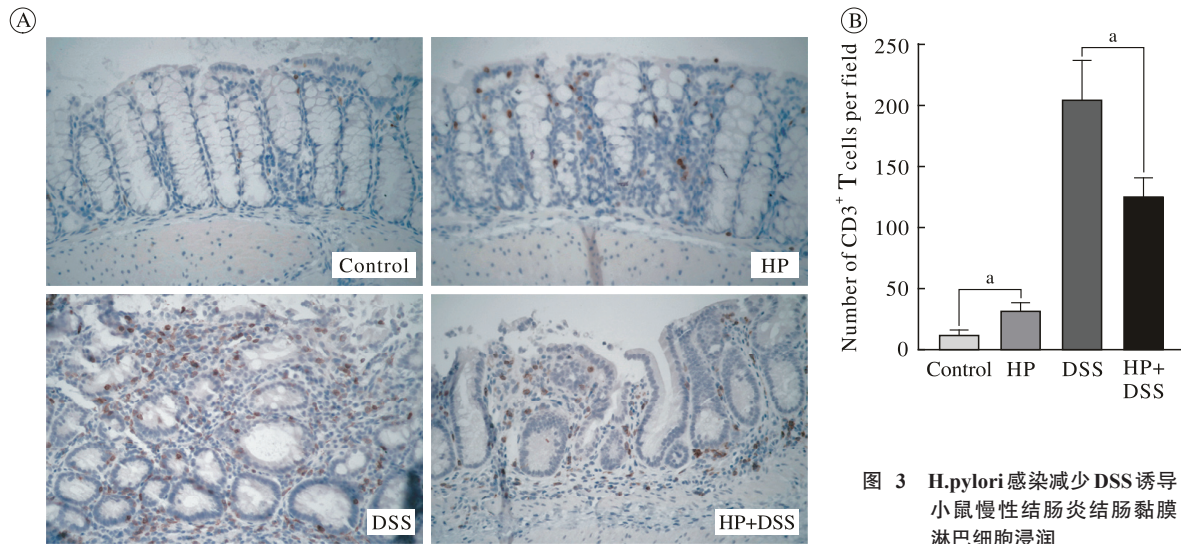


图 3 *H.pylori* 感染减少 DSS 诱导小鼠慢性结肠炎结肠黏膜淋巴细胞浸润

Fig.3 *H.pylori* infection reduced lymphocytes infiltration in DSS-induced colitis

A: colonic tissues were stained for CD3 by immunohistochemistry to visualize CD3⁺ T lymphocytes in situ (400× magnification). More CD3⁺ T lymphocytes were found in HP group than in control. Compared with DSS group, the number of CD3⁺ T lymphocytes was less in HP+DSS group; B: the numbers of CD3⁺ T lymphocytes in each group ($P < 0.01$)

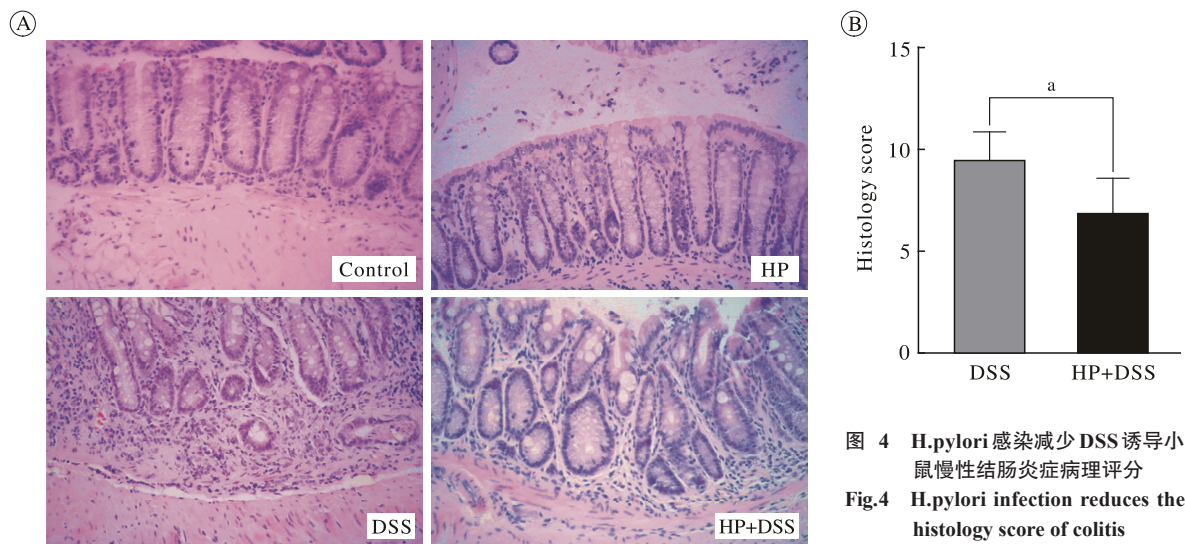


图 4 *H.pylori* 感染减少 DSS 诱导小鼠慢性结肠炎病理评分

Fig.4 *H.pylori* infection reduces the histology score of colitis

A: Colon biopsies were taken and stained with HE (400× magnification). There were a large amount of inflammatory cells infiltrated, and crypt disappeared in DSS and HP+DSS groups; B: Histology scores of colitis in DSS group and HP+DSS group ($P < 0.05$)

(125.17 ± 15.66)/HPF ($P < 0.01$, 图 3), 提示 *H.pylori* 感染减轻 DSS 诱导的小鼠慢性结肠炎严重程度。进一步行相关性分析未发现 HP+DSS 组小鼠胃内炎症与结肠炎严重程度有相关性 ($r=0.645$, $P > 0.05$)。5 *H.pylori* 感染影响结肠 LPL 亚群构成 流式细胞学检测结果显示, DSS 组与 HP+DSS 组小鼠结肠固有层 Th17($CD3^+CD4^+IL17^+$) 细胞占 $CD3^+$ T 细胞的比例分别为 $4.56\% \pm 0.34\%$ 和 $2.09\% \pm 0.35\%$ ($P < 0.05$), Treg ($CD3^+CD4^+CD25^+FOXP3^+$) 细胞占 $CD3^+CD4^+$ T 细胞的比例分别为 $2.01\% \pm 0.30\%$ 和 $6.46\% \pm 0.33\%$ ($P < 0.05$) (图 5), 提示 *H.pylori* 感染降低结肠炎小鼠结肠固有层 Th17 细胞亚群, 同时 Treg 细胞亚群增加。

讨论

本研究在成年小鼠动物模型上证实, 胃内 *H.pylori* 感染降低 DSS 诱导的小鼠慢性结肠炎肠道炎症程度, 并伴随结肠固有层 Th17 降低及 Treg 增加, 提示 *H.pylori* 感染对慢性结肠炎具有一定的保护作用, 这种保护作用可能是通过改变肠道黏膜的局部免疫实现的。该结果与既往动物研究报道一致^[14-16]。

Engler 等^[14] 选择 1 周龄小鼠, 在 *H.pylori* 感染后诱导慢性结肠炎模型, 发现哺乳期感染 *H.pylori* 对小鼠慢性结肠炎具有保护作用。由于成年小鼠和哺乳期小鼠的免疫状态明显不同, 哺乳期感染 *H.pylori* 更趋于诱导免疫耐受。Arnold 等^[17] 曾报道哺乳期小鼠感染 *H.pylori* 减少肺及支气管局部嗜酸性粒细胞、Th2 及 Th17 细胞浸润, 对哮喘具有保护作用, 但在成年小鼠缺少该作用。本研究选择成年小鼠感染 *H.pylori*, 发现在免疫系统建立后感染 *H.pylori*, 仍能对慢性结肠炎产生保护作用。近期的研究发现, *H.pylori* DNA^[16]、*H.pylori* 提取物^[14]、重组 *H.pylori* 过氧化氢酶 (rHPCAT)^[18] 等细菌相关成分也可通过不同的免疫或信号途径下调结肠炎症。流行病学研究提示, *CagA*⁺ 菌株感染可能与自身免疫性疾病发病及溃疡性结肠炎疾病活动度评分下降有关, 故本研究以 *CagA*⁺ 的 SS1 菌株建立动物模型, 探讨胃内 *H.pylori* 定植对慢性结肠炎的保护作用及机制。

经抗原刺激后, $CD4^+$ T 细胞可分化成 Th1、Th2、Th17 和 Treg 等不同亚群。其中, Th17 主要分泌 IL-17, 在炎症反应的发生中起关键作用。而

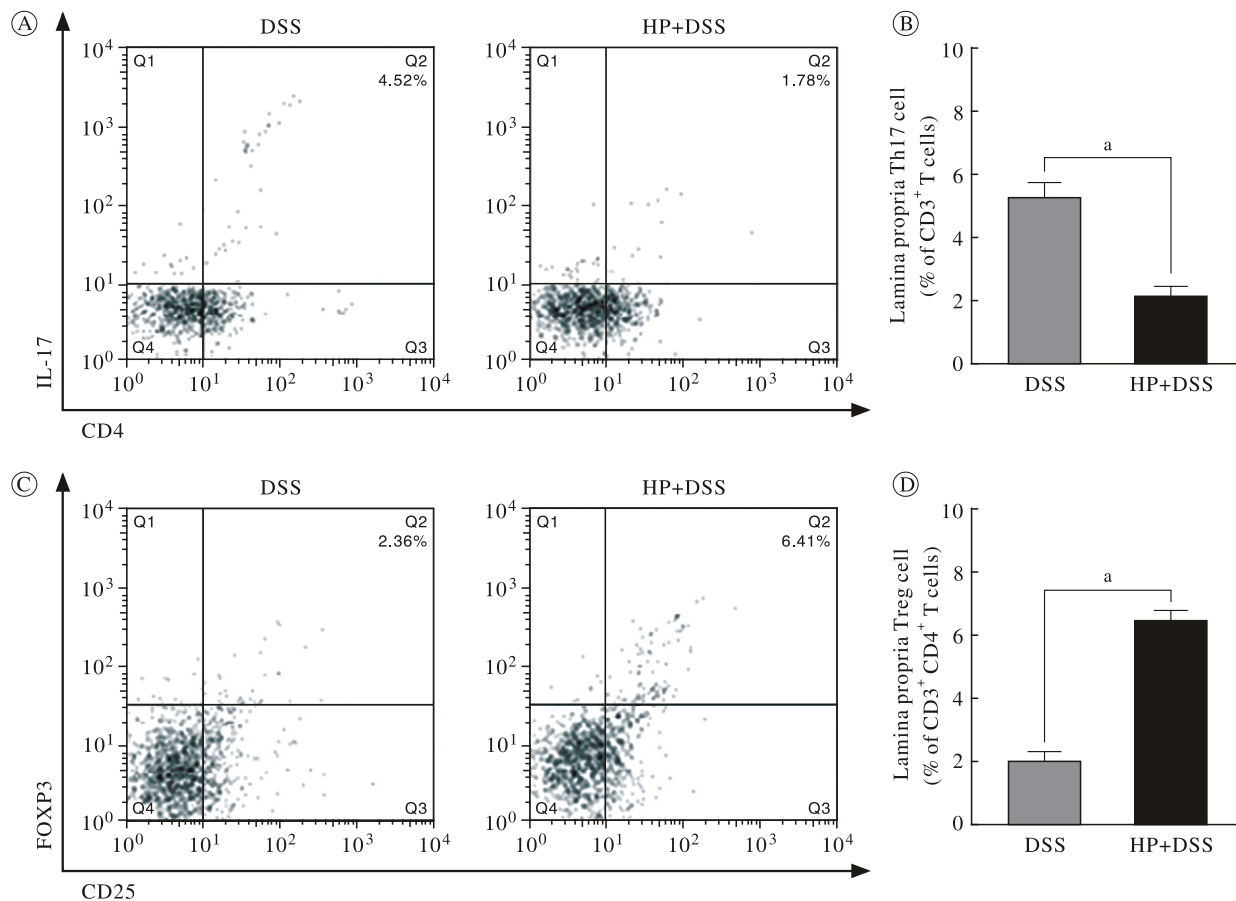


图 5 *H.pylori* 感染使 DSS 诱导小鼠慢性结肠炎结肠固有层 Th17 细胞减少, Treg 细胞增加

Fig.5 *H.pylori* infection decreased Th17 subset, and increased Treg in lamina propria of colon mucosa A and B: the proportion of $CD3^+CD4^+IL17^+$ Th17 in $CD3^+$ T lymphocytes; C and D: the proportion of $CD3^+CD4^+CD25^+FOXP3^+$ Treg in $CD3^+CD4^+$ T lymphocytes ($P < 0.05$)

Treg 通过抗原特异性及非特异性方式分泌 IL-10、转化生长因子 β (TGF β) 等抑制性细胞因子^[19], 执行免疫抑制效应。对于成年小鼠而言, H.pylori 感染在胃黏膜中引起以 Th1/Th17 反应为主的免疫反应, 同时激活 Treg 细胞的生成, 诱导免疫耐受, 维持 H.pylori 持续性定植^[20]。而 H.pylori 感染后的这种免疫反应并不限于胃黏膜局部。研究发现, H.pylori 感染后脾、肺组织 Th17 细胞和 Treg 细胞也发生改变^[21]。本研究发现, 单纯 H.pylori 感染后, 小鼠结肠 T 淋巴细胞增多, 与 Higgins 等^[15] 及 Heimesaat 等^[22] 研究结果一致, 提示胃 H.pylori 感染可引起结肠 T 淋巴细胞聚集, 影响结肠局部免疫, 进而在结肠炎的发生发展中起作用。

既往研究表明, Th1/Th2 亚群的调节失衡是 IBD 发生发展的重要因素^[23]。而 Th17 和 Treg 细胞免疫失衡参与 IBD 发病。动物研究表明, 给予 IL-33 可减少并抑制结肠固有层 Th17 细胞, 对小鼠慢性结肠炎起保护作用。在 IBD 患者和动物模型中均发现外周血和结肠黏膜 Th17 表达增加, Treg 表达下降^[24], 且 Treg 下降程度与疾病严重程度相关^[25], 提示结肠局部 Th17 和 Treg 细胞的改变影响结肠炎的发生发展。

临床研究及动物实验提示, H.pylori 感染对慢性结肠炎具有保护作用, 但其机制尚不清楚。给予 H.pylori DNA 灌胃可下调 DSS 模型小鼠 I 型干扰素含量, 提示 H.pylori DNA 对 DSS 诱导的慢性结肠炎的保护机制可能是通过调节树突细胞的功能, 抑制促炎性细胞因子的产生。同样, H.pylori 感染可减轻鼠伤寒沙门菌诱导的小鼠慢性结肠炎, 其机制与诱导树突细胞免疫耐受, 抑制 Th17 介导的免疫反应, 使结肠和肠系膜淋巴结中 IL-17 下降、IL-10 增多有关^[15]。另一研究发现, H.pylori 感染对结肠炎的保护作用可能是由于 mucin2 基因转录激活所致, 并在基因敲除的动物模型中证实 mucin2 基因的激活依赖 NLRP3-caspase-1-IL-18-MyD88 信号通路^[14]。尽管 IL-18 可以促使原始 T 细胞向 Treg 细胞转化, 但其对结肠炎的保护作用是否由 Treg 细胞引起尚不明确。本研究发现 H.pylori 感染后, 结肠局部固有层淋巴细胞增加, 进一步的流式细胞学分析显示, 伴随 Th17 细胞的减少, Treg 细胞增加, 提示 H.pylori 感染可影响结肠局部细胞免疫, 维持自身免疫耐受状态, 从而发挥其对结肠炎的保护作用。本研究暂未发现 H.pylori 感染对慢性结肠炎的这种保护作用与其诱导的胃内炎症的

严重程度具有相关性, 提示 H.pylori 感染在胃内及非胃部器官所引起的免疫反应可能存在一定差异。

综上所述, 本研究结果表明, H.pylori 感染可减轻 DSS 诱导的小鼠慢性结肠炎, 提示 H.pylori 感染对慢性结肠炎具有保护作用, 这种保护性作用可能与 H.pylori 感染导致的结肠固有层 Th17 细胞减少及 Treg 细胞增加有关, 而 H.pylori 感染后结肠局部的免疫调控机制还有待深入研究。

参考文献

- 1 Kuipers EJ, Uytterlinde AM, Peña AS, et al. Long-term sequelae of Helicobacter pylori gastritis [J]. Lancet, 1995, 345 (8964): 1525-1528.
- 2 Kandulski A, Malferteiner P. Helicobacter pylori and gastroesophageal reflux disease [J]. Curr Opin Gastroenterol, 2014, 30 (4): 402-407.
- 3 Blaser MJ, Chen Y, Reibman J. Does Helicobacter pylori protect against asthma and allergy? [J]. Gut, 2008, 57 (5): 561-567.
- 4 Robinson K. Helicobacter pylori-Mediated Protection against Extra-Gastric Immune and Inflammatory Disorders: The Evidence and Controversies [J]. Diseases, 2015, 3 (2): 34-55.
- 5 Xiang Z, Chen YP, Ye YF, et al. Helicobacter pylori and Crohn's disease: a retrospective single-center study from China [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19 (28): 4576-4581.
- 6 Luther J, Dave M, Higgins PDR, et al. Association between Helicobacter pylori infection and inflammatory bowel disease [J]. Inflamm Bowel Dis, 2010, 16 (6): 1077-1084.
- 7 Wu XW, Ji HZ, Yang MF, et al. Helicobacter pylori infection and inflammatory bowel disease in Asians: a meta-analysis [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21 (15): 4750-4756.
- 8 Varas-Lorenzo MJ, Munoz-Agel F. Is Helicobacter pylori active infection increased or decreased in Crohn's disease? [J]. Rev Esp Enferm Dig, 2010, 102 (8): 509-510.
- 9 Gebert B, Fischer W, Haas R. The Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin: from cellular vacuolation to immunosuppressive activities [J]. Rev Physiol Biochem Pharmacol, 2004, 152: 205-220.
- 10 Rad R, Brenner L, Bauer S, et al. CD25+Foxp3+ T cells regulate gastric inflammation and Helicobacter pylori colonization in vivo [J]. Gastroenterology, 2006, 131 (2): 525-537.
- 11 Dupaul-Chicoine J, Yeretsian G, Doiron K, et al. Control of intestinal homeostasis, colitis, and colitis-associated colorectal cancer by the inflammatory caspases [J]. Immunity, 2010, 32 (3): 367-378.
- 12 Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, et al. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994 [J]. Am J Surg Pathol, 1996, 20 (10): 1161-1181.
- 13 Dieleman LA, Palmén MJ, Akol H, et al. Chronic experimental colitis induced by dextran sulphate sodium (DSS) is characterized by Th1 and Th2 cytokines [J]. Clin Exp Immunol, 1998, 114 (3): 385-391.
- 14 Engler DB, Leonardi I, Hartung ML, et al. Helicobacter pylori-specific protection against inflammatory bowel disease requires the NLRP3 inflammasome and IL-18 [J]. Inflamm Bowel Dis, 2015, 21 (4): 854-861.
- 15 Higgins PD, Johnson LA, Luther J, et al. Prior Helicobacter pylori infection ameliorates Salmonella typhimurium-induced colitis: mucosal crosstalk between stomach and distal intestine [J]. Inflamm Bowel Dis, 2011, 17 (6): 1398-1408.

(上接667页)

- 16 Luther J, Owyang SY, Takeuchi T, et al. Helicobacter pylori DNA decreases pro-inflammatory cytokine production by dendritic cells and attenuates dextran sodium sulphate-induced colitis [J]. Gut, 2011, 60 (11): 1479-1486.
- 17 Arnold IC, Dehzad N, Reuter S, et al. Helicobacter pylori infection prevents allergic asthma in mouse models through the induction of regulatory T cells [J]. J Clin Invest, 2011, 121 (8): 3088-3093.
- 18 武金宝, 王继德, 张亚历. 重组幽门螺杆菌过氧化氢酶对实验性结肠炎大鼠肠黏膜的保护作用 [D]. 广州: 第一军医大学, 2004.
- 19 Ai TL, Solomon BD, Hsieh CS. T-cell selection and intestinal homeostasis [J]. Immunol Rev, 2014, 259 (1): 60-74.
- 20 Arnold IC, Hitzler I, Muller A. The immunomodulatory properties of Helicobacter pylori confer protection against allergic and chronic inflammatory disorders [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2012, 2 : 10.
- 21 Kienesberger S, Cox LM, Livanos A, et al. Gastric Helicobacter pylori Infection Affects Local and Distant Microbial Populations and Host Responses [J]. Cell Rep, 2016, 14 (6): 1395-1407.
- 22 Heimesaat MM, Fischer A, Plickert R, et al. Helicobacter pylori induced gastric immunopathology is associated with distinct microbiota changes in the large intestines of long-term infected Mongolian gerbils [J]. PLoS ONE, 2014, 9 (6): e100362.
- 23 Kanai T, Kawamura T, Dohi T, et al. TH1/TH2-mediated colitis induced by adoptive transfer of CD4+CD45RBhigh T lymphocytes into nude mice [J]. Inflamm Bowel Dis, 2006, 12 (2): 89-99.
- 24 Eastaff-Leung N, Mabarrack N, Barbour A, et al. Foxp3+ regulatory T cells, Th17 effector cells, and cytokine environment in inflammatory bowel disease [J]. J Clin Immunol, 2010, 30 (1): 80-89.
- 25 Takahashi M, Nakamura K, Honda K, et al. An inverse correlation of human peripheral blood regulatory T cell frequency with the disease activity of ulcerative colitis [J]. Dig Dis Sci, 2006, 51 (4): 677-686.