

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*) 的研究现状

黄 洋 陶天申

(武汉大学生物学系, 湖北武汉 430072)

(一) 命名的过程

1982年4月, Marshall等人^[1]在培养人体胃粘膜活组织解剖样品时, 发现了一种螺旋状的细菌, 由于它具有弯曲杆菌属(*Campylobacter*)的特征, 被定名为*Campylobacter pyloridis*后发现该种名的加词在拉丁文语法上是错误的, 因此更名为幽门弯曲杆菌(*Campylobacter pylori*)。^[2]

在医学研究过程中, 发现*C. pylori*与人类的胃肠道疾病有关, 因此, 作为引起人类慢性胃炎(B型——胃炎)的病原菌, 人们对其进行了广泛的研究, 获得了医学、微生物学、生物化学, 分子生物学等方面的资料。资料表明, *C. pylori*在许多细胞学、生物化学、分子生物学性状方面与其它弯曲杆菌不同。诸如细胞脂肪酸类型^[3], 细胞超微结构, 呼吸醌类型^[4], 脲酶活性^[5], 对抗生素的敏感及抗性谱^[6], 5S rRNA和16S rRNA序列^[7]以及对培养基添加成分的需求等方面, 因此Marshall等提出*C. pylori*不应归于弯曲杆菌属。

通过将*C. pylori*与相关的分类单元进行16SrRNA的序列分析结果指出, *C. pylori*与螺菌属(*Spirillum*), 拉氏屈扰螺菌(*Flexispira rappini*), 产琥珀酸沃林氏菌(*Wollinella succinogenes*)相接近, 通过其它性状进行比较发现, *Spirillum*的螺旋是僵硬的, *Flexispira*的菌体是非螺旋状的, 而*Wollinella succinogenes*在G+C mol%、超微结构特征、细胞脂肪酸类型、呼吸醌类型以酶特性等生化特性方面同*C. pylori*相异。进一步将*C. pylori*与其相关的分类单元进行DNA-DNA杂交实验, 结果表明^[8], 原来称作*C. pylori*的细菌不能被归于其相近的属中, 它代表着一个新属。

因此, 1989年Goodwin等^[8]提出建立新属, 螺杆菌属(*Helicobacter*), 将幽门弯曲杆菌(*Campylobacter pylori*)定名为新组合种幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*) NCTC (11637^T ATCC 43504^T)。

(二) *Helicobacter pylori* 的研究进展

1. *H. pylori*的微生态环境与致病机理:(1) *H. pylori*具有4—6根带鞘的极端鞭毛, 除能进行线性运动外, 还能进行螺旋状运动, 它在粘液中的运动力是*E. coli*的10倍, 这能使它钻入粘液下, 在粘液之下和胃粘膜上皮之上这一微生态环境中, 它能避开胃酸的损伤作用, 其它微生物和局部免疫的排斥作用, 获得适宜的生长繁殖条件^[8,9]。(2) *H. pylori*能产生大量的尿素酶, 可分解食物中的尿素成分, 使其周围为一层“氨云”所环绕, 从而有效地使菌体与具有致死作用的胃酸相隔绝^[10]。(3) *H. pylori*还具有大量的过氧化物歧化酶和过氧化氢酶从而可以抵抗寄生的吞噬细胞的氧化杀伤作用^[11]。综上所述, *H. pylori*由其本身的特性获得了在人类胃部生存和致病的环境和条件。

2. *H. pylori*的临床症状及流行病学:(1) *H. pylori*是人体B型-胃炎的病原。人体感染了*H. pylori*将引起胃酸缺乏的胃炎, 并最终导致慢性胃炎。Marshall等^[5]提出, *H. pylori*首先引起患者胃窦腔炎, 然后导致粘膜屏障的损害, 继而遭受胃酸和胃蛋白酶的消化, 形成胃溃疡。(2) *H. pylori*还与十二指肠溃疡病有关^[5,12]。用次枸橼酸胶体铋(CBS, 商品名为De-Nol)清除*H. pylori*后, 十二指肠溃疡病得以治愈, 且复发率较低。(3) 感染了*H. pylori*, 可引起全身和局部免疫反应, 患者血清中特异性抗体IgA水平明显增高^[5,13,14]。(4) *H. pylori*的感染率^[5,11]。

H. pylori 感染在世界各地均较为常见。慢性胃炎 *H. pylori* 的检出率为 50—70%，其中有活动性病变者可达 90% 以上；60—80% 的胃溃疡和 70—100% 的十二指肠溃疡患者伴有 *H. pylori* 阳性胃炎；在无症状的人体中，*H. pylori* 感染率随着年龄的增长而升高。

3. *H. pylori* 的检测手段：(1) 直接观察法^[15]：用相差显微镜观察患者胃粘膜组织碎片悬液可观察到黑色的弯曲状或“S”状的菌体。(2) 染色法：近年应用的 *H. pylori* 检测染色法有：Warthin-Starry 银染色^[16]、革兰氏染色法^[17]、Giemsa 染色法^[18]、hematoxylin and eosin 染色法^[17] 以及 acridine orange 染色法^[19]。(3) 培养法^[15]：将粘膜组织碎片制成的悬液培养在巧克力血琼脂上，3 天后观察是否有 *H. pylori* 的特异菌落的形成。(4) 尿素酶诊断法：由于 *H. pylori* 产生大量的尿素酶，通过测定尿素被水解后 pH 值的变化^[20] 以及释放的 CO₂ 量^[21,22]，即可测定脲酶的含量，从而检测 *H. pylori* 的存在。(5) 免疫诊断法：*H. pylori* 具有不同于其它弯曲杆菌的特异抗原 25kd，它的特异单克隆抗体为 CP3^[23]。从临床分离的样品制备单克隆抗体时，也发现了 *H. pylori* 的特异性单克隆抗体 9B3^[24] 通过免疫反应，即可诊断 *H. pylori*。(6) 血清学诊断：感染了 *H. pylori* 的患者，对 *H. pylori* 有抗性的 IgA、IgM 活性升高，IgG 活性与正常人相同，通过酶联免疫吸附检验 (ELISA) 即可检测 *H. pylori*^[14]。

4. 对感染 *H. pylori* 患者的治疗：① 由于 *H. pylori* 具有传染性，其传染途径还不清楚，但患者应注意公共卫生和隔离治疗^[5]。② *H. pylori* 对许多抗生素，抗溃疡因子敏感，例如青霉素、四环素、庆大霉素、头孢噻吩、甲硝唑、硝咪唑、CBS、呋喃唑酮等^[6,11]。可以利用抗生素来治疗 *H. pylori* 相关的胃肠道疾病，例如，CBS 主要用于治疗消化性溃疡病。庆大霉素对伴随 *H. pylori* 感染的十二指肠溃疡有良好的治疗效果，推测上述药物的治疗机理是抗生素等清除了 *H. pylori* 而使炎症消失。

5. *H. pylori* 的生物型及血清型：Kung

等^[25]对一些 *H. pylori* 菌株进行了生化特征的分析，利用其酶活性的特征，综合酯酶 (esterase) (C4)，脂肪酶 (esterase lipase) (C8) 和苯酚-AS-B1-磷酸水解酶 (Naphthol-AS-B1-phosphohydrolase) 三种酶设计了 APIZYM 法将 *H. pylori* 分为 3 个主要的生物型。即生物型 I 型，II 型，III 型。I 型三种酶均为阴性；II 型三种酶均为阳性；III 型：苯酚-AS-B1-磷酸水解酶阳性，酯酶阴性，有的菌株显示脂肪酶阳性。实验结果表明，螺杆菌的酶活性具有地域性且 60% 的菌株属于生物型 I 型，临床研究的患者的致病菌为非生物型 I 型。另据报道，*H. pylori* 分为主要的 6 个血清型^[26]。

(三) 螺杆菌属研究的新进展

螺杆菌属 (*Helicobacter*) 近年不断被扩展，现在已有 6 个种分别从人，灵长类及其它哺乳动物中分离到，分别为幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori* Goodwin et al. 1989 ATCC 43504^T)^[8]，小林猕猴螺杆菌 (*Helicobacter nemestrinae* Bronsdon 1991 ATCC 49179^T)^[27]，猫螺杆菌 (*Helicobacter felis* Paster et al. 1991 ATCC 49179^T)^[28]，鼬螺杆菌 (*Helicobacter mustelae* Goodwin et al. 1989 ATCC 43772^T)^[28]，还有无耻弯曲杆菌 (*Helicobacter cinaedi*)^[29] 和 *Helicobacter Helicobacter fennellinae*^[29] 通过 DNA-rRNA 杂交试验，从 *Campylobacter* 转到 *Helicobacter*。

(四) *Helicobacter pylori* 的培养和保藏

1. *H. pylori* 是人体胃肠的寄生菌，它的最适温度为 37℃，它需要一个微好氧的环境，现应用的培养基中有 EYAA (7.5% 卵黄抗菌素琼脂)、BAA (7.5% 兔血脑心浸液抗菌素琼脂)^[30]、Chocolate 琼脂^[31]，Skirrow 培养基^[32] 等。

2. *H. pylori* 的保藏培养基一般采用下列三种：(1) 50% 卵黄水^[30]，可在 -30℃ 保存 6 个月，100% 成活；室温保存 3 个月，80% 成活。(2) 1% 蛋白胨液 + 25% 甘油^[31]，在 -70℃ 长期保存。(3) 布氏肉汤 + 10% 甘油^[32]，在 -70℃ 长期保存。

3. 用于 *H. pylori* RNA 分离的特殊培养基, 一般采用马血清加上 2% IsoVitales^[8]。

综上所述, 随着医学和分子生物学的发展, 人们将获得对螺杆菌属以及幽门螺杆菌等更新的认识, 从而为治疗人类及其它哺乳动物的胃部炎症等疾病作出贡献。

参 考 文 献

- Marshall B J et al. : *Microbios. Lett.* **25**: 83-88, 1984.
- Marshall B J & C S Goodwin; *Internation Journal of Systematic Bacteriology.* **37** (1): 68, 1981.
- Goodwin C S et al. ; *J. Med. Microbiol.* **19**: 257-267, 1985.
- Goodwin C S et al. ; *Microbios Lett.* **32**: 137-148.
- Dooley C P and H Cohen. ; *Ann. Intern. Med.* **108**: 70-79, 1988.
- Goodwin C S et al. ; *J. Antimicrob. Chemother.* **17**: 309-314, 1989.
- Lau et al. ; *Syst. Appl. Microbiol.* **9**: 231-238, 1986.
- Goodwin C S et al. ; *Internation Journal of Systematic Bacteriology.* **39**: 397-405, 1989.
- 贺茜; *微生物学通报*, **17** (4): 236, 1990.
- 胡伏莲等; *中华内科杂志*. **27**: 721, 1988.
- 胡伏莲等; *中华内科杂志*. **27**: 205, 1988.
- 胡伏莲等; *中华内科杂志*. **29**: 399-402, 1990.
- 杨海涛, 周殿元; *中国流行病学杂志*. **11**: 251-254, 1990.
- 张启波, 张树基, 贾博珍; *中华内科杂志*. **29**: 457-460, 1990.
- Pinkard K J et al. ; *J. Clin. Pathol.* **39**: 112-113, 1986.
- Warren J R et al. ; [Letter] . *Lancet.* **1**: 1273, 1983.
- Gilman R H et al. ; *Dig. Dis. Sci.* **31**: 1089-95, 1986.
- Johnson B J et al. ; [Abstract] . *Gut.* **26**: A597-80, 1985.
- Walters L L et al. ; [Letter] . *Lancet.* **1**: 42, 1986.
- Marshall B J et al. ; *Am. J. Gastroenterol.* **82**: 200-10, 1987.
- Graham D Y et al. ; [Abstract] . *Gastroenterology.* **90**: 1435, 1986.
- Marshall B T et al. ; [Abstract] . *Gastroenterology.* **92**: 1518, 1987.
- 李之桂; *中华流行病学杂志*. **10** (6): 373-376, 1989.
- Husson M O et al. ; *Syst. Appl. Microbiol.* **14**: 295-298, 1991.
- Kung J et al. ; *Med. Microbiol.* **29**: 203-206, 1989.
- Danielsson D et al. ; *Scan. J. Gastroenterol* **23** (Suppl 142): 58, 1988.
- Bronsdon M A; *International Journal of Systematic Bacteriology.* **41**: 148-153, 1991.
- Paster B J et al. ; *International Journal of Systematic Bacteriology.* **41**: 31-38, 1991.
- Vandamme P et al. ; *Internation Journal of Systematic Bacteriology.* **41**: 88-103, 1991.
- 吴开宇; *微生物学通报*, **19** (2): 112-113, 1992.
- Buck G E; *J. Clin. Microbiol.* **25**: 597-599, 1987.
- 王正祥; *微生物学通报*, **18** (2): 118, 1991.

(1992-12-19 收稿)