

幽门螺杆菌疫苗接种小鼠产生免疫后胃炎的影响因素

陈洁, 陈旻湖, 王锦辉, 朱森林

陈洁, 陈旻湖, 王锦辉, 朱森林, 中山大学附属第一医院消化内科 广东省广州市 510080

陈洁, 2002年获中山大学医学博士, 讲师, 2002-2004年德国马格德堡Otto-von-Guericke大学医学院胃肠、肝病及感染病系消化肿瘤实验室博士后, 主要从事幽门螺杆菌相关疾病以及消化道肿瘤研究。

广东省自然科学基金资助项目, No. 021889

通讯作者: 陈旻湖, 510080, 广东省广州市中山二路58号, 中山大学附属第一医院消化内科. chenminhu@vip.163.com

电话: 020-87332916 传真: 020-87332916

收稿日期: 2006-06-15 接受日期: 2006-06-27

Influence factors of post-immunization gastritis after *Helicobacter pylori* vaccine immunization in mice

Jie Chen, Min-Hu Chen, Jin-Hu Wang, Sen-Lin Zhu

Jie Chen, Min-Hu Chen, Jin-Hu Wang, Sen-Lin Zhu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Supported by the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 021889

Correspondence to: Dr. Min-Hu Chen, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China. chenminhu@vip.163.com

Received: 2006-06-15 Accepted: 2006-06-27

Abstract

AIM: To explore the influence factors of post-immunization gastritis after *H pylori* vaccine immunization in mice.

METHODS: (1) C₅₇BL/6 and BALB/c mice were orally immunized with *H pylori* vaccine (*H pylori* whole cell sonicate antigen plus mucosa adjuvant cholera toxin). Gastric *H pylori* infection and inflammation were evaluated after *H pylori* challenge. (2) C₅₇BL/6 mice were orally immunized with *H pylori* vaccine, and then challenged by different amounts of *H pylori*. Gastric *H pylori* infection and inflammation were evaluated after *H pylori* challenge. (3) C₅₇BL/6 mice were immunized orally or intraperitoneally with *H pylori* vaccine. Gastric *H pylori* infection and inflammation were evaluated after *H pylori* challenge at different time points. (4) Infected C₅₇BL/6 mice were orally immunized with *H pylori* vaccine,

and gastric *H pylori* infection and inflammation were evaluated after immunization at different time points.

RESULTS: (1) Similar decreasing of *H pylori* colonization was found in both C₅₇BL/6 and BALB/c mice. However, C₅₇BL/6 mice showed more severe post-immunization gastritis than BALB/c mice did. (2) Although *H pylori* colonization was similar in all groups with different challenging amounts, larger amount of *H pylori* challenge induced more severe post-immunization gastritis. (3) Similar post-immunization gastritis and decreasing of *H pylori* colonization were found in mice with both oral and intraperitoneal immunization at different time points. (4) Therapeutic immunization led to significant decreasing of *H pylori* colonization in infected mice; meanwhile more severe gastritis was also found in therapeutic group when compared with that in control group.

CONCLUSION: Post-immunization gastritis occurs in different immune hosts, the same hosts with different vaccination routes and hosts received therapeutic immunization. *H pylori* challenge amounts and immune host are influential factors of post-immunization gastritis degree.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Vaccine; Post-immunization gastritis; Mice

Chen J, Chen MH, Wang JH, Zhu SL. Influence factors of post-immunization gastritis after *Helicobacter pylori* vaccine immunization in mice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2006;14(23):2275-2280

摘要

目的: 研究幽门螺杆菌(*H pylori*)疫苗接种小鼠产生免疫后胃炎的影响因素。

方法: 将*H pylori*疫苗免疫C₅₇BL/6和BALB/c的小鼠, 观察攻击后胃黏膜*H pylori*定植和炎症情况。将*H pylori*疫苗免疫C₅₇BL/6小鼠, 然后予不同菌量的*H pylori*攻击, 观察胃黏膜*H pylori*定植和炎症情况。将*H pylori*疫苗经口和经腹腔免疫C₅₇BL/6小鼠, 观察攻击后胃黏

■背景资料

幽门螺杆菌(*H pylori*)是慢性活动性胃炎和消化性溃疡的重要致病菌, 并与胃腺癌和胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤发病相关。大量动物实验表明, 通过适当的抗原传递系统(Antigen delivery system)如佐剂或细菌、病毒载体将*H pylori*抗原导入机体进行免疫接种可预防甚至治疗*H pylori*感染, 说明有效的疫苗接种可诱导机体产生保护性免疫反应。

■应用要点

近年来在利用 *H pylori* 疫苗所做的免疫实验中, 免疫后胃炎, 即免疫动物受到 *H pylori* 攻击后出现较单纯感染对照更为严重的胃炎这一现象引起越来越多关注, 对免疫后胃炎的实质以及其影响因素的研究将加深我们对 *H pylori* 疫苗保护性免疫机制认识, 同时对 *H pylori* 疫苗应用于人体的安全性提供有价值的资料。

膜 *H pylori* 定植和炎症情况。对感染 *H pylori* 的 C₅₇BL/6 小鼠予 *H pylori* 疫苗治疗, 观察治疗免疫后胃黏膜 *H pylori* 定植和炎症情况。

结果: 不同品系的小鼠免疫保护程度无明显差异, 但 C₅₇BL/6 小鼠免疫后胃炎重于 BALB/c 小鼠。接受不同攻击菌量的小鼠保护程度无明显差异, 但大的攻击菌量可诱导更严重的免疫后炎症。不同免疫途径诱导的免疫保护程度及攻击后不同时间点的炎症程度均无显著性差异。治疗性免疫导致 *H pylori* 定植明显降低, 同时也引发更为严重的胃炎。

结论: 在不同的免疫宿主、免疫途径和治疗性免疫中均存在免疫后胃炎。免疫后胃炎的强弱程度受免疫宿主和攻击菌量的影响。

关键词: 幽门螺杆菌; 疫苗; 免疫后胃炎; 小鼠

陈洁, 陈旻湖, 王锦辉, 朱森林. 幽门螺杆菌疫苗接种小鼠产生免疫后胃炎的影响因素. 世界华人消化杂志 2006;14(23):2275-2280

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2275.asp>

0 引言

在幽门螺杆菌 (*H pylori*) 疫苗免疫的动物实验中, 免疫后胃炎这一现象引起了越来越多的关注。早在90年代初 Eaton *et al*^[1] 即报道免疫后的悉生小猪受到 *H pylori* 攻击时出现较感染对照更为严重的活动性胃炎。以后一些研究者在他们的实验中均提及了这一现象^[2-4], 而且发现这种胃炎的严重程度与免疫动物受保护的度相关, 为了和单纯 *H pylori* 感染导致的胃炎区别, 将其称为免疫后胃炎 (post-immunization gastritis)。免疫后胃炎的报道引起人们对 *H pylori* 疫苗用于人体的安全性的担忧^[5]。对免疫后胃炎的一种解释是由于免疫反应未能彻底清除攻击细菌, 残存的细菌导致了炎症的发生^[2]。Eaton *et al*^[6] 用联合免疫缺陷 (SCID) 小鼠所做的被动免疫实验提示免疫后胃炎与细胞免疫有关; Sutton *et al*^[7] 的报道也指出免疫后胃炎是由细胞免疫导致的一过性增强的炎症反应, 而且对免疫动物用猫胃螺杆菌 (*H. files*) 攻击较 *H pylori* 攻击可诱发更为严重的免疫后胃炎, 提示免疫后胃炎严重程度受细菌因素影响。我们前期的研究表明, 不同抗原传递系统组成的 *H pylori* 疫苗即以减毒鼠伤寒沙门菌 (*Salmonella typhimurium*) 为载体构建的重组 *H pylori* 疫苗和以黏膜免疫佐剂霍乱毒素 (cholera toxin, CT) 加 *H pylori* 全菌超声粉碎抗原组成的

疫苗免疫小鼠后均出现免疫后胃炎, 免疫后胃炎实质上是免疫动物受到 *H pylori* 攻击后增强的 Th1 反应的一种表现, 他是伴发于抗 *H pylori* 感染免疫应答的组织病理损伤^[8-11]。我们将进一步探讨免疫后胃炎的其他影响因素, 包括宿主、免疫途径、攻击细菌量等; 了解治疗性免疫 (即对已经感染 *H pylori* 的动物进行免疫) 是否也会导致免疫后胃炎以及免疫后胃炎的持续时间, 这些问题的研究将进一步加深我们对 *H pylori* 疫苗保护性免疫机制认识, 同时对 *H pylori* 疫苗应用于人体的安全性提供有价值的资料。

1 材料和方法

1.1 材料 C₅₇BL/6 和 BALB/c 小鼠 (清洁级) 均为 ♀, 8 周龄, 体质量 17-20 g, 由中国医学科学院医学实验动物研究所提供。所用 *H pylori* SS1 菌株 (Sydney Strain 1) 为澳大利亚新南威尔士大学微生物学院 Adrian Lee 教授惠赠。霍乱毒素购自 Sigma 公司。*H pylori* 培养和全菌超声粉碎抗原的制备均按我室建立方法进行^[10]。

1.2 方法

1.2.1 免疫宿主对免疫后胃炎的影响 C₅₇BL/6 小鼠和 BALB/c 小鼠各 30 只, 随机分为免疫组 (20 只) 和对照组 (10 只)。免疫组在第 1 周和第 4 周分别灌胃 CT 5 μg + *H pylori* 超声粉碎抗原 1 mg, 对照组予生理盐水 (normal saline, NS) 100 μL。第 2 次免疫后 4 wk 给予 *H pylori* SS1 菌株攻击 1 次 (5 × 10⁷ cfu), 攻击后 5 wk 处死所有小鼠, 观察胃黏膜 *H pylori* 定植和炎症情况。按照我们既往的报道^[8-11], 胃黏膜 *H pylori* 定植通过快速尿素酶试验和组织学检查评价, 胃黏膜炎症情况通过组织学检测评分。

1.2.2 攻击菌量对免疫后胃炎的影响 C₅₇BL/6 小鼠随机分为 3 个免疫组 (15 只/组) 和 1 个对照组 (10 只)。免疫组在第 1 周和第 4 周分别灌胃 CT 5 μg + *H pylori* 超声粉碎抗原 1 mg, 对照组予 NS 100 μL。第 2 次免疫后 4 wk, 3 个免疫组分别予 *H pylori* SS1 菌株 5 × 10⁷ cfu × 2 次, 5 × 10⁷ cfu × 1 次和 5 × 10⁵ cfu × 1 次攻击, 对照组予 SS1 5 × 10⁷ cfu 攻击 1 次。攻击后 5 wk 处死所有小鼠, 观察胃黏膜 *H pylori* 定植和炎症情况。

1.2.3 免疫途径对免疫后胃炎的影响 C₅₇BL/6 小鼠随机分为经口免疫组 (40 只), 腹腔免疫组 (40 只) 和对照组 (25 只)。免疫组在第 1 周和第 4 周分别予 CT 5 μg + *H pylori* 超声粉碎抗原 1 mg 进行灌胃或 ip 免疫, 对照组予 NS 100 μL。第 2 次免疫

表 1 各组实验小鼠在攻击后5 wk的*H pylori*定植情况和炎症评分

分组	n	<i>H pylori</i> 定植		炎症评分	
		尿素酶 试验	组织学 评分	胃体	胃窦
BALB/c小鼠对照组	10	2	3	1	0.5
BALB/c小鼠免疫组	20	0	0.5	2	1
C ₅₇ BL/6小鼠对照组	10	2	3	1.2	0.5
C ₅₇ BL/6小鼠免疫组	20	0	0	3	1.5

表 2 各组实验小鼠在攻击后5 wk的*H pylori*定植情况和炎症评分

分组	n	攻击菌量 (cfu)	<i>H pylori</i> 定植		炎症评分	
			尿素酶 试验	组织学 评分	胃体	胃窦
对照组	10	$5 \times 10^7 \times 1$ 次	2	3	1	0.5
免疫组	15	$5 \times 10^7 \times 2$ 次	0	0.5	3	2
免疫组	15	$5 \times 10^7 \times 1$ 次	0	0	3	2
免疫组	15	$5 \times 10^5 \times 1$ 次	0	0	2	1.5

表 3 各组实验小鼠在攻击后不同时间点的*H pylori*定植情况

分组	尿素酶实验					<i>H pylori</i> 定植组织学评分				
	3 wk	6 wk	12 wk	26 wk	35 wk	3 wk	6 wk	12 wk	26 wk	35 wk
对照组	1.5	2	2	2	2	2	2.5	3	3	3
经口免疫组	1	0	0	0	0	1.2	0.5	0	0	0
腹腔免疫组	1	0.5	0	0	0	1.5	0.8	0.5	0	0

后第4周予*H pylori* SS1菌株攻击1次(5×10^7 cfu), 攻击后3, 6, 12, 26, 35 wk免疫组各处死8只小鼠, 对照组5只, 观察胃黏膜*H pylori*定植和炎症情况。

1.2.4 治疗性免疫对免疫后胃炎的影响 C₅₇BL/6小鼠随机分为免疫治疗组(40只)和对照组(25只)。全部小鼠先予*H pylori* SS1菌株感染(5×10^7 cfu \times 2次), 感染4 wk后治疗组予CT 5 μ g+*H pylori*超声粉碎抗原1 mg进行灌胃免疫, 1 wk 1次, 连续4次。对照组灌胃同体积NS。免疫后3, 6, 12, 26, 35 wk治疗组各处死8只小鼠, 对照组5只, 观察胃黏膜*H pylori*定植和炎症情况。

统计学处理 采用SPSS 10.0统计软件进行。各组尿素酶试验结果、*H pylori*定植评分和胃黏膜炎症评分均以中位数(median, *Med*)表示, 采用Kruskal-Wallis秩和检验和Mann-whitney秩和检验对变量进行比较, $P < 0.05$ 认为有统计学差异。

2 结果

2.1 免疫宿主对免疫后胃炎的影响 和对照组相比C₅₇BL/6小鼠和BALB/c小鼠免疫组在*H pylori*攻击后5 wk胃黏膜*H pylori*定植量均明显降低(免疫 vs 对照, $P < 0.001$), 但两免疫组保护程度无明显差异; 和对照组相比两免疫组均出现更为严重的胃炎(免疫 vs 对照, $P < 0.01$), 以胃体及窦体交界黏膜中底部和黏膜下层为明显, C₅₇BL/6

小鼠的炎症程度重于BALB/c小鼠($P = 0.043$, 表1)。

2.2 攻击菌量对免疫后胃炎的影响 和对照组相比3个免疫组在*H pylori*攻击后5 wk胃黏膜*H pylori*定植量均明显降低($P < 0.001$), 但3组保护程度无明显差异; 3免疫组均出现较对照组更为严重的胃炎(表2), 5×10^7 cfu攻击菌量诱导的炎症程度重于 5×10^5 cfu攻击菌量($P = 0.037$)。

2.3 免疫途径对免疫后胃炎的影响 和对照组相比经口免疫组和腹腔免疫组在攻击后各时间点胃黏膜*H pylori*定植量均明显降低($P < 0.001$), 且免疫组随时间推移*H pylori*定植逐渐减少, 但两免疫组各时间点保护程度无明显差异。和对照组相比免疫组在攻击后3, 6, 12 wk出现更为严重的胃炎($P < 0.01$), 以胃体及窦体交界黏膜中底部和黏膜下层为明显, 但不同免疫途径免疫组炎症程度无显著性差异; 攻击后26, 35 wk免疫组炎症程度有所减轻而对照组炎症程度逐渐加重, 免疫组和对照组炎症程度相比无显著性差异(表3)。在整个实验期间除炎症反应外, 所有小鼠胃黏膜未见萎缩、肠化生等病理改变(图1)。

2.4 治疗性免疫对免疫后胃炎的影响 和对照组相比治疗组在免疫后各时间点*H pylori*定植均明显降低($P < 0.01$), 且治疗组随时间推移*H pylori*定植逐渐减少(表4); 治疗组在免疫后3, 6, 12 wk出现较对照组更为严重的胃炎($P < 0.05$), 免疫后26, 35 wk治疗组炎症程度较前有所减轻, 但和对照

■同行评价

本文研究了宿主、免疫途径、攻击细菌量等对免疫后胃炎的影响, 证明宿主因素也会影响免疫后胃炎的严重程度; 经口免疫和腹腔免疫两种途径达到的免疫保护程度无明显差异, 两种免疫途径均导致了程度相似的免疫后胃炎, 证明免疫后胃炎的产生与不同的免疫接种途径无关。研究选题准确, 设计合理, 结果数据可信, 结论明确, 具有一定的理论意义。

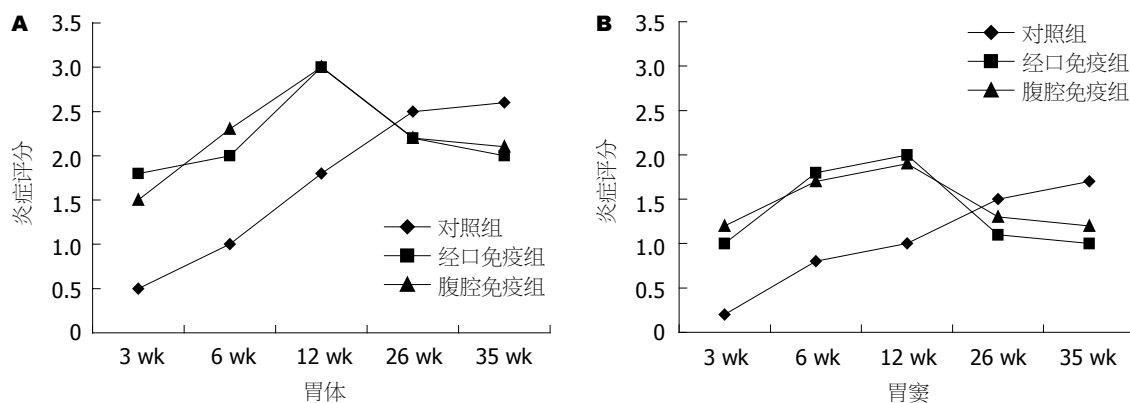


图 1 不同时间点各组小鼠胃体炎症、胃窦炎症评分结果. A: 小鼠胃体炎症; B: 小鼠胃窦炎症.

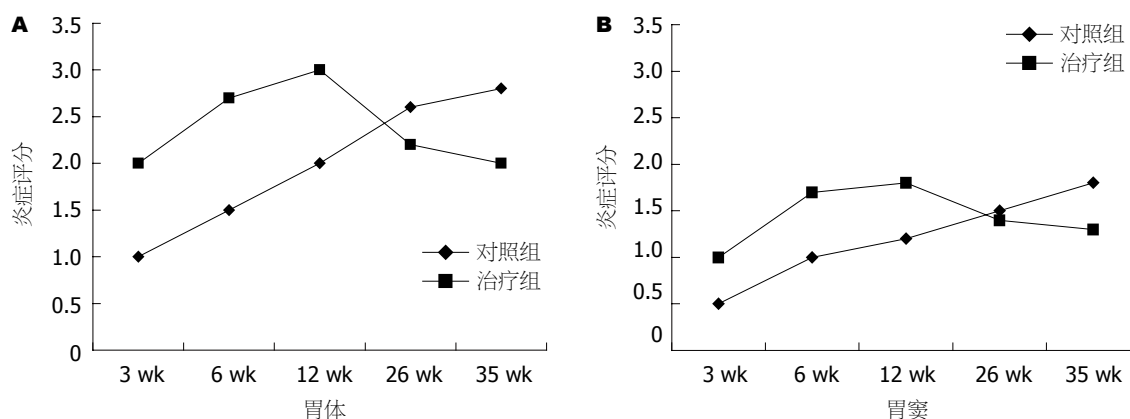


图 2 不同时间点对照组和治疗组小鼠胃体炎症、胃窦炎症评分结果. A: 小鼠胃体炎症; B: 小鼠胃窦炎症.

表 4 治疗组和对照组小鼠在免疫后不同时间点的 *H. pylori* 定植情况

分组	尿素酶实验					<i>H. pylori</i> 定植组织学评分				
	3 wk	6 wk	12 wk	26 wk	35 wk	3 wk	6 wk	12 wk	26 wk	35 wk
对照组	2	2	2	2	2	2.5	3	3	3	3
治疗组	1	1	1	0	0	1.5	1.5	0.5	0	0

组相比无显著性差异(图2).

3 讨论

虽然有不少文献都提及了免疫后胃炎这一现象, 但对其进行系统研究的报道极少. 我们前期的研究已经证明, 免疫后胃炎的实质是免疫动物受到 *H. pylori* 攻击后早期增强的 Th1 反应的一种表现, 他是伴发于抗 *H. pylori* 感染免疫的组织病理损伤. 免疫后胃炎和 *H. pylori* 感染本身导致的胃炎的实质是一样的, 但在时间上 *H. pylori* 感染本身导致的胃炎较免疫后胃炎明显延迟^[8-11]. Sutton *et al*^[7] 报道, 对免疫动物用 *H. files* 攻击较 *H. pylori* 攻击可诱发更为严重的免疫后胃炎, 提示免疫后胃炎严重程度受细菌因素影响. 虽然

免疫后胃炎在不同的动物模型包括悉生小猪、雪貂、小鼠^[1-2,7,12-13]中均有报道, 但是没有研究对不同宿主的免疫后胃炎进行比较. 本研究对 C₅₇BL/6 和 BALB/c 2 种不同品系的小鼠予同样方案免疫, 再用 *H. pylori* 攻击, 结果发现 2 种小鼠免疫保护程度无明显差异, 但 C₅₇BL/6 小鼠的免疫后胃炎程度重于 BALB/c 小鼠, 证明宿主因素也会影响免疫后胃炎的严重程度.

在 *H. pylori* 自然感染的研究中, 许多文献报道认为胃组织病理损害的严重程度与活动度均与感染菌量呈正相关^[14-16]. 那么在 *H. pylori* 疫苗免疫动物模型中, 用于攻击感染的细菌量是否会对免疫后胃炎的严重程度产生一定影响呢? 我们比较了不同攻击菌量对免疫后胃炎的影响,

结果发现和单纯感染对照组相比, 3个免疫组在 *H pylori* 攻击后5 wk胃黏膜*H pylori*定植量均明显降低, 3个免疫组均出现较对照组更为严重的胃炎, 5×10^7 cfu攻击菌量诱导的炎症程度重于 5×10^5 cfu攻击菌量。这证明攻击菌量在早期可以影响免疫后胃炎的严重程度。由于*H pylori*是一种黏膜感染, 在*H pylori*疫苗的研制中多数实验采用黏膜免疫进行接种, 包括经口、经鼻黏膜和直肠黏膜等途径^[2,17-18]。值得注意的是免疫后胃炎多数出现于黏膜免疫途径接种的报道中, 而在系统免疫途径中少有报道。我们比较了经口免疫和腹腔注射免疫两种不同免疫途径对免疫后胃炎的影响, 结果发现经口免疫和腹腔免疫两种途径达到的免疫保护程度无明显差异, 两种免疫途径均导致了程度相似的免疫后胃炎, 证明免疫后胃炎的产生与不同的免疫接种途径无关。在现有的报道中, 免疫后胃炎高峰期大多数出现于免疫动物受到攻击的早期, 时间从攻击后1 wk到3 mo不等^[2-3,7,12], 随着*H pylori*被清除, 免疫后胃炎逐渐减轻, 我们的研究也证明在不同疫苗^[8-11]、不同免疫宿主、不同免疫途径的免疫/感染模型中免疫后胃炎的高峰期多出现于攻击后5 wk, 以后炎症程度逐渐减轻。但是文献报道和本研究均发现, 虽然免疫后胃炎在高峰期过后逐渐减轻, 但在现有的观察期内 (Goto *et al*^[3]报道为18 wk, Ermak *et al*^[2]报道为54 wk, Sutton *et al*^[7]报道为18 mo, 本研究最长为35 wk), 免疫后胃炎并没有如预期的完全消退, 而且随时间的推移免疫后胃炎和感染对照组的炎症程度已没有明显差异。对于*H pylori*减少乃至清除后免疫后胃炎在一定时间内仍然持续的原因, 有研究推测与自身免疫反应有关^[19]。免疫后胃炎和*H pylori*感染本身导致的胃炎的实质都是Th1反应的一种表现, 在Th1反应中产生的一些细胞因子, 例如IFN- γ 可以显著增加胃黏膜上皮细胞MHC II抗原的表达, 而过度表达的MHC II抗原可以将自身抗原提呈给免疫细胞从而激发自身免疫反应。自身免疫反应也可以解释*H pylori*定植和免疫后胃炎产生部位的一些差异, 因为*H pylori*多数定植于胃窦和窦体交界部位的胃黏膜^[20], 然而免疫后胃炎产生的部位却以胃体和窦体交界部位的胃黏膜为主。

有关免疫后胃炎的报道多数见于预防性免疫实验, 在治疗性免疫实验中报道较少, 一些报道表明随着*H pylori*的根除, 免疫动物的胃炎也随之减轻^[21-23]。但Whary *et al*^[13]对感染了鼯鼠螺

杆菌的雪貂进行免疫治疗, 却使雪貂的十二指肠炎和溃疡等病理损害加重; Dieterich *et al*^[24]对感染海尔曼螺杆菌(*H. heilmannii*)的小鼠进行免疫治疗, 结果使免疫小鼠胃黏膜细菌显著减少的同时也加重了胃体黏膜萎缩; 近期Eaton *et al*^[25]所做的被动免疫治疗实验证明, 将免疫C₅₇BL/6小鼠的脾细胞转移给*H pylori*感染的联合免疫缺陷(SCID)小鼠, 结果受体鼠在被动免疫后出现了较单纯*H pylori*感染的C₅₇BL/6小鼠更为严重的胃炎, 这种炎症反应由细胞免疫介导, 在免疫后9 wk达到高峰, 在免疫后45 wk随*H pylori*感染的清除而减退。本研究也证实, 治疗性免疫使免疫小鼠*H pylori*感染清除的同时也导致了较对照鼠更为严重的胃炎, 这种炎症反应在免疫后3-12 wk达到高峰, 免疫后26 wk减轻, 但和预防性免疫实验类似这种炎症直到实验期结束(免疫后35 wk)也没有完全消退, 炎症持续的原因, 推测也与自身免疫反应有关。对于治疗性免疫导致免疫后胃炎的现象我们可以做如下解释: 在治疗性免疫中, 已经存在的细菌感染对实验动物而言相当于“初次免疫”, 而后来进行的免疫治疗则相当于再次免疫; 再次免疫可以导致机体产生更强的免疫反应, 在清除感染细菌的同时也加重了胃黏膜炎症反应。

总之, 我们证实了在不同的免疫宿主、免疫途径和治疗性免疫中均存在免疫后胃炎。免疫后胃炎的强弱程度受免疫宿主和攻击菌量的影响。虽然到目前为止免疫后胃炎还没有在人体实验中报道, 但仍然需要更多的尤其是临床实验提供*H pylori*疫苗应用于人体的安全性的数据。

4 参考文献

- 1 Eaton KA, Krakowka S. Chronic active gastritis due to *Helicobacter pylori* in immunized gnotobiotic piglets. *Gastroenterology* 1992; 103: 1580-1586
- 2 Ermak TH, Ding R, Ekstein B, Hill J, Myers GA, Lee CK, Pappo J, Kleanthous HK, Monath TP. Gastritis in urease-immunized mice after *Helicobacter felis* challenge may be due to residual bacteria. *Gastroenterology* 1997; 113: 1118-1128
- 3 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
- 4 Mohammadi M, Czinn S, Redline R, Nedrud J. *Helicobacter*-specific cell-mediated immune responses display a predominant Th1 phenotype and promote a delayed-type hypersensitivity response in the stomachs of mice. *J Immunol* 1996;

- 156: 4729-4738
- 5 Zevering Y. Vaccine against *Helicobacter pylori*? *Ann Med* 2001; 33: 156-166
- 6 Eaton KA, Ringler SR, Danon SJ. Murine splenocytes induce severe gastritis and delayed-type hypersensitivity and suppress bacterial colonization in *Helicobacter pylori*-infected SCID mice. *Infect Immun* 1999; 67: 4594-4602
- 7 Sutton P, Danon SJ, Walker M, Thompson LJ, Wilson J, Kosaka T, Lee A. Post-immunisation gastritis and *Helicobacter* infection in the mouse: a long term study. *Gut* 2001; 49: 467-473
- 8 Chen M, Chen J, Liao W, Zhu S, Yu J, Leung WK, Hu P, Sung JJ. Immunization with attenuated *Salmonella typhimurium* producing catalase in protection against gastric *Helicobacter pylori* infection in mice. *Helicobacter* 2003; 8: 613-625
- 9 陈洁, 陈旻湖, 朱森林, 于君, 梁伟强, 陈为, 胡品津, 沈祖尧. 重组幽门螺杆菌疫苗免疫保护机制的研究. *中华消化杂志* 2002; 22: 80-83
- 10 陈洁, 陈旻湖, 李国庆, 焦志勇, 梁伟强, 胡品津, 沈祖尧. 幽门螺杆菌疫苗免疫小鼠的Th免疫应答及作用. *中华消化杂志* 2003; 23: 739-743
- 11 陈洁, 陈旻湖, 廖文俊, 于君, 梁伟强, 陈为, 胡品津, 沈祖尧. 重组幽门螺杆菌疫苗免疫保护作用与免疫后胃炎. *中国免疫学杂志* 2005; 21: 411-415
- 12 Michetti P, Cortesey-Theulaz I, Davin C, Haas R, Vaney AC, Heitz M, Bille J, Kraehenbuhl JP, Saraga E, Blum AL. Immunization of BALB/c mice against *Helicobacter felis* infection with *Helicobacter pylori* urease. *Gastroenterology* 1994; 107: 1002-1011
- 13 Whary MT, Palley LS, Batchelder M, Murphy JC, Yan L, Taylor NS, Fox JG. Promotion of ulcerative duodenitis in young ferrets by oral immunization with *Helicobacter mustelae* and muramyl dipeptide. *Helicobacter* 1997; 2: 65-77
- 14 Jonkers D, Houben G, de Bruine A, Arends JW, Stobberingh E, Stockbrugger R. Prevalence of gastric metaplasia in the duodenal bulb and distribution of *Helicobacter pylori* in the gastric mucosa. A clinical and histopathological study in 96 consecutive patients. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1998; 30: 481-483
- 15 Satoh K, Kimura K, Yoshida Y, Kasano T, Kihira K, Taniguchi Y. A topographical relationship between *Helicobacter pylori* and gastritis: quantitative assessment of *Helicobacter pylori* in the gastric mucosa. *Am J Gastroenterol* 1991; 86: 285-291
- 16 Yamamura F, Yoshikawa N, Akita Y, Mitamura K, Miyasaka N. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and histologic features of gastritis in biopsy specimens in gastroduodenal diseases, including evaluation of diagnosis by polymerase chain reaction assay. *J Gastroenterol* 1999; 34: 461-466
- 17 Cortesey-Theulaz IE, Hopkins S, Bachmann D, Saldinger PF, Porta N, Haas R, Zheng-Xin Y, Meyer T, Bouzourene H, Blum AL, Kraehenbuhl JP. Mice are protected from *Helicobacter pylori* infection by nasal immunization with attenuated *Salmonella typhimurium* phoPc expressing urease A and B subunits. *Infect Immun* 1998; 66: 581-586
- 18 Kleanthous H, Myers GA, Georgakopoulos KM, Tibbitts TJ, Ingrassia JW, Gray HL, Ding R, 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 Immun* 1998; 66: 2879-2886
- 19 van Doorn NE, Namavar F, Sparrius M, Stoof J, van Rees EP, van Doorn LJ, Vandenbroucke-Grauls CM. *Helicobacter pylori*-associated gastritis in mice is host and strain specific. *Infect Immun* 1999; 67: 3040-3046
- 20 Lee A, O'Rourke J, De Ungria MC, Robertson B, Daskalopoulos G, Dixon MF. A standardized mouse model of *Helicobacter pylori* infection: introducing the Sydney strain. *Gastroenterology* 1997; 112: 1386-1397
- 21 Cortesey-Theulaz I, Porta N, Glauser M, Saraga E, Vaney AC, Haas R, Kraehenbuhl JP, Blum AL, Michetti P. Oral immunization with *Helicobacter pylori* urease B subunit as a treatment against *Helicobacter* infection in mice. *Gastroenterology* 1995; 109: 115-121
- 22 Cuenca R, Blanchard TG, Czinn SJ, Nedrud JG, Monath TP, Lee CK, Redline RW. Therapeutic immunization against *Helicobacter mustelae* in naturally infected ferrets. *Gastroenterology* 1996; 110: 1770-1775
- 23 Michetti P, Kreiss C, Kotloff KL, Porta N, Blanco JL, Bachmann D, Herranz M, Saldinger PF, Cortesey-Theulaz I, 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
- 24 Dieterich C, Bouzourene H, Blum AL, Cortesey-Theulaz IE. Urease-based mucosal immunization against *Helicobacter heilmannii* infection induces corpus atrophy in mice. *Infect Immun* 1999; 67: 6206-6209
- 25 Eaton KA, Mefford ME. Cure of *Helicobacter pylori* infection and resolution of gastritis by adoptive transfer of splenocytes in mice. *Infect Immun* 2001; 69: 1025-1031

电编 张敏 编辑 潘伯荣