

幽门螺杆菌感染对儿童胃黏膜闭锁小带蛋白表达的影响

于敬红^{1*}, 曲政海², 于淑凤², 陈云庆², 田飞², 冷雪霏², 王彩霞^{2#}

¹青岛大学医学部, 山东 青岛

²青岛大学附属医院, 山东 青岛

收稿日期: 2022年1月23日; 录用日期: 2022年2月14日; 发布日期: 2022年2月24日

摘要

目的: 探讨幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)血清抗体分型、¹³C尿素呼气试验(¹³Curea breath test, ¹³C-UBT)超基准值(delta over baseline, DOB)及儿童胃黏膜闭锁小带蛋白-1(zonula occludens-1, ZO-1)之间的相互关系。方法: 选取2018年02月~2020年11月因“恶心、呕吐、腹痛、黑便、面色苍黄”等症状就诊于青岛大学附属医院并确诊为Hp感染的77例患儿作为研究对象。采用SP免疫组织化学半定量法检测胃黏膜组织ZO-1蛋白含量; 利用蛋白质芯片法检测Hp血清抗体阳性表达情况, 并将Hp感染分为三型; 行¹³C-UBT得到患儿DOB值, 并根据DOB值大小将77例Hp感染患儿分为3组。分析Hp血清抗体分型、不同DOB值及ZO-1蛋白之间的相互关系。结果: 1) I型ZO-1蛋白的阳性表达率为15.217%, 中间型ZO-1蛋白的阳性表达率为20.000%, II型ZO-1蛋白的阳性表达率为56.250%, ZO-1蛋白表达在不同血清型Hp感染组中表达存在差异, I型 < 中间型 < II型, 差异有统计学意义($\chi^2 = 9.740$, $P < 0.01$); 2) I型中DOB不同分组所占的比例为1组23.913%、2组32.609%、3组43.478%, II型中DOB不同分组所占的比例为1组18.750%、2组62.500%、3组18.750%, 中间型中DOB不同分组所占的比例为1组46.667%、2组33.333%、3组20.000%, 差异无统计学意义($\chi^2 = 7.914$, $P > 0.05$); 3) DOB值1组ZO-1蛋白的阳性表达率为23.810%, 2组ZO-1蛋白的阳性表达率为33.333%, 3组ZO-1蛋白的阳性表达率为15.385%, 差异无统计学意义($\chi^2 = 2.364$, $P > 0.05$)。结论: 不同Hp血清抗体分型中ZO-1蛋白表达水平不同, Hp抗体分型与黏膜损伤程度相关, 可用于评估感染Hp后黏膜损伤程度, 但DOB值与黏膜损伤程度无关。

关键词

幽门螺杆菌, 菌株, 儿童, 闭锁小带蛋白-1

Effects of *Helicobacter pylori* Infection on the Expression of Zonula Occludens in Gastric Mucosa in Children

*第一作者。

#通讯作者 Email: 48830069@qq.com

文章引用: 于敬红, 曲政海, 于淑凤, 陈云庆, 田飞, 冷雪霏, 王彩霞. 幽门螺杆菌感染对儿童胃黏膜闭锁小带蛋白表达的影响[J]. 临床医学进展, 2022, 12(2): 1400-1406. DOI: 10.12677/acm.2022.122203

Jinghong Yu^{1*}, Zhenghai Qu², Shufeng Yu², Yunqing Chen², Fei Tian², Xuefei Leng²,
Caixia Wang^{2#}

¹Medical College, Qingdao University, Qingdao Shandong

²The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

Received: Jan. 23rd, 2022; accepted: Feb. 14th, 2022; published: Feb. 24th, 2022

Abstract

Objective: To investigate the relationship between serum antibody typing of *Helicobacter pylori* (Hp), ¹³C urea breath test (¹³C-UBT) reference value (delta over baseline, DOB) and zonula occludens-1 (ZO-1) of gastric mucosa in children. **Methods:** Seventy-seven children diagnosed with Hp infection in the Affiliated Hospital of Qingdao University from February 2018 to November 2020 due to nausea, vomiting, abdominal pain, melena, pale complexion and other symptoms were selected as the study subjects. The protein content of Zo-1 in gastric mucosa was detected by SP immunohistochemistry semi-quantitative method; the positive expression of Hp serum antibody was detected by protein chip method, and Hp infection was divided into three types. DOB value was obtained by ¹³C-UBT, and 77 children with Hp infection were divided into 3 groups according to DOB value. The relationship between Hp serum antibody types, DOB values and ZO-1 protein was analyzed. **Results:** 1) The positive expression rate of type I ZO-1 protein was 15.217%, that of intermediate ZO-1 protein was 20.000%, and that of type II ZO-1 protein was 56.250%. There were differences in the expression of ZO-1 protein in different serum types of Hp infection groups, with type I < intermediate < type II, and the difference was statistically significant ($\chi^2 = 9.740$, $P < 0.01$); 2) The proportion of DOB in different groups of type I was 23.913% in group 1, 32.609% in group 2 and 43.478% in group 3. The proportions of different DOB groups in type II were 18.750% in group 1, 62.500% in group 2 and 18.750% in group 3. The proportions of different DOB groups in intermediate type were 46.667% in group 1, 33.333% in group 2 and 20.000% in group 3, showing no statistical significance ($\chi^2 = 7.914$, $P > 0.05$); 3) The positive expression rate of ZO-1 protein in group 1, group 2 and group 3 was 23.810%, 33.333% and 15.385%, respectively, with no statistical significance ($\chi^2 = 2.364$, $P > 0.05$). **Conclusions:** The expression level of ZO-1 protein was different in different Hp serum antibody types, and Hp antibody type was correlated with the degree of mucosal damage, which could be used to evaluate the degree of mucosal damage after infection with Hp, but DOB value was not related to the degree of mucosal damage.

Keywords

Helicobacter pylori, The Strain, Children, Zonula Occludens-1

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

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



Open Access

1. 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)感染与人类多种胃肠道疾病相关,目前 Hp 被证实为 I 类致癌因子,胃炎、消化性溃疡、胃癌及胃黏膜相关淋巴瘤都与其相关,且多由儿童期感染所致[1]。周永宁等[2]

研究发现, 2017 年国内儿童及青少年 Hp 感染率在 8%~72%之间, 这明显高于发达国家。儿童感染 Hp 后临床表现不典型, 且多数检测方法在儿童中难以广泛实施, 致使感染持续存在, 不能被早期诊断, 延误诊治。因此, 积极寻找适合儿童的 Hp 检测方法提高确诊率和寻找理想指标来准确评估 Hp 感染后对胃黏膜的损伤尤为重要。本研究通过分析不同 Hp 血清抗体分型、¹³C 尿素呼气试验(¹³Curea breath test, ¹³C-UBT)超基准值(delta over baseline, DOB)及闭锁小带蛋白 1 (zonula occludens-1, ZO-1)表达量之间的关系, 寻找适合诊断儿童 Hp 感染的检查方法及评估病情严重程度的指标, 从而指导临床医生对儿童感染 Hp 严重程度做出正确的诊断, 减少有创操作, 提高患儿治疗依从性。

2. 资料与方法

2.1. 一般资料

选取 2018 年 02 月~2020 年 11 月因“恶心、呕吐、腹痛、黑便、面色苍黄”就诊于青岛大学附属医院并确诊为 Hp 感染的 77 例患儿作为研究对象。纳入标准: 1) 初次诊断 Hp 感染, 未予药物治疗; 2) 既往感染 Hp, 现已停用抗生素 4 周, 停用质子泵抑制剂和 H₂受体阻滞剂 2 周。本研究患儿家属知情同意, 并通过医院伦理委员会批准。

Hp 的诊断标准[3]: 符合下述四项之一者可判断为 Hp 现症感染: 1) 细菌培养阳性; 2) 组织病理学检查和快速尿素酶试验(rapid urease test, RUT)均阳性; 3) 若组织病理学检查和 RUT 结果不一致, 需进一步行非侵入性检测, 如尿素呼气试验(urea breath test, UBT)或粪便 Hp 抗原检测(*Helicobacter pylori* stool antigen, HpSA, or stool antigen test, SAT); 4) 消化性溃疡出血时, 病理组织学或 RUT 中任一项阳性。

2.2. 方法

2.2.1. 标本采集

1) 组织病理: 患儿行胃镜检查时在胃窦部(距幽门 3~5 cm)取 2 块胃黏膜组织, 分别用于免疫组织化学染色及病理分析。

2) 血清抗体: 患儿入院后抽取静脉血做 Hp 抗体分型检测。根据血清中 Hp 细胞毒素相关基因 A 蛋白(cytotoxin associated gene A protein, CagA)和空泡细胞毒素抗原(vacuolated cytotoxin antigen, VacA)两种毒力基因的表达情况, 将 Hp 分为 I 型、II 型和中间型三种不同菌株[4]: I 型为 VacA 和 CagA 两种毒力因子均表达, II 型为 VacA 和 CagA 两种毒力因子均不表达, 中间型为两种毒力因子只表达一种。

3) ¹³C-UBT 气体: 患儿检测当日空腹, 正常呼吸, 向气袋内吹气后密封气体, 作为 0 min 气体(气_{0 min})。口服 45 mg ¹³C 尿素试剂后开始计时, 等待 30 min, 第 2 次收集气体(气_{30 min}), 期间禁止患儿剧烈活动、禁食、禁水, 将收集好的气体在相应仪器上检测 ¹³CO₂ 含量。根据公式

$$\text{DOB} = \frac{\text{样气 } ^{13}\text{CO}_2 / ^{12}\text{CO}_2 \text{非度比} - \text{底气 } ^{13}\text{CO}_2 / ^{12}\text{CO}_2 \text{非度比}}{\text{PDB标准物质 } ^{13}\text{CO}_2 / ^{12}\text{CO}_2 \text{非度比}} \times 1000\%$$

得出患儿吹出气体中 DOB 值[5]。根据患儿 DOB 值将 77 名 Hp 感染患儿分为 3 组: 1 组 $4 \leq \text{DOB} < 16$, 2 组 $16 \leq \text{DOB} \leq 35$, 3 组 $\text{DOB} > 35$ [PDB 指拟箭石化石(pee dee belemnite, PDB), 是国际通用的碳同位素标准物质, 其 ¹³C/¹²C 值为 0.0112369]。

2.2.2. 免疫组织化学

1) 标本处理及制备: 将胃黏膜标本固定、脱水用石蜡包埋, 然后切片(3~4 μm)。石蜡切片脱蜡至水, 反复洗涤, 加入牛奶液体封闭 5 min。滴加适当稀释的 ZO-1 (Abcam 公司, 滴度均为 1:1000) 37℃孵育 2

小时, PBS 洗 2 分钟 × 3 次, 加入荧光标记的二抗(Abcam 公司), 37℃ 孵育 20 分钟, PBS 洗涤, DAB 显色, 封片, 光学显微镜下观察。以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

2) 结果判断: 染色结果综合染色强度及阳性细胞数两方面进行半定量分析。在排除非特异性染色及边缘效应的前提下, 进行光镜下分析, 以黄色、棕黄色、棕褐色为阳性表达。参照 shimizu [6]的方法, 将染色强度判定为: 无着色(0 分); 淡黄色(1 分); 棕黄色(2 分); 棕褐色(3 分)。阳性细胞数判定: 按组织切片中阳性细胞比例评分, 每例随机观察 5 个视野, 每个视野 100 个细胞, 计数 500 个细胞中染色阳性细胞数: 阳性细胞比例 < 5% 为 0 分, 5%~25% 为 1 分, 25%~50% 为 2 分, 50%~75% 为 3 分, ≥ 76% 为 4 分。总分为阳性细胞比例评分与阳性细胞染色强度评分之积: ≤ 6 分为阴性表达, ≥ 7 分为阳性表达。

2.3. 统计学方法

应用 SPSS23.0 统计学软件, 数据以 $x \pm s$ 表示, 计数资料的比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. Hp 感染患儿一般情况

根据胃黏膜病理 ZO-1 蛋白检测情况, 将 77 例 Hp 感染患儿分为 ZO-1 阳性表达(+) 19 例(男 6 例, 女 13 例, 平均年龄为 9.3 ± 1.5 岁), ZO-1 阴性表达(-) 58 例(男 25 例, 女 33 例, 平均年龄为 10.5 ± 2.9 岁)。

根据患儿血清 CagA 和 VacA IgG 表达情况, 将 77 例患儿分为 I 型菌株感染 46 例(男 30 例, 女 16 例, 平均年龄为 8.1 ± 1.2 岁), 中间型菌株感染 15 例(男 3 例, 女 12 例, 平均年龄为 7.5 ± 2.8 岁), II 型菌株感染 16 例(男 6 例, 女 10 例, 平均年龄为 7.8 ± 1.9 岁)。

根据 ^{13}C -UBT DOB 值大小将 77 例患儿分为 3 组: 1 组($4 \leq \text{DOB} < 16$) 21 例, (男 9 例, 女 12 例, 平均年龄为 8.3 ± 2.3 岁), 2 组($16 \leq \text{DOB} \leq 35$) 30 例, (男 9 例, 女 21 例, 平均年龄为 9.2 ± 3.3 岁), 3 组 ($\text{DOB} > 35$) 26 例, (男 19 例, 女 7 例, 平均年龄为 8.9 ± 2.5 岁)。不同菌株间及不同 DOB 值间分组患儿的性别、年龄差异无统计学意义(χ^2 分别为 2.9、1.5; P 值分别为 0.41、0.29)。本研究患儿家属已签署知情同意书。

3.2. Hp 感染患儿血清抗体分型与胃黏膜 ZO-1 蛋白表达之间的关系

77 例 Hp 感染患儿中, I 型 ZO-1 蛋白阳性表达率最低, II 型阳性表达率最高, 不同血清抗体分型之间胃黏膜 ZO-1 蛋白表达差异存在统计学差异, $P < 0.01$ (见表 1)。

Table 1. Comparison of ZO-1 protein expression n (%) in different Hp serum antibody types

表 1. 不同 Hp 血清抗体分型中 ZO-1 蛋白表达量 n (%) 之间的比较

	I 型(%)	II 型(%)	中间型(%)	χ^2	P 值
ZO-1 (+)	7 (15.217)	9 (56.250)	3 (20.000)	9.740	0.006
ZO-1 (-)	39 (84.783)	7 (43.750)	12 (80.000)		

3.3. Hp 感染患儿血清抗体分型与 DOB 值之间的关系

对 77 名 Hp 感染患儿进行 Hp 血清抗体分型与 DOB 值之间关系进行分析发现, 不同 Hp 抗体分型与各组 DOB 值波动无相关性, 差异无统计学差异, $P > 0.05$ (见表 2)。

Table 2. The relationship between DOB value and antibody types of Hp serum
表 2. 不同 Hp 血清抗体分型与 DOB 值之间的关系

	I 型 n (%)	II 型 n (%)	中间型 n (%)	χ^2	P
1 组	11 (23.913)	3 (18.750)	7 (46.667)	7.914	0.080
2 组	15 (32.609)	10 (62.500)	5 (33.333)		
3 组	20 (43.478)	3 (18.750)	3 (20.000)		

3.4. 不同 DOB 值与 ZO-1 蛋白表达之间的关系

利用 ^{13}C -UBT 对 77 例 Hp 感染患儿进行 DOB 值测定, 发现 DOB 值在 Hp 感染患儿中波动明显, 同时与胃黏膜 ZO-1 蛋白表达情况进行分析发现, 不同 DOB 值之间 ZO-1 蛋白表达量无明显差异, $P > 0.05$ (见表 3), 二者之间无统计学差异。

Table 3. Relationship between different DOB values and ZO-1 protein expression
表 3. 不同 DOB 值之间与 ZO-1 蛋白表达的关系

	1 组 n (%)	2 组 n (%)	3 组 n (%)	χ^2	P
ZO-1 (+)	5 (23.810)	10 (33.333)	4 (15.385)	2.364	0.301
ZO-1 (-)	16 (76.190)	20 (66.667)	22 (84.615)		

4. 讨论

儿童时期感染 Hp 后除引起胃肠道疾病表现外, 还会导致贫血、生长发育不足、过敏性紫癜等消化系统以外的疾病[7], 因此在儿童期及时发现并根除 Hp 及其重要。然而, 感染 Hp 后临床表现差异较大, 这与个体差异和感染的 Hp 血清抗体分型相关。根据 Hp 感染患者血清中 VacA 和 CagA 表达情况, 将 Hp 分为 I 型、II 型和中间型。I 型为 VacA 和 CagA 均阳性, 致病力最强, 临床表现明显, 而 VacA 或 CagA 阳性 Hp 致病力则明显降低, 因此一般感染 II 型和中间型 Hp 菌株后临床表现相对不明显。本研究对象为临床表现较明显 Hp 感染患儿, I 型 Hp 感染率达 74%, 与 I 型临床表现明显相符合。VacA 破坏细胞内溶酶体活性、离子通道、使细胞空泡化, 胃黏膜上皮细胞失去活性; CagA 通过 IV 型分泌系统进入胃黏膜上皮细胞后破坏细胞极性, 通过破坏细胞的有丝分裂过程控制细胞的分裂、分化[8]。本研究发现, 不同血清型 Hp 感染对胃黏膜损伤程度存在差异, I 型 Hp 对黏膜损伤程度最大。VacA 和 CagA 协同通过错综复杂的网络系统干扰胃黏膜骨架结构, 导致黏膜上皮细胞屏障功能破坏[9]。因此临床可通过外周血 Hp 抗体分型大致评估胃黏膜损伤程度, 减少 Hp 感染治疗后复查痛苦, 提高儿童患者的治疗依从性。

对于胃黏膜损伤程度的评估, 可以用胃黏膜紧密连接的减少程度来表示。紧密连接是胃黏膜相邻两上皮细胞间构成的物理屏障之一, 它具有选择渗透性, 能选择性吸收营养物质和水分, 将有害物质阻隔在肠腔内而不被吸收[10]。但其长期与外界环境相接触, 不可避免地受外界病原体及其毒素、缺氧、炎症因子等刺激, 结构及功能易受影响, 这与本研究所显示的感染 Hp 后紧密连接被破坏结果相一致。紧密连接是由多种蛋白组成的结构复合体, 这些蛋白包括外周膜蛋白、跨膜蛋白和细胞骨架蛋白[11], ZO-1 蛋白为细胞骨架蛋白之一, 位于胞浆内, 其量的变化常被用来评估紧密连接屏障功能的损伤程度[12], 本研究发现感染不同菌株 Hp 后 ZO-1 蛋白阳性表达的变化存在差异, 感染 I 型菌株的儿童胃黏膜 ZO-1 蛋白阳性表达最低, 即 I 型 Hp 对胃黏膜损伤程度最大。Hp 黏附在胃黏膜上皮细胞表面, 分泌 CagA 和 VacA

直接或间接破坏细胞间紧密连接,致使 ZO-1 蛋白表达下降。ZO-1 蛋白被破坏,上皮细胞间的物理屏障消失,各种离子可随意进出胃黏膜上皮细胞,致使细胞水肿、破裂甚至死亡,形成溃疡或黏膜萎缩。动物试验也证明[13],被 Hp 感染后蒙古沙鼠胃酸及胃黏膜防御因子减少,炎性因子等致病因子暴露于胃黏膜表面增多,紧密连接屏障功能破坏,引起慢性胃炎。但是,检测胃黏膜 ZO-1 蛋白表达情况为有创操作,儿童患者由于受到年龄、耐受性及家属等多种因素限制,难以施行胃镜下取病理检测 ZO-1 蛋白评估胃黏膜损伤情况,而 Hp 血清抗体分型在外周血中即可获得,创伤性小,儿童易接受。且本实验证实了不同血清抗体分型与 ZO-1 蛋白表达存在相关性,因此可以通过 Hp 血清抗体分型评估胃黏膜损伤程度。

本研究确诊 Hp 感染的方法为组织病理学和 UBT 同时阳性或消化性溃疡出血时组织病理学阳性,存在侵入性检查,儿童患者难以接受,因此确诊率较成人低。Hp 在胃内呈簇状分布,组织病理采集存在假阴性风险,进一步增加了 Hp 感染确诊的难度。¹³C-UBT 通过测定胃内尿素酶活性确定胃内 Hp 载量,不受 Hp 分布影响,且为非侵入性检查方法,更易被儿童患者接受,可行性强。一项关于亚洲人群幽门螺杆菌感染检测手段的 meta 分析发现,¹³C-UBT 对诊断 Hp 感染的敏感性为 97%,特异性为 96% [14],被视为一种可靠的检测 Hp 感染手段。与此同时,国外一项关于¹³C-UBT 与内窥镜检查 and SAT 的对比研究发现,¹³C-UBT 比 SAT 具有更高的准确性和敏感性,且相较于内窥镜检查价格便宜,患者更易接受,并且可评估 Hp 治疗后根除情况[15]。但是¹³C-UBT 只可作为 Hp 感染的定性检查,不能做 Hp 载量评估,目前尚无相关研究显示 DOB 值大小与 Hp 菌株载量相关。且本研究显示不同菌株之间 DOB 值及不同 DOB 值与 ZO-1 蛋白阳性表达之间无统计学差异,因此,不能依靠 DOB 值大小判断 Hp 菌株毒力,亦不能用于评估胃黏膜损伤情况。

目前 Hp 感染检测方法分侵入性和非侵入性两种,侵入性准确率高,但相较于非侵入方法而言痛苦大,尤其在儿童患者中施行率低,而非侵入性检查尚不能确诊 Hp 感染。国外研究者利用患者粪便中 Hp 基因检测来诊断 Hp 感染,其准确度达 95% [16],但费用高,目前尚不能广泛应用于临床。本研究结果显示血清 Hp 抗体分型与黏膜 ZO-1 蛋白阳性表达率存在相关性,有望成为评估 Hp 感染后胃黏膜损伤程度的指标。

参考文献

- [1] 贾纯增,陈锐,王玘,蓝宇.¹³C-尿素呼气试验数值与幽门螺杆菌根除率相关性研究[J].临床军医杂志,2021,49(4):403-404+406.
- [2] 李兴川,王海东,张妮,王玉平,周永宁.中国儿童及青少年幽门螺杆菌感染流行病学调查的系统评价和 meta 分析[J].临床儿科杂志,2017,35(10):782-787.
- [3] 中华医学会儿科学分会消化组,《中华儿科杂志》编辑委员会.儿童幽门螺杆菌感染诊治专家共识[J].中华儿科杂志,2015,53(7):496-498.
- [4] Šterbenc, A., Jarc, E., Poljak, M. and Homan, M. (2019) *Helicobacter pylori* Virulence Genes. *World Journal of Gastroenterology*, **25**, 4870-4884. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i33.4870>
- [5] 中华医学会消化病学分会.¹³C 尿素呼气试验质量控制专家建议[J].中华消化内镜杂志,2021,38(3):169-172.
- [6] Shimizu, M., Saitoh, Y. and Itoh, H. (1990) Immunohistochemical Staining of Ha-ras Oncogene Product in Normal, Benign, and Malignant Human Pancreatic Tissues. *Human Pathology*, **20**, 607-612. [https://doi.org/10.1016/S0046-8177\(96\)90006-4](https://doi.org/10.1016/S0046-8177(96)90006-4)
- [7] Pacifico, L., Osborn, J.F., Tromba, V., Romaggioli, S., Bascetta, S. and Chiesa, C. (2014) *Helicobacter pylori* Infection and Extragastrointestinal Disorders in Children: A Critical Update. *World Journal of Gastroenterology*, **20**, 1379-1401. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i6.1379>
- [8] 张双红,谢勇,李弼民,刘东升,万盛华,罗丽娟.等.胃十二指肠疾病儿童幽门螺杆菌 cagA、vacA 和 iceA 基因型分布[J].中国当代儿科杂志,2016,18(7):618-624.
- [9] 周冷潇,张卿,高鹰.幽门螺杆菌抗体分型检测的研究进展[J].中华健康管理学杂志,2019,13(4):354-357.

-
- [10] Buckley, A. and Turner, J.R. (2018) Cell Biology of Tight Junction Barrier Regulation and Mucosal Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, **10**, Article ID: a029314. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a029314>
- [11] Luo, P.-L., Wang, Y.-J., Yang, Y.Y. and Yang, J.J. (2018) Hypoxia-Induced Hyperpermeability of Rat Glomerular Endothelial Cells Involves HIF-2 α Mediated Changes in the Expression of Occludin and ZO-1. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **51**, e6201. <https://doi.org/10.1590/1414-431x20186201>
- [12] 樊叶, 汪志兵, 关月, 韩维维, 姜宗丹, 王劲松, 黄文斌, 张阵玉. 紧密连接蛋白 Occludin 及 ZO-1 在根除幽门螺杆菌慢性胃炎组织中的表达[J]. *胃肠病学与肝病学杂志*, 2017, 26(4): 440-443.
- [13] Sun, Y.-Q., Söderholm, J.D., Petersson, F. and Borch, K. (2004) Long-Standing Gastric Mucosal Barrier Dysfunction in *Helicobacter pylori*-Induced Gastritis in Mongolian Gerbils. *Helicobacter*, **9**, 217-227. <https://doi.org/10.1111/j.1083-4389.2004.00227.x>
- [14] Abd Rahim, M.A., Johani, F.H., Shah, S.A., Hassan, M.R. and Abdul Manaf, M.R. (2019) ¹³C-Urea Breath Test Accuracy for *Helicobacter pylori* Infection in the Asian Population: A Meta-Analysis. *Annals of Global Health*, **85**, 110. <https://doi.org/10.5334/aogh.2570>
- [15] Alzoubi, H., Al-Mnayyis, A., Al rfoa, I., Aqel, A., Abu-Lubad, M., Hamdan, O. and Jaber, K. (2020) The Use of ¹³C-Urea Breath Test for Non-Invasive Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection in Comparison to Endoscopy and Stool Antigen Test. *Diagnostics*, **10**, Article No. 448. <https://doi.org/10.3390/diagnostics10070448>
- [16] Iannone, A., Giorgio, F., Russo, F., Riezzo, G., Girardi, B., Pricci, M., *et al.* (2018) New Fecal Test for Non-Invasive *Helicobacter pylori* Detection: A Diagnostic Accuracy Study. *World Journal of Gastroenterology*, **21**, 3019-3021. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i27.3021>