

噬菌体用于治疗幽门螺杆菌感染的研究进展

万学勤, 李宏鸣, 白杨

万学勤, 李宏鸣, 佛山科学技术学院医学院 广东省佛山市 528000

白杨, 南方医科大学南方医院 广东省广州市 510515

广东省自然科学基金资助项目, No. 9152800001000022

作者贡献分布: 本文由万学勤综述; 白杨整理; 李宏鸣审校。

通讯作者: 李宏鸣, 主任医师, 528000, 广东省佛山市河滨路5号, 佛山科学技术学院医学院. l2000627@126.com

电话: 0757-82816607

收稿日期: 2009-10-31 修回日期: 2009-11-20

接受日期: 2009-11-30 在线出版日期: 2009-12-18

Advances in phage therapy of *Helicobacter pylori* infection

Xue-Qin Wan, Hong-Ming Li, Yang Bai

Xue-Qin Wan, Hong-Ming Li, School of Medicine, Foshan University, Foshan 528000, Guangdong Province, China

Yang Bai, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 9152800001000022

Corresponding to: Hong-Ming Li, School of Medicine, Foshan University, 5 Hebin Road, Foshan 528000, Guangdong Province, China. l2000627@126.com

Received: 2009-10-31 Revised: 2009-11-20

Accepted: 2009-11-30 Published online: 2009-12-18

Abstract

Long-term *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection is associated with a high risk of gastric cancer and peptic ulcer disease. Biological therapy is one of the most promising methods for control of *H. pylori* infection. Borrowing ideas from phage therapy of refractory bacterial infections, phages have been used to treat *H. pylori* infection. In this article, we will review the advances in phage therapy of *H. pylori* infection.

Key Words: Phage; *Helicobacter pylori*; Phage therapy

Wan XQ, Li HM, Bai Y. Advances in phage therapy of *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(35): 3623-3626

摘要

长期感染幽门螺杆菌, 潜伏着罹患胃癌及消化性溃疡等疾病的高度危险性。生物治疗是控制

幽门螺杆菌感染最有前景的方法之一。借鉴噬菌体治疗难治性细菌感染的研究, 本文综述和展望了利用噬菌体进行幽门螺杆菌治疗的相关研究。

关键词: 噬菌体; 幽门螺杆菌; 噬菌体疗法

万学勤, 李宏鸣, 白杨. 噬菌体用于治疗幽门螺杆菌感染的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17(35): 3623-3626

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/3623.asp>

0 引言

噬菌体是感染细菌、真菌、放线菌、螺旋体等微生物的病毒。其中毒性噬菌体能在特异性宿主菌细胞内复制增殖, 产生许多子代噬菌体, 并裂解细菌。子代噬菌体再度侵染新的宿主菌, 循环往复, 进一步杀灭宿主菌。由于噬菌体具有自然裂菌和追踪杀菌的天然性能, 且对动植物没有毒性, 很早就有噬菌体治疗的相关研究。近年来, 由于耐药菌等难治性细菌感染的问题, 噬菌体的抗菌作用再度引起关注。幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 是一种重要且难治的病原菌, 如何有效地根治 *H. pylori* 感染是困扰国际医学界的难题, 噬菌体作为 *H. pylori* 治疗制剂具有良好的研发前景。

1 *H. pylori* 的危害

1.1 *H. pylori* 是胃癌的重要致病因素 *H. pylori* 是引起慢性胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡的主要病原菌, 与胃癌、胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤密切相关, 世界卫生组织国际癌症研究机构(IARC)已将该菌列为第 I 类致癌因子^[1]。胃癌是世界上第二大癌症死因, 是威胁人类健康最常见的恶性肿瘤, 每年新发胃癌患者达40万, 有30万人被其夺取生命^[2]。根除 *H. pylori* 可减少人群37%胃癌的发生及防止无癌前病变人群胃癌的发生, *H. pylori* 已成为胃癌一级预防的靶点^[2]。总之, *H. pylori* 作为胃癌的重要危险因素已被世人公认, 早期根除 *H. pylori* 可预防胃癌的发生。

1.2 *H. pylori* 的人群感染率高 *H. pylori* 感染率很

背景资料

H. pylori 感染率高, 早期根除 *H. pylori* 可预防胃癌的发生。目前 *H. pylori* 根除治疗方案众多, 但存在的问题也多, 寻找新的无不良反应的治疗方法, 是 *H. pylori* 根除治疗中需要解决的重要问题。

同行评议者

李振华, 教授, 中国中医科学院西苑医院消化科

研发前沿

噬菌体具有优良的抗菌性能,随着日趋严峻的抗生素耐药问题而再度引起关注。研究的热点和重点是解决制约噬菌体应用的瓶颈,比如噬菌体抗菌谱狭窄,自身具有免疫原性。噬菌体治疗人类*H pylori*面临着突破胃酸胃蛋白酶及黏液屏障等亟待研究的问题。

高,世界上有近半数人口感染*H pylori*,在发达国家*H pylori*感染率成人30%-50%;而在发展中国家,成人感染率高达80%,10岁以下儿童感染率为50%,我国*H pylori*感染率为40%-90%,平均59%^[3]。*H pylori*感染与社会经济状况呈负相关,人群感染率,随着年龄增长而增加^[4]。而且*H pylori*感染有家庭内聚集现象,儿童普遍感染*H pylori*,炎症伴随终生^[5]。我国属于*H pylori*高感染国家,感染者超过6亿^[6]。

目前*H pylori*根除治疗方案众多,但存在的问题也多,耐药菌的形成^[7]、治疗和防止复发效果不理想等^[8-10],致使*H pylori*感染的治疗需要相应的临床指征,导致许多*H pylori*感染者得不到治疗,而长期的*H pylori*感染潜伏着罹患慢性胃炎、消化性溃疡及胃癌等严重疾病的高度危险性^[11]。因此,寻找新的无不良反应的治疗方法,成为*H pylori*根除治疗中迫切需要解决的问题,生物治疗被认为是最有前景的治疗方法^[12]。在众多的生物治疗方法中,噬菌体以其独特的优势引起了关注^[13-14]。

2 噬菌体疗法的研究

2.1 噬菌体可治疗多种细菌感染 用噬菌体治疗细菌感染的方法,称为噬菌体疗法(phage-therapy)。早在20世纪30年代,就有噬菌体治疗霍乱成功的报道^[15]。时至今日,运用噬菌体治疗细菌感染研究从来没有停止过^[16-19],噬菌体人体治疗的临床病例已累计达数千例^[20]。涉及的细菌主要有^[20-21]:假单胞菌、葡萄球菌、克雷伯菌、大肠埃希菌、变形杆菌、沙门菌、志贺菌、链球菌、肠球菌、艰难梭杆菌、分枝杆菌等;应用的疾病包括^[22]:皮肤黏膜感染、肠道感染、败血症、脑膜炎、关节炎、膈下脓肿、肺部感染等;采用的方法主要为^[22]:单用噬菌体治疗,包括局部用药、口服、滴入、注射;联用双歧杆菌等益生菌口服等。

2.2 噬菌体疗法面临的挑战 噬菌体疗法的优点在于用量少,疗效好,基本没有不良反应;缺点主要是噬菌体抗菌谱狭窄,以及噬菌体作为病毒,其自身具有免疫原性。因此,虽然噬菌体具有良好的抗菌性能,但是噬菌体真正成为临床治疗细菌感染的药物,依然面临许多挑战,尚需进行大量的研究工作^[22]。

由于噬菌体大多抗菌谱狭窄,所以噬菌体在医学领域中,经典的用于细菌的分型和鉴定。但是随着宽噬性噬菌体的发现,以及分子水平

改造噬菌体技术的运用,噬菌体的抗菌谱狭窄问题正趋于解决。如,徐敏超^[19]从医院污水中分离、筛选获得的产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)大肠埃希菌噬菌体宽噬株 ϕ 9882,裂解谱宽,吸收率高,潜伏期短,裂解细菌能力强,能有效地治疗小鼠产ESBLs大肠埃希菌感染,无不良反应。有人分离到的沙门氏菌噬菌体,在测定其裂解谱时发现,这种噬菌体不仅可以裂解沙门氏菌,还可以裂解大肠杆菌^[20]。用宽噬性噬菌体可以治疗细菌混合感染,具有极好的临床价值,通过基因工程技术,将多种噬菌体有关裂解的关键基因片段转化入同一噬菌体中并使之表达,产生一种可以对多种细菌同时具有裂解作用的新噬菌体,具有广阔的应用前景^[21-22]。

由于噬菌体自身具有免疫原性,最安全的噬菌体治疗方法是用于皮肤和黏膜表面的细菌感染,但是,也可见噬菌体治疗动物全身性细菌感染的报道,比如,Barrow *et al*^[23]利用大肠杆菌噬菌体R对因大肠杆菌引起的鸡和牛败血症和脑膜炎进行治疗,取得成功,并没有不良反应发生;黄新 *et al*^[24]将噬菌体制成脂质体包被液的方法,对感染耐药结核菌的小鼠进行雾化吸入治疗,效果良好;李宏鸣 *et al*^[25]用分枝杆菌噬菌体辅助治疗结核性口腔溃疡取得初步疗效。

2.3 噬菌体疗法的研究方向 近年来,噬菌体疗法在国内外引起了新的关注,传染性疾病的权威及诺贝尔奖获得者Lederberg博士在PVAS的评论中指出:因耐药性细菌的出现,抗生素治疗不再像以前那样有效,应该重视噬菌体作为抗菌治疗生物制剂的研究。Everygreen噬菌体国际会议主办人指出:对于噬菌体治疗,人们存在根深蒂固的偏见,然而现有大量证据证明噬菌体确实是一个有效的治疗方法^[20]。

目前,针对传统抗生素治疗动物细菌感染时易产生药物残留,以及普遍存在的细菌耐药性等问题,噬菌体治疗更表现出许多突出的优越性。因此,目前抗菌噬菌体的研究大多针对的是耐药性细菌^[17-18],主要采用局部治疗的方式,研究对象多为动物^[26]。

噬菌体疗法研究的发展趋势:(1)筛选强裂解性的噬菌体^[20],通过采集污水、粪便等样本,分离针对某种致病菌的具有强裂解效果的噬菌体,并反复实验确定噬菌体的稳定性,再纯化以提高噬菌体的效价,确定给药方式,动物实验观察疗效等,最后制成商品化的制剂应用于临床。(2)探索拓宽噬菌体噬菌谱的方法^[27]和降低噬菌

创新盘点

有关噬菌体治疗细菌感染的相关研究国内外多见报道,但有关*H pylori*噬菌体的研究报道不多,该文从治疗*H pylori*角度综述噬菌体的治疗前景立意新颖。

体的免疫原性. 如分离、筛选野生型宽噬株, 采用人工改造噬菌体的特异性识别分子扩展宿主谱, 使用脂质体技术弱化免疫原性等^[24,28-29].

总之, 噬菌体治疗处于取得突破性进展的前夜, 有着潜在的巨大应用前景, 噬菌体可能会成为抵御难治性病菌感染的一个有力武器. 当然, 噬菌体治疗也必然存在相应的问题, 但存在问题并不排斥噬菌体治疗临床应用的可能性.

2.4 *H pylori*噬菌体的研究 Heintschel von Heinegg *et al*^[30]自行分离的*H pylori*噬菌体phage *H pylori* 1能够感染2株*H pylori*(IMMi 290/89), 经过1个溶菌周期之后可以释放出新的phage *H pylori* 1. 该phage *H pylori* 1空头直径55-60 nm, 成熟头直径50 nm, 内含长22000 bp的双股DNA, 尾长170 nm, 尾宽9.5 nm. Cao *et al*^[21]报道使用针对*H pylori*抗原的鼠源性单克隆抗体单链(ScFv)与一种丝状噬菌体(M13)的重组噬菌体, 能与*H pylori*表面抗原中的30 kDa蛋白亚基特异性结合, 在小鼠体内显示该重组噬菌体对6株*H pylori*均有杀菌作用. Matsuzaki *et al*^[31]提示噬菌体展示技术为*H pylori*感染的噬菌体疗法带来希望.

2.5 噬菌体疗法治疗*H pylori*的前景 众多的*H pylori*治疗方案均存在患者对药物的依从性差、抗生素耐药菌株不断出现、再感染的发生及药物的不良反应等问题, 因此是否治疗无症状带菌者, 成为一个两难选择. 一方面, 为了预防可能出现的不良后果, 应该对每个*H pylori*感染者进行根除治疗; 另一方面, 治疗常常难于坚持, 治愈后又面临复发, 且广泛持久的药物治疗会加速耐药菌株的产生和传播^[7]. 以至于目前国内外抗*H pylori*和根除*H pylori*治疗, 均要具备相对应的临床指征. 换句话说, 绝大多数*H pylori*感染者因为没有临床指征而得不到治疗, 而他们同样面临着罹患胃癌的高风险.

*H pylori*噬菌体为根除*H pylori*感染带来新希望. 毒性噬菌体能在宿主菌细胞内复制增殖, 产生许多子代噬菌体, 并最终裂解细菌, 而对动植物没有毒性. 由于野生型毒性噬菌体具有在宿主菌中自然扩增并破坏宿主菌, 然后随排泄物经粪-口途径自然感染他人的属性, 若采用*H pylori*毒性噬菌体治疗患者, 不仅患者自身感染的*H pylori*被噬菌体破坏得到治愈, 而且患者周围人群也可以自然感染*H pylori*噬菌体, 达到根除体内*H pylori*感染的目的. 从而, 一人使用, 多人受益. 因此, 治疗性*H pylori*噬菌体, 有望治疗大量的*H pylori*感染者. 为*H pylori*感染性疾病

患者提供一种有效、方便、实用的治疗新选择; 为数目庞大的*H pylori*无症状感染者, 提供一种不良反应的治疗新方法和治疗机会, 最终减少人群胃癌发生率.

3 结论

*H pylori*是胃癌的病因素, 根除*H pylori*感染可有效的预防胃癌. 但是*H pylori*的治疗方法虽多, 却都存在一些问题. 由于噬菌体具备追踪裂菌的抗菌性能, 在*H pylori*等难治性细菌感染的治疗和诊断中具有良好的研发前景.

4 参考文献

- 1 张红欣, 宋文刚, 郑成超. 幽门螺杆菌基因工程疫苗的研究进展. 细胞与分子免疫学杂志 2007; 23: 1099-1101
- 2 岳峰, 李艳玲, 李伟伟. 永远向前走 否定到最后 - 访中国工程院院士、第四军医大学校长、西安市科协主席樊代明. 大众科技报 2009.2.17
- 3 薛军. 抗幽门螺杆菌感染治疗进展. 中国现代医生 2008; 46: 39-40
- 4 张天哲, 张铁民, 赵丹丹, 唐桂钰. 中国人群幽门螺杆菌感染相关因素的Meta分析. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1582-1589
- 5 潘孝彰. 新发传染病. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 134-136
- 6 胡伏莲, 周殿元. 幽门螺杆菌感染的基础与临床. 第1版. 北京: 中国科学技术出版社, 2002: 47-49
- 7 潘秀珍, 彭孝纬, 彭如洁. 幽门螺杆菌对抗生素耐药研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 806-813
- 8 胡水清, 张玫. 10日序贯疗法治疗幽门螺杆菌感染39例. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1693-1695
- 9 张喜梅, 张振玉. 含左氧氟沙星、雷贝拉唑的三联方案治疗幽门螺杆菌94例. 世界华人消化杂志 2008; 16: 443-445
- 10 周俊, 张玫, 孙立东. 两种莫西沙星三联疗法对幽门螺杆菌的根除率的比较. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2887-2890
- 11 苏爱平, 许翠萍, 房晓芬, 王建春, 张太新. 幽门螺杆菌感染在慢性胃炎患者中的危险因素. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3810-3813
- 12 陈云华, 汪春莲, 申月明, 谢云, 蔡宇, 刘东. 乳酸杆菌对蒙古沙土鼠幽门螺杆菌感染性胃炎的疗效及其机制. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2922-2928
- 13 Górski A, Miedzybrodzki R, Borysowski J, Weber-Dabrowska B, Lobočka M, Fortuna W, Letkiewicz S, Zimecki M, Filby G. Bacteriophage therapy for the treatment of infections. *Curr Opin Investig Drugs* 2009; 10: 766-774
- 14 Housby JN, Mann NH. Phage therapy. *Drug Discov Today* 2009; 14: 536-540
- 15 孙伟, 朱春宝. 噬菌体治疗细菌感染的研究. 国外医药·抗生素分册 2005; 26: 54-69
- 16 von Bodman SB, Willey JM, Diggle SP. Cell-cell communication in bacteria: united we stand. *J Bacteriol* 2008; 190: 4377-4391
- 17 Capparelli R, Parlato M, Borriello G, Salvatore P, Iannelli D. Experimental phage therapy against *Staphylococcus aureus* in mice. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 2765-2773
- 18 McVay CS, Velásquez M, Fralick JA. Phage therapy of *Pseudomonas aeruginosa* infection in a mouse

名词解释

噬菌体: 是感染细菌、真菌、放线菌、螺旋体等微生物的病毒. 对宿主菌具有高度的专一性, 根据其侵染宿主菌后的状态和结果, 噬菌体分为两种类型: 一种能在宿主菌细胞内复制增殖, 产生许多子代噬菌体, 并最终裂解细菌, 称为毒性噬菌体; 另一种是温和噬菌体或溶原性噬菌体, 其基因组整合于宿主菌染色体中, 成为前噬菌体.

同行评价

本文选题很好, 采用噬菌体治疗幽门螺杆菌是一个不错的选择, 具有一定的可读性.

- burn wound model. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 1934-1938
- 26 Heo YJ, Lee YR, Jung HH, Lee J, Ko G, Cho YH. Antibacterial efficacy of phages against *Pseudomonas aeruginosa* infections in mice and *Drosophila melanogaster*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 2469-2474
- 27 Short CM, Suttle CA. Nearly identical bacteriophage structural gene sequences are widely distributed in both marine and freshwater environments. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71: 480-486
- 28 Verma V, Harjai K, Chhibber S. Characterization of a T7-like lytic bacteriophage of *Klebsiella pneumoniae* B5055: a potential therapeutic agent. *Curr Microbiol* 2009; 59: 274-281
- 29 Abedon ST. Kinetics of phage-mediated biocontrol of bacteria. *Foodborne Pathog Dis* 2009; 6: 807-815
- 30 Heintschel von Heinegg E, Nalik HP, Schmid EN. Characterisation of a *Helicobacter pylori* phage (HP1). *J Med Microbiol* 1993; 38: 245-249
- 31 Matsuzaki S, Rashel M, Uchiyama J, Sakurai S, Ujihara T, Kuroda M, Ikeuchi M, Tani T, Fujieda M, Wakiguchi H, Imai S. Bacteriophage therapy: a revitalized therapy against bacterial infectious diseases. *J Infect Chemother* 2005; 11: 211-219
- 20 蔺红苹. 利用噬菌体进行生物防治的研究进展. 湛江师范学院学报 2007; 28: 91-94
- 21 Cao J, Sun Y, Berglindh T, Mellgård B, Li Z, Mårdh B, Mårdh S. *Helicobacter pylori*-antigen-binding fragments expressed on the filamentous M13 phage prevent bacterial growth. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1474: 107-113
- 22 万学勤, 李万可兰, 崔志新, 段穗芳, 唐冬生. 抗菌微生物及其拮抗性代谢产物的种类和应用. 中国医药生物技术 2009; 4: 137-139
- 23 Barrow P, Lovell M, Berchieri A Jr. Use of lytic bacteriophage for control of experimental *Escherichia coli* septicemia and meningitis in chickens and calves. *Clin Diagn Lab Immunol* 1998; 5: 294-298
- 24 黄新, 高飞絮, 常胜合. 噬菌体脂质体包被液治疗小鼠耐多药结核的初步研究. 中国新药杂志 2008; 17: 482-485
- 25 李宏鸣, 万学勤, 李伟忠. 噬菌体辅助治疗结核性口腔

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》数字用法标准

本刊讯 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 本刊论文中数字作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行! (科学编辑: 李军亮 2009-12-18)