



专论与综述

幽门螺杆菌外膜囊泡研究进展

李标先 黄孝天 刘琼*

南昌大学基础医学院微生物教研室 江西 南昌 330006

摘要: 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)被认为是引起人类胃部疾病的元凶之一。外膜囊泡(Outer Membrane Vesicles, OMVs)是由细菌外膜自发脱落而形成的囊泡状结构,其具有细菌外膜多数成分,包括外膜蛋白、多糖、脂质以及其他蛋白组分。越来越多的研究正在关注外膜囊泡在幽门螺杆菌感染、发生、发展过程中的作用。同时,研究表明幽门螺杆菌外膜囊泡作为疫苗,在防治幽门螺杆菌感染中也展现了良好的应用潜力。因此,本综述总结了目前关于幽门螺杆菌外膜囊泡组成成分的研究,并讨论了外膜囊泡在幽门螺杆菌存活和致病机制中的作用,以及外膜囊泡在幽门螺杆菌感染治疗中发挥的作用。

关键词: 幽门螺杆菌, 外膜囊泡, 功能, 应用

Progress of outer membrane vesicles derived from *Helicobacter pylori*

LI Biaoxian HUANG Xiaotian LIU Qiong*

Department of Microbiology, College of Basic Medicine, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China

Abstract: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection is one of the factors that cause human gastric diseases. Outer membrane vesicles (OMVs) are vesicular structures formed by the spontaneous shedding of bacterial outer membrane, and have many components of outer membrane, including outer membrane proteins (OMPs), lipopolysaccharide (LPS), lipids and other protein components. Increasing studies were focusing on the biological function of OMVs in the development of *H. pylori* infection. Meanwhile, many researches showed that *H. pylori* OMVs act as vaccine candidate with the potential application in the prevention and treatment of *H. pylori* infection. Therefore, our review summarized the research progress on the components of OMVs derived from *H. pylori*, and discussed the potential functions of OMVs in the survival and pathogenesis of *H. pylori*, as well as the role of OMVs in the treatment of *H. pylori* infection.

Keywords: *Helicobacter pylori*, outer membrane vesicles, function, application

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31760261, 31660035); Science and Technology Research Project of Jiangxi Provincial Education Department (60224); Key Projects of Jiangxi Provincial Natural Science Foundation (20171ACB20003); Key Research and Development Projects of Jiangxi Provincial Natural Science Foundation (20192BBG70067)

*Corresponding author: E-mail: p19890528@126.com

Received: 23-02-2020; **Accepted:** 30-03-2020; **Published online:** 21-05-2020

基金项目: 国家自然科学基金(31760261, 31660035); 江西省教育厅科技研究项目(60224); 江西省自然科学基金重点研发项目(20171ACB20003); 江西省自然科学基金重点研发项目(20192BBG70067)

*通信作者: E-mail: p19890528@126.com

收稿日期: 2020-02-23; **接受日期:** 2020-03-30; **网络首发日期:** 2020-05-21

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)是一种可在人类胃部定殖的革兰氏阴性菌,其长期定居在覆盖胃上皮的粘液层,是胃炎、慢性胃溃疡和胃癌的致病因子^[1]。与所有革兰氏阴性菌一样,幽门螺杆菌也能够释放外膜囊泡(Outer Membrane Vesicles, OMVs);外膜囊泡是细菌自发产生的,范围约20–400 nm的纳米级颗粒,同时也包含了其母体细菌中存在的组成成分,包括核酸、毒素和蛋白质等;外膜囊泡在病原体与宿主的相互作用机制中发挥重要作用,它们能够促进细菌在宿主体内的存活,包括细菌的粘附、营养物质的获取、细菌与宿主细胞之间的相互作用和通讯^[2]。在胃肠道的大多数细菌都位于上皮细胞上方,未与上皮细胞表面接触,然而幽门螺杆菌能够有效地粘附于胃上皮细胞并引发细胞反应;这就提示外膜囊泡在幽门螺杆菌侵入胃上皮细胞的过程中发挥了关键作用^[3]。此外,幽门螺杆菌产生的外膜囊泡含有一系列致病性物质,因此可以在宿主体内介导促炎症反应,从而有助于细菌的感染^[4]。同时,由于外膜囊泡的组分与亲本细菌相似,并且具有免疫刺激能力^[2],因此,外膜囊泡可被作为新疫苗的候选抗原靶标进行研究。在本文中,我们主要讨论了幽门螺杆菌外膜囊泡的组成,以及外膜囊泡在幽门螺杆菌存活和致病过程中可能发挥的作用,并展望了外膜囊泡作为疫苗候选成分在防治幽门螺杆菌感染甚至胃癌治疗中的应用前景。

1 幽门螺杆菌外膜囊泡的组成

目前,有2项蛋白质组学研究初步揭示了幽门螺杆菌外膜囊泡的组成。Mullaney 等和 Olofsson 等的2项研究都证实了这些外膜囊泡中存在脂蛋白20 (Lipoproteins 20, Lpp20)和空泡细胞毒素相关蛋白(Vacuolating cytotoxin, VacA)^[5-6]。除此之外,研究还检测到几种已知或推测的粘附素,包括血型抗原结合粘附素(Binding Adhesin, BabA)、唾液酸结合粘附素(Sialic Acid Binding Adhesin, SabA)、粘附相关脂蛋白A (Adherence Associated Lipoprotein,

AlpA)、外炎性蛋白A (Outer Inflammatory Protein A, OipA)、中性粒细胞活化蛋白(Neutrophil activating Protein, NAP)等^[5-7]。以上这些细菌相关粘附素能够介导幽门螺杆菌外膜囊泡与人胃上皮的结合。幽门螺杆菌将外膜囊泡作为“先头部队”,与胃上皮粘膜细胞进行结合引发一系列炎症反应,从而有利于下一步细菌的入侵。

在一项最新的研究中,研究者发现幽门螺杆菌外膜囊泡中都含有脲酶A和B亚基、嗜中性粒细胞活化蛋白(NapA)、空泡细胞毒素相关蛋白(VacA)和孔蛋白(Hypothetical Protein A, HopA)^[8]。较大的外膜囊泡(90–450 nm)包含许多已知的幽门螺杆菌粘附素,例如 SabA、BabA、铁调节蛋白、Hop家族外膜蛋白以及鞭毛蛋白和钩形蛋白,这些蛋白质在较小的外膜囊泡中不存在;小型外膜囊泡(20–100 nm)中仅包含的4种蛋白质主要与新陈代谢相关,而与毒力或粘附无关^[8]。同时,对幽门螺杆菌外膜囊泡的蛋白质组学分析显示,较大的外膜囊泡富含蛋白质载体,包括致病性蛋白,而且包含许多毒力决定因子,该分析进一步强调了其在介导宿主发病过程中起着重要的作用^[8]。

除 CagA、VacA 和 OipA 蛋白外,幽门螺杆菌外膜囊泡还包含不同的酶,例如高温需求丝氨酸蛋白酶(High Temperature Requirement A, HtrA),其诱导血管内皮钙粘蛋白(VE-Cadherin)裂解,导致幽门螺杆菌和 γ -谷氨酰转肽酶(Gamma-Glutamyl Transpeptidase, GGT)入侵胃上皮,GGT 参与胃的pH 值升高和谷氨酰胺合成^[9]。幽门螺杆菌分泌的HtrA 具有伴侣蛋白活性,在不同的pH 和温度条件下都可以稳定地抑制溶菌酶的聚集;并且它对温度和pH 的变化具有极强的抵抗力,在变性条件下处理后能够恢复活性,从而有利于幽门螺杆菌在胃部定殖^[10-11]。

同时,在幽门螺杆菌外膜囊泡中还鉴定到一些磷脂:磷脂酰甘油(Phosphatidyl Glycerin, PG)、磷脂酰乙醇胺(Phosphatidylethanolamine, PE)、溶血

PE (Lyso PE, LPE)、磷脂酰胆碱(Phosphatidylcholine, PC)、溶血 PC (Lyso PC, LPC)和双磷脂酰甘油(Diphosphatid-Ylglycerol, DPG)等^[6]。锚定在外膜上的脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)是幽门螺杆菌外膜囊泡的另一个重要组成部分。幽门螺杆菌 LPS 中包含特殊结构的脂质 A (Lipid A), 其 Lipid A 结构为四酰基脂质 A (Tetra-Acyl Lipid A), 不能很好地刺激 TLR4 的激活, 从而可导致幽门螺杆菌产生免疫逃逸现象; 同时, 幽门螺杆菌 LPS 的 O 特异区域中 Lewis 抗原的存在, 也会由于其与宿主自身抗原的相似性, 从而导致幽门螺杆菌产生免疫逃逸^[6,12]。以上幽门螺杆菌 LPS 的特殊特性导致了其能够长期在人体胃部定殖, 而外膜囊泡中也包含以上组分, 从而也赋予了幽门螺杆菌外膜囊泡特殊的生物学功能。

2 外膜囊泡在幽门螺杆菌致病过程中发挥的作用

幽门螺杆菌外膜囊泡的蛋白质组学研究也报道了在外膜囊泡中包含的几种已知和预测的毒力因子^[4-5]。细胞毒素相关蛋白(CagA)是一种在 Cag 致病岛(Pathogenicity Island, PAI)中编码的毒力因子, 幽门螺杆菌 70%的菌株拥有该致病岛; 这个 37 kb 的致病岛带有可形成 4 型分泌系统(Type IV Secretion System, T4SS)装置的基因; CagT4SS 可以通过整合素等途径与宿主细胞接触, 从而使 CagT4SS 可以通过多种方式影响宿主细胞信号转导^[13-14]。龙妮娅等^[15]比较幽门螺杆菌东、西方株 CagA 的序列结构发现, 虽然东亚株与西方株 CagA 的序列结构有特征性的差异, 但两者均能促进细胞凋亡; 幽门螺杆菌东亚株 CagA 能够促进胃癌细胞的增殖, 而西方株 CagA 却能够抑制细胞增殖。该研究提示 CagA 在幽门螺杆菌导致胃癌中发挥了重要的作用。也有报道称 OMV-CagA 可以定位于紧密连接蛋白-1 (Zonula Occludens 1, ZO-1)附近, 诱导组蛋白 H1 与 ATP 结合, ATP-H1 在特定染色体上的分布和位置可能对基因转录产生消极的影响,

这可能导致幽门螺杆菌感染向着胃癌方向发展^[16]。

图 1 揭示了外膜囊泡促进幽门螺杆菌感染的潜在机制。Parker 等的研究表明, VacA 毒素能够增强幽门螺杆菌外膜囊泡与细胞的联系, 而且这种毒素的存在能够促进胆固醇和网格蛋白介导的胃上皮细胞对外膜囊泡的摄取; 该研究还证明幽门螺杆菌外膜囊泡能够被胃上皮细胞内化, 把外膜囊泡介导的肽聚糖向细胞溶质中含核苷酸结合寡聚化结构域的蛋白 1 (Nucleotide Binding Oligomerization Domain 1, NOD-1)递送, 从而促进核因子 κ B (Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B, NF- κ B)和白细胞介素-8 (Interleukin-8, IL-8)的产生^[17]。Yonezawa 等^[18]的研究发现, 幽门螺杆菌外膜囊泡在生物膜的形成过程中发挥了重要作用; 幽门螺杆菌外膜囊泡中的粘附相关脂蛋白 B (AlpB)具有与生物膜形成相关的独特性质。外膜囊泡中 AlpB 的表达水平决定了生物膜的形成水平, 而且 *alpB* 基因的序列变化也会影响生物膜的形成和对胃粘膜上皮细胞的粘附。也有研究发现, 在幽门螺杆菌外膜囊泡中存在的 VacA 可能与宿主细胞细胞膜上的脂质双分子层结合, 形成阴离子选择性和电压依赖性通道, 增加复杂分子的外流, 从而促进幽门螺杆菌的生长^[19]。幽门螺杆菌外膜囊泡中可溶性 VacA 通过线粒体依赖途径诱导胃上皮细胞凋亡, VacA 结构域与宿主受体如低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 (Low Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 1, LRP1)结合, 或介导酸性细胞区室的碱化, 进而导致铁重新定位, 也可能产生活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS), 诱导细胞自噬, 形成自噬小体, 进而导致细胞凋亡^[19-20]。此外, Lekmeechai 等^[7]的研究还发现, 在幽门螺杆菌感染胃粘膜的过程中, 会诱导大量中性粒细胞进入胃粘膜并产生 ROS, 而高浓度的 ROS 会对幽门螺杆菌造成氧化损伤; 为了减少或破坏中性粒细胞内流氧化暴发释放的胞外 ROS, 幽门螺杆菌释放富集过氧化氢酶

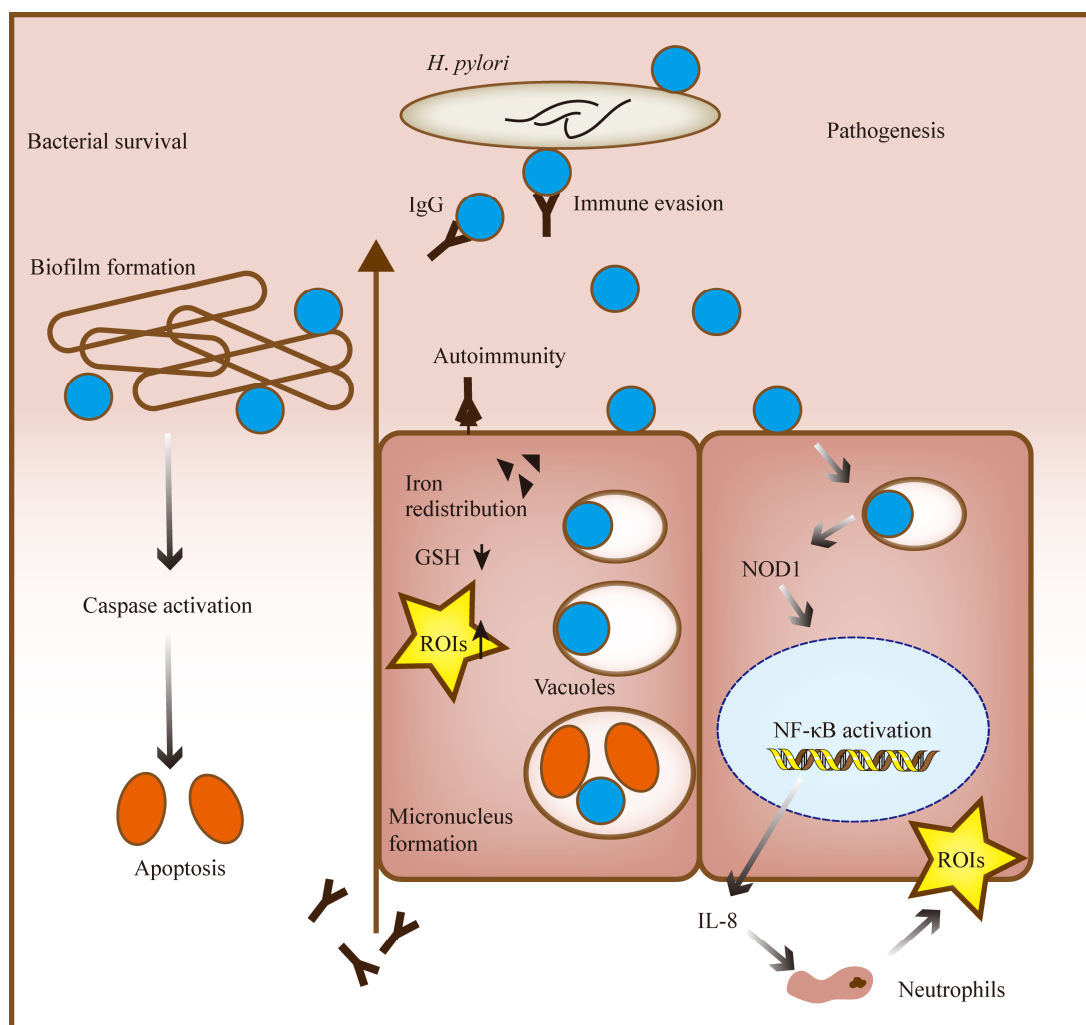


图 1 幽门螺杆菌外膜囊泡的潜在作用机制

Figure 1 Potential molecular mechanisms of *Helicobacter pylori* outer membrane vesicles

注：幽门螺杆菌外膜囊泡通过参与生物膜的形成来促进细菌存活，并通过从细菌表面除去幽门螺杆菌特异性抗体来免疫逃避。发病机理中的潜在作用包括存在 Lewis 抗原而产生自身免疫应答。此外，幽门螺杆菌外膜囊泡可诱导胃上皮细胞在半胱天冬酶依赖性但线粒体非依赖性途径中的凋亡。含有细胞毒素 VacA 的外膜囊泡的摄取导致细胞质铁水平的增加和伴随的 GSH 减少。在这种氧化的环境中，ROI 水平上升，并与 DNA 损伤有关。内化的外膜囊泡还可以通过刺激 NOD-1 介导的转录因子 NF-κB 的活化来间接损伤胃上皮细胞，导致促炎细胞因子 IL-8 的产生和分泌以及嗜中性粒细胞的募集。浸润的中性粒细胞受到刺激后释放 ROI 对上皮造成损伤

Note: Outer membrane vesicles (OMVs) of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) promote the bacterial survival by participating in the formation of biofilm, and elicit immune escape by removing *H. pylori* specific antibodies from the surface of bacteria. Potential roles in pathogenesis include the presence of Lewis antigens to produce an autoimmune response. In addition, *H. pylori* OMVs can induce apoptosis of gastric epithelial cells in caspase dependent but mitochondrial independent pathways. The uptake of OMVs containing the cytotoxin VacA result in an increase in cytoplasmic iron levels and a concomitant decrease in GSH. In this oxidative environment, ROI levels rise and are associated with DNA damage. The internalized OMVs can also indirectly damage gastric epithelial cells by stimulating the activation of transcription factor NF-κB mediated by NOD-1, leading to the production and secretion of pro-inflammatory cytokines IL-8 and the recruitment of neutrophils. When the infiltrated neutrophils are stimulated to release ROI, the epithelium is damaged

(Catalase, KATA)的外膜囊泡。过氧化氢酶有助于外膜囊泡形成新的抗氧化作用,从而增强幽门螺杆菌对宿主固有免疫攻击的防御能力。这将允许幽门螺杆菌逃往附近活性氧较低的感染部位,从而促进细菌的存活和定殖。

细菌蛋白核靶向是近年来发现的一种对宿主细胞生物学产生重要影响的细菌致病机制。研究表明,脲酶亚基 A (Urease Subunit A, UreA)不仅可以中和胃酸,还可以作用于胃上皮细胞的细胞核;幽门螺杆菌脲酶(*Helicobacter Pylori* UreA, HPU)通过破坏 VE-cadherin 连接来增加内皮细胞的通透性,增加粘附分子的表达,从而增加中性粒细胞对内皮细胞的粘附,可诱导内皮细胞产生氧化介质 NO, 诱导 NF- κ B 通路的激活和增加环氧化酶-2 (Cyclooxygenase-2, COX-2)和血管内皮生长因子受体-2 (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2, VEGFR-2)的表达,促进内皮细胞分化^[21]。在 Lee 等的研究中发现,在幽门螺杆菌感染时,UreA 通过细菌自身分泌的外膜囊泡进入胃上皮细胞,作用于细胞核,诱导尿素向宿主细胞的转运,导致胃上皮细胞的生物学特性发生改变,从而有利于幽门螺杆菌的定殖和免疫逃避^[22]。

幽门螺杆菌外膜囊泡中包含的 LPS 在其致病过程中也发挥了重要的作用。幽门螺杆菌菌株在其 LPS O-多糖链中可表现出菌株特异性,其中包括 Lewis 抗原表达的显著差异^[23]。此外,外膜囊泡相关的 LPS 具有与幽门螺杆菌菌体 LPS 相同的特征。幽门螺杆菌的 Lipid A 结构为四酰基脂质 A, 缺少 4'磷酸基团(4'-Phosphate),同时 1'磷酸基团酰基化,无法行使其佐剂功能,同时也意味着其 Lipid A 结构非酰基化和非磷酸化,相比其他革兰氏阴性菌 Lipid A, 不能很好地被 TLR4 结合而引起免疫反应^[24-25]。同时, LPS 中的 O 抗原(O-Polysaccharide Antigen)结构已经被鉴定出具有分子模拟(Molecular Mimicry)现象,其 O 抗原结构与血清中 Lewis (Le)结构相似;因此,幽门螺杆菌通过分泌

外膜囊泡,从而在长期感染过程中发生免疫逃避,或在宿主上产生自身免疫性疾病,导致幽门螺杆菌感染不易被清除^[26]。

已有研究证明幽门螺杆菌外膜囊泡中包含菌体核酸成分,小的非编码 RNA (Small Non-Coding RNAs, sncRNAs)越来越被认为是细菌调节网络的关键^[27]。本团队的研究证实幽门螺杆菌外膜囊泡中的确存在 sncRNAs,同时初步评估了在外膜囊泡中包裹的 sncRNAs 的生物学功能。我们鉴定出 2 个已识别的 sncRNAs 可从外膜囊泡中传递来减弱其刺激的人胃腺癌细胞(Human Gastric, AGS)中 IL-8 的分泌,以此帮助幽门螺杆菌逃避宿主细胞的免疫应答^[28]。

3 外膜囊泡在防治幽门螺杆菌感染中的潜在应用价值

目前,临床上主要应用抗生素治疗幽门螺杆菌引起的感染。在李云振等^[29]关于幽门螺杆菌耐药机制的综述中可以得知,无论是一线药物克拉霉素、阿莫西林等,还是二线药物左氧氟沙星等,或者三线补救治疗药物等,都存在着越来越严重的耐药性。关于幽门螺杆菌疫苗的研制迫在眉睫。虽然近几十年来投入了大量资源开发幽门螺杆菌疫苗,但还没有疫苗进入临床应用。在一项研究中,研究者通过 DNA 重组技术,利用脲酶 B 亚基(来自幽门螺杆菌 9803 的基因)和热不稳定肠毒素 B 亚基(来自大肠杆菌 H44815 的基因)制成口服的重组幽门螺杆菌预防性疫苗,这种疫苗适用于未接触幽门螺杆菌的儿童,具有预防作用,对已感染幽门螺杆菌的成人无效^[30]。尽管目前预防性的幽门螺杆菌疫苗可能无法通过免疫接种来完全根除幽门螺杆菌定殖,但对幽门螺杆菌感染持续 3 年的疫苗保护监测表明,该疫苗可显著降低幽门螺杆菌相关胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡和胃癌的发病率^[30]。

随着对细菌致病机制以及生理特性的逐渐了解,基于细菌自发产生的外膜囊泡组分的疫苗及其作为递呈载体已经越来越受到研究人员的关

注^[31]。由于外膜囊泡作为细菌外膜的产物,包括了大量的脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)、外膜蛋白(Outer Membrane Proteins, OMPs)、内脂(Lipids)、脂蛋白(Lipoprotein)和 CpG DNA 分子,这些分子都能够作为病原相关小分子(Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMPs)被宿主识别,从而引起更强的免疫应答,为其作为高效疫苗提供了理论依据。易洁等^[32]对革兰氏阴性菌外膜囊泡作为亚单位疫苗进行了综述,外膜囊泡含有细菌的大量抗原,经修饰改造后的外膜囊泡能够诱导机体产生免疫应答,而且可以作为疫苗抗原呈递载体和疫苗佐剂,成为疫苗开发的热门研究对象。有研究报道幽门螺杆菌产生的外膜囊泡能够入侵胃上皮细胞,并且在幽门螺杆菌感染的致病性中发挥了重要的作用^[17]。也有研究表明,幽门螺杆菌的外膜囊泡能够携带 CagA 蛋白,通过一定的摄入机制转运至细胞内涵体和溶酶体发挥毒素作用^[19,33],此发现为利用幽门螺杆菌外膜囊泡递呈关键抗原蛋白提供了一定的理论基础。另外,外膜囊泡由于其脂质双分子层的特性可以包裹递呈靶蛋白不被机体过快清除,因此也可以作为一种高效的抗原递呈载体^[34]。Turner 等^[8]认为,幽门螺杆菌外膜囊泡的大小决定了其免疫原性和进入宿主细胞的机制,这些机制可以通过小泡蛋白依赖的内吞作用(外膜囊泡大小介于 20–100 nm 之间)或胞饮作用和内吞作用(外膜囊泡大小介于 90–150 nm 之间)发生。这些发现揭示了不同大小的外膜囊泡进入宿主细胞的机制和诱导宿主炎症的能力,同时揭示了将外膜囊泡应用于疫苗开发应考虑其大小对其免疫原性的影响。

有文献报道,CD4⁺ T 细胞在幽门螺杆菌的保护性免疫应答中非常重要^[35];也有研究人员证实,有 Th1 型免疫趋向的宿主环境有利于抵抗和清除幽门螺杆菌^[36]。之前的研究证实,细菌外膜囊泡相比细菌本身更能够刺激宿主引起倾向于 Th1 的免疫反应,这也使利用幽门螺杆菌外膜囊泡作为疫苗更具优势^[37–38]。本团队也在利用幽门螺杆菌外膜

囊泡作为疫苗候选方面进行了初步的探索,描述了来自幽门螺杆菌 7.13 株的外膜囊泡的组成和疫苗潜力。研究证实幽门螺杆菌外膜囊泡包含多种具有免疫活性的蛋白成分,包括 Hop 家族外膜蛋白、豚酶亚基 B、空泡细胞毒素相关蛋白(VacA)等,并且通过动物实验证实其可以作为一种很好的抗原候选。外膜囊泡在小鼠模型中表现出较强的体液和粘膜免疫,且不会对胃粘膜造成过度的炎症反应,并对幽门螺杆菌感染起到了一定的保护作用;研究表明幽门螺杆菌外膜囊泡可作为新颖的疫苗候选用于防治幽门螺杆菌感染,同时也提示幽门螺杆菌外膜囊泡作为疫苗成分相对安全^[39]。尽管在幽门螺杆菌中应用外膜囊泡作为疫苗组分的研究相对较少,鉴于外膜囊泡在其他致病菌疫苗中展现了良好的应用前景,因此,完全有理由相信幽门螺杆菌外膜囊泡可以发展成为一种有效的疫苗候选成分。

4 展望

与大多数革兰氏阴性菌类似,幽门螺杆菌外膜囊泡也可以在细菌与宿主细胞之间发挥传递作用。因此,幽门螺杆菌外膜囊泡可以被设计成包裹载体,用以递送抗原或小分子药物至胃中。此外,幽门螺杆菌外膜囊泡由于自身是其亲本细菌的高度免疫原性、非复制性的模拟物,可以进入真核细胞并诱导先天免疫和适应性免疫,也是一种具有吸引力的疫苗候选。也有研究表明,经减毒改造后的革兰氏阴性细菌外膜囊泡可以作为癌症免疫治疗剂应用于肿瘤治疗;这些纳米级囊泡积聚在肿瘤组织和肿瘤微环境内可产生 IFN- γ 激活抗肿瘤反应。这是一种新的肿瘤免疫治疗方法,具有明显的治疗效果,且无明显的不良反应^[40–41]。这种基于细菌外膜囊泡的抗肿瘤策略,也可以适用于幽门螺杆菌,可以为未来治疗幽门螺杆菌感染引起的胃癌提供一种新的免疫治疗策略。

幽门螺杆菌外膜囊泡可以作为细菌粘附和入侵宿主细胞的“先头部队”,以纳米级的颗粒结构越过粘膜到达宿主体内远处的位置,最终目的是破坏

细胞,利于细菌存活,继而促进幽门螺杆菌的感染。幽门螺杆菌作为可能会引起胃癌的重要风险因子,充分地阐明其如何入侵宿主细胞的机制显得尤为重要。幽门螺杆菌外膜囊泡在宿主致病机制研究以及疫苗开发上展现了极大的潜力,而现阶段基于幽门螺杆菌外膜囊泡与宿主相互作用机制的研究相对较少,特别是在国内还鲜有报道。亟需广大科研工作者投入到该领域进行深入研究,有望从外膜囊泡的角度进一步揭示幽门螺杆菌的致病机制,以期通过幽门螺杆菌外膜囊泡来设计一系列干预措施或者疫苗来预防幽门螺杆菌的感染,并在胃癌治疗上取得新的突破。

REFERENCES

- [1] Choi JM, Kim SG, Choi J, Park JY, Oh S, Yang HJ, Lim JH, Pillm J, Kim JS, Jung HC. Effects of *Helicobacter pylori* eradication for metachronous gastric cancer prevention: a randomized controlled trial[J]. *Gastrointestinal Endoscopy*, 2018, 88(3): 475-485.e2
- [2] Zavan L, Bitto NJ, Johnston EL, Greening DW, Kaparakis-Liaskos M. *Helicobacter pylori* growth stage determines the size, protein composition, and preferential cargo packaging of outer membrane vesicles[J]. *Proteomics*, 2019, 19(1/2): 1800209
- [3] Necchi V, Ricci V, Sommi P, Solcia E. CagA effector protein in *Helicobacter pylori*-infected human gastric epithelium *in vivo*: From bacterial core and adhesion/injection clusters to host cell proteasome-rich cytosol[J]. *Toxins*, 2019, 11(11): 618
- [4] Kaparakis M, Turnbull L, Carneiro L, Firth S, Coleman HA, Parkington HC, Bourhis LL, Karrar A, Viala J, Mak J, et al. Bacterial membrane vesicles deliver peptidoglycan to NOD1 in epithelial cells[J]. *Cellular Microbiology*, 2010, 12(3): 372-385
- [5] Mullaney E, Brown PA, Smith SM, Botting CH, Yamaoka YY, Terres AM, Kelleher DP, Windle HJ. Proteomic and functional characterization of the outer membrane vesicles from the gastric pathogen *Helicobacter pylori*[J]. *Proteomics-Clinical Applications*, 2009, 3(7): 785-796
- [6] Olofsson A, Vallström A, Petzold K, Tegtmeyer N, Schleucher J, Carlsson S, Haas R, Backert S, Wai SN, Gröbner G, et al. Biochemical and functional characterization of *Helicobacter pylori* vesicles[J]. *Molecular Microbiology*, 2010, 77(6): 1539-1555
- [7] Lekmetchai S, Su YC, Brant M, Alvarado-Kristensson M, Vallström A, Obi I, Arnqvist A, Riesbeck K. *Helicobacter pylori* outer membrane vesicles protect the pathogen from reactive oxygen species of the respiratory burst[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1837
- [8] Turner L, Bitto NJ, Steer DL, Lo C, D'Costa K, Ramm G, Shambrook M, Hill AF, Ferrero RL, Kaparakis-Liaskos M. *Helicobacter pylori* outer membrane vesicle size determines their mechanisms of host cell entry and protein content[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 1466
- [9] Löwer M, Geppert T, Schneider P, Hoy B, Wessler S, Schneider G. Inhibitors of *Helicobacter pylori* protease HtrA found by 'virtual ligand' screening combat bacterial invasion of epithelia[J]. *PLoS One*, 2011, 6(3): e17986
- [10] Zarzecka U, Harrer A, Zawilak-Pawlik A, Skorko-Glonek J, Backert S. Chaperone activity of serine protease HtrA of *Helicobacter pylori* as a crucial survival factor under stress conditions[J]. *Cell Communication and Signaling*, 2019, 17(1): 161
- [11] Zarzecka U, Skorko-Glonek J, Zawilak-Pawlik AM, Apanowicz M, Lesner A, Bzowska A, Lipinska B, Zawilak-Pawlik A, Backert S, Skorko-Glonek J. Properties of the HtrA protease from bacterium *Helicobacter pylori* whose activity is indispensable for growth under stress conditions[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 961
- [12] Huang Z, Zhang XS, Blaser MJ, London E. *Helicobacter pylori* lipids can form ordered membrane domains (rafts)[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2019, 1861(11): 183050
- [13] Stein SC, Faber E, Bats SH, Murillo T, Speidel Y, Coombs N, Josenhans C. *Helicobacter pylori* modulates host cell responses by CagT4SS-dependent translocation of an intermediate metabolite of LPS inner core heptose biosynthesis[J]. *PLoS Pathogens*, 2017, 13(7): e1006514
- [14] Backert S, Tegtmeyer N, Fischer W. Composition, structure and function of the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island encoded type IV secretion system[J]. *Future Microbiology*, 2015, 10(6): 955-965
- [15] Long NY, Xiong L, Zhao Y, Yuan H, Li YJ, Chen XS, Zhang XY, Xie Y, Zhou JJ. Sequences difference of CagA between East Asian strain and Western strain of *Helicobacter pylori* and its impact on the proliferation and apoptosis of gastric cancer cells[J]. *Microbiology China*, 2018, 45(4): 848-855 (in Chinese)
龙妮娅, 熊林, 赵艳, 袁航, 李雅洁, 陈学书, 张晓怡, 谢渊, 周建奖. 幽门螺杆菌东、西方株 CagA 的序列差异及其对胃癌细胞生长与凋亡的影响[J]. *微生物学通报*, 2018, 45(4): 848-855
- [16] Turkina MV, Olofsson A, Magnusson KE, Arnqvist A, Vikström E. *Helicobacter pylori* vesicles carrying CagA localize in the vicinity of cell-cell contacts and induce histone H1 binding to ATP in epithelial cells[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2015, 362(11): fnv076
- [17] Parker H, Chitcholtan K, Hampton MB, Keenan JI. Uptake of *Helicobacter pylori* outer membrane vesicles by gastric epithelial cells[J]. *Infection and Immunity*, 2010, 78(12): 5054-5061
- [18] Yonezawa H, Osaki T, Fukutomi T, Hanawa T, Kurata S, Zaman C, Hojo F, Kamiya S. Diversification of the AlpB

- outer membrane protein of *Helicobacter pylori* affects biofilm formation and cellular adhesion[J]. Journal of Bacteriology, 2017, 199(6): e00729-16
- [19] Yahiro K, Satoh M, Nakano M, Hisatsune J, Isomoto H, Sap J, Suzuki H, Nomura F, Noda M, Moss J, et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP1) mediates autophagy and apoptosis caused by *Helicobacter pylori* VacA[J]. Journal of Biological Chemistry, 2012, 287(37): 31104-31115
- [20] Yahiro K, Akazawa Y, Nakano M, Suzuki H, Hisatsune J, Isomoto H, Sap J, Noda M, Moss J, Hirayama T. *Helicobacter pylori* VacA induces apoptosis by accumulation of connexin 43 in autophagic vesicles via a Rac1/ERK-dependent pathway[J]. Cell Death Discovery, 2015, 1: 15035
- [21] De Jesus Souza M, De Moraes JA, Da Silva VN, Helal-Neto E, Uberti AF, Scopel-Guerra A, Olivera-Severo D, Carlini CR, Barja-Fidalgo C. *Helicobacter pylori* urease induces pro-inflammatory effects and differentiation of human endothelial cells: Cellular and molecular mechanism[J]. Helicobacter, 2019, 24(3): e12573
- [22] Lee JH, Jun SH, Kim JM, Baik SC, Lee JC. Morphological changes in human gastric epithelial cells induced by nuclear targeting of *Helicobacter pylori* urease subunit A[J]. Journal of Microbiology, 2015, 53(6): 406-414
- [23] Hynes SO, Keenan JI, Ferris JA, Annuk H, Moran AP. Lewis epitopes on outer membrane vesicles of relevance to *Helicobacter pylori* pathogenesis[J]. Helicobacter, 2005, 10(2): 146-156
- [24] Cullen TW, Giles DK, Wolf LN, Ecobichon C, Boneca IG, Trent MS. *Helicobacter pylori* versus the host: remodeling of the bacterial outer membrane is required for survival in the gastric mucosa[J]. PLoS Pathogens, 2011, 7(12): e1002454
- [25] Stead CM, Zhao JS, Raetz CRH, Trent MS. Removal of the outer Kdo from *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide and its impact on the bacterial surface[J]. Molecular Microbiology, 2010, 78(4): 837-852
- [26] Moran AP. The role of endotoxin in infection: *Helicobacter pylori* and *Campylobacter jejuni*[A]//Wang X, Quinn P. Endotoxins: Structure, Function and Recognition[M]. Dordrecht: Springer, 2010: 209-240
- [27] Westermann AJ. Regulatory RNAs in virulence and host-microbe interactions[A]//Storz G, Papenfort K. Regulating with RNA in Bacteria and Archaea[M]. Washington, DC: ASM Press, 2019: 305-337
- [28] Zhang HX, Zhang YX, Song ZF, Li RZ, Ruan H, Liu Q, Huang XT. sncRNAs packaged by *Helicobacter pylori* outer membrane vesicles attenuate IL-8 secretion in human cells[J]. International Journal of Medical Microbiology, 2020, 310(1): 151356
- [29] Li YZ, Hu WP, Gao HZ, Wang MX. Progress in research on antibiotic resistance mechanisms of *Helicobacter pylori*[J]. Microbiology China, 2014, 41(5): 983-989 (in Chinese)
李云振, 胡伟鹏, 高宏志, 王明席. 幽门螺杆菌抗生素耐药机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2014, 41(5): 983-989
- [30] Zeng M, Mao XH, Li JX, Tong WD, Wang B, Zhang YJ, Guo G, Zhao ZJ, Li L, Wu DL, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an oral recombinant *Helicobacter pylori* vaccine in children in China: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. The Lancet, 2015, 386(10002): 1457-1464
- [31] Irene C, Fantappiè L, Caproni E, Zerbini F, Anesi A, Tomasi M, Zanella I, Stupia S, Prete S, Valensin S, et al. Bacterial outer membrane vesicles engineered with lipidated antigens as a platform for *Staphylococcus aureus* vaccine[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2019, 116(43): 21780-21788
- [32] Yi J, Liu Q, Kong QK. Advances in outer membrane vesicles of Gram-negative bacteria as sub-unit vaccines: a review[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2016, 56(6): 911-921 (in Chinese)
易洁, 刘青, 孔庆科. 革兰氏阴性菌外膜囊泡作为亚单位疫苗的研究进展[J]. 微生物学报, 2016, 56(6): 911-921
- [33] Parker H, Keenan JI. Composition and function of *Helicobacter pylori* outer membrane vesicles[J]. Microbes and Infection, 2012, 14(1): 9-16
- [34] Van Den Dobbelen GPJM, Van Dijken HH, Pillai S, Van Alphen L. Immunogenicity of a combination vaccine containing pneumococcal conjugates and meningococcal PorA OMVs[J]. Vaccine, 2007, 25(13): 2491-2496
- [35] Eaton KA, Mefford M, Thevenot T. The role of T cell subsets and cytokines in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* gastritis in mice[J]. The Journal of Immunology, 2001, 166(12): 7456-7461
- [36] Shi Y, Liu XF, Zhuang Y, Zhang JY, Liu T, Yin ZN, Wu C, Mao XH, Jia KR, Wang FJ, et al. *Helicobacter pylori*-induced Th17 responses modulate Th1 cell responses, benefit bacterial growth, and contribute to pathology in mice[J]. The Journal of Immunology, 2010, 184(9): 5121-5129
- [37] Sun HQ, Yuan HM, Tan RJ, Li B, Guo G, Zhang JY, Jing HM, Qin Y, Zhao Z, Zou QM, et al. Immunodominant antigens that induce Th1 and Th17 responses protect mice against *Helicobacter pylori* infection[J]. Oncotarget, 2018, 9(15): 12050-12063
- [38] Furuta N, Takeuchi H, Amano A. Entry of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles into epithelial cells causes cellular functional impairment[J]. Infection and Immunity, 2009, 77(11): 4761-4770
- [39] Liu Q, Li X, Zhang Y, Song ZF, Li RZ, Ruan H, Huang XT. Orally-administered outer-membrane vesicles from *Helicobacter pylori* reduce *H. pylori* infection via Th2-biased immune responses in mice[J]. Pathogens and Disease, 2019, 77(5): ftz050
- [40] Kim OY, Park HT, Dinh NTH, Choi SJ, Lee J, Kim JH, Lee SW, Gho YS. Bacterial outer membrane vesicles suppress tumor by interferon- γ -mediated antitumor response[J]. Nature Communications, 2017, 8(1): 626
- [41] Zhang YX, Fang ZY, Li RZ, Huang XT, Liu Q. Design of outer membrane vesicles as cancer vaccines: A new toolkit for cancer therapy[J]. Cancers, 2019, 11(9): 1314