

· 综述 ·

中国幽门螺杆菌感染研究进展

陈晶晶

【作者简介】 陈晶晶,女,研究员。1931 年生,1953 年毕业于北京医学院(现北京医科大学),在中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所工作。长期以来,主要从事致病性微生物的科学研究与现场防治工作。先后从事布鲁氏菌病与霍乱防治研究。1983 年至今,重点对空肠弯曲菌与幽门螺杆菌进行了科学研究。1991 年获国家科技进步一等奖;1996 年获国家科技进步二等奖;1989 年获卫生部科技进步一等奖;1998 年获卫生部科技进步三等奖;1994 年获北京市科技进步三等奖;1994 年获中国预防医学科学院科技进步三等奖。享受国务院颁发的政府特殊津贴。

19 世纪末,人们发现在胃粘膜中存在一种螺旋形的微生物,以后虽有不少类似的报道,但均未受到应有的重视。直到 1983 年澳大利亚学者 Warren 和 Marshall 报告了从人胃粘膜中分离到幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp; 当时称之为幽门弯曲菌(*Campylobacter pylori*, Cp)),认为该菌与慢性胃炎和消化性溃疡有关。

我国于 1984 年开展 Hp 的研究工作,近 15 年来,通过我国医学工作者的努力,在 Hp 的基础与临床研究方面,均取得了重要的进展,现扼要综述如下。

一、幽门螺杆菌的病原学与遗传变异

1985 年上海第二医科大学张振华在国内首先分离培养了 Hp,并对其生物学性状作了研究。发现该菌与弯曲菌属在一些重要的酶类(尿素酶、DNA 酶、碱

性磷酸酶、亮氨酸胺酶等)、超微结构、菌体蛋白质 SDS-PAGE、菌体脂肪酸组成及耐热抗原等方面存在着本质上的差异。

1987 年中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所陈晶晶等对 300 例各型胃病患者进行了 Hp 检查,阳性率为 65%。用血液双相培养基测定了 Hp 的生长曲线,起始接种浓度为 1.02×10^2 cfu/ml,第 4 天达 2.87×10^5 cfu/ml,以后又开始下降,从 Hp 染色体 DNA 酶切图谱分析,表明 Hp 与空肠弯曲菌用 Bag III、BamH I、Xba I 和 Pst I 酶切,均显示出两菌的不同带型。

有关 Hp 对组织粘附特异性研究,第一军医大学周殿元等(1997)在 Barrett 食道上皮化生区发现 Hp 定植,我们(1996)发现 Hp 菌对胎儿胃粘膜的胃窦和胃体下部有较强的粘附能力。

近年北京医科大学王蔚虹(1997)和中山医科大学陈旻湖(1997)等应用 PCR 扩增技术,所得产物以 2% 琼脂糖凝胶电泳分析(RAPD 分析)鉴定 Hp,可用于区别不同来源的 Hp 菌株。北京医科大学(1997)应用 PCR 单链构象多态技术(PCR-SSCP),南京医科大学(1997)用 *CagA/VacA* 毒素基因测定及上海第二医科大学(1997)应用菌体蛋白电泳和免疫印迹法对该菌进行了分型研究。如采用毒素基因分型, Hp 可分为 *CagA*⁺ *VacA*⁺、*CagA*⁺ *VacA*⁻、*CagA*⁻ *VacA*⁺ 和 *CagA*⁻ *VacA*⁻ 4 种亚型,我们(1996)将 Hp 的 SDS-PAGE 表型分型,综合 112 株的共同条带特征,可将 Hp 分为 I~IV 型,而其中 IV 型又分为 IV1~IV5 五个亚型。我们认为这种分型方法有利于 Hp 的致病性与菌苗的研究。

贾继辉等(1994)发现, Hp 的 L 型与其它细菌的 L 型一样,形态不均一,呈多形性。用 Hind III 酶切分析,显示 Hp-L 型和细菌型的酶谱基本相同,南方医

院(1996)发现 Hp 的变异体在体外可长期传代,而冷冻保存后则难以复苏,用特定的无血培养基可以促进形态复原。由于该球形体有完整的胞壁和鞭毛,故不属于严格意义上的 L 型菌,还可能有一定的致病性。近来国内外学者均发现抗菌治疗后, Hp 常由螺杆菌状变为圆球体,这是 Hp 在不利条件下的一种自我保护形式,可使其对外环境、抗生素抵抗力、对胃酸的耐受性增强。当条件适宜时,又可回复成具有活力的 Hp,这也是慢性胃炎和消化性溃疡迁延不愈和复发的重要因素。

二、Hp 感染与胃部疾病的关系

大量研究资料表明,幽门螺杆菌是慢性活动性胃炎的病原菌,是消化性溃疡的重要致病因子,也是胃粘膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤的重要致病因子。北京医科大学第一附属医院等发现 Hp 与胃部炎性息肉、疣状胃炎等关系密切。

1994 年国际癌症研究机构(IARC)提出“Hp 对人类有致癌作用”的论点,因此, Hp 感染与胃癌的关系引起人们的关注。迄今尚无 Hp 感染与胃癌发生的直接证据,而主要的推论来自流行病学调查,况且各家的观点也不尽一致。(1)江苏省胃癌研究会 Hp 菌组应用前瞻性研究(1990),对分布于全省 7 市的 1 055 例胃粘膜活检标本中 84 例的胃癌进行分析,作者认为 Hp 与胃癌的发生无直接关系, Hp 可能只是胃癌背景病变的一种加剧性因素。(2)北京医科大学雷道年、林三仁等(1990)对山东省牟平胃癌高发区进行了 Hp 感染的研究,发现胃癌高发区无症状成人的 Hp 检出率(73.3%)显著高于北京的消化不良成人(51.7%, $P < 0.01$);但高发区无症状青少年(49.2%)及溃疡病患者的 Hp 检出率(75%)与北京的消化不良青少年(40%)及溃疡病患者(75%)相比差异无显著

本文为我刊庆祝建国 50 周年特邀系列综述第 22 篇

作者单位 102206 北京,中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所腹泻病研究室

性。(3)胃癌高发区江苏扬中县人民医院王理伟等(1990)进行了 Hp 感染与慢性胃病关系的研究,对 179 例胃粘膜活检标本进行分析,结果表明,无论是从地理情况、部位以及年龄分布的特点,还是癌旁组织 Hp 检出情况来看, Hp 感染与胃癌无直接关系,但与慢性活动性胃炎和溃疡病的关系密切。(4)香港大学王振宇等(1994~1997)在福建长乐市对胃癌研究显示,胃窦肠上皮化生比胃体肠上皮化生明显增多,显示在胃癌高发区, Hp 引起的致癌病变比率很高,但 Hp 阴性的致癌病变亦不少,显示 Hp 感染在高发区可能不是唯一重要的致癌原因,其他如食物、生活习惯和烟酒等可能增加人们的胃窦肠上皮化生而引起胃癌。(5)张万岱等(1997)对全国胃癌高、中、低发地区近 200 个家庭的 638 人进行了血清学调查,发现高发区长乐市的 Hp 感染率和血清抗 Hp-IgG 水平明显高于低发区($P<0.05$ 和 $P<0.01$),且 Hp 感染的年龄较早。(6)胡品津等(1997)对胃癌高发区的兰州和低发区的广州进行对比研究,也发现兰州地区 5 岁以下儿童 Hp 感染率较高,达 40%,而广州地区则为 18%~31% ($P<0.01$)。(7)北京朱玉群等(1997)对 73 例胃癌患者,用 Hp 培养及组织学染色、血清学测抗 Hp-IgG,与对照组相比,差异均无显著性。另一种观点则认为 Hp 由不同菌株组成,不同菌株有不同的特性。Hp 的感染率虽高,只有少部分人会患疾病,认为与不同菌型有关。也有人认为有些 Hp 菌株产生细胞空泡毒素(vacuolating cytotoxin),较易引起溃疡病及胃癌。最近,有的实验室研究证实, Hp 感染可引起原癌基因激活,抑癌基因失活,出现癌基因表达异常。也有研究者发现, Hp 感染以后,易发生 C-Ha-ras 基因第 12 位点的突变,并且 ras 基因产物 P21 蛋白呈放大表现,提示 Hp 感染与 ras 基因活化有关。另据报道, Hp 感染可致胃粘膜 C-met 和 P53 基因表达异常。总之, Hp 在胃内定植后,微生物与机体相互作用,产生一系列炎症反应,进而形成对各种细胞的致突变物质,它在胃癌发生发展中可能起重要作用。应该说,胃癌的发生是一个较长期的、复杂的过程,可能是

诸多因素共同作用的结果,其中 Hp 菌感染也许起到重要作用。

三、与 Hp 感染有关的流行病学研究

Hp 感染是一个世界性问题,据报道,世界上超过 $1/3$ 的人口感染该菌。我国 20 岁以上的成年人感染率达 32%~75%。关于 Hp 的确切来源和传播途径至今仍不完全清楚。从 Hp 感染地区的流行病学调查结果显示,粪-口传播的可能性最大。亦有研究者用尿素酶 A 基因和 16S rRNA 为引物,分别在唾液、牙斑、粪便及水源中得到特异性的扩增带,但直接从唾液、牙斑、粪便中分离 Hp 阳性率都很低,从外界环境中分离 Hp 尚未成功。那么, Hp 在外环境中以何种生物形式存在,仍是许多学者关注的问题,因为这对制定防治措施具有十分重要的意义。近年来,国内许多单位开展了 Hp 感染与上消化道疾病关系的流行病学调查。例如,广州第一军医大学杨海涛等(1990)检测血清 Hp IgG 抗体,结果提示, Hp 感染有家庭内聚集现象。调查对象来自农村, Hp 感染率为 49%, 10 岁以下小儿感染率超过 20%。显著高于工业化国家儿童 Hp 的感染率。通过对 20 个家庭调查,证实 Hp 感染在家庭内有聚集现象。 Hp 阳性患者的家庭成员,无论是抗 Hp 的 IgG 抗体阳性率还是平均抗体水平,均显著高于 Hp 阴性家庭,提示密切的生活接触,存在人-人传播的可能性。

北京友谊医院侯安存等(1995)对不同年龄儿童中 Hp 感染情况研究,结果表明, 1~12 岁总阳性率为 15.7%。4 岁以上无症状者阳性率为 11.4%, 较发达国家略高,而其中 1~3 岁小儿感染率较高,推测其可能与家庭内密切接触及某些生活方式有关。 Hp 感染有随年龄增长而增加的总趋势,至 12~13 岁时,其感染率已达 30%。调查还表明,男女两性在 Hp 感染方面没有明显差别($P>0.05$)。在普查的 4~11 岁儿童中,经常发生腹痛者 57 例,其中抗-HPU 阳性者 14 例,占 24.6%,远较无症状者阳性率为高,两者差异有显著性。因此,对出现临床症状的 Hp 感染者,应积极给予治疗。

江西医学院和南京军区总医院等(1997)调查了医务人员 Hp 感染情况。发现消化科,尤其是内镜室工作人员感染率明显高于其他科室。同时还发现 Hp 阳性患者其配偶的感染率也高于阴性者(78.9%与 26.6%)。昆明医学院(1994)研究发现, Hp 感染与吸毒、饮水及居住卫生、经济收入等关系密切。

四、Hp 感染的诊断、治疗及预防

1. 诊断:①细菌培养是诊断 Hp 感染最可靠的方法,也是验证其他诊断试剂的金标准,但需要有一定的实验室条件和技术,常规用 6%~10% 脱纤维羊血布氏琼脂培养,也有应用卵黄和西红柿汁代替动物血液分离 Hp 成功的介绍。扬州医学院附属医院(1990)介绍一种简易培养法,以焦性没食子酸与碳酸钠反应,取得满意结果。②病理切片染色法:有多种染色方法,如 HE 染色、Gram 染色、Warthin-starry 银染色、石碳酸复红染色、吡啶橙或阿的平荧光染色及免疫金 ABC 法等多种组化和免疫组织化学染色等。③用抗 Hp 的特异性抗体进行免疫染色,可提高检查的特异性。白求恩国际和平医院(1990)筛选出 3 株抗人 Hp-McAB 杂交瘤细胞株,用间接免疫荧光法检测 Hp 与细菌培养符合率达 100%,上海第二医科大学与扬州医学院(1990)制备了 Hp 特异性单克隆抗体,第二军医大学长海医院(1990)研制出一种既抗人 IgG 又抗辣根过氧化物酶的双特异抗体,建立了双特异抗体酶免疫染色法。④尿素酶诊断法:有关尿素酶特异性诊断,河南医科大学第二附属医院、上海华山医院(1990)通过测定胃液尿素氮(GUN)水平诊断 Hp 感染,如 $GUN<5\text{ mg\%}$ 则可诊断,但肾功能不全者可出现假阴性。活组织快速尿素酶试验是一种简易、快速、实用的方法,第一军医大学南方医院(1990)研制了 10 min 尿素酶试剂盒,以后在国内有多家公司出售商品化试剂盒,有固体试剂盒及试纸条胃内色素喷洒等诊断方法。⑤血清学诊断法:检测血清中 Hp 抗体,酶联免疫吸附试验(ELISA)敏感性、特异性均较高,上海消化病研究所等单位(1997)用血清抗体检测法与细菌培养、尿素酶试验和组织切片染色检查结

果比较,敏感性为 80%~96%,特异性为 73%~87%。中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所(1992~1995)应用纯化尿素酶抗原试剂盒,进行了临床及流行病学调查验证,敏感性为 96%,特异性为 98%,均取得了满意的结果。南京军区总医院(1997)应用末梢血纸片法,用 ELISA 法检测,取得较好结果。⑥呼气试验:上海第二医科大学新华医院(1990)给受试者口服 ^{15}N -尿素,测定尿氮中 ^{15}N 丰度和 ^{15}N 排出率,若 2 h 内 ^{15}N 排出率 $\geq 3\%$,提示有 Hp 感染,经与细菌培养和镜检细菌法比较,其敏感性为 96%,且无假阳性。北京协和医院江骥等(1996)应用 ^{13}C -尿素呼气试验,对 53 例成人在接受胃镜下活检(快速尿素酶检查、病理学染色和细菌培养)并同时接受 ^{13}C -尿素检查,结果该试验灵敏度为 95.83%,特异性为 93.10%,该法无创伤、无放射性损伤。 ^{14}C 呼气试验(URT)首先由中山医科大学(1996)进行研究,但因剂量偏大(5 μCi),后来深圳南山医院和广州南方医院(1997)用微剂量(0.5 μCi),第三军医大学西南医院(1998)采用 1~2.5 μCi 胶囊微量法,敏感性为 97.08%,特异性为 95.12%,诊断符合率为 96.33%。其优点是减少了患者同位素负荷,消除口腔尿素酶的干扰,减少了污染环境的可能性。但 ^{14}C -UBT 的主要缺点是其含有微量放射性。

2. 治疗 50 年代对消化性溃疡病的治疗原则是制酸解痉、减少胃液分泌,以促进溃疡愈合。70 年代北京医学院郑芝田发现呋喃唑酮可用于治疗溃疡病。80 年代发现 Hp 之后,确认胃炎和消化性溃疡与该菌感染有关。对 Hp 感染总治疗原则是采取抗菌药物的治疗。北京医科大学第一临床医院胡伏莲认为对 Hp 阳性的消化性溃疡,应采取抗分泌药(PPI 或 H_2RA)和抗生素联合治疗,推荐

方案是奥米拉唑加两种抗生素(羟氨苄青霉素、克拉霉素、甲硝唑中的任何两种)的低剂量短程三联疗法。疗程 1~2 周,Hp 根除率可达 85%~98%。对 Hp 阳性的慢性活动性胃炎也可采用含铋三联疗法(胶态铋加甲硝唑、四环素或羟氨苄青霉素),Hp 根治率为 78%~94%,效果稳定,但副作用较强。中华医学会第二届全国幽门螺杆菌专题学术研讨会(1997)纪要中提出:近年来关于 Hp 的根治方案多种多样。上海第二医科大学、协和医科大学、南京医科大学等应用质子泵抑制剂+克拉霉素+甲硝唑或呋喃唑酮或羟氨苄青霉素 1 周疗法,可获得 78.8%~88.2%的根治率,2 周可获得 90.6%~94.1%的根治率。广州第一医院及上海第二医科大学等应用雷尼替丁代替质子泵抑制剂 2 周根治率达 89.0%~100%,若用铋剂替代酸抑制剂三联 2 周疗法根治率为 85.7%~87.5%。北京医科大学发现胃粘膜保护剂替普瑞酮等可增加胃粘膜氨基已糖含量,抑制 Hp 定植。中山医科大学应用 RAPD 电泳分析技术鉴定,Hp 根除 1~2 年后的再感染率分别为 0.55% 及 0.56%。半年内再现者多属复发,半年后再现者多为再感染。南方医院发现铋剂可在体外抑制 Hp 粘附。自广东省人群分离的 Hp 对甲硝唑的耐药率在 10.5%~21.2%之间,低于欧美等国的报道。浙江医科大学发现钙拮抗剂维拉帕米可部分逆转 Hp 对甲硝唑的耐药性。

3. 预防:关于幽门螺杆菌感染的预防,是个复杂的问题。注意公共卫生和个人卫生至关重要,而 Hp 菌苗的研制和 Hp 感染的免疫防治也是一项亟待解决的问题。国外 Pappo 等(1995)的实验研究表明,以 Hp 重组尿素酶(r Urease) 250 μg (内含 10 μg 霍乱毒素)经口免疫

瑞士 Webster 小鼠,可引起血清 IgG、IgA 及肠 IgA 抗体明显上升,当用猫螺杆菌(*H. felis*)攻击后,可获得良好保护作用。

Doidge 等(1944)发现 Hp 疫苗不仅有预防作用同时还具有治疗作用。他们利用 Hp 粗制抗原加上霍乱毒素免疫感染了 *H. felis* 的小鼠,2 个月后发现 90% 的动物清除了已感染的细菌。国内中山医科大学陈旻湖等(1995)用 *H. felis* 代替 Hp 作为抗原免疫小鼠,然后用活力良好的 *H. felis* 感染动物,结果几乎全部免疫动物得到保护,而对照组均感染了细菌。至于免疫持续时间,结果表明,免疫接种后 18 个月,小鼠仍保持 100% 的保护率。此外,也有研究者发现该菌所含过氧化氢酶、细胞空泡毒素(vacuolate cytotoxin)和热休克蛋白(heat shock protein)均系具有良好保护作用的抗原。应用菌苗预防 Hp 感染的工作,日益受到人们的重视。

参 考 文 献

- 1 Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet, 1983, 1: 1273-1275.
- 2 NIH Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. JAMA, 1994, 272: 65-69.
- 3 Doidge C, Gast I, Lee A, et al. Therapeutic immunization against *Helicobacter* infection. Lancet, 1994, 343: 914-915.
- 4 周殿元, 杨海涛, 张万岱, 主编. 幽门螺杆菌与胃十二指肠疾病. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1992. 146-151.
- 5 陈旻湖, 胡品津, Lee A. 免疫预防幽门螺杆菌感染的动物实验研究. 中华消化杂志, 1995, 18(增刊): 19-20.
- 6 胡伏莲, 周殿元, 贾博琦, 主编. 幽门螺杆菌感染的基础与临床. 北京: 中国科学技术出版社, 1997. 405-457.

(收稿日期: 1999-12-21)