

# 幽门螺杆菌上皮接触诱导基因*iceA1*的克隆及序列特征

邵长江, 张尤历, 王文兵, 陈慧娟, 孔梅, 陈鑫, 宋永站

## ■背景资料

*iceA1* 基因是幽门螺杆菌(*H. pylori*)与胃上皮细胞接触后诱导表达的一种基因, 是一种新的*H. pylori*毒力相关基因。*iceA1* 基因与胃病之间的联系目前还有争议。这可能是由于在全球不同地理区域内*H. pylori* 基因型分布不均一引起的, 也反映了*H. pylori* 菌株与其致病的临床表现的地理上差异。

邵长江, 连云港市第二人民医院消化科 江苏省连云港市 222006

张尤历, 陈慧娟, 孔梅, 陈鑫, 宋永站, 江苏大学附属医院消化科 江苏省镇江市 212001

王文兵, 江苏大学生命科学研究院 江苏省镇江市 212013

邵长江, 硕士, 主治医师, 主要从事幽门螺杆菌与消化系统疾病研究。

作者贡献分布: 邵长江与张尤历对此文所作贡献均等; 此课题由张尤历与王文兵共同设计; 研究过程由邵长江、陈慧娟、孔梅、陈鑫及宋永站操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由张尤历提供; 分析由邵长江完成; 本论文写作由邵长江完成。

通讯作者: 张尤历, 教授, 212001, 江苏省镇江市解放路438号, 江苏大学附属医院消化科。zjyouli@yahoo.com.cn

电话: 0511-85011787

收稿日期: 2012-05-23 修回日期: 2012-06-29

接受日期: 2012-08-01 在线出版日期: 2012-08-18

## Cloning and sequence analysis of the *iceA1* gene of *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with various gastric disorders

Chang-Jiang Shao, You-Li Zhang, Wen-Bing Wang, Hui-Juan Chen, Mei Kong, Xin Chen, Yong-Zhan Song

Chang-Jiang Shao, Department of Gastroenterology, Lianyungang Second People's Hospital, Lianyungang 222006, Jiangsu Province, China

You-Li Zhang, Hui-Juan Chen, Mei Kong, Xin Chen, Yong-Zhan Song, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China

Wen-Bing Wang, Institute of Life Sciences, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, Jiangsu Province, China

Correspondence to: You-Li Zhang, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, 438 Jiefang Road, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China. zjyouli@yahoo.com.cn

Received: 2012-05-23 Revised: 2012-06-29

Accepted: 2012-08-01 Published online: 2012-08-18

## Abstract

**AIM:** To clone and sequence the *iceA1* gene of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) strains isolated from patients with various gastric disorders in Zhenjiang area.

**METHODS:** *H. pylori* strains were isolated from the gastric mucosa of patients with chronic gastritis, peptic ulcer or gastric cancer, and cultured on solid agar medium. The *iceA1* gene was amplified from *H. pylori* DNA by PCR, cloned into

T vector, sequenced and analyzed using bioinformatics methods.

**RESULTS:** The *iceA1* gene was cloned from 12 *H. pylori* strains derived from patients with chronic gastritis, peptic ulcer or gastric cancer and sequenced. Sequence analysis led to identification of three deletion hot spots (780del6, 809del5, 914del7) within the *iceA1* open reading frame. All these deletion mutations were identified in strains from patients with peptic ulcer or chronic gastritis, but only 809del5 was detected in strains from cancer patients. Local DNA sequence analysis revealed that the endpoints of all these deletions coincided with direct repeats. We also found deletion hot spots that were associated with direct repeats in *iceA1* and that favored a small-deletion model of slipped mispairing events during replication.

**CONCLUSION:** Analysis of *iceA1* sequence variations may be a useful tool for analysis of the population genetics of *H. pylori*.

**Key Words:** *Helicobacter pylori*; *iceA1*; Cloning; Sequence analysis; Molecular marker

Shao CJ, Zhang YL, Wang WB, Chen HJ, Kong M, Chen X, Song YZ. Cloning and sequence analysis of the *iceA1* gene of *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with various gastric disorders. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(23): 2218-2223

## 摘要

**目的:** 克隆和分析镇江地区来源于不同疾病的(胃癌、溃疡和胃炎)幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的表皮接触诱导基因*iceA1*。

**方法:** 从胃十二指肠疾病患者胃黏膜组织中分离培养获得*H. pylori*, PCR扩增检测*iceA1*基因, 并克隆至pMD18-T载体上, 进行测序和序列分析。

**结果:** 克隆和测序了镇江地区来源于不同疾病的(胃癌、溃疡和胃炎)共12株*H. pylori*的*iceA1*基因片段, 并与标准菌株60190比对,

## ■同行评议者

崔莲花, 副教授, 青岛大学医学院公共卫生系

结果显示镇江地区的*H. pylori*的*iceA1*基因中存在着3处框内缺失突变热点(780del6、809del5、914del7), 这些缺失突变在溃疡和胃炎中均存在, 但是胃癌株只存在809del5. 对缺失片段周围的序列进行分析, 这些缺失序列的两端基本都与同向重复序列相连, 这可能与复制过程中滑动错配的小片段缺失模型有关.

**结论:** *iceA1*序列的变异性有可能作为分析*H. pylori*群体遗传学的有用工具.

**关键词:** 幽门螺杆菌; 上皮接触诱导基因; 克隆; 序列分析; 分子标记

邵长江, 张尤历, 王文兵, 陈慧娟, 孔梅, 陈鑫, 宋永站. 幽门螺杆菌上皮接触诱导基因*iceA1*的克隆及序列特征. 世界华人消化杂志 2012; 20(23): 2218-2223

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2218.asp>

## 0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一种定植于人胃部的革兰氏阴性杆菌, 是慢性胃炎、消化性溃疡的主要病因, 并与胃癌和胃黏膜相关淋巴组织恶性淋巴瘤等疾病的发生密切相关<sup>[1,2]</sup>, 世界卫生组织已将其列为 I 级致癌因子<sup>[3]</sup>. *iceA*基因是*H. pylori*与胃上皮细胞接触后诱导表达的一种基因, 是1996年美国学者Donahue等<sup>[4]</sup>在比较1例溃疡和1例胃炎患者的*H. pylori*菌株的mRNA转录时发现的一新的*H. pylori*毒力相关基因. 该基因位于cysE(丝氨酸乙酰基转移酶的同源基因)下游, hpyIM上游. *iceA*基因有两个等位基因型, 分别称为*iceA1*和*iceA2*. *iceA1*基因与胃病之间的联系目前还有争论. 有的研究显示*iceA1*基因型与胃病之间无明显联系, 而也有一些研究表明, *iceA1*的基因型和*H. pylori*感染的临床预后之间有联系<sup>[5-7]</sup>. 这可能是由于在全球不同地理区域内*H. pylori*基因型分布不均一引起的, 也反映了*H. pylori*菌株与其致病的临床表现地理上差异. 陈慧娟等<sup>[8]</sup>研究来自镇江地区分离的*H. pylori*的*iceA1*基因的阳性率与亚洲其他国家报道的报道相近, *iceA1*在胃癌中的检出率高于慢性胃炎与消化性溃疡的患者, 但与胃癌、消化性溃疡和慢性胃炎等疾病类型的发生无显著相关性. 陈慧娟等分析了4例来源于镇江地区*iceA1*基因的结构特征, 发现镇江地区*H. pylori*菌株的*iceA1*基因有较独特的结构特征, 镇江地区*H. pylori*的*iceA1*基因读码框有3个翻译起始点, 镇江株以第3个起始点翻译为主, 形成较

小的蛋白结构. 因此, 我们进一步研究镇江地区*iceA1*序列特征, 并与标准菌株60190进行序列比对, 找出其核苷酸突变的位点及热点, 以进一步了解*iceA1*的地域特征.

## 1 材料和方法

1.1 材料 *H. pylori*基础培养基、微需氧环境发生袋、选择性抗生素及厌氧培养罐购自德国Merck公司. 改良布氏肉汤培养基由上海腹泻疾病控制中心提供, 无菌羊全血为金坛欣迪公司产品; *Escherichia coli* DH5 $\alpha$ 为江苏大学生命科学研究院实验室保存. pMD18-T载体、Taq DNA聚合酶、质粒抽提试剂盒购自TaKaRa大连公司. 酵母提取物、蛋白胨为OXOID公司产品. 其他常规试剂为市售分析纯.

### 1.2 方法

1.2.1 *H. pylori*菌株的来源: 分离的*H. pylori*来自2008-05/2008-12因消化系统症状来江苏大学附属医院消化科胃镜室检查患者的胃窦黏膜(距幽门5 cm以内)活检组织, 每例取新鲜胃黏膜3块, 其中1块置于输送液中用于分离培养*H. pylori*, 1块用于快速尿素酶检测, 1块用于病理组织学检查. 疾病的诊断依据胃镜和病理学检查.

1.2.2 *H. pylori*的培养: 自输送液中取出胃黏膜标本, 将活检新鲜组织用接种环均匀涂于固体琼脂培养基, 在微需氧环境, 37 °C下培养, 3-5 d后收集细菌. 经菌落形态、涂片染色显微镜下观察以及生化反应(尿素酶、化酶和触酶)证实. 尿素酶试验阳性-细菌使尿素酶试剂变红; 触酶试验阳性-细菌使3% $H_2O_2$ 产生连续的气泡; 氧化酶试验阳性-细菌使浸有氧化酶试剂的滤纸变黑.

1.2.3 *H. pylori*基因组DNA提取: 刮取培养的菌落, 悬于适量TE缓冲液, 以GES液(EDTA, sarkosyl)-氯仿法提取DNA, 加适量TE液, 4 °C过夜溶解. 于-20 °C保存备用.

1.2.4 引物设计与合成: 根据陈慧娟研究的镇江地区*H. pylori*菌株的*iceA1*基因读码框有3个翻译起始点, 镇江株以第3个起始点翻译为主, 形成较小的蛋白结构, 因此我们设计目的片段引物的思路是要包含从第1个翻译起始点到第3个翻译起始点这一区域. 根据NCBI数据库中的*H. pylori iceA1*基因(GenBank登录号: U43917)分别设计*iceA1*的上下游引物(表1). 引物由上海生物工程技术有限公司合成.

1.2.5 PCR扩增*iceA1*片段: 以获得的*H. pylori*基因组DNA为模板, P1和P2为引物, 用Taq DNA聚合

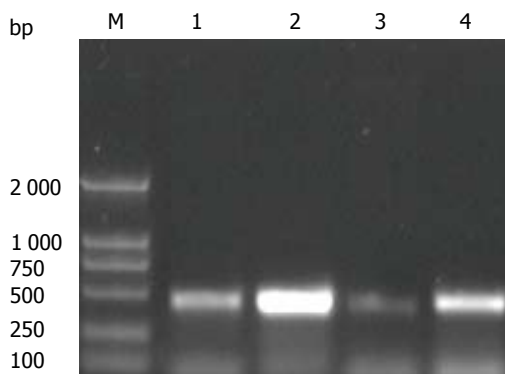
■**研发前沿**  
有的研究显示*iceA1*基因型与胃病之间无明显联系, 而也有一些研究表明, *iceA1*的基因型和*H. pylori*感染的临床预后之间有联系.

## ■创新亮点

镇江地区*H. pylori*菌株的*iceA1*基因有较独特的结构特征,存在3个框内缺失突变热点。我们发现缺失序列末端都与同向重复序列相邻,有可能是同向重复序列导致了镇江地区的*H. pylori* *iceA1*基因内部缺失突变的产生。

表 1 *H. pylori*菌株*iceA1*引物及扩增产物长度

基因	引物名称	核苷酸序列(5'-3')	PCR产物大小(bp)
<i>iceA1</i>	<i>iceA1F</i>	AATGCGGTGGTGCT-	472
		TTCAGAT	
<i>iceA1R</i>		TTTGAGTGTTCAG-	
		AGTTGCCGTG	

图 1 *iceA1*基因PCR产物。M: DNA标准(DL2000); 1-4分别为来源s24, s26, s65, w158的*iceA1*的PCR产物。

酶进行PCR扩增(在20  $\mu$ L反应体系中, 分别加入dNTP 2.0  $\mu$ L, 10 $\times$ PCR buffer 2.0  $\mu$ L, DNA模板1  $\mu$ L, P1和P2引物各0.5  $\mu$ L, Taq DNA聚合酶0.3  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 13.7  $\mu$ L, 按照PCR条件扩增, 扩增条件为: 94  $^{\circ}$ C预变性5 min后, 按94  $^{\circ}$ C 1 min, 56.2  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 40 s, 38个循环, 最后72  $^{\circ}$ C延伸10 min. PCR产物经1%的琼脂糖凝胶电泳检测。

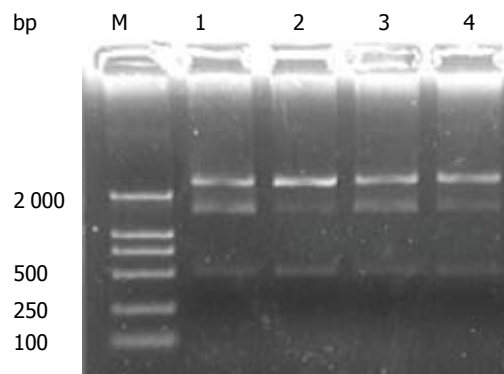
1.2.6 TA克隆: 胶回收试剂盒回收目的片段, 回收PCR产物与pMD18-T载体在16  $^{\circ}$ C连接过夜。连接产物转化DH5 $\alpha$ 感受态细胞, 转化后的细菌涂布于含100  $\mu$ g/mL氨苄青霉素的LB平板上, 37  $^{\circ}$ C培养12 h。挑取菌落转种于含氨苄青霉素100  $\mu$ g/mL的LB液体培养基, 37  $^{\circ}$ C振荡培养12 h后收集细菌, 质粒抽提试剂盒抽提质粒。

1.2.7 重组质粒的酶切鉴定和序列测定: 获得重组质粒pMD18-T-*iceA1*后用Hind III和EcoR I双酶切, 酶切产物经1%的凝胶电泳鉴定。为了进一步从序列的准确性上得到验证, 将阳性克隆菌株送到上海生物工程有限公司测序。

1.2.8 *iceA1*序列比对: 应用Expasy在线翻译蛋白; 应用生物软件MEGA 4.0, 将本实验室的12个*H. pylori*菌株与国际标准菌株60190 *iceA1*基因(GenBank登录号: U43917)的核苷酸序列进行序列比对。

## 2 结果

2.1 PCR结果 以不同胃十二指肠疾病来源的*H.*

图 2 pMD18-simple-T-*iceA1*的双酶切鉴定物。M: DNA标准(DL2000); 1-4来源于分别为来源s24, s26, s65, w158菌株的*iceA1*酶切产物。

*pylori*菌株基因组DNA为模板, 扩增出*iceA1*基因大小为472 bp左右(图1)对于*iceA1*片段的扩增, PCR产物的大小会有细小的差别, 测序结果表明这些区域内存在缺失突变。

2.2 pMD18-T-*iceA1*克隆和酶切鉴定 将不同疾病来源菌株的*iceA1*克隆于pMD18-T载体后用Hind III和EcoR I双酶切鉴定, 所获片段大小与预期相符(图2)。

2.3 不同菌株*iceA1*序列可变区的比对 分培养不同胃十二指肠疾病来源的*H. pylori*, 挑取*iceA1*进行TA克隆, 筛选12个阳性克隆(胃癌3株, 溃疡6株, 胃炎3株)的*iceA1*基因片段, 测序结果大小从428-472 bp不等(图3)。

本研究扩增了镇江地区来源于不同疾病的(胃癌、溃疡和胃炎)共12株*H. pylori*的*iceA1*基因片段并与标准菌株60190比对(GenBank登录号: U43917), 比对结果显示镇江地区的*H. pylori*的*iceA1*基因中存在着框内缺失突变。本研究发现了对应于标准菌株60190开放读码框第780个核苷酸位置缺失了6 bp(为了方便表述, 记作780del6)核苷酸序列(TAATTT), 第781个核苷酸位置缺失了6 bp核苷酸序列(AATTTG), 这些缺失突变的产生可能是因为同样的缺失机制(位于在同一个同向重复序列中), 其中780del6比781del6产生的频率更高(表2)。我们还发现了另外两个缺失位点, 即60190 *iceA1*开放读码框的第809个核苷酸位置(809del5)缺失了5 bp的核苷酸序列(TAGGA), 第914个核苷酸位置(914del7)缺失了7 bp的核苷酸序列, 这两个位置的缺失导致了移码突变, 从而导致*iceA1*转录的提前终止, 从而产生较小的蛋白结构。这2处缺失突变在镇江地区*H. pylori*的*iceA1*中存在频率较高。其中, 809del5的阳性率为83.3%(10/12), 914del7为

表 2 镇江地区*iceA1*序列分析

菌株标号	疾病来源	框内缺失		
		780del6	809del5	914del7
S49	CSG	+	+	+
S9	CAG	-	+	-
S26	CAG	-	-	-
S10	DU	-	-	-
S16	DU	-	+	+
S47	DU	-	+	-
S61	DU	-	+	-
S65	DU	+	+	+
Z48	DU	+	+	+
S17	GC	-	+	-
S24	GC	-	+	-
W158	GC	-	+	-
60190		-	-	-

CSG: 慢性浅表性胃炎; CAG: 慢性萎缩性胃炎; DU: 十二指肠溃疡; GC: 胃癌。

33.3%(4/12). 而且有3株*H. pylori*同时存在3处缺失突变(780del6、809del5和914del7), 3株胃癌*H. pylori*只含有809del5缺失突变, 而溃疡和胃炎株则含有3个缺失突变. 对缺失片段周围的序列进行分析, 这些缺失序列的两端基本都与5-10 bp核苷酸的同向重复序列相连(表3).

### 3 讨论

DNA序列分析表明*iceA1*与*nla IIIIR*在结构上十分相似, 后者有一个690 bp的开放读码框架(open reading frame, ORF), 能编码230个氨基酸的蛋白产物*nla IIIIR*. Xu等<sup>[9]</sup>在对HpCH4株的研究中发现, 其*iceA1*有一全长为684 bp的ORF, 经IPTG诱导重组大肠杆菌后可成功表达, 其基因产物为228个氨基酸, 非常类似于*nla IIIIR*, 并且证实该基因产物具有*nla IIIIR*样限制性内切酶的功能, 表达该产物的*H. pylori*与临床疾病发生的严重程度关系密切<sup>[10-12]</sup>, 但各家报道并不完全一致<sup>[5-7]</sup>. 并非所有*iceA1*皆可编*nla IIIIR*样蛋白, 其原因为不同地域的*iceA1*基因其ORF有着菌群特异性框移突变和无义突变, 故不能翻译出完整的*nla IIIIR*样蛋白. Donhaue等<sup>[4]</sup>认为, *iceA1*在大部分*H. pylori*菌株中的功能并非编码功能蛋白, 而是在转录水平调节其下游hpy IM基因的表达, 通过DNA甲基化水平的改变来调控相关毒性基因的表达, 从而间接参与*H. pylori*的致病作用.

*iceA1*在不同地区的及与疾病的关系并不相

同. Kidd等<sup>[13]</sup>在对南非患者*H. pylori*的研究中发现, *iceA1*存在情况为: 胃炎24%, 胃溃疡40%, 胃癌67%, *iceA1*与胃癌有关. 在日本*iceA1*在胃癌中的比例61%略高于其他消化性溃疡(53%), 未见统计学差异, 但发现*iceA1*菌株与消化性溃疡及胃粘膜IL-8水平有显著相关性. 北美及荷兰研究的显示, *iceA1*比*iceA2*更普遍存在, 且*iceA1*阳性的*H. pylori*能刺激胃黏膜产生高水平的IL-8, 与*iceA2*相比, *iceA1*与十二指肠溃疡关系更为密切<sup>[14]</sup>. 东亚以*iceA1*基因型为主<sup>[15]</sup>, 美国中东部地区则以*iceA2*为优势基因<sup>[16]</sup>. Wu等<sup>[17]</sup>研究台湾东部地区的*iceA1*与慢性胃炎有关. *iceA*基因的分布存在地域性差异, 在亚洲、非洲主要表达为*iceA1*基因, 在美洲大陆则以*iceA2*为主导, 而欧洲大陆的*iceA*基因则表现出与亚洲、美洲菌株的相似性, 在大多数地区的研究中未发现*iceA1*毒力菌株感染与临床疾病发生的因果关系<sup>[18]</sup>, 因此与*H. pylori*的其他毒力基因相似, *iceA1*基因对于疾病的意义在不同地区是不一样的.

*H. pylori*可通过点突变、等位基因交换、基因重排及序列插入等使基因呈现出多样性, 从而导致*H. pylori*不同基因组间的差异极大<sup>[19]</sup>. 不同地区流行的*H. pylori*基因组结构明显不同, 而基因组多样性则影响细菌毒力因子的功能及抗原形成, 即在细菌进化过程中毒力因素也存在生物-地理变异<sup>[14]</sup>. 我们对镇江地区来源于不同疾病的(胃癌、溃疡和胃炎)共12株*H. pylori*的*iceA1*基因片段与标准菌株60190比对, 我们发现一个有趣的现象, 即与标准菌株60190相比, 镇江地区的*H. pylori*的*iceA1*基因中存在着3个框内缺失突变热点, 而且这些缺失突变存在的频率很高. 包含重复序列(同向重复序列或者反向重复序列)的局部DNA序列在复制或者重组的过程中可能由于错配的原因而导致序列缺失, 在本项研究中, 我们发现缺失序列末端都与同向重复序列相邻. 因此, 很有可能是同向重复序列导致了镇江地区的*H. pylori*的*iceA1*基因内部的这些缺失突变的产生. 我们还发现了3株同时存在3个缺失突变的*H. pylori*, 而且镇江地区的有高度同源的*cagA*, *vacA*和*ureI*等基因<sup>[20,21]</sup>. 因此, 我们推测“建立者效应”<sup>[5]</sup>可能也是导致镇江地区框内突变热点产生的原因之一. 研究表明*iceA1*不同的等位基因型说明了<sup>[20,21]</sup>在不同地区基因库中的进化多样性, 对于菌株型的追踪有一定帮助. *iceA1*序列的变异性可以作为不同地

### ■应用要点

*iceA1*序列的变异性可以作为不同地域菌株多样性的一个分子标记, 有可能成为分析*H. pylori*群体遗传学的有用工具.

## ■名词解释

建立者效应：一些异常基因频率在小隔离群体中特别高，可能是由于该群体中少数始祖所具有的基因，由于遗传漂变而逐渐达到较高水平。

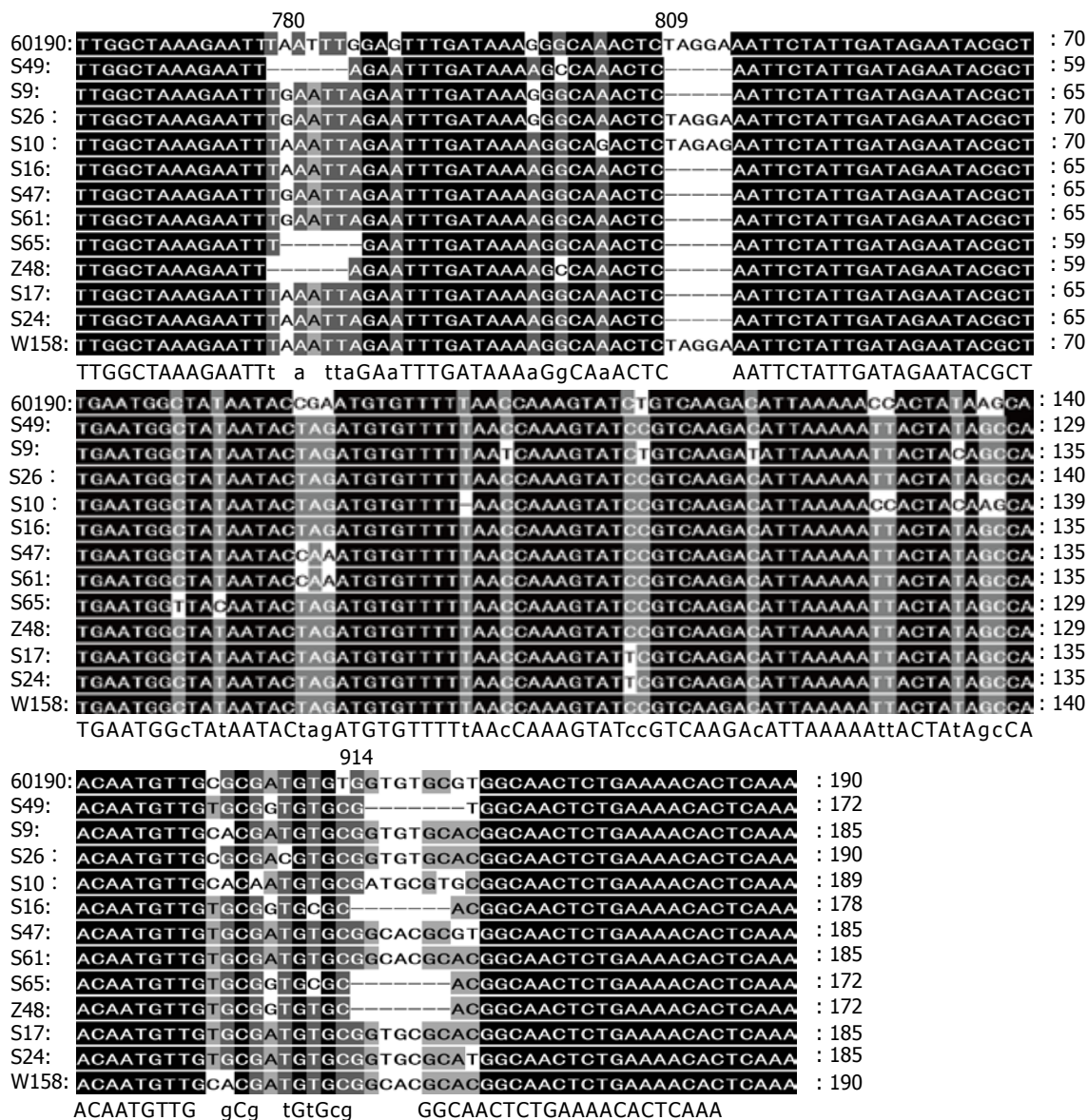


图 3 *iceA1* 序列比对。60190为标准菌株，S49, S9, S26为胃炎株，S10, S16, S47, S61, S65, Z48为溃疡株，S17, S24, W158为胃癌株。

表 3 *iceA1* 缺失突变及两端的核苷酸序列

缺失位置 <sup>b</sup>	菌株	核苷酸序列 <sup>a</sup>	缺失突变两端的重复序列	阳性缺失株数量(%)
780del6	60190	AGAATTTAATTTGGAGTTT	AGAATTT或AATTT	3/12(25.0)
	S26	AGAATTTGAATTAGAATTT		
	S49	AGAATT-----AGAATTT		
809del5	60190	AAACTCTAGGAAATTCTA	AAAYTCTA	10/12(83.3)
	S26	AAACTCTAGGAAATTCTA		
	S49	AAACTC-----AATTCTA		
914del7	60190	GTGTGGTGTGCGTGGC	GTGCR或GTGTGS	4/12(33.3)
	S26	GTGCGGTGTGCACGGC		
	S49	GTGCG-----TGGC		

<sup>a</sup>核苷酸序列对应的是标准菌株60190 *iceA1* 的开放读码框和它的上游序列(GenBank登录号: U43917); del代表缺失; <sup>b</sup>标准菌株60190和菌株S26分别代表西方菌株和镇江菌株，菌株S26和S49分别代表携带不同突变位点的镇江菌株，下划线部分的核苷酸序列标明的是同向重复序列(其中914del7含重叠部分)，Y代表T或者C，R代表G或者A，S代表G或者C。

域菌株多样性的一个分子标记, 有可能成为分析<sup>[20,21]</sup>群体遗传学的有用工具。

#### 4 参考文献

- Arfaoui D, Elloumi H, Ben Abdelaziz A. [Helicobacter pylori and gastric adenocarcinoma]. *Tunis Med* 2009; 87: 231-236
- Peter S, Beglinger C. Helicobacter pylori and gastric cancer: the causal relationship. *Digestion* 2007; 75: 25-35
- Herrera V, Parsonnet J. Helicobacter pylori and gastric adenocarcinoma. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15: 971-976
- Donahue JP, Peek RM, Van Doorn LJ, Thompson SA, Xu Q, Blaser MJ, Miller GG. Analysis of *iceA1* transcription in Helicobacter pylori. *Helicobacter* 2000; 5: 1-12
- Ito Y, Azuma T, Ito S, Suto H, Miyaji H, Yamazaki Y, Kato T, Kohli Y, Keida Y, Kuriyama M. Sequence analysis and clinical significance of the *iceA* gene from Helicobacter pylori strains in Japan. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 483-488
- Ciftci IH, Uslan I, Dilek FH, Aşık G, Özgür MA, Dilek ON. [Investigation of Helicobacter pylori *iceA1* and *iceA2* genes in patients with chronic gastritis and gastric cancer]. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45: 228-233
- Amjad N, Osman HA, Razak NA, Kassian J, Din J, bin Abdullah N. Clinical significance of Helicobacter pylori *cagA* and *iceA* genotype status. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4443-4447
- 陈慧娟, 张尤历, 唐炜. 幽门螺杆菌*iceA1*, *babA2*基因型与临床消化疾病的关系. *江苏大学学报(医学版)* 2009; 19: 173-175
- Xu Q, Morgan RD, Roberts RJ, Xu SY, van Doorn LJ, Donahue JP, Miller GG, Blaser MJ. Functional analysis of *iceA1*, a CATG-recognizing restriction endonuclease gene in Helicobacter pylori. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 3839-3847
- Peek RM, Thompson SA, Donahue JP, Tham KT, Atherton JC, Blaser MJ, Miller GG. Adherence to gastric epithelial cells induces expression of a Helicobacter pylori gene, *iceA*, that is associated with clinical outcome. *Proc Assoc Am Physicians* 1998; 110: 531-544
- van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, Plaisier A, Schneeberger P, de Boer W, Quint W. Clinical relevance of the *cagA*, *vacA*, and *iceA* status of Helicobacter pylori. *Gastroenterology* 1998; 115: 58-66
- Sheu SM, Sheu BS, Yang HB, Li C, Chu TC, Wu JJ. Presence of *iceA1* but not *cagA*, *cagC*, *cagE*, *cagF*, *cagN*, *cagT*, or *orf13* genes of Helicobacter pylori is associated with more severe gastric inflammation in Taiwanese. *J Formos Med Assoc* 2002; 101: 18-23
- Kidd M, Peek RM, Lastovica AJ, Israel DA, Kummer AF, Louw JA. Analysis of *iceA* genotypes in South African Helicobacter pylori strains and relationship to clinically significant disease. *Gut* 2001; 49: 629-635
- Kausar F, Hussain MA, Ahmed I, Srinivas S, Devi SM, Majeed AA, Rao KR, Khan AA, Sechi LA, Ahmed N. Comparative genomics of Helicobacter pylori isolates recovered from ulcer disease patients in England. *BMC Microbiol* 2005; 5: 32
- Yamaoka Y, Kodama T, Gutierrez O, Kim JG, Kashima K, Graham DY. Relationship between Helicobacter pylori *iceA*, *cagA*, and *vacA* status and clinical outcome: studies in four different countries. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2274-2279
- Wong BC, Yin Y, Berg DE, Xia HH, Zhang JZ, Wang WH, Wong WM, Huang XR, Tang VS, Lam SK. Distribution of distinct *vacA*, *cagA* and *iceA* alleles in Helicobacter pylori in Hong Kong. *Helicobacter* 2001; 6: 317-324
- Wu CC, Chou PY, Hu CT, Liu ZC, Lin CY, Tseng YH, Lin NT. Clinical Relevance of the *vacA*, *iceA*, *cagA*, and *flaA* genes of Helicobacter pylori strains isolated in Eastern Taiwan. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2913-2915
- 黄敬敬, 战淑慧, 董全江, 董开芯. 幽门螺杆菌*iceA1*基因地域分布特征. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3058-3063
- Falush D, Kraft C, Taylor NS, Correa P, Fox JG, Achtman M, Suerbaum S. Recombination and mutation during long-term gastric colonization by Helicobacter pylori: estimates of clock rates, recombination size, and minimal age. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 15056-15061
- 吴莺, 张尤历, 王文兵, 陈劲频, 沈琰. 不同地区幽门螺杆菌*cagA*基因羧基端可变区及其蛋白EPIYA基序的研究. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 746-749
- 邵长江, 张尤历, 王文兵, 孔梅, 陈鑫, 宋永站. 幽门螺杆菌尿素通道蛋白基因*ureI*的检测、克隆及序列分析. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3684-3687

#### ■同行评价

本研究选题科学, 创新性较好, 实用性较强, 具有一定的学术价值。

编辑 曹丽鸥 电编 鲁亚静