

益气活血清热化湿方对消化性溃疡患者 幽门螺杆菌根除率的影响

戴高中 范先靖 田秋实 朱世楷 赵克学 沈旦蕾

摘要 目的 观察益气活血清热化湿方对幽门螺杆菌(*Hp*)阳性的消化性溃疡患者溃疡愈合及 *Hp* 根除率的影响,探讨在根除过程中 *Hp* 可能出现的球形变异。**方法** 采用随机数字表法将 80 例 *Hp* 阳性的消化性溃疡患者分为对照组及治疗组,每组 40 例。两组均给予西药标准三联疗法,疗程 2 周,在此基础上对照组继续服奥美拉唑镁肠溶片 20 mg,每日 1 次,服用 4 周。治疗组同时联合中药益气活血清热化湿方治疗,每日 2 次,总疗程均为 6 周。停药 2 周后复查胃镜观察并记录溃疡的愈合情况,统计治疗后内镜下溃疡愈合的有效率;行¹⁴C 呼气试验(urea breathe test, UBT);胃体、胃窦各取 1 块组织行快速尿素酶试验(rapid urease test, RUT);胃镜抽取胃液,胃窦部位钳取活组织标本行 *Hp* 尿素酶基因 PCR 扩增试验(urea A-PCR)。记录并评估上述 3 种不同检测方法的 *Hp* 阳性情况,确定最终的根除率。使用电子显微镜观察治疗后的胃黏膜组织,以发现未被根除的 *Hp*,对其形态进行观察。**结果** 治疗组内镜疗效总有效率为 97.5% (39/40),明显优于对照组的 80.0% (32/40),差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗组 *Hp* 根除率为 75.0% (30/40),亦明显优于对照组 52.5% (21/40),差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗后不同检测法得出的 *Hp* 阳性总个数分别为¹⁴C UBT(12 个)、RUT(8 个)、urea A-PCR(27 个),¹⁴C UBT 及 RUT *Hp* 阳性检出率均低于 urea A-PCR 法($P < 0.05$)。电子显微镜下可观察到杆状及球状的 *Hp*。**结论** 益气活血清热化湿方联合标准三联法较西药标准三联疗法能更为有效地促进溃疡的愈合,提高 *Hp* 的根除率。

关键词 益气活血;清热化湿;幽门螺杆菌;消化性溃疡;尿素酶基因扩增试验

Effect of Yiqi Huoxue Qingre Huashi Recipe on the Eradication Rate of *Hp* in Peptic Ulcer Patients
DAI Gao-zhong, FAN Xian-jing, TIAN Qiu-shi, ZHU Shi-kai, ZHAO Ke-xue, and SHEN Dan-lei
Department of Gastroenterology, Wuxi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu (214071)

ABSTRACT Objective To observe the effect of Yiqi Huoxue Qingre Huashi Recipe (YHQHR, a recipe capable of supplementing qi, activating blood, clearing heat, and dissipating dampness) on ulcer healing and *Helicobacter pylori* (*Hp*) eradication rate in *Hp* positive peptic ulcer patients, and to explore coccoid *Hp* occurrence in the eradication. **Methods** Totally 80 *Hp* positive peptic ulcer patients were assigned to the treatment group and the control groups by random digit table, 40 in each group. All patients received standard triple therapy of Western medicine for 2 successive weeks. Those in the control group additionally took omeprazole enteric coated tablet, 20 mg each time, once per day for 4 successive weeks. Those in the treatment group additionally took YHQHR, twice per day for 6 successive weeks. The ulcer healing was observed and recorded by gastroscopy after discontinued medication of 14 days. The effective rate of ulcer healing under endoscope was statistically calculated. Rapid urease test (RUT) was performed in one small piece of tissue from corpora ventriculi and sinuses ventriculi using ¹⁴C breathe test (UBT). Gastric juice was collected from the stomach. *Hp* urease gene amplification test (urea A-PCR) was performed in living tissue from gastric antrum. Results obtained from the above three test methods were recorded and assessed to decide the final eradication rate. Gastric mucosa tissue was ob-

基金项目:江苏省科技厅社会发展科技计划指导性项目(No.BS2006506)

作者单位:无锡市中医医院脾胃病科(江苏 214071)

通讯作者:戴高中, Tel:15852810548, E-mail:daigaozhong@126.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2015. 12. 1437

served under electron microscope, attempting to find non-eradicated *Hp*, which was further observed. Results The total curative effect under gastroscopy was 97.5% (39/40 cases) in the treatment group, obviously higher than that in the control group (80.0%, 32/40 cases) ($P < 0.05$). The eradication rate of *Hp* was 75.0% (30/40 cases), obviously better than that of the control group (52.5%, 21/40 cases) ($P < 0.05$). The total positive *Hp* numbers after treatment was ^{14}C UBT (12), RUT (8), and urea A-PCR (27), respectively. The *Hp* positive rate detected by ^{14}C UBT and RUT was lower than the *Hp* positive rate detected by urea A-PCR ($P < 0.05$). Rod-like and coccoid *Hp* bacteria could be observed under electron microscope. Conclusion YHQHR combined standard triple therapy was more effective than standard triple therapy alone in promoting ulcer healing and elevating the eradication rate of *Hp*.

KEYWORDS supplementing qi and activating blood; clearing heat and dissipating dampness; *Helicobacter pylori*; peptic ulcer; urease gene amplification test

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *Hp*)感染是消化性溃疡重要的发病原因和复发因素之一。随着抗生素耐药率的逐年上升,传统三联疗法即质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)联合两种抗生素应用 7 天对 *Hp* 的根除率已低于 80%^[1]。第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告中,一线推荐治疗方案为四联疗法(PPI 加两种抗生素加铋剂,14 天)^[2]。*Hp* 耐药是影响其根除的重要因素之一。临床发现一部分经标准根除方案治疗,停药 4 周后复查 *Hp* 阴性的患者,溃疡短期(6 个月~2 年)复发率仍然很高。除外再次感染和非甾体类消炎药(nonsteroidal antiinflammatory drugs, NSAIDs)的使用等因素,*Hp* 球形变逐渐被发现、认识。根据笔者多年临床实践表明,益气活血清热化湿法有助于消化性溃疡患者 *Hp* 的根除。本研究观察益气活血清热化湿方对消化性溃疡患者溃疡愈合及 *Hp* 根除率的影响,并通过不同的检测方法检测经根除治疗后的 *Hp*,比较并确定最终的根除率。使用电子显微镜观察治疗后的胃黏膜,并观察未被根除的 *Hp* 形态。现报道如下。

资料与方法

1 诊断标准 参照 *Hp* 相关性消化性溃疡的西医诊断标准^[2]:经 1 周内胃镜证实为溃疡活动期(包括胃溃疡及十二指肠球部溃疡),溃疡直径 3~5 mm,同时 *Hp* 阳性者[即快速尿素酶试验(RUT)或 ^{14}C 呼气试验(^{14}C -UBT)其一为阳性者]。中医辨证分型标准参照《消化性溃疡中医诊疗共识意见(2009,深圳)》^[3],气虚血瘀、湿热内蕴证表现为胃脘隐痛、刺痛,倦怠乏力,空腹痛甚、得食痛缓,口干口苦,舌淡紫或舌下络脉迂曲,苔黄腻,脉细滑或细涩者。

2 纳入与排除标准 纳入标准:(1)年龄 18~79 岁;(2)符合 *Hp* 相关性消化性溃疡的诊断标准,中医辨证为气虚血瘀、湿热内蕴证。(3)患者知情同意并签署知情同意书。排除标准:(1)在试验前 30 天内发生并发症进行手术。(2)有特殊原因的胃及十二指肠溃疡,如胃泌素瘤、肝硬化等。(3)合并有心血管、肝、肾和造血系统等严重原发疾病、精神病患者。(4)妊娠和计划妊娠的妇女、哺乳期妇女。(5)过敏体质或多种药物过敏者。(6)酗酒或有其他不宜进行药物试验者。(7)有其他并发症可影响疗效观察或对试验药物禁忌的疾病者。

3 一般资料 80 例均为 2014 年 2 月—2015 年 2 月无锡市中医医院门诊及病房 *Hp* 阳性的消化性溃疡患者,采用随机数字表法分为治疗组及对照组,每组 40 例。治疗组男性 22 例,女性 18 例,年龄 23~67 岁,平均(37.24±14.23)岁,其中胃溃疡 3 例,十二指肠球部溃疡 37 例。对照组男性 25 例,女性 15 例,年龄 25~73 岁,平均(38.12±15.36)岁,其中胃溃疡 5 例,十二指肠球部溃疡 35 例。两组患者年龄、性别、胃溃疡/十二指肠球部溃疡构成比比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经医院伦理委员会批准。

4 治疗方法 两组均采用标准三联疗法即:奥美拉唑镁肠溶片[(20 mg/片,AstraZeneca AB 公司,批号:J20080097),20 mg]+克拉霉素片[(250 mg/片,雅培制药有限公司,批号:H20033044),0.5 g]+阿莫西林胶囊[(250 mg/粒,联邦制药厂有限公司,批号:JX20090126),1.0 g],均每日两次,治疗 2 周。在此基础上,对照组继服奥美拉唑镁肠溶片 20 mg,每日 1 次,服用 4 周。治疗组则同时予益气活血清热除湿方(黄芪 10 g 白术 10 g 党参 10 g 紫丹参 10 g 陈皮 6 g 黄芩 5 g 仙鹤草 15 g 参三七 3 g 白花蛇舌草 15 g,为天江制药颗粒剂)各 1 包,温水冲服,每日 2 次,中药服用疗程为 6 周。

5 观察指标及检测方法

5.1 胃镜下消化性溃疡愈合情况观察 停药 2 周后观察并记录溃疡的愈合情况,胃镜下消化性溃疡疗效判定标准参照《新药(中药)治疗消化性溃疡的临床研究指导原则》的标准^[4],疗程结束后复查胃镜评价疗效:(1)痊愈:溃疡及周围炎症全部消失(S2 期);(2)显效:溃疡消失,仍有炎症(S1 期);(3)有效:溃疡面积缩小≥50%;(4)无效:溃疡面无改变或缩小<50%。总有效率(%)=(痊愈例数+显效例数+有效例数)/总例数×100%。

5.2 Hp 检测 停药 2 周后分别采用¹⁴C UBT、RUT、Hp 尿素酶 A PCR 扩增实验(urea A-PCR)进行Hp 检测。Hp 根除的判定标准如下:治疗后同时满足¹⁴C UBT 阴性、RUT 阴性、urea A-PCR 未检测出尿素酶基因,视作 Hp 根除;若三者之一存在阳性,则视为 Hp 未根除。

5.2.1 ¹⁴C UBT 进行¹⁴C UBT,试剂来源:安徽养和医疗器械设备有限公司,记录结果。

5.2.2 RUT 于胃体、胃窦各取 1 块组织行 RUT,结果两者其一为阳性即判定为阳性,试剂来源:上海惠泰医疗科技公司。

5.2.3 urea A-PCR 通过活检孔道用导管在胃体黏液池抽取胃液 3~5 mL,在距离幽门口 5 cm 内的胃窦部位钳取活组织标本 3~4 块,胃液及组织用于Hp urea A-PCR。具体方法如下:(1)样品处理:①取胃液 1~5 μL,加入 1.5 mL 离心管中,加入纯水 1 mL,剧烈振荡,室温下放置 15 min,10 000~12 000 r/min TE 缓冲液(上海博彩生物科技有限公司)高速离心机离心 2~3 min,弃去上清,收集沉淀。必要时用纯水洗涤 1~2 次,直至无色或色素很少;②将胃黏膜组织放入 1.5 mL 离心管中;将组织于-20℃以下冷冻。处理后的样品中加入 200 μL 悬浮好的 5% Chelex-100 溶液(软组织检材同时加入 10 mg/mL 蛋白酶 K 2~3 μL);在 56℃水浴中温浴 30 min 以上,振荡 5~10 s;100℃温浴 8 min 后,剧烈振荡 5~10 s;120 000 r/min 离心 3 min,以沉淀 Chelex-100 颗粒,上清液可用于 PCR 反应。Hp urea A 引物序列如下:5'-GCCAATGGTAAATTAGTTCC-3',5'-CTCCTTA-

ATTGTTTTTACAT-3'。取 PCR 反应管若干,加入处理后的样品上清液 2 μL,8 000 r/min 离心;设置循环条件:50℃ 8 min,93℃ 2 min,93℃ 45 s→55℃ 1 min→10 个循环;93℃ 30 s→55℃ 45 s→30 个循环;在 55℃ 45 s 收集荧光。

5.3 未根除的Hp 形态观察 将治疗后在胃窦小弯侧钳取 2 块胃黏膜组织在电子显微镜下以 1:20 000 倍观察Hp 的形态。

6 不良反应观察 记录治疗过程出现的不适症状及不良反应。

7 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计学软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料采用 χ^2 检验;不同检测方法的比较采用配对的 χ^2 检验(Kap-pa 一致性检验), $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 两组内镜下溃疡愈合疗效比较(表 1) 治疗组总有效率为 97.5%(39/40),明显高于对照组的 80.0%(32/40),差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 两组内镜下溃疡愈合疗效比较 [例(%)]

组别	例数	痊愈	显效	有效	无效	总有效
治疗	40	24(60.0)	15(37.5)	0(0)	1(2.5)	39(97.5)*
对照	40	18(45.0)	14(35.0)	0(0)	8(20.0)	32(80.0)

注:与对照组比较,* $P<0.05$

2 两组 3 种检测方法Hp 检出阳性率比较(表 2~4) 治疗组 Hp 总根除率为 75.0%(30/40),明显高于对照组 52.5%(21/40),差异有统计学意义($\chi^2=4.381$, $P<0.05$)。

¹⁴C UBT 与 PCR 法 Hp 检出阳性率比较,差异有统计学意义($Kappa=0.47$, $P<0.05$),后者阳性检出率更高。PCR 法 Hp 检出阳性率亦高于 RUT 法($Kappa=0.306$, $P<0.05$)。

3 urea A 基因 PCR 扩增水平(图 1) 条带中白色荧光判定为样品中 Hp urea A 基因(+),如图中 1、4~10 号;未见明显白色荧光则判定为 Hp urea A 基因(-),如图中 37、38 号。

表 2 两组 3 种 Hp 检测方法结果比较

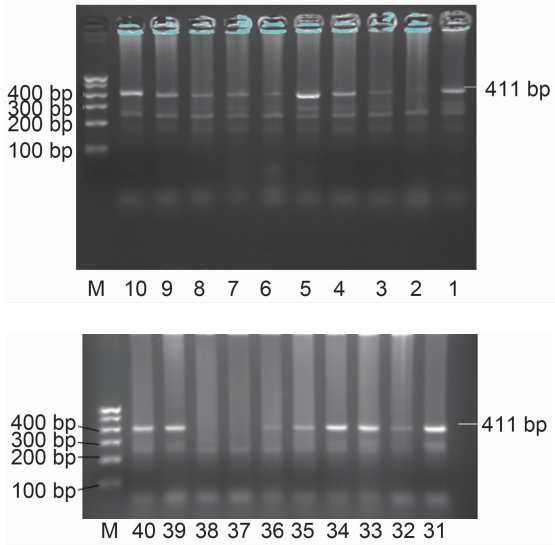
组别	例数	¹⁴ C UBT(例)		RUT(例)		urea A-PCR DNA(例)		检测结果[例(%)]	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
治疗	40	5	35	2	38	8	32	10(25.0)	30(75.0)
对照	40	7	33	6	34	19	21	19(47.5)	21(52.5)
合计		12	68	8	72	27	53	—	—

表 3 ¹⁴C UBT 与 PCR 法检测 *Hp* 阳性结果比较 (例)

		urea A-PCR	
		阳性(+)	阴性(-)
UBT	阳性(+)	11	1
	阴性(-)	15	53

表 4 RUT 与 PCR 法检测 *Hp* 阳性结果比较 (例)

		urea A-PCR	
		阳性(+)	阴性(-)
RUT	阳性(+)	7	1
	阴性(-)	19	53



注:目的基因片段: *Hp* Urea A 基因(GenBank: GQ403154.1); 1~10,31~40 为样品编号

图 1 *Hp* Urea A 基因 PCR 电泳图

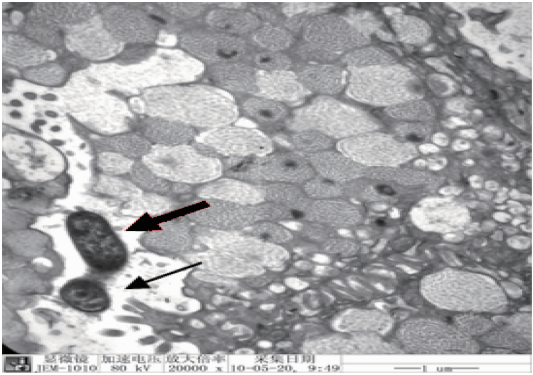
4 电镜下观察球形 *Hp* 形态(图 2) 电子显微镜下发现未被根除的杆状细菌及少量球形菌。

5 不良反应 两组治疗后未见明显不良反应。

讨 论

Hp 感染与消化性溃疡密切相关, *Hp* 的根除是治疗关键,根除失败会导致溃疡的复发。*Hp* 常规的检测手段包括 RUT 及 ¹⁴C/¹³C UBT。两种检测方法均基于 *Hp* 能合成尿素酶、分解尿素产生氨的原理,间接反映 *Hp* 的存在。RUT 的敏感性可达 97% 以上,特异性为 91%^[5]。UBT 的敏感性和特异性均超过 98%^[6]。UBT 不受 *Hp* 的灶性分布和局灶取材的影响。

除以上常规检测手段,利用 *Hp* DNA 片段扩增试验,其敏感性为 93%,特异性达 100%^[7],适合微少量 *Hp*。其他方法难以检测或正服用 PPI、抗生素的检测。其敏感性高并极少受到基因污染(假阳性低),可视为



注:粗箭头所示为杆状 *Hp*,细箭头所示球状 *Hp*

图 2 电镜下观察到的球形 *Hp* 形态 (×20 000)

Hp 检测的“金标准”。但限于操作复杂、效益一成本的考量,目前只用于科研。

临床存在大量经根除治疗后复测 *Hp* 阴性的患者,溃疡反复发作。分析原因可能包括再次感染或 *Hp* 的假性根除。本研究结果显示,治疗后 urea A-PCR 的细菌阳性检出率明显高于 UBT 及 RUT,提示 *Hp* 的假阴性根除真实存在。临床普遍采用 UBT 及 RUT 方法,可能存在测量偏倚。

研究报道, *Hp* 在不利的外部环境,如营养缺乏、有氧胁迫、亚致死量抗生素、pH 值改变等条件下,菌体的形态由杆状转变成球状,相关毒力蛋白表达和致病性发生改变。在此过程中,细菌的基因组保持相对稳定。环境恢复到其适宜生长状态,菌体恢复为原有状态即螺旋杆状,侵袭力和致病性也随之恢复。球形变时,尿素酶基因表达下降及尿素酶的活性下降,是造成 RUT、UBT 阴性结果的主要因素^[8]。Monstein HJ 等^[9]采用 PCR 技术检测球形 *Hp* 基因中总 RNA 和多种基因 mRNA 的表达,发现其相对含量有不同程度的下降,尿素酶的活性下降与其基因的表达量下降有关。本研究结果提示 *Hp* 在根除过程中可能发生了球形改变,从而导致尿素酶的合成和活性下降。

由于细胞个数稀少,球形菌最佳的观测方式是体外大量培养后再观测。Saito N 等^[10]通过细胞培养、免疫染色、电子显微镜观察到杆状和球状的 *Hp*。本研究通过电子显微镜观测根除治疗后的胃黏膜组织,发现未被根除的杆状菌,同时掺杂少量球形 *Hp*。

消化性溃疡的复发与 *Hp* 再次感染、根除失败密切相关。相关研究表明,中医脾胃湿热发病与 *Hp* 感染存在着较为密切的关系^[11]。有学者将 *Hp* 归属于中医的六淫之一的“湿热”邪气,认为脾胃湿热有利于 *Hp* 的侵入、定居、繁殖。湿性缠绵会导致溃疡的反复发作与经久不愈,故清除湿热治疗对 *Hp* 感染相当重

要。*Hp* 相当于中医的“邪”、“毒”，*Hp* 经西药根除治疗后，其“热”之性已减，但脾胃正气已虚，表现为“炉烟虽熄灭，但灰中有火”的状态。或患者本身脾胃气虚，虽经西药抗 *Hp* 治疗，但由于机体抵抗力降低，无法驱邪或驱邪不尽，使 *Hp* 球形变，表现为正虚邪恋。当正不胜邪时，导致球形 *Hp* 返祖变成杆状，“死灰复燃”而致胃肠病复发。因此认为脾胃虚弱是 *Hp* 不易清除和耐药的病理基础，此即李东垣所说“百病皆由脾胃衰而生也”。在此基础上形成的气滞、血瘀、郁热、湿阻等病理变化为 *Hp* 附着、繁殖、致病提供了客观条件，终究至气虚血瘀、湿热内蕴的证候。

针对气虚血瘀、湿热内蕴的病理基础，中医治疗应益气活血、清热除湿，不仅对 *Hp* 有直接杀菌和抑菌作用，而且还能通过调整机体全身和胃黏膜的局部的屏障功能，达到辅助抑杀并改变 *Hp* 定植的微环境目的，使之不利于 *Hp* 的定居和繁殖。

在抗生素广泛耐药的背景下，中药联合西药对根除 *Hp* 有一定的优势。结合临床经验，制定益气活血清热化湿方。方中黄芪为君，健脾益气，升阳举陷，托毒生肌；白术、党参为臣，增强补脾益气之功；丹参活血行滞，参三七祛瘀生新，止血定痛；黄芩、仙鹤草、白花蛇舌草清热解毒、泻火燥湿；陈皮健脾行气。诸药合用共奏益气、活血、清热除湿之功。本研究结果显示，该方能显著提高溃疡的愈合率，增加 *Hp* 的根除率。其具体机制需要进一步的研究。

限于技术手段的不足，本研究未能观测到大量球形细菌，针对球形菌的生物学特性和致病力，有待进一步基础与临床研究。呼气试验作为 *Hp* 根除后可行性较高的复查方法，仍具有局限性，需在临床工作中重视。中药在抗 *Hp* 细菌耐药、球形变方面作用有待深入研究。

参 考 文 献

- [1] Buzás GM. First-line eradication of *Helicobacter pylori*: are the standard triple therapies obsolete? A different perspective [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(31): 3865–3870.
- [2] 刘文忠, 谢勇, 成虹, 等. 第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告[J]. 中华内科杂志, 2012, 51(10): 832–837.
- [3] 中华中医药学会脾胃病分会. 消化性溃疡中医诊疗共识意见(2009, 深圳)[J]. 中医杂志, 2010, 51(10): 941–944.
- [4] 中华人民共和国卫生部药政局. 新药(中药)治疗消化性溃疡的临床研究指导原则[J]. 中国医学学报, 1989, 4(4): 72–73.
- [5] 孙为豪, 胡家华, 曹大中, 等. 幽门螺杆菌根除治疗前后快速尿素酶试验诊断的准确性[J]. 中华消化内镜杂志, 2003, 20(2): 104–106.
- [6] 董玲, 孙剑勇, 王吉耀. 幽门螺杆菌感染不同检测方法的评价[J]. 中华消化杂志, 2004, 24(4): 235–236.
- [7] 李晓波, 刘文忠. 幽门螺杆菌常用诊断方法的评价[J]. 中华消化杂志, 2002, 22(11): 691–693.
- [8] 叶兵, 王均. 球形幽门螺杆菌的研究进展[J]. 医学动物防制, 2007, 23(5): 398–400.
- [9] Monstein HJ, Jonasson J. Differential virulence-gene mRNA expression in coccoid form of *Helicobacter pylori* [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 285(2): 530–536.
- [10] Saito N, Sato F, Kato M, et al. Detection of coccoid *Helicobacter pylori*: light microscopical immunogold silver enhancing stain [J]. Helicobacter, 1998, 3(3): 170–173.
- [11] 吕冠华. 幽门螺杆菌感染与脾胃湿热的关系探析[J]. 辽宁中医杂志, 2014, 31(1): 16–17.

(收稿:2015-05-17 修回:2015-09-18)