

幽门螺杆菌感染在肝癌发生中的潜在作用

范学工, 黄燕

范学工, 黄燕, 中南大学湘雅医院感染病科, 湖南省长沙市 410008
范学工, 男, 1957-11-6 生, 湖南长沙人, 汉族, 博士, 教授, 博士生导师, 现为湘雅医院副院长. 先后承担国家自然科学基金一项, 卫生部、教育部和湖南省自然科学基金 10 项. 主要从事螺杆菌相关性疾病和病毒性肝炎研究.
国家自然科学基金资助, No. 30271171
教育部优秀骨干教师基金资助, No. 2000-65
湖南省自然科学基金资助, No. 01jyy2114
湖南省卫生厅科研基金资助, No. 00022
项目负责人: 范学工, 410008, 湖南省长沙市湘雅路 87 号, 中南大学湘雅医院. xgfan@hotmail.com
收稿日期: 2004-12-27 接受日期: 2005-01-05

关键词: 幽门螺杆菌; 肝癌

范学工, 黄燕. 幽门螺杆菌感染在肝癌发生中的潜在作用. 世界华人消化杂志 2004;13(2):160-162
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/160.asp>

0 引言

在众多螺杆菌的研究中, 幽门螺杆菌(*H pylori*)一直是研究的热点. 过去十几年中, 对于 *H pylori* 的致病性研究主要集中在胃肠相关疾病的领域, 如慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌以及胃淋巴瘤等^[1-2]. 随着对 *H pylori* 的深入研究, 发现 *H pylori* 与胃肠外疾病也有关^[3]. 在与 *H pylori* 相关的胃肠外疾病中, 研究者们陆续在慢性肝、胆疾病及肝癌患者的肝组织中检测到 *H pylori* 的存在^[4-7], 认为 *H pylori* 可能作为独立的或辅助的致病因素导致肝脏病变.

1 螺杆菌感染与肝脏疾病

近年来, 螺杆菌感染与人和动物肝、胆、肠疾病的关系愈来愈引起相关领域学者们的兴趣和重视. 在迄今为止发现的 20 种已正式命名的螺杆菌中, 至少有 5 种螺杆菌与某些动物肝脏疾病有明确关系^[8-9]: 如幼禽螺杆菌(*H pullorum*)与鸡肝炎有关;胆汁螺杆菌(*H bilis*)与小鼠的慢性多灶性肝炎相关;胆囊螺杆菌(*H cholecystus*)与仓鼠的胰腺炎和胆管炎发生有关;犬螺杆菌(*H canis*)与狗的肝炎相关. 特别是 1994 年美国学者 Fox *et al* 从小鼠分离发现的肝螺杆菌(*H hepaticus*), 现已证实是鼠等啮齿类动物慢性肝炎、肝硬化和肝癌发生的病原因子之一, 给健康小鼠胃内灌注 *H hepaticus* 悬液, 已成功复制出动物慢性肝炎和肝癌. 目前实验感染 *H hepaticus* 所致的小鼠肝癌已成为国外若干实验室研究癌变机制的动物模型^[10].

2 *H pylori* 感染与肝癌

早期的流行病学调查发现, HBV、HCV 感染者的 *H pylori* IgG 抗体阳性率明显高于正常对照者. 我们^[11]研究了 96 例慢性乙肝患者的 *H pylori* 感染情况, 结果显示乙肝患者的感染率为 57.3%, 显著高于对照组的 42.3%. 其中 HBeAg 和/或 HBV-DNA 阳性者的 *H pylori* 感染率更高达 75.6%, 提示有 *H pylori* 感染的乙肝患者病毒复制更加活跃. Pellicano *et al*^[12]研究了 254 例慢性丙肝并肝硬化患者的 *H pylori* 感染情况, 同样发现 *H pylori* 抗体的阳性率(89%)要显著高于对照组(59%). 这也许可以解释为何慢性肝炎患者的消化性溃疡发生率要高于正常对照组, 但同时也提示 *H pylori* 可能作为直接或辅助的致病因素参与了慢性肝炎的发生.

我国肝癌的病因主要为 HBV 和 HCV 感染, 除黄曲霉素、一些化学致癌物、寄生虫感染等其他因素以外, 还有 10% 左右的肝癌患者发病原因不明. 随着螺杆菌致肝脏疾病研究的不断深入, *H pylori* 与肝癌的关系也开始受到研究者们关注. Avenaud *et al*^[13]最先报道应用聚合酶链反应(PCR)在 8 例原发性肝癌或肝内胆管癌标本中发现了螺杆菌 16S rRNA 基因的存在, 测序证明与 *H pylori* 有 97-99% 的同源性, 而对照肝组织仅 1 例阳性. 随后 Nilsson *et al*^[14]用相同的方法检测了切除的胆管癌及原发性肝癌肿块周围的肝组织, 结果发现, 16 例原发性肝癌组织有 12 例螺杆菌 16S rRNA 基因阳性, 14 例胆管癌组织有 10 例阳性, 而作为对照的 20 例肝转移癌无一例阳性. 测序证实与 *H pylori* 或 Hepatic *Helicobacter* Species 的同源性最高. 我们用石炭酸-碱性品红染色法回顾性调查了肝癌(24 例)、肝硬化(9 例)、慢性乙肝(10 例)的肝组织中细菌的感染情况. 结果在 50% 的肝癌组织中发现有弯曲状或杆状细菌存在^[15], 提取组织 DNA 后行 PCR 扩增, 产物测序分析同样与 *H pylori* 有 99-100% 的同源性^[16-17]. 在新鲜肝癌组织中的研究亦发现, 40% (8/20) 的原发性肝癌患者的肝组织螺杆菌 16S rRNA 基因阳性, 其对应的癌旁组织大部分亦阳性(7/8), 6 例测序表明, 其与 *H pylori* 的 16S rRNA 基因的同源性高达 98.5-99.0%. 阳性标本中 *H pylori* 的种特异性抗原基因 26 ku 大部分亦阳性(7/8)^[18-20], 并且用免疫

组织化学染色法可在肝癌组织中观察到 *H pylori* 的存在^[21]. de Magalhães Queiroz *et al*^[22] 从1例肝豆状核变性患者的肝硬化标本中分离出的1株螺杆菌菌株, PCR产物序列分析显示该螺杆菌菌株的16Sr DNA与 *H pylori* 有99.38%的同源性, 并且经过形态特征、生化反应等鉴定认为该菌株就是 *H pylori*. 这些研究表明, *H pylori* 不仅能定植于人类的胃黏膜, 同样亦能定植于人类的肝组织.

3 *H pylori* 进入肝组织的可能途径

人类感染 *H pylori* 主要是经口-口、粪-口、内窥镜等途径传播, 一般情况下 *H pylori* 定居于胃黏膜. *H pylori* 是通过何种途径到达肝脏? 既往曾认为 *H pylori* 不能在胆汁中生存, 但研究者们陆续在胆汁、胆囊黏膜、胆结石核心、肝组织中检测到了 *H pylori* 的存在^[4-6, 23], 其他螺杆菌属(*H bilis*, *H pullorum*)亦有在胆道系统中检出. 我研究组也发现 *H pylori* 经诱导可耐受一定浓度的胆汁^[24], 提示 *H pylori* 可通过胆道逆行至肝脏. 螺杆菌菌血症早有报道, 如已在败血症患者的血液中分离出 *H cinaedi*, *H fennelliae*, *H westmeadii* 等^[25-28], 而 *H pylori* 亦有可能导致菌血症, Danesh *et al*^[29] 采用PCR法检测了经动脉内膜切除的颈动脉粥样瘤标本, 发现该标本中存在 *H pylori* DNA. Farsak^[30] 和 Ameriso *et al*^[31] 采用同样的方法在动脉粥样硬化斑块中检测出了 *H pylori* DNA, 这提示 *H pylori* 可以通过菌血症这一途径到达肝脏.

4 *H pylori* 导致肝细胞病变或癌变的机制

肝组织中 *H pylori* 存在的意义如何, 他是肝癌的直接致病因素, 辅助致病因素, 还是与肝癌的发生无关? 原发性肝癌能导致肝内胆汁淤积, 这有利于 *H pylori* 的继发定植; 或者, *H pylori* 感染参与了原发性肝癌的发生, 正如 *H hepaticus* 能引起小鼠肝癌一样. 如果 *H pylori* 在肝癌的发生中起作用, 可能的机制又有哪些呢? *H pylori* 定植在胃黏膜上后, 能导致胃黏膜发生炎症、溃疡甚至癌变. *H pylori* 可能通过同样的机制导致某些遗传易感的个体发生肝癌. 我们的研究发现 *H pylori* 有致肝细胞病变的作用, 将 *H pylori* 与 HepG2 共同培养, HepG2 细胞形态发生改变, 由贴壁的梭形变为圆形, 贴壁细胞减少, 悬浮细胞增多, 并在细胞周围出现碎片, 培养细胞的上清液出现转氨酶(ALT)和乳酸脱氢酶(LDH)的增高, 并且肝细胞的凋亡增加^[32-33]. 已有研究表明, *H pylori* 可引起胃上皮细胞和胆管上皮细胞的增生, 使胃上皮细胞的COX-2和Bcl-2的表达增加, 当有胆汁存在时, 这种作用更加明显^[34-36]. *H pylori* 能否引起肝细

胞的增生或相关癌基因的表达改变? 我们的研究发现, *cagA*+ *H pylori* 能够不同程度地上调体外培养肝细胞的细胞周期素D1(cyclin D1)及增生细胞核抗原(PCNA)这两种基因的表达, 说明 *H pylori* 可以通过推动细胞周期以及增加内源性增生相关性抗原的表达来引起肝细胞增生动力学的异常^[37]. *c-fos* 原癌基因是目前研究较多的早期快反应基因, 该基因在生理情况下表达水平很低, 在多种恶性肿瘤中 *c-fos* 原癌基因表达明显升高. 研究表明, 从正常肝到肝硬化、肝癌有一个 *c-fos* 逐渐增多的趋势, 该基因参与了肝硬化和癌变的全过程^[38, 39]. 我们研究发现 *cagA*+ *H pylori* 可诱导 HepG2 *c-fos* mRNA 和蛋白质表达升高, 提示 *H pylori* 的 *cagA* 毒力因子在肝癌的发生上可能起一定作用^[40].

5 展望

H pylori 作为人消化性溃疡、慢性胃炎的主要病因已被确认, 其与胃癌及胃黏膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤的密切关系亦为许多研究所肯定. 1994年世界卫生组织将 *H pylori* 列为第一类(即肯定的)致癌因子, 人类也第一次将细菌感染与癌症的发生联系起来. 正如某些螺杆菌能导致动物的慢性肝炎及肝癌, 螺杆菌是否能定植于人类的肝脏并引起慢性肝炎, 甚至肝癌呢? 为明确 *H pylori* 或其他螺杆菌属在肝癌发生中的作用, 还需进行大量的研究工作, 包括进一步寻找肝组织中螺杆菌存在的证据, 螺杆菌属细菌对肝细胞的细胞毒作用, 螺杆菌对肝胆系统细胞的细胞动力学影响等. 尤其重要的是要从肝组织中分离培养出螺杆菌, 并用分离出的螺杆菌建立相应的肝损伤的动物模型, 这对确认螺杆菌感染与肝癌发生之间的关系至关重要. 另外, 有必要通过前瞻性的研究来评价螺杆菌感染在原发性肝癌发生过程中的其他的潜在的共同致病因子, 特别是存在HBV和HCV感染的情况下.

为研究危险因素不明的慢性肝病(包括原发性肝癌)的确切的致病因素, 许多研究工作有待完成, 包括新肝炎病毒的寻找. 虽然螺杆菌感染与原发性肝癌之间的确切关系需更多的实验去证实, 有些研究已经提示螺杆菌可能是肝癌发生的一个新的病原因子. 随着这一领域研究的进展, 螺杆菌在原发性肝癌疾病发生学上的地位终将明确, 并为将来用抗菌素或疫苗来防治这类疾病提供可能.

6 参考文献

- 1 Wang RT, Wang T, Chen K, Wang JY, Zhang JP, Lin SR, Zhu YM, Zhang WM, Cao YX, Zhu CW, Yu H, Cong YJ, Zheng S, Wu BQ. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer: evi-

- dence from a retrospective cohort study and nested case-control study in China. *World J Gastroenterol* 2002;8:1103-1107
- 2 Xia HHX, Lam SK, Wong WM, Hu WHC, Lai KC, Wong SH, Leung SY, Yuen ST, Wright NA, Wong BC. Antralization at the edge of proximal gastric ulcers: does *Helicobacter pylori* infection play a role? *World J Gastroenterol* 2003;9:1265-1269
- 3 黄燕, 范学工. 幽门螺杆菌感染与胃肠外疾病. 中国实用内科杂志 2003;23:628-630
- 4 陈东风, 胡轲, 易萍, 刘为纹, 房殿春, 曹红. 人胆囊炎标本中幽门螺杆菌的检出及意义. 世界华人消化杂志 2004;12:1814-1817
- 5 Myung SJ, Kim MH, Shim KN, Kim YS, Kim EO, Kim HJ, Park ET, Yoo KS, Lim BC, Seo DW, Lee SK, Min YI, Kim JY. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in human biliary tree and its association with hepatolithiasis. *Dig Dis Sci* 2000;45:1405-1412
- 6 Nilsson HO, Taneera J, Castedal M, Glatz E, Olsson R, Wadstrom T. Identification of *Helicobacter pylori* and other *Helicobacter* species by PCR, hybridization, and partial DNA sequencing in human liver samples from patients with primary sclerosing cholangitis or primary biliary cirrhosis. *J Clin Microbiol* 2000;38:1072-1076
- 7 Pellicano R, Mazzaferro V, Grigioni WF, Cutufia MA, Fagoonee S, Silengo L, Rizzetto M, Ponzetto A. *Helicobacter* species sequences in liver samples from patients with and without hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004;10:598-601
- 8 Fox JG, Rogers AB, Whary MT, Taylor NS, Xu S, Feng Y, Keys S. *Helicobacter bilis*-associated hepatitis in outbred mice. *Comp Med* 2004;54:571-577
- 9 Solnick JV, Schauer DB. Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:59-97
- 10 Fox JG, Yan L, Shames B, Campbell J, Murphy JC, Li X. Persistent hepatitis and enterocolitis in germfree mice infected with *Helicobacter hepaticus*. *Infect Immun* 1996;64:3673-3681
- 11 Fan XG, Zou YY, Wu AH, Li TG, Hu GL, Zhang Z. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in patients with hepatitis B. *Br J Biomed Sci* 1998;55:176-178
- 12 Pellicano R, Leone N, Berrutti M, Cutufia MA, Fiorentino M, Rizzetto M, Ponzetto A. *Helicobacter pylori* seroprevalence in hepatitis C virus positive patients with cirrhosis. *J Hepatol* 2000;33:648-650
- 13 Avenaud P, Marais A, Monteiro L, Le bail B, Bioulac Sage P, Balabaud C, Mégraud F. Detection of *Helicobacter* species in the liver of patients with and without primary liver carcinoma. *Cancer* 2000;89:1431-1439
- 14 Nilsson HO, Mulchandani R, Tranberg KG, Stenram U, Wadstrom T. *Helicobacter* species identified in liver from patients with cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2001;120:323-324
- 15 范学工, 周建华. 肝脏细菌感染, 肝癌的又一个病因. 世界华人消化杂志 2001;9:449-450
- 16 黄燕, 范学工, 陈永平, 李宁, 汤立军. 肝癌组织中螺杆菌16S rRNA基因的检测. 世界华人消化杂志 2002;10:877-882
- 17 Fan XG, Peng XN, Huang Y, Yakoob J, Wang ZM, Chen YP. *Helicobacter* species ribosomal DNA recovered from the liver tissue of Chinese patients with primary hepatocellular carcinoma. *Clin Infect Dis* 2002;35:1555-1557
- 18 黄燕, 范学工, 周建华, 李宁, 汤立军. 肝癌患者肝组织中螺杆菌感染的研究. 中国人兽共患病杂志 2003;19:55-58
- 19 Huang Y, Fan XG, Wang ZM, Zhou JH, Tian XF, Li N. Identification of *Helicobacter* species in human liver samples from patients with primary hepatocellular carcinoma. *J Clin Pathol* 2004;57:1273-1277
- 20 彭小宁, 范学工, 黄燕, 王志明, 陈永平. 螺杆菌感染与肝癌关系的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:902-906
- 21 黄燕, 范学工, 周建华, 田雪飞. 原发性肝癌患者肝组织中幽门螺杆菌的免疫组织化学观察. 中南大学学报(医学版) 2004;29:15-17
- 22 de Magalhaes Queiroz DM, Santos A. Isolation of a *Helicobacter* strain from the human liver. *Gastroenterology* 2001;121:1023-1024
- 23 Chen W, Li D, Cannan RJ, Stubbs RS. Common presence of *Helicobacter* DNA in the gallbladder of patients with gallstone diseases and controls. *Dig Liver Dis* 2003;35:237-243
- 24 黄燕, 邹益友, 范学工, 田雪飞, 张艳. 幽门螺杆菌对胆汁的耐受性研究. 中国现代医学杂志 2004;14:100-102
- 25 Burman WJ, Cohn DL, Reves RR, Wilson ML. Multifocal cellulitis and monoarticular arthritis as manifestations of *Helicobacter cinaedi* bacteremia. *Clin Infect Dis* 1995;20:564-570
- 26 Skirrow MB, Jones DM, Sutcliffe E, Benjamin J. *Campylobacter* bacteraemia in England and Wales, 1981-91. *Epidemiol Infect* 1993;110:567-573
- 27 Andersen LP. New *Helicobacter* species in humans. *Dig Dis* 2001;19:112-115
- 28 Trivett-Moore NL, Rawlinson WD, Yuen M, Gilbert GL. *Helicobacter westmeadii* sp. nov. a new species isolated from blood cultures of two AIDS patients. *J Clin Microbiol* 1997;35:1144-1150
- 29 Danesh J, Koreth J, Youngman L, Collins R, Arnold JR, Balarajan Y, McGee J, Roskell D. Is *Helicobacter pylori* a factor in coronary atherosclerosis? *J Clin Microbiol* 1999;37:1651
- 30 Farsak B, Yildirim A, Akyon Y, Pinar A, Oc M, Boke E, Kes S, Tokgozoglul L. Detection of *Chlamydia pneumoniae* and *Helicobacter pylori* DNA in human atherosclerotic plaques by PCR. *J Clin Microbiol* 2000;38:4408-4411
- 31 Ameriso SF, Fridman EA, Leiguarda RC, Sevelever GE. Detection of *Helicobacter pylori* in human carotid atherosclerotic plaques. *Stroke* 2001;32:385-391
- 32 陈仁, 范学工, 李宁, 黄燕, 陈朝晖. *cagA*(+)幽门螺杆菌体外诱导肝细胞凋亡的观察. 中国人兽共患病杂志 2003;19:69-71
- 33 陈仁, 范学工, 黄燕, 李宁, 陈朝晖. 幽门螺杆菌对肝癌组织HePG2的体外细胞毒作用. 癌症 2004;23:44-49
- 34 Loogna P, Franzen L, Sipponen P, Domellof L. *Helicobacter pylori*, N-methyl-N'-nitro-N'-nitrosoguanidine, and bile modulate gastric cell kinetics in experimental cancer. *Virchows Arch* 2001;439:653-660
- 35 Loogna P, Franzen L, Sipponen P, Domellof L. Cyclooxygenase-2 and Bcl-2 expression in the stomach mucosa of Wistar rats exposed to *Helicobacter pylori*, N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine and bile. *Virchows Arch* 2002;441:77-84
- 36 Kuroki T, Fukuda K, Yamanouchi K, Kitajima T, Matsuzaki S, Tajima Y, Furui J, Kanematsu T. *Helicobacter pylori* accelerates the biliary epithelial cell proliferation activity in hepatolithiasis. *Hepatogastroenterology* 2002;49:648-651
- 37 张艳, 范学工, 田雪飞, 黄燕. 幽门螺杆菌对肝细胞系HepG2 *cyclinD1*, *PCNA* mRNA表达的影响. 世界华人消化杂志 2004;12:93-96
- 38 施宝民, 杨镇. *c-fos* 基因在肝硬化、肝癌中的表达及意义. 中华实验外科杂志 1999;16:500-501
- 39 Yuen MF, Wu PC, Lai VC, Lau JY, Lai CL. Expression of *c-Myc*, *c-Fos*, and *c-jun* in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2001;91:106-112
- 40 张艳, 范学工, 陈仁, 代洪, 田雪飞, 李宁. 幽门螺杆菌对人肝细胞系HepG2原癌基因 *c-fos* 表达的影响. 中国人兽共患病杂志 2004;20:690-694