

ISSN 1009-3079

CN 14-1260/R

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE

JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 9 月 15 日 第 11 卷 第 9 期

(Volume 11 Number 9)



9/2003

ISSN 1009-3079



9 771009 307001

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports®, Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2002 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 2.532. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2003 年 9 月 15 日 第 11 卷

第 9 期 (总第 113 期)

述 评

- 1269 胃肠道肿瘤的影像诊断和介入治疗 程英升, 尚克中
1273 胃食管反流病的内镜缝合治疗 杨云生, 令狐恩强

胃 癌

- 1275 α -连接素表达与胃癌生物学行为的关系 徐采朴, 周永宁, 陈渝
1279 老年人胃癌前黏膜癌变的胃镜随访 王孟薇, 杨少波, 张子其, 祝庆孚, 王刚石, 李晖, 姚晨, 吴本俨, 尤纬缔
1282 内皮抑素-血管内皮细胞抑制因子重组腺病毒对荷胃癌裸鼠的治疗 潘欣, 李喆, 张珉, 王泳, 潘卫, 戚中田
1286 PKC β 1 和 PKC β 2 在早期胃癌中的表达 冯瑞娥, 陈杰, 崔全才, 詹阳, 王振宇
1290 二烯丙基二硫对人胃癌 MGC803 细胞生长的影响 张良运, 凌晖, 苏琦, 宋颖, 梁晓秋
1294 胃黏膜癌变过程中 PTEN 基因编码产物的表达及意义 李异玲, 何向民, 郑华川, 吴东璘, 杨雪飞, 辛彦, 傅宝玉
1297 进展期胃癌病理和预后影响因素的关系 黄海力, 吴本俨, 尤纬缔, 申明识
1302 雌激素诱导基因 PS2/TFF1 在胃癌及癌前病变中的表达 李俊美, 罗和生, 姚宏昌
1306 GSTM1, GSTT1 基因多态与胃腺癌及幽门螺杆菌感染的关联 张友才, 邓长生, 周燕, 朱尤庆
1310 基质金属蛋白酶-7 表达与胃癌临床病理生物学行为的关系 孙晋民, 郑华川, 杨雪飞, 辛彦, 张荫昌
1314 毒物代谢酶基因多态与胃癌的关联 叶梅, 刘君炎, 邓长生
1318 胃癌中医证型相关基因的表达谱 刘莺, 李俊军, 朱文锋, 刘平

肝 癌

- 1322 MUC1 基因免疫抑制 H22 肝癌生长的实验研究 袁时芳, 王岭, 李开宗, 颜真, 韩苇, 张英起
1326 纺锤体组装关卡基因 hsMAD2 在人肝细胞肝癌中的表达及其意义 李擒龙, 王文亮, 张晓晖, 晏伟
1329 GnRH 类似物诱导肝癌细胞凋亡的体外研究 刘庆元, 窦科峰, 张金山, 孙岚, 黄鲁豫, 张远强
1333 bFGF 对人肝癌细胞系 Bel-7402 的生长调控 于卉影, 孙利平, 孙黎光, 丁晓慧
1337 经肝动脉注射 5-FU 白苕微球治疗兔 VX₂ 移植性肝癌 李欣, 冯敦生, 郑传胜, 柳曦, 孔健
1341 KAI1 正反义基因对 MHCC97-H 肝癌细胞 KAI1 蛋白表达的影响 司遂海, 杨建民, 罗元辉, 房殿春, 周平
1345 中药复方胃肠安血清诱导肝癌 SMMC-7721 细胞分化 赵海磊, 刘成, 赵爱光
1349 肝癌患者乙型肝炎病毒 X 基因变异的研究 代志琰, 徐启桓, 李刚, 马会慧, 汤正好, 舒欣, 姚集鲁
1353 复方中药 99-克星超声介入治疗肝癌裸鼠移植瘤凋亡与增生 林晓东, 林礼务, 何以教, 高上达, 杨发端, 薛恩生
1357 羟基磷灰石纳米粒子诱导人肝癌细胞凋亡模型的构建 刘志苏, 唐胜利, 艾中立, 孙权, 钱群, 何跃明, 朱忠超
1362 β -catenin 和 Cyclin D1 在肝癌肝内转移中的作用 苏小康, 赵先明, 李锦清, 崔学教, 谢晓华, 杨海燕, 徐发彬, 石明
1365 DC 负载凋亡肝癌细胞后的免疫应答 郭建巍, 秦力维, 蔡美英, 吕同德
1369 TRAIL 诱导肝癌细胞系 SMMC-7721 的凋亡作用 李小安, 房殿春, 司佩任, 张汝刚, 杨柳芹, 秦建平

大 肠 癌

- 1372 大肠肿瘤组织线粒体形态结构定量研究 吴正蓉, 申洪
1375 IL-4 增强 IL-2 活化的 A-NK 细胞对人直肠癌 CC95 的抗肿瘤作用 王志华, 申宝忠, 史历
1378 人源性大肠癌抗原基因的 SEREX 筛选 刘宇虎, 张振书, 钟东, 武金宝, 但汉雷, 赖卓胜, 王亚东, 张亚历, 肖冰
1382 直肠癌组织 CD44v6, DNA 含量的联合检测及临床意义 丁志杰, 单吉贤, 都姝妍
1385 胃泌素拮抗剂增加 CD 自杀基因对结直肠癌细胞的杀伤作用 王小军, 马庆久, 赖大年, 黎成金, 李金茂, 武永忠, 王青
1389 aFGF 和 genistein 对大肠癌细胞株 CCL229 PKC 及 ERK 活性的影响 尚海, 张颐, 单吉贤

基础 研究

- 1392 牛磺酸对 CCl₄ 诱导的大鼠肝纤维化的保护作用及其机制的研究 梁健, 杨光业, 张锡流, 庞玉生, 袁海峰, 梁劲松, 黄仁彬, 韦新, 韦明
1396 胰腺移植 ICAM-1 的表达及信号转导的因素 梁健, 王凤山, 刘永锋, 刘利民, 刘树荣, 崔宏, 邵春泉, 何三光

临床研究	1399 聚乙二醇 4 000 治疗老年人功能性便秘 85 例 张长青, 张国伟, 张葵玲, 付奕其
焦点论坛	1402 胃肠道肿瘤的影像诊断和介入治疗 程英升 1402 胃肠道肿瘤的 X 线诊断 尚克中, 程英升, 吴春根 1404 胃肠道肿瘤 CT 诊断 吴春根, 程英升, 尚克中 1406 胃肠道肿瘤 MRI 诊断 吴春根, 程英升, 尚克中 1408 胃肠道肿瘤超声诊断 胡兵, 周进祝 1410 胃肠道肿瘤核素诊断 陆汉魁 1413 胃肠道肿瘤血管和非血管双介入治疗 程英升, 尚克中
治疗指南	1416 肝细胞癌的诊断和治疗 陆嵘, 房静远
文献综述	1420 DNA 高甲基化与抑癌基因 刘仲敏, 刘芝华, 吴旻 1425 胃癌供血及其动脉介入化疗的研究进展 沈波, 朱金水 1429 腹膜粘连的分子机制及药物防治 曾健, 李晓辉 1433 肿瘤多药耐药和进展期大肠癌耐药细胞株建立研究进展 姚学清, 林锋 1436 肽转运载体的分子特征 韩飞, 施用晖, 乐国伟, 王立宽 1443 肝星状细胞与肝纤维化的研究进展 蒋业贵, 李兆申 1447 环氧化酶-2 与结直肠癌 姚红兵, 吴爱国, 朱卉娟 1451 幽门螺杆菌疫苗的研究进展 姜政, 黄爱龙, 陶小红, 王丕龙 1457 脂肪酸结合蛋白研究进展 冯爱娟, 陈东风 1460 肝移植后乙型肝炎病毒再感染相关因素的研究进展 王永刚, 王宇明
读者来信	1352 陈祖林 1368 汤伟
消息	1301 欢迎订阅 2004 年度世界华人消化杂志 1332 欢迎订阅 2004 年度 World Journal of Gastroenterology® 1424 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 1450 WJG 搭建我国消化基础 and 临床研究惟一国际交流的平台 1464 世界胃肠病学杂志英文版获得 2003-2004 年国家自然科学基金重点学术期刊专项基金资助
封面故事	巴松湖又名错宗湖, 在藏文里又是绿色湖水的意思, 位于西藏林芝地区工布江达县境内, 该湖湖面海拔 3464 m, 是川藏东部最大的淡水堰塞湖之一。湖水清澈见底, 四周雪山倒映其中, 湖周原始森林密布, 群山环绕, 景美如画。湖中央飘着一座秀丽的湖心小岛, 湖心岛上有一座错宗寺, 建于唐代末年。(马俐 马娜 摄影)。

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(月刊)

创刊 1993-01-15

改刊 1998-01-25

出版 2003-09-15

原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀

黄象谦

黎介寿

刘耕陶

裘法祖

汤钊猷

王宝恩

危北海

吴孟超

吴成中

张金哲

张学庸

赵东海

周殿元

社长总编辑 马连生

中文编辑 潘伯荣

王瑾晖

英文编辑 王先林

排版 李少华

校对 李天华

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会

030001, 山西省太原市双塔西街 77 号

E-mail: wjcd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社

100023, 北京市 2345 信箱

E-mail: wjcd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

电话 (010)85381892

传真 (010)85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内 北京报刊发行局

国外 中国国际图书贸易总公司

(100044, 北京 399 信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部

(100023, 北京市 2345 信箱)

电话: (010)85381892

传真: (010)85381893

2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外

检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》

荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》

俄罗斯《文摘杂志(PJ)》

中国科技论文统计与分析

中国学术期刊文摘

中国中医药信息服务网

中国生物医学文献光盘数据库

《中文科技资料目录(医药卫生)》

中国生物医学期刊目次数据库

中国医学文摘外科学分册(英文版)

中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

ISSN 1009-3079

CN 14-1260/R

邮发代号

82-262

国外代号

M 4481

国内定价

每期 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营许可证

1401004000050

www.wjgnet.com

幽门螺杆菌疫苗的研究进展

姜 政, 黄爱龙, 陶小红, 王丕龙

姜政, 陶小红, 王丕龙, 重庆医科大学第一附属医院消化科 重庆市 400016
黄爱龙, 重庆医科大学肝炎研究所 重庆市 400010
项目负责人: 姜政, 400016, 重庆市渝中区医学院路 1 号, 重庆医科大学第一附属医院消化科. jzho53@mail.china.com.
电话: 023-68891218
收稿日期: 2002-10-18 接受日期: 2002-11-20

摘要

幽门螺杆菌是人类最常见的致病菌,也是人类第一类致癌原,他的感染不但与胃肠道疾病有直接关系,而且与肠外疾病的发生也有重要的关系. Hp感染是一种慢性、持续性感染,通过慢性炎症免疫反应、毒素的释放、炎症递质的增多以及自由基的生成,引起感染局部和远处损害,从而导致或加重了胃肠疾病以及肠道外其他系统的疾病. 近年来,随着对 Hp 致病机制进一步认识,根除 Hp 与胃肠疾病以及胃肠外疾病治疗的关系达成了广泛的共识. 目前根除 Hp 感染虽然有多种有效的药物联合治疗,但同时都存在不同程度的副作用:疗效不稳定、耐药菌株的产生以及难以解决的 Hp 复发等问题,成为了临床上治疗 Hp 相关性疾病的几大障碍. 随着分子生物学技术的发展, Hp 致病机制研究的进一步深入,通过对有效抗原的筛选、抗原释放系统的最佳选择以及基因工程菌株构建的运用,从而为 Hp 疫苗的研究与开发奠定了基础,同时为预防和根除 Hp 的感染逐步变成了现实. 实验证明, Hp 尿素酶、热休克蛋白以及粒细胞激活蛋白等都是有效的抗原成分,配以有效的释放载体,使得实验的动物不同程度地获得了预防和/或根除 Hp 的感染的能力. 现综述近年来 Hp 疫苗研究报道,为 Hp 疫苗的开发和研究进一步提供理论依据.

姜政, 黄爱龙, 陶小红, 王丕龙. 幽门螺杆菌疫苗的研究进展. 世界华人消化杂志 2003;11(8):1451-1456

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1451.asp>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)是上消化道疾病的主要致病菌,他的感染不但与 B 型胃炎、消化性溃疡、MALT 淋巴瘤和胃癌的发生有密切关系^[1-19],而且与肠道外疾病的发生也有重要关系^[20-36],已被世界卫生组织列为胃癌等恶性肿瘤发生的相关致病菌^[37,38]. Hp 在我国普通人群的感染率较高达到 50-80%,并仍以每年 1-2% 的速度增加^[39],每年新增感染病例超过 1 200 万人. 根除 Hp 的感染虽然有多种有效的药物联合治疗,目前采取的方式也很多:比如药物的二联、三联以及四联疗法,既可以达到治疗消化道疾病的目的,

同时也不同程度的根除 Hp 感染. 但近年来,由于抗生素广泛的、大剂量的应用以及滥用,导致耐药菌株的产生;同时出现了一些药物副作用;患者耐受性、依从性以及承受力都受到了挑战. 鉴于此,欲求降低 Hp 感染率及其相关疾病的发生率,不少研究工作者正致力于开发新的 Hp 治疗以及预防方案: Hp 疫苗开发,现将 Hp 疫苗研究进展作一综述.

1 Hp 候选疫苗抗原的选择

候选疫苗的制备必需有效的抗原免疫机体,才能刺激机体产生系统的免疫应答,而后预防机体的感染. 随着 Hp 致病机制研究的深入以及分子生物学技术的发展-基因工程菌株的构建和运用,为有效抗原的筛选提供了有利条件,同时为预防和根除 Hp 感染迈出了关键的一步.

1.1 尿素酶 尿素酶基因是所有 Hp 菌株共同拥有的,编码的蛋白具有很强的尿素酶活性,尿素酶占 Hp 总蛋白量的 6%,他是含有镍离子的金属酶,能够分解尿素为 NH_3 和 CO_2 ,使 Hp 周围 pH 值增高,有利于 Hp 在低的 pH 值环境下生存. 目前发现尿素酶基因大小约为 7.5 kb,共有 9 个读码框(ORF),分别为 UreA、UreB、UreC、UreD、UreE、UreF、UreG、UreH、和 UreI. 其中 UreA、UreB 为尿素酶的两个结构亚单位,具有高度的保守性,是 PCR 检测 Hp 感染常选择的的目的基因以及基因疫苗的候选基因. 实验证明,剔除尿素酶基因表达的 Hp,在无菌乳猪感染模型中, Hp 感染后不能定植于胃内,这充分证明尿素酶的致病作用;而且能激活单核吞噬细胞和刺激炎症细胞因子的产生,介导胃黏膜上皮炎症反应和空泡形成^[40],也导致胃黏膜上皮的增生与凋亡失衡,增生指数(LI)/凋亡指数(AI)明显增高,导致癌前病变的发生,同时在体外仍然对胃上皮细胞有毒力作用. 另外铵离子会干扰胃黏膜的正常 H^+ 反渗,导致组织损伤,细菌过度的生长,硝酸盐降解为亚硝酸盐及亚硝胺而致癌. 因此,尿素酶既是定植因子,又是毒力因子^[41]. 虽然尿素酶对 Hp 的定植和致病起着重要的作用,但由于其主要活性部分位于菌体表面、含量丰富、广泛表达、高度保守、其大分子量和颗粒状结构有利于黏膜免疫接种,因此,尿素酶分子是作为疫苗抗原的合理选择^[42,43]. 同时在体内, Hp 表面具有黏附胞质蛋白的特性,能够将自溶释放的尿素酶黏附到活菌表面,这给 Hp 疫苗的研究又提供了一重要的理论依据.

大量的文献报道,用重组的尿素酶亚单位 B(rUreB)口服免疫预先感染了 Hf 小鼠,结果发现免疫的小鼠不仅彻底清除了 Hf 感染,而且能够预防小鼠再次感染;Kleanthous et al^[44]用重组的尿素酶亚单位 B(rUreB)加上大肠杆菌热不稳定毒素(LT)作为黏膜佐剂免疫小鼠,与对照组相比,结果发现:免疫组胃内 Ure 活性显著降低,且胃黏膜组织 Hp 定量培养显示, Hp 减少 97% 以上; Michetti et al^[45]对口服不同剂量(180 mg、60 mg、20 mg, 4 次/d)的尿素酶与 LT(5 µg)安全性和免疫原性进行了研究,结果发现:所有的志愿者都能够耐受,且能够减少胃内 Hp 的定植,从而减轻了胃炎的程度; Saldinger et al^[46]采用 rUreB 结合霍乱毒素(CT)免疫感染了 Hf BALB/c 小鼠,结果发现免疫 BALB/c 小鼠全部清除了 Hf,进一步研究表明,脾脏 CD4⁺T 细胞增生,血清中 IgG₁ 增加,同时伴随 IL-4 的增高, γ-干扰素的减少,从而推测 rUreB 可能诱导了 Th-2 CD4⁺T 细胞增生,有助于 Hp 的根除.有学者对 Hp 感染志愿者进行了 I - II 期临床实验,用 Ure 结合 LT 免疫后,同样发现 Hp 感染的密度显著减少; Lee et al^[47]对非人灵长类进行的类似研究也表明,通过减少胃内 Hp 的密度,有助于减轻胃炎的程度.然而, Solnick et al^[48]报道,用尿素酶口服和肌肉注射免疫类人猿,而后进行 Hp 攻击,结果发现:虽然能够诱导体液免疫,但是所有给与 Hp 攻击的类人猿都感染了 Hp,而且细菌密度在实验组和对照组中没有统计学差异.上述结果显示, Hp 疫苗有待于进一步研究.为了获得较好的免疫效果,因而建议多种抗原成分联合起来制作疫苗.

1.2 空泡毒素 由 VacA 基因所表达, VacA 基因存在于所有 Hp 菌株的基因组中,目前发现 VacA 至少存在 4 个不同信号区(sla、slb、slc、s2)和 3 个不同的中间区(ml、m2a、m2b). VacA 由一个信号区及一个中间区组成,因此 VacA 有多种不同的组合体.不同的组合体其空泡毒性有极大的差异,因此,导致胃、十二指肠疾病的关系也存在极大的差异.所表达的活性毒素可在 loop 区降解而产生两个分子量分别为 37 kD、58 kD 的亚单位,一般认为, 37 kD 亚单位为 VacA AB 型结构毒素的 A 亚单位,是毒素亚单位;而 58 kD 亚单位则为 B 亚单位,主要是与靶细胞结合的亚单位.在体外,只有 50-60% Hp 产生具有活性的 VacA.研究认为, VacA 毒素能黏附靶细胞,并被靶细胞内化,在细胞内表达而产生空泡作用;也有研究认为, VacA 可能是通过作用于细胞膜上的 Na⁺-K⁺-ATP 酶,影响离子转运而引起细胞的空泡样变性;有文献报道, VacA 毒素能够抑制表皮生长因子(EGF)与其受体的结合,从而引起酪氨酸磷酸化,扰乱了上皮细胞的信号传导,使上皮损害^[49];研究还表明,去毒的空泡毒素(VacA)免疫小鼠,能够使小鼠免受产 VacA 毒素的 Hp 感染. Ghiara et al^[50]应用 rVacA 和 CagA 作为抗原与 LTK63 黏膜佐剂免疫小鼠,结果该疫苗成功地根除了小鼠 Hp 的感染,从而

认为以 VacA 和 CagA 为基础的抗原疫苗对小鼠慢性 Hp 感染具有确切的治疗和预防作用,这为该疫苗应用于人类的临床研究奠定了基础.

1.3 CagA 蛋白 CagA 基因也称为细胞毒素相关基因,其表达产物为 CagA 蛋白.后者为 120-128 kD 高分子的蛋白,是 Hp 产生的另一重要毒力因子.具有 CagA 基因的 Hp 几乎都表达 CagA 蛋白并产生可测的抗体反应.据文献报道, CagA 阳性菌株能够直接或间接(通过 NF-κB)诱导胃上皮细胞 IL-8 的分泌,而 IL-8 在中性粒细胞趋化和激活过程中起重要作用,导致胃黏膜的损伤.动物实验发现, CagA 基因和 CagA 蛋白与胃炎、消化性溃疡、尤其胃癌的发生有良好的相关性^[51].在 CagA 阳性的 Hp 菌株中还发现某些 Hp 染色体上存在特定的 DNA 区域,与致病相关,具有致病岛特征,称之为 Cag 致病岛(pathogenicity island, PAI). Cag PAI 约 4 万 bp 的 DNA 片段,含有 30 多个基因,依次命名为 CagA、CagB、CagC...CagT 等. Cag PAI 部分基因序列与一些已知致病毒力基因序列有高度同源性,所以提示 Cag PAI 是 Hp 主要毒力因子.关于 Cag PAI 多态性、致病性与其疫苗正在探讨中.

1.4 中性白细胞激活蛋白(NAP) NAP 是一种铁蛋白,编码他的 NAPn 基因几乎在所有 Hp 中检测到,但是在体外表达的 NAP,其活性存在很大差异.他能够通过 CD11a/CD18 和 CD11b/CD18 与 ICAM-1 相互作用而使白细胞黏附内皮细胞;选择性地与中性白细胞的酸性糖鞘脂相结合而调节白细胞的功能;与粘蛋白相结合,为 Hp 定植于胃黏膜上皮细胞埋下了伏笔,因此, NAP 在其黏附和致病过程中起重要作用^[52].进一步研究发现, NAP 也是一种 Hp 疫苗的候选抗原, rNAP 免疫小鼠能够使小鼠获得免疫力. Satin et al^[53]采用 Hp NAP 接种小鼠,能够诱导体液免疫,使小鼠对 Hp 具有免疫力,但同时发现 Hp NAP 对淋巴细胞等具有化学趋化作用,导致炎症细胞在 Hp 感染部位聚集,同时激活 NADPH 氧化酶,产生一些氧自由基,导致机体的损害.

1.5 热休克蛋白 60(HSP60) 热休克蛋白家族有 HspA、B、Hsp60、Hsp70 等,研究发现,这些蛋白质中 Hsp60 和 HopZ(Hp outer membrane protein Z)与 Hp 的黏附有关, Hp 热休克蛋白 HspA、HspB,分别同源于大肠杆菌的 GroEs 和 GroEl.体外实验表明,热休克蛋白可增强尿素酶的活性作用,同时与自身免疫性反应相关,这样就有可能产生有害的自身反应性抗体,动物实验还证明,以热休克蛋白喂养小鼠可引起冠状动脉粥样硬化^[54],但用其免疫动物能够使动物获得对 Hp 的免疫力. Todoroki et al^[55]制备了编码热休克蛋白 A、B 的 DNA (pcDNA3.1-hspA 和 pcDNA3.1-hspB)疫苗,对 C57BL 小鼠进行皮下接种,采用 pcDNA3.1-hspA 接种的 C57BL 小鼠产生了 IgG2a, pcDNA3.1-hspB 则产生 IgG1/IgG2a,他们都显著地减少 Hp 在胃内的定植,同时减轻因 Hp 存在的炎症反应.因而,作者认为:以热休克

蛋白为基础的 DNA 疫苗不失为一种有效的 Hp 疫苗.

1.6 黏附蛋白 1993 年, Evans et al 发现, 在 Hp 上存在一种原纤维样血凝素(NLBH)能与红细胞紧密结合, 并通过血凝抑制试验证实 N-乙酰神经氨酸乳糖是其受体的主要成分, 随后克隆了相应的基因 HpaA, 发现基因长度约为 1.4 kb, 存在 3 个读码框(ORF), 其中 ORF₂ 长度为 549 bp, 是 NLBH 的主要结构基因 -HpaA. 后来有学者^[56]提出异议, 认为 HpaA 长为 783 bp, 包含了 Evans 所述的 ORF₂ 和 ORF₃, 编码 2.9 万的蛋白质, 我国学者^[57]通过克隆并序列分析证实 HpaA 长为 783 bp, 编码 261 个氨基酸残基, 在大肠杆菌中表达具有良好的抗原性. Hp 黏附蛋白对 Hp 的定植和致病起着重要的作用. Chen et al^[58]报道, 采用 rHpaA 进行体外实验, rHpaA 能够被 Hp 阳性患者血清识别, 同时能够刺激外周不同的 Th 细胞增生, 更重要的是 rHpaA 能够增加 Th₂ 细胞的比例, 而且发现 rHpaA 和抗 HpaA 能够抑制 Hp 在胃黏膜上黏附. 因此, 作者认为 rHpaA 可能将成为 Hp 一种新的候选抗原. Kim et al^[59]构建重组质粒编码 HpaA 和霍乱毒素 CTXA2B 基因, 在大肠杆菌中表达, 经过纯化口服免疫小鼠, 结果发现: 重组融合蛋白能够提高黏膜的 IgA 以及血清中 IgG 的含量, 同时使 62.5 % 的小鼠具有预防 Hp 感染的能力.

1.7 全菌抗原 Doidge et al 用 Hp 超声粉碎抗原和黏膜免疫佐剂口服免疫小鼠, 使感染的小鼠不仅清除了体内的 Hp, 同时获得了预防 Hp 再感染的能力. 但全菌抗原成分复杂, 副反应多, 而且存在由交叉反应引起一系列不良反应的可能性, 然而用单一的抗原, 免疫原性太弱, 故多采用 2-3 种不同的抗原联合应用以克服上述两种疫苗的不足之处, 以期待获得更广泛地预防和免疫治疗作用的疫苗. Kotloff et al^[60]采用灭活的 Hp 全菌和免疫佐剂口服免疫有或没有临床症状志愿者, 结果发现能够同时诱导黏膜和体液免疫. Goto et al^[61]用全菌超声破碎液加霍乱毒素以不同的剂量口服免疫 C57BL/6, 而后用活的 Hp 进行攻击, 通过对胃黏膜炎症反应程度观察、唾液以及粪便中 IgA 检测、Hp 定植程度等研究, 发现全菌超声破碎液能够刺激黏膜免疫, 使 90-100 % Hp 定植受到了抑制, 所有被保护的小鼠胃黏膜都表达 γ -干扰素, 50 % 小鼠还表达 IL-4、IL-5, 但同时发现免疫后小鼠胃炎程度比免疫前更严重, 作者认为可能与免疫有关. Ikewaki et al^[62]对持续 Hp 感染小鼠进行 Hp 全菌超声破碎液加 CT 免疫, 通过细菌培养、组织学检测, 结果发现: 62.5 % 的小鼠根除了 Hp, 有趣的是单用 CT 免疫的小鼠, 47.1 % 消除了 Hp 的感染, 同时还发现唾液以及粪便中 IgA、胃黏膜 IL-4 表达也是增高的, 这可能与 Th₂ 细胞的激活有关.

2 Hp 候选疫苗佐剂的选择

为了解决蛋白质疫苗普遍存在抗原性弱的问题, 以往常配以黏膜佐剂, 而霍乱毒素(CT)和大肠杆菌热敏毒素(LT)是目前研究最为深入的黏膜免疫佐剂, 可促进

抗原呈递细胞的抗原呈递, 刺激 Th₂ 型黏膜免疫, 活化 Th₂ 细胞免疫途径, 促进上皮细胞内淋巴细胞的有丝分裂和 B 细胞种型分化, 克服了因抗原的免疫耐受而起免疫促进作用. 虽然口服疫苗是一种较为理想的免疫接种途径, 但实验表明, 口服黏膜佐剂可产生不同程度的副作用, CT 可诱生超敏反应以及 LT 的毒力所致腹泻等不耐受症状. 经过不断的探索和研究, 目前开发了更为安全而有效的黏膜免疫佐剂.

2.1 霍乱毒素(cholera toxin, CT) CT 是一种强有力的免疫佐剂, 其作用机制是通过抑制口服抗原的免疫耐受而发挥免疫促进作用, 但由于毒性作用的存在 - 超敏反应等, 使他的应用受到了一定的限制. 研究发现, 具有两个亚基 A₂、B 的 CT, 通过生物学的改造后, 具有毒副作用小的特点, 因而得到了广泛的应用. CT-B 具有增强免疫作用, 目前认为 CT-B 是至今为止最有效最安全的黏膜免疫佐剂之一, 多数研究学者将 CT-B 与 Hp 的重组抗原结合起来免疫小鼠, 可使小鼠获得免疫力.

2.2 大肠杆菌热敏毒素(LT) 目前最受青味的黏膜免疫佐剂是 LT-B, 因为 LT-B 比 CT-B 拥有更可靠的安全性和有效性. 实验发现, 与 Hp 的重组抗原结合, 免疫小鼠几乎不出现副作用. Pizza et al^[63]报道: CT 和 LT 虽然是强的免疫佐剂, 但在人体实验中发现, 具有很大的副作用. 目前, 通过大量的实验研究, 将 LT 的 A 亚单位第 63 位的赖氨酸被丝氨酸取代, 开发出无毒副作用的 LTK63, 以及第 72 位的精氨酸被丙氨酸取代保留了部分酶活性 LTR72, 二者都具有黏膜免疫佐剂的作用, 与有效的抗原一起, 刺激机体产生强的免疫力.

3 Hp 候选疫苗释放系统的选择

某些载体(细菌或质粒), 经过分子生物学改造以后, 具有无比的优越性 - 独特的安全性和免疫佐剂的作用而受到科学家们的关注.

3.1 真核表达载体 pcDNA3.1(+) 核酸疫苗(DNA 疫苗)是 1990 年初发展起来的一种全新的第三代疫苗, 因其不仅能诱导体液免疫及细胞免疫, 而且还具有容易构建与改造, 制备工艺简单等传统疫苗难以比拟的优点, 而受到普遍重视. 据文献报道, 注入的 DNA 可以达到机体的其他部位, 且能被多种细胞摄取 DNA 质粒, 而进入细胞, 这为 DNA 疫苗奠定了基础. pcDNA3.1(+) 作为研究工具, 将 Hp 候选抗原基因克隆至 pcDNA3.1(+), 探讨其在真核细胞表达的情况. 实验结果表明, Hp 候选抗原能在真核细胞中表达, 并能使接种的动物获得对 Hp 的免疫力. 国内外已报道了 Hp UreB 及 HspA2B 核酸疫苗的构建, 初步证明了其免疫原性及免疫保护作用^[65].

3.2 减毒的沙门菌 Koesling et al^[64]采用重组的尿素酶 A、B 的减毒沙门菌(SL3261[pYZ97])单剂量口服免疫 BALB/c、C57BL/6 小鼠, 能够产生持久的免疫力, 攻击实验表明, 重组减毒沙门菌疫苗既能够预防 Hp 感染, 而且能够治疗 Hp 的感染. Bumann et al^[65]研究发现, 尿素酶能够在重组减毒沙门菌 Ty21a(pDB1)中表达, 同时

对9位志愿者和3位志愿者分别接种了Ty21a(pDB1)和Ty21a, 结果发现: 没有严重的副作用发生, 12位志愿者中有10位针对沙门菌产生了体液免疫反应, 3位产生了针对尿素酶的T细胞的免疫反应, 因此作者认为重组减毒沙门菌疫苗是以T细胞介导的保护性的免疫反应. Liao et al^[66]探索了表达Hp过氧化氢酶的减毒沙门菌疫苗(SL3261)的作用, 通过口服, 将其免疫C57BL/6小鼠, 随后给予Hp悉尼菌株攻击, 结果发现: 该疫苗能诱导有效地免疫反应, 预防和治疗Hp的感染. 通过以上实验说明, 减毒沙门菌不仅是一种有效的免疫载体, 而且能刺激细胞免疫和诱导体液免疫.

3.3 乳酸杆菌 研究表明, 乳酸杆菌是肠道的正常菌群, 同时可以作为一种载体表达菌, 它能够表达Hp的各种成分. Lee et al^[67]报道, 通过将Hp尿素酶基因克隆至载体pTREX1, 转染乳酸杆菌, 而后表达尿素酶, 构建了乳酸杆菌MG1363疫苗, 可溶性表达尿素酶, 占菌体总量的6.25%, 以不同剂量、方案口服免疫C57BL/6, 结果发现: 乳酸杆菌MG1363疫苗能够诱导体液免疫而起保护作用.

3.4 卡介苗(BCG) 以往主要用于预防结核菌的感染, 由于是活载体及其独特的安全性和免疫佐剂作用而近来受到科学家们的关注, 经过分子生物学改造以后, 已构建出能在BCG中表达外源基因的大肠杆菌-分枝杆菌穿梭表达质粒. 现研究表明: 重组BCG(rBCG)能够表达IL-12、IFN- γ 、GM-CSF、HCG- β , 且能被机体识别, 可用于人类的生物治疗. 重组BCG技术已经作为一种分子生物学技术广泛用于疫苗、肿瘤、治疗等领域^[68-79]. 具有其他疫苗载体不可比拟的优越性, 即毒副作用小、安全、生产工艺简单, 不需要纯化, 成本低, 本身就是很强的免疫佐剂, 一次性接种, 终身带菌, 可使机体产生长期的细胞免疫和体液免疫, 因而该疫苗是一种理想、高效、特异的疫苗, 他将预防和治疗于一体. 如果外源基因在BCG中过度表达, 还可以通过体外干预的方法终止其过度表达. 目前我们正在构建重组BCG-Hp/OMP, 以期待获得一种理想的疫苗.

4 Hp疫苗的免疫保护机制

目前Hp疫苗诱导机体产生保护性免疫和治疗作用的机制仍不清楚. Saldinger et al^[46]采用rUreB结合霍乱毒素(CT)免疫BALB/c小鼠, 研究发现, 脾脏CD4⁺T细胞增生, 血清中IgG₁增加, 同时伴随IL-4的增高, γ -干扰素的减少, 从而推测rUreB可能诱导了Th₂ CD4⁺T细胞增生, 有助于Hp的根除. Ghiara et al^[50]认为Hp疫苗可能改变了胃内Th₁型应答反应, 通过Th₂或Th₀型起保护性反应, 而Th₁型应答反应产生IFN- γ 、IL-12等细胞因子引起黏膜的损害, 而Th₂或Th₀免疫应答则引起体液免疫反应, 产生S-IgA以及IL-4、IL-10等细胞因子而起免疫保护作用, 也有研究表明^[80], Th₁

型免疫反应同时也参与了免疫保护机制, Th₁和Th₂的平衡协调可能对疫苗的保护机制更为重要. Blanchard et al^[81]报道, 通过对人和动物长期的研究发现, Hp引起内在免疫反应的能力受到宿主基因框架的调节, 也就是说, 机体的免疫状态对Hp根除或者加重Hp所致的胃肠道疾病起了决定性的作用.

5 Hp疫苗的未来

Hp疫苗的研究虽然取得了显著的进展, 预计将有商品化的Hp疫苗进入临床实验, 但是Hp疫苗成功地应用于人类预防和临床治疗尚有许多困难有待解决; 尚有许多工作有待深入: (1)进一步需要阐明人体感染Hp后地免疫应答和疫苗免疫保护机制, 为疫苗的设计及免疫策略提供依据; (2)进一步筛选更为有效的抗原制备疫苗和研制更完善的核酸疫苗; (3)研制更安全有效的疫苗运载释放系统及有效的免疫接种途径; (4)建立更能客观评价疫苗免疫效果的动物模型等. Hp疫苗的研制已成为全球研究的热点, 美国已将其列为21世纪疫苗优先发展的II类项目, 有人预测在2010年代, Hp疫苗将有选择地应用于人群的预防和临床治疗.

6 参考文献

- 1 Nakamura S, Matsumoto T, Suekane H, Takeshita M, Hizawa K, Kawasaki M, Yao T, Tsuneyoshi M, Iida M, Fujishima M. Predictive value of endoscopic ultrasonography for regression of gastric low grade and high grade MALT lymphomas after eradication of *Helicobacter pylori*. *Gut* 2001;48:454-460
- 2 Hiyama T, Haruma K, Kitadai Y, Masuda H, Miyamoto M, Ito M, Kamada T, Tanaka S, Uemura N, Yoshihara M, Sumii K, Shimamoto F, Chayama K. Clinicopathological features of gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma: a comparison with diffuse large B-cell lymphoma without a mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma component. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:734-739
- 3 Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M, Taniyama K, Sasaki N, Schlemper RJ. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001;345:784-789
- 4 Kate V, Ananthakrishnan N, Badrinath S. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on the ulcer recurrence rate after simple closure of perforated duodenal ulcer: retrospective and prospective randomized controlled studies. *Br J Surg* 2001;88:1054-1058
- 5 Xue FB, Xu YY, Wan Y, Pan BR, Ren J, Fan DM. Association of *H. pylori* infection with gastric carcinoma: a Meta analysis. *World J Gastroenterol* 2001;7:801-804
- 6 Xia HX, Fan XG, Talley NJ. Clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* and its clinical relevance. *World J Gastroenterol* 1999;5:263-266
- 7 Peng ZS, Liang ZC, Liu MC, Ou-Yang NT. Studies on gastric epithelial cell proliferation and apoptosis in Hp associated gastric ulcer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999; 7:218-219
- 8 Xiao SD, Liu WZ. Current status in treatment of Hp infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:3-4
- 9 Meyer JM, Silliman NP, Dixon CA, Siepmann NY, Sugg JE, Hopkins RJ. *Helicobacter pylori* and early duodenal ulcer status post-treatment: a review. *Helicobacter* 2001;6:84-92
- 10 Casella G, Buda CA, Maisano R, Schiavo M, Perego D, Baldini V. Complete regression of primary gastric MALT-lymphoma after double eradication *Helicobacter pylori* therapy: role and importance of endoscopic ultrasonography. *Anticancer Res* 2001;21(2B):1499-1502
- 11 Hurenkamp GJ, Grundmeijer HG, Van Der Ende A, Tytgat

- GN, Assendelft WJ, Van Der Hulst RW. Arrest of chronic acid suppressant drug use after successful *Helicobacter pylori* eradication in patients with peptic ulcer disease: a six-month follow-up study. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:1047-1054
- 12 Guo CQ, Wang YP, Liu GY, Ma SW, Ding GY, Li JC. Study on *Helicobacter pylori* infection and p⁵³, c-erbB-2 gene expression in carcinogenesis of gastric mucosa. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:313-315
- 13 Hiyaama T, Haruma K, Kitadai Y, Masuda H, Miyamoto M, Ito M, Kamada T, Tanaka S, Uemura N, Yoshihara M, Sumii K, Shimamoto F, Chayama K. Clinicopathological features of gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma: a comparison with diffuse large B-cell lymphoma without a mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma component. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:734-739
- 14 Hu PJ. Hp and gastric cancer: challenge in the research. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:1-2
- 15 Quan J, Fan XG. Progress in experimental research of *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:1068-1069
- 16 Delchier JC, Lamarque D, Levy M, Tkoub EM, Copie-Bergman C, Deforges L, Chaumette MT, Haioun C. *Helicobacter pylori* and gastric lymphoma: high seroprevalence of CagA in diffuselarge B-cell lymphoma but not in low-grade lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:2324-2328
- 17 Morgner A, Miehlke S, Fischbach W, Schmitt W, Muller-Hermelink H, Greiner A, Thiede C, Schetelig J, Neubauer A, Stolte M, Ehninger G, Bayerdorffer E. Complete remission of primary high-grade B-cell gastric lymphoma after cure of *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Oncol* 2001;19:2041-2048
- 18 Zhang XQ, Lin SR. Progress in research on the relationship between Hp and stomach cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:206-207
- 19 Hua JS. Effect of Hp: cell proliferation and apoptosis on stomach cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:647-648
- 20 Armitage GC. Periodontal infections and cardiovascular disease-how strong is the association? *Oral Dis* 2000;6:335-350
- 21 Tsai CJ, Huang TY. Relation of *Helicobacter pylori* infection and angiographically demonstrated coronary artery disease. *Dig Dis Sci* 2000;45:1227-1232
- 22 Gocyk W, Niklinski T, Olechnowicz H, Duda A, Bielanski W, Konturek PC, Konturek SJ. *Helicobacter pylori*, gastrin and cyclooxygenase-2 in lung cancer. *Med Sci Monit* 2000;6:1085-1092
- 23 Tsang KW, Lam WK, Kwok E, Chan KN, Hu WH, Ooi GC, Zheng L, Wong BC, Lam SK. *Helicobacter pylori* infection and upper gastrointestinal symptoms in bronchiectasis. *Eur Respir J* 1999; 14:1345-1350
- 24 Caselli M, Zaffoni E, Ruina M, Sartori S, Trevisani L, Ciaccia A, Alvisi V, Fabbri L, Papi A. *Helicobacter pylori* and chronic bronchitis. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:828-830
- 25 Dauden E, Jimenez Alonso I, Garcia Diez A. *Helicobacter pylori* and idiopathic chronic urticaria. *Int J Dermatol* 2000;39:446-452
- 26 Ojetti V, Armuzzi A, De-Luca A, Nucera E, Franceschi F, Candelli M, Zannoni GF, Danese S, Di-Caro S, Vastola M, Schiavino D, Gasbarrini G, Patriarca G, Pola P, Gasbarrini A. *Helicobacter pylori* infection affects eosinophilic cationic protein in the gastric juice of patients with idiopathic chronic urticaria. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;125:66-72
- 27 Vainio E, Huovinen S, Liutu M, Uksila J, Leino R. Peptic ulcer and *Helicobacter pylori* in patients with lichen planus. *Acta Derm Venereol* 2000;80:427-429
- 28 Szlachcic A, Sliowski Z, Karczewska E, Bielanski W, Pytko-Polonczyk J, Konturek SJ. *Helicobacter pylori* and its eradication in rosacea. *J Physiol Pharmacol* 1999;50:777-786
- 29 Avci O, Ellidokuz E, Simsek I, Buyukgebiz B, Gunes AT. *Helicobacter pylori* and Behcet's disease. *Dermatology* 1999; 199:140-143
- 30 Yazawa N, Fujimoto M, Kikuchi K, Kubo M, Ihn H, Sato S, Tamaki T, Tamaki K. High seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in patients with systemic sclerosis: association with esophageal involvement. *J Rheumatol* 1998;25:650-653
- 31 Emilia G, Longo G, Luppi M, Gandini G, Morselli M, Ferrara L, Amarri S, Cagossi K, Torelli G. *Helicobacter pylori* eradication can induce platelet recovery in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2001;97:812-814
- 32 Parkinson AJ, Gold BD, Bulkow L, Wainwright RB, Swaminathan B, Khanna B, Petersen KM, Fitzgerald MA. High prevalence of *Helicobacter pylori* in the Alaska native population and association with low serum ferritin levels in young adults. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000;7:885-888
- 33 Konno M, Muraoka S, Takahashi M, Imai T. Iron-deficiency anemia associated with *Helicobacter pylori* gastritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;31:52-56
- 34 Annibale B, Lahner E, Bordini C, Martino G, Caruana P, Grossi C, Negrini R, Delle-Fave G. Role of *Helicobacter pylori* infection in pernicious anaemia. *Dig Liver Dis* 2000;32:756-762
- 35 Choe YH, Kwon YS, Jung MK, Kang SK, Hwang TS, Hong YC. *Helicobacter pylori*-associated iron-deficiency anemia in adolescent female athletes. *J Pediatr* 2001;139:100-104
- 36 Kaptan K, Beyan C, Ural AU, Cetin T, Avcu F, Gulsen M, Finci R, Yalcin A. *Helicobacter pylori*-is it a novel causative agent in Vitamin B12 deficiency? *Arch Intern Med* 2000;160: 1349-1353
- 37 Suganuma M, Kurusu M, Okabe S, Sueoka N, Yoshida M, Wakatsuki Y, Fujiki H. *Helicobacter pylori* membrane protein 1: a new carcinogenic factor of *Helicobacter pylori*. *Cancer Res* 2001; 61:6356-6359
- 38 Sheng T, Zhang JZ. Current situation on studies of Hp urease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:881-884
- 39 Li MF, Li Z, Ma AY, Zhao JH, Sun JX, Yu SZ, Wu XP. Cloning, expression and immunogenicity of Hp UreB gene. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:596-600
- 40 Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:720-741
- 41 Nakamura H, Yoshiyama H, Takeuchi H, Futagami S, Nakagawa Y, Senpuku H, Kobayashi M, Takahashi H. Urease plays an important role in the chemotactic motility of *Helicobacter pylori* in a viscous environment. *Infect Immun* 1998;66:4832-4837
- 42 Dieterich C, Bouzourene H, Blum AL, Corthesy-Theulaz IE. Urease-based mucosal immunization against *Helicobacter heilmannii* infection induces corpus atrophy in mice. *Infect Immun* 1999;67:6206-6209
- 43 Liu X, Hu J, Zhang X, Fan D. Oral immunization of mice with attenuated *Salmonella typhimurium* expressing *Helicobacter pylori* urease B subunit. *Chin Med J* 2002;115:1513-1516
- 44 Kleanthous H, Myers G, Georgakopoulos K, Tibbitts T, Ingrassia JW, Gray HL, Ding RU, Zhang ZZ, Lei W, Nichols R, Lee CK, Ermak TH, Monath TP. Rectal and intranasal immunizations with recombinant urease induce distinct local and serum immune responses in mice and protect against *Helicobacter pylori* infection. *Infect Immune* 1998;66:2879-2886
- 45 Michetti P, Kreiss C, Kotloff K, Porta N, Blanco J, Bachmann D, Herranz M, Saldinger PF, Corthesy-theulaz IE, Losonsky G, Nichols R, Simon J, Stolte M, Ackerman S, Monath TP, Blum AL. Oral immunization with urease and escherichia coli heat-labile enterotoxin is safe and immunogenic in *Helicobacter pylori*-infected adults. *Gastroenterology* 1999;116:804-812
- 46 Saldinger PF, Porta N, Launois P, Louis JA, Waanders GA, Bouzourene H, Michetti P, Blum AL, Corthesy-Theulaz IE. Immunization of Balb/c mice with *Helicobacter urease B* induces a Thelper 2 response absent in *Helicobacter* infection. *Gastroenterology* 1998;115:891-897
- 47 Lee CK, Soike K, Hill J, Georgakopoulos K, Tibbitts T, Ingrassia J, Gray H, Boden J, Kleanthous H, Giannasca P, Ermak T, Weltzin R, Blanchard J, Monath TP. Immunization with recombinant *Helicobacter pylori* urease decreases colonization levels following experimental infection of rhesus monkeys. *Vaccine* 1999;17:1493-1505
- 48 Solnick JV, Canfield DR, Hansen LM, Torabian SZ. Immunization with recombinant *Helicobacter pylori* urease in specific-pathogen-free rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Infect Immun* 2000;68:2560-2565
- 49 侯鹏, 许国铭, 屠振兴. 幽门螺杆菌 VacA 基因分型与毒素活性关

- 系的研究进展. 国外医学·消化系疾病分册 1999;19:139-141
- 50 Ghiara P, Rossi M, Marchetti M, Di Tommaso AD, Vindigni C, Ciampolini F, Covacci A, Telford JL, De Magistris MT, Pizza M, Rappuoli R, Del Giudice G. Therapeutic intragastric vaccination against *Helicobacter pylori* in mice eradicates an otherwise chronic infection and confers protection against reinfection. *Infect Immun* 1997;65:4996-5002
 - 51 Hou P, Tu ZX, Xu GM, Gong YF, Ti XH, Li ZS. *Helicobacter pylori* VacA genotypes and CagA status and their relationship to associated diseases. *World J Gastroenterol* 2000;6:605-607
 - 52 杨艺, 邓长生. 幽门螺杆菌黏附于胃黏膜的机制. 国外医学·消化系疾病分册 2000;20:79-82
 - 53 Satin B, Del Giudice G, Della Bianca V, Dusi S, Laudanna C, Tonello F, Kelleher D, Rappuoli R, Montecucco C, Rossi F. The neutrophil-activating protein (HP-NAP) of *Helicobacter pylori* is a protective antigen and a major virulence factor. *J Exp Med* 2000;191:1467-1476
 - 54 Metzler B, Mayr M, Dietrich H, Singh M, Wiebe E, Xu Q, Wick G. Inhibition of arteriosclerosis by T-cell depletion in normocholesterolemic rabbits immunized with heat shock protein 65. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:1905-1911
 - 55 Todoroki I, Joh T, Watanabe K, Miyashita M, Seno K, Nomura T, Ohara H, Yokoyama Y, Tochikubo K, Itoh M. Suppressive effects of DNA vaccines encoding heat shock protein on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;277:159-163
 - 56 Jones AC, Logan RP, Foyne S, Cockayne A, Wren BW, Penn CW. A flagellar sheath protein of *Helicobacter pylori* is identical to HpaA, a putative N-acetylneuraminylactose-binding hemagglutinin, but is not an adhesin for AGS cells. *J Bacteriol* 1997;179:5643-5647
 - 57 Chen Y, Zhang ZS, Wang JD, Zhou DY. Cloning and expression of adhesion gene hpaA of *Helicobacter pylori*. *J First Mil Med Univ* 2000;20:210-213
 - 58 Chen Y, Wang J, Shi L. In vitro study of the biological activities and immunogenicity of recombinant adhesin of *Helicobacter pylori* rHpaA. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2001;81:276-279
 - 59 Kim BO, Shin SS, Yoo YH, Pyo S. Peroral immunization with *Helicobacter pylori* adhesin protein genetically linked to cholera toxin A2B subunits. *Clin Sci (Lond)* 2001;100:291-298
 - 60 Kotloff KL, Sztein MB, Wasserman SS, Losonsky GA, DiLorenzo SC, Walker RI. Safety and immunogenicity of oral inactivated whole-cell *Helicobacter pylori* vaccine with adjuvant among volunteers with or without subclinical infection. *Infect Immun* 2001;69:3581-3590
 - 61 Goto T, Nishizono A, Fujioka T, Ikewaki J, Mifune K, Nasu M. Local secretory immunoglobulin A and postimmunization gastritis correlate with protection against *Helicobacter pylori* infection after oral vaccination of mice. *Infect Immun* 1999;67:2531-2539
 - 62 Ikewaki J, Nishizono A, Goto T, Fujioka T, Mifune K. Therapeutic oral vaccination induces mucosal immune response sufficient to eliminate long-term *Helicobacter pylori* infection. *Microbiol Immunol* 2000;44:29-39
 - 63 Pizza M, Giuliani MM, Fontana MR, Monaci E, Douce G, Dougan G, Mills KH, Rappuoli R, Del Giudice G. Mucosal vaccines: non toxic derivatives of LT and CT as mucosal adjuvants. *Vaccine* 2001;19:2534-2541
 - 64 Koesling J, Lucas B, Develiglou L, Aebischer T, Meyer TF. Vaccination of mice with live recombinant *Salmonella typhimurium* aroA against *H. pylori*: parameters associated with prophylactic and therapeutic vaccine efficacy. *Vaccine* 2001;20:413-420
 - 65 Bumann D, Metzger WG, Mansouri E, Palme O, Wendland M, Hurwitz R, Haas G, Aebischer T, von Specht BU, Meyer TF. Safety and immunogenicity of live recombinant *Salmonella enterica* serovar Typhi Ty21a expressing urease A and B from *Helicobacter pylori* in human volunteers. *Vaccine* 2001;20:845-852
 - 66 Liao W, Chen M, Zhu S. Construction of attenuated *Salmonella typhimurium* vaccine strain expressing *Helicobacter pylori* catalase and observation on its protective immunity. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2001;81:613-616
 - 67 Lee MH, Roussel Y, Wilks M, Tabaqchali S. Expression of *Helicobacter pylori* urease subunit B gene in *Lactococcus lactis* MG1363 and its use as a vaccine delivery system against *H. pylori* infection in mice. *Vaccine* 2001;19:3927-3935
 - 68 Kawahara M, Hashimoto A, Toida I, Honda M. Oral Recombinant mycobacterium bovis bacillus calmette-guerin expressing HIV-1 antigens as a freeze-dried vaccine induces long-term, HIV-specific mucosal and systemic immunity. *Clin Immunol* 2002;105:326-331
 - 69 Kawahara M, Matsuo K, Nakasone T, Hiroi T, Kiyono H, Matsumoto S, Yamada T, Yamamoto N, Honda M. Combined intrarectal/intradermal inoculation of recombinant mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin (BCG) induces enhanced immune responses against the inserted HIV-1 V3 antigen. *Vaccine* 2002;21:158-166
 - 70 Young SL, O'Donnell MA, Buchan GS. IL-2-secreting recombinant bacillus calmette guerin can overcome a Type 2 immune response and corticosteroid-induced immunosuppression to elicit a Type 1 immune response. *Int Immunol* 2002;14:793-800
 - 71 Young S, O'Donnell M, Lockhart E, Buddle B, Slobbe L, Luo Y, De Lisle G, Buchan G. Manipulation of immune responses to Mycobacterium bovis by vaccination with IL-2- and IL-18-secreting recombinant bacillus calmette guerin. *Immunol Cell Biol* 2002;80:209-215
 - 72 Zheng C, Xie P, Chen Y. Recombinant Mycobacterium bovis BCG producing the circumsporozoite protein of Plasmodium falciparum FCC-1/HN strain induces strong immune responses in BALB/c mice. *Parasitol Int* 2002;51:1-7
 - 73 Mederle I, Bourguin I, Ensergueix D, Badell E, Moniz-Peireira J, Gicquel B, Winter N. Plasmidic versus insertional cloning of heterologous genes in Mycobacterium bovis BCG: impact on in vivo antigen persistence and immune responses. *Infect Immun* 2002;70:303-314
 - 74 Zheng C, Xie P, Chen Y. Immune response induced by recombinant BCG expressing merozoite surface antigen 2 from Plasmodium falciparum. *Vaccine* 2001;20:914-919
 - 75 Chujoh Y, Matsuo K, Yoshizaki H, Nakasatomi T, Someya K, Okamoto Y, Naganawa S, Haga S, Yoshikura H, Yamazaki A, Yamazaki S, Honda M. Cross-clade neutralizing antibody production against human immunodeficiency virus type 1 clade E and B' strains by recombinant Mycobacterium bovis BCG-based candidate vaccine. *Vaccine* 2001;20:797-804
 - 76 Hiroi T, Goto H, Someya K, Yanagita M, Honda M, Yamanaka N, Kiyono H. HIV mucosal vaccine: nasal immunization with rBCG-V3J1 induces a long term V3J1 peptide-specific neutralizing immunity in Th1- and Th2-deficient conditions. *J Immunol* 2001;167:5862-5867
 - 77 Ohara N, Matsuoka M, Nomaguchi H, Naito M, Yamada T. Protective responses against experimental Mycobacterium leprae infection in mice induced by recombinant Bacillus Calmette-Guerin over-producing three putative protective antigen candidates. *Vaccine* 2001;19:1906-1910
 - 78 Luo Y, Chen X, Szilvasi A, O'Donnell MA. Co-expression of interleukin-2 and green fluorescent protein reporter in mycobacteria: in vivo application for monitoring antimicrobial immunity. *Mol Immunol* 2000;37:527-536
 - 79 Miyaji EN, Mazzantini RP, Dias WO, Nascimento AL, Marcovistz R, Matos DS, Raw I, Winter N, Gicquel B, Rappuoli R, Leite LC. Induction of neutralizing antibodies against diphtheria toxin by priming with recombinant Mycobacterium bovis BCG expressing CRM(197), a mutant diphtheriatoxin. *Infect Immun* 2001;69:869-874
 - 80 Guy B, Hessler C, Fourage S, Haensler J, Vialon-Lafay E, Rokbi B, Millet MJ. Systemic immunization with urease protects mice against *Helicobacter pylori* infection. *Vaccine* 1998;16:850-856
 - 81 Blanchard TG, Czinn SJ, Nedrud JG. Host response and vaccine development to *Helicobacter pylori* infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 1999;241:181-213



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

