

## 幽门螺杆菌抗生素耐药相关菌体因素的研究进展

王丹, 宫月华, 袁媛

### ■背景资料

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 感染是最广泛的慢性细菌感染, 与许多疾病的发生发展密切相关。近年来, 随着根除治疗的不断应用, *H. pylori* 抗生素耐药率也不断增高, 导致根除疗效不断下降。在众多导致耐药根除失败的原因中, *H. pylori* 菌体自身的某些因素是最主要的原因。

王丹, 宫月华, 袁媛, 中国医科大学附属第一医院肿瘤研究所暨普通外科研究所肿瘤病因与筛查研究室 辽宁省高校肿瘤病因与预防重点实验室 辽宁省沈阳市 110001

王丹, 在读硕士, 主要从事幽门螺杆菌抗生素耐药性的研究。

作者贡献分布: 本文综述由王丹完成; 宫月华与袁媛负责审校。

通讯作者: 宫月华, 副教授, 硕士生导师, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京街155号, 中国医科大学附属第一医院肿瘤研究所暨普通外科研究所肿瘤病因与筛查研究室, 辽宁省高校肿瘤病因与预防重点实验室. [gongyueh75@163.com](mailto:gongyueh75@163.com)  
电话: 024-83282153

收稿日期: 2016-07-18  
修回日期: 2016-08-15  
接受日期: 2016-08-23  
在线出版日期: 2016-10-18

### Bacterial factors associated with *Helicobacter pylori* antibiotic resistance

Dan Wang, Yue-Hua Gong, Yuan Yuan

Dan Wang, Yue-Hua Gong, Yuan Yuan, Department of Tumor Etiology and Screening, Institute of Cancer and General Surgery, the First Affiliated Hospital of China Medical University; Key Laboratory of Cancer Control in Liaoning Province, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Yue-Hua Gong, Associate Professor, Department of Tumor Etiology and Screening, Institute of Cancer and General Surgery, the First Affiliated Hospital of China Medical University; Key Laboratory of Cancer Control in Liaoning Province, 155 Nanjing Street, Heping district, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. [gongyueh75@163.com](mailto:gongyueh75@163.com)

Received: 2016-07-18  
Revised: 2016-08-15  
Accepted: 2016-08-23  
Published online: 2016-10-18

### Abstract

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection is the most widespread chronic bacterial infection and is closely associated with many diseases. In recent years, however, *H. pylori* is becoming increasingly difficult to eradicate due to the growing antibiotic resistance. Among the reasons for the failed eradication, some factors of *H. pylori* itself play a main role. *H. pylori* can resist antibiotics by producing inactivating enzymes, changing the drug targets, preventing oxidation-reduction electron transfer, decreasing membrane permeability and activating efflux pump, changing bacterial metabolic state and so on. Elucidating the mechanism of antibiotic resistance will be helpful in developing new targeted drugs to effectively eradicate *H. pylori*. Here, we review the bacteria factors associated with *H. pylori* antibiotic resistance.

© The Author(s) 2016. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Antibiotic; Bacterial resistance; Molecular mechanism

Wang D, Gong YH, Yuan Y. Bacterial factors associated with *Helicobacter pylori* antibiotic resistance. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(29): 4102-4109 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v24/i29/4102.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i29.4102>

### 摘要

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 感染是最广泛的慢性细菌感染, 与许多疾病的

### ■同行评议者

刘晨, 主任医师, 湖南师范大学第一附属医院(湖南省人民医院)消化科

发生发展密切相关。近年来, 随着根除治疗的不断应用, *H. pylori* 抗生素耐药率也不断增高, 导致根除疗效不断下降。在众多导致耐药根除失败的原因中, *H. pylori* 菌体自身的某些因素是最主要的原因。*H. pylori* 可以通过产生灭活抗生素的灭活酶、改变药物作用的结合靶位、阻止氧化还原电位的电子传递、影响抗菌药物渗透屏障与主动外排机制、改变细菌自身代谢状态等途径耐药。明确 *H. pylori* 产生耐药的机制, 有助于针对性的研发新药, 从而有效地根除 *H. pylori*。本文就目前报道与抗生素耐药有关的 *H. pylori* 菌体因素及其耐药相关分子机制的研究现状做一综述。

© The Author(s) 2016. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 幽门螺杆菌; 抗生素; 耐药; 分子机制

**核心提要:** 本文从病原菌角度综述了目前报道有关幽门螺杆菌抗生素耐药性的主要分子机制, 包括产生灭活抗生素的灭活酶、改变抗菌药物作用的结合靶位、改变氧化还原电位的电子传递、破坏渗透屏障与主动外排机制等。

王丹, 宫月华, 袁媛. 幽门螺杆菌抗生素耐药相关菌体因素的研究进展. 世界华人消化杂志 2016; 24(29): 4102-4109  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v24/i29/4102.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i29.4102>

## 0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)为革兰氏阴性微需氧菌, 在人胃黏膜表面、黏液层下定植。作为全球感染最普遍的病原微生物之一, 感染全世界约50%-75%的人口<sup>[1]</sup>, 在发展中国家感染率已经达到70%-90%。虽然感染后绝大部分人没有临床症状<sup>[2]</sup>, 但研究显示它与慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌、胃黏膜相关淋巴瘤密切相关<sup>[3]</sup>。1994年国际癌症研究机构将其定为I类致癌因子<sup>[4]</sup>。根除 *H. pylori* 治疗能降低该菌的传播, 防止感染者发展成慢性胃炎, 能够治疗消化性溃疡并预防复发, 降低胃癌及其他相关性疾病的风险及负担<sup>[5]</sup>。

关于 *H. pylori* 根除治疗方案的选择, 目前国际公认的参考标准为2012年第四届马斯特里赫特会议推荐的方案, 即在克拉霉素低耐药

(<15%-20%)地区一线治疗方案为质子泵抑制剂(PPI)+克拉霉素+甲硝唑或者阿莫西林的标准三联疗法; 对于克拉霉素高耐药(>15%-20%)地区, 则选用含铋剂四联疗法(铋剂+PPI+2种抗生素), 就无法获取铋剂的国家则使用序贯疗法(PPI+阿莫西林前5 d, PPI+克拉霉素+甲硝唑后5 d, 总共10 d)或者伴同疗法(PPI+克拉霉素+阿莫西林+甲硝唑)<sup>[6]</sup>。国内2012年第四次全国 *H. pylori* 感染处理共识<sup>[7]</sup>指出, 鉴于我国流行病学和耐药率调查结果, 推荐含铋剂的四联疗法作为一线治疗方案。

目前随着各类抗生素的广泛应用, *H. pylori* 的耐药率逐年增加, 根除率逐年下降<sup>[8]</sup>。导致 *H. pylori* 耐药根除失败的原因有很多, 包括宿主、环境、病原体三方面。例如, 宿主 *CYP2C19* 基因多态影响质子泵抑制剂的代谢, 从而影响了抗生素的根除率<sup>[9]</sup>。在众多的影响因素中, *H. pylori* 菌体本身的某些改变是导致耐药出现的最主要原因。*H. pylori* 可以通过产生灭活抗生素的灭活酶、改变药物作用的结合靶位、阻止氧化还原电位的电子传递、影响抗菌药物渗透屏障与主动外排机制、改变细菌自身代谢状态等途径引起耐药。本文就目前报道与 *H. pylori* 抗生素耐药有关的细菌因素及其分子机制研究的现状做一综述。

## 1 产生灭活抗生素的灭活酶

灭活酶是耐药菌株产生的具有破坏或灭活抗菌药物活性的酶, 它可以通过水解、钝化或修饰作用破坏抗生素的结构使其失去活性。 $\beta$ -内酰胺酶是一种最常见的细菌钝化酶, 该酶能特异性地打开药物分子结构中的 $\beta$ -内酰胺环, 裂解抗生素导致其完全失去活性, 因此也称灭活酶。Horii等<sup>[10]</sup>首先在体外比较了联合应用 $\beta$ -内酰胺酶类抑制剂克拉维酸+阿莫西林与单独使用阿莫西林的抗 *H. pylori* 活性, 结果表明体外联合应用能够提高阿莫西林对 *H. pylori* 的抗菌作用。Ojetti等<sup>[11]</sup>随后也证实了 $\beta$ -内酰胺酶抑制剂可以提高 *H. pylori* 的根除率, 因此推测 $\beta$ -内酰胺酶很有可能与 *H. pylori* 的耐药有关。2009年Tseng等<sup>[12]</sup>首度在阿莫西林高水平耐药的 *H. pylori* 菌株中检测到 $\beta$ -内酰胺酶基因, 表明其可以通过合成 $\beta$ -内酰胺酶而耐药。*H. pylori* 产生的 $\beta$ -内酰胺酶能借助其分子中的丝氨酸活性位

## ■ 研究前沿

近年研究发现 *H. pylori* 耐药与菌体某些基因改变有关, 且存在多样性和地域性差异, 一些基因和 *H. pylori* 耐药的关系尚存在争议, 新的耐药基因陆续被报道。明确 *H. pylori* 抗生素耐药的分子机制, 有助于有针对性的研发新药, 从而有效根除 *H. pylori*。

## ■ 相关报道

目前随着各类抗生素的广泛应用, *H. pylori*的耐药率逐年增加, 根除率逐年下降, 导致*H. pylori*耐药根除失败的原因有很多, 国内外相关研究表明宿主、环境、病原体三方面均有影响。

点, 与 $\beta$ -内酰胺环结合并使其打开, 从而抑制了 $\beta$ -内酰胺类抗生素与*H. pylori*细胞壁的结合, 导致药物失活而产生耐药。

此外, *H. pylori*除了产生 $\beta$ -内酰胺酶, 是否也像其他病原菌能够产生酯酶灭活大环内脂类抗生素, 如克拉霉素; 产生氨基糖苷类钝化酶乙酰化酶、腺苷化酶、核苷化酶等使氨基糖苷类抗生素失去抗菌活性等, 目前没有文献报道, 或许这也是*H. pylori*对其他抗生素产生耐药的原因之一, 值得进一步去探讨。

## 2 改变抗菌药物作用的结合靶位

细菌能够通过某种方式改变与抗生素作用靶位的蛋白结构和数量, 导致抗生素结合的有效部位发生异常, 失去作用靶点或者亲和力降低而使细菌对抗生素耐药。*H. pylori*主要通过以下几个方面改变与药物作用的靶位: (1)青霉素结合蛋白的改变导致 $\beta$ -内酰胺类抗生素耐药; (2)核糖体亚基结构的改变造成大环内酯类、四环素、甲硝唑类抗生素抗菌作用减弱产生耐药; (3)DNA回旋酶的改变导致喹诺酮类抗生素耐药; (4)DNA依赖的RNA聚合酶的改变导致利福平与之结合减弱而耐药。

青霉素结合蛋白的改变青霉素结合蛋白(PBPs)与肽聚糖的合成有关, 而后者是细菌细胞壁的主要成分。通常情况下,  $\beta$ -内酰胺类抗生素与细胞膜上的PBPs共价结合抑制转肽酶的活性, 导致肽聚糖合成受阻, 造细菌细胞壁形成障碍, 从而消灭细菌。然而, PBPs编码基因突变导致蛋白亲和力降低, 是*H. pylori*对 $\beta$ -内酰胺类抗生素, 如阿莫西林耐药的另一个主要原因。PBPs编码基因不同位点突变可以产生包括三种高分子量(PBP1-PBP3)和六种低分子量(PBP4-PBP9)的九种蛋白产物。*H. pylori*耐阿莫西林最常见的突变产物是PBP1, Qureshi等<sup>[13]</sup>指出从临床分离的*H. pylori*耐阿莫西林和PBP1的改变有关。另有研究报道PBP2、PBP3能够促进PBP1的耐药, 可能是导致阿莫西林耐药水平升高的原因<sup>[14]</sup>。

核糖体的改变核糖体是细胞内蛋白质合成的分子机器, 原核生物的核糖体是70S, 由50S的大亚基和30S的小亚基组成。通常情况下, 大环内脂类抗生素, 如克拉霉素, 与50S亚基不可逆的结合, 阻断转肽作用及mRNA位

移, 或与50S亚基的L22蛋白质结合, 导致核糖体结构破坏, 使肽酰tRNA在肽键延长阶段较早的从核糖体上解离, 抑制细菌蛋白的合成。四环素与核糖体30S亚基结合, 阻止氨酰基-tRNA进入A位, 同样达到抑制细菌蛋白合成的作用。

大量研究<sup>[15,16]</sup>认为*H. pylori*耐克拉霉素主要与50S亚基的23SrRNA V区的A2143G、A2142G、A2142C位点的突变有关, 它能引起克拉霉素与核糖体结合能力的下降。此外, 在该区也有新的突变位点陆续被报道, 如A2144G、T2115G、G2141A、T2190C、C2195T、A2223G、C2694A、G2254T、GA2172T突变也和克拉霉素的耐药有关<sup>[17-19]</sup>。23SrRNA V区以外的T2717C、T2289C、G2224A、C2245T的位点突变同样也有报道<sup>[20]</sup>。这些新发的突变位点导致耐药是否与核糖体结合能力下降有关, 目前尚不清楚。Binh等<sup>[21]</sup>利用新一代测序技术发现编码核糖体蛋白L22的hp1314(rpl22)和编码翻译起始因子IF-2的hp1048(infB)也与*H. pylori*克拉霉素耐药有关。在正常情况下, IF-2促进起始tRNA与小亚基结合, 拉开蛋白翻译的帷幕; 在耐药情况下*H. pylori*可能通过改变IF-2的结构, 使克拉霉素不能与之结合而失去抑制蛋白翻译的作用, 从而产生耐药。

关于*H. pylori*耐四环素, 目前主要认为是细菌30S亚基16SrRNA序列改变降低了药物和核糖体的亲和力。Suzuki等<sup>[22]</sup>发现*H. pylori*对四环素的耐药与16SrRNA926-928位点的AGA突变成TTC有关。Dadashzadeh等<sup>[18]</sup>在耐四环素的*H. pylori*菌株中发现16SrRNA新的突变位点A939C。除了以上位点外, 是否30S亚基还存在其他类型的改变和四环素耐药有关, 值得进一步探讨。

Binh等<sup>[23]</sup>采用二代测序首次发现rpsU基因的突变可能和甲硝唑的耐药有关, rpsU基因编码核糖体30S亚基的蛋白S21。之前在大肠杆菌中有报道称rpsU基因与其耐药有关, 而rpsU与*H. pylori*耐甲硝唑的机制目前尚不清楚, 是否与核糖体结合能力下降有关, 需进一步研究。

DNA回旋酶的改变 DNA回旋酶又称促旋酶, 属于细菌解链酶类的一种, 主要由gyrA、gyrB基因的编码, 由 $\alpha$ 、 $\beta$ 两个亚基组成, 能够



在水解ATP的同时能使松弛环状DNA转变为负超螺旋DNA. 在通常情况下, 喹诺酮类药物通过抑制细菌DNA回旋酶, 造成DNA不可逆的损伤从而抑制细菌蛋白的合成而抗菌. 在*H. pylori*耐药情况下, *gyrA* 91、88、87三个编码氨基酸位点基因突变, 其中87和91位点突变频率最高<sup>[24]</sup>. 除了这些突变, 曾有研究发现在*gyrA*基因中存在其他位点突变和喹诺酮的耐药有关, 如*gyrA97*<sup>[25]</sup>. 另外Rimbara等<sup>[26]</sup>发现*gyrB*基因463位点的突变与*H. pylori*耐诺氟沙星、左氧氟沙星有关.

DNA依赖的RNA聚合酶的改变DNA依赖的RNA聚合酶是由多个蛋白亚基组成的复合酶, 其中*rpoβ*基因编码β亚基, 能把DNA序列转录成RNA序列. 利福平药物一般用于抗结核治疗, 在通常情况下, 利福平、利福霉素等能结合在β亚基上而对此酶发生强烈的抑制转录作用而抗菌. 在耐药情况下, 突变的*rpoβ*基因使DNA依赖的RNA聚合酶作用靶位发生改变, 导致利福平类药物与之结合能力的降低. Heep等<sup>[27]</sup>报道*H. pylori rpoβ*基因524-525、585位碱基发生突变与利福霉素耐药有关. Nishizawa等<sup>[28]</sup>的研究报道*H. pylori*利福布汀耐药机制也是以*rpoβ*基因突变为主.

### 3 阻止氧化还原电位的电子传递

氧化还原系统在微生物的生长发育过程中占有重要作用, 通过电子的传递完成维持生物体生长存活的一系列反应. 而某些药物能够利用生物体内的氧化还原系统, 通过获得电子被还原成具有抗菌活性的物质从而达到消灭细菌的作用.

硝基咪唑类为代表的甲硝唑, 是一种无抑菌活性的药物前体, 通常在胃黏膜高酸的环境下形成硝基团扩散到*H. pylori*胞质中, 通过硝基还原酶系统电子传递获得电子, 被还原成硝基阴离子和其他复合物, 使细菌DNA降解从而达到抗菌目的. 在耐药情况下, 细菌编码硝基还原酶的*rdxA*基因突变, 致电子传递受阻, 不能氧化还原成有抗菌活性的物质. Binh等<sup>[23]</sup>发现*rdxA*的G3A突变和*H. pylori*耐甲硝唑有关, 且编码NADPH黄素氧化还原酶的*fdxA*基因在*rdxA*突变的耐药菌株中能够提高*H. pylori*耐药能力. Tu等<sup>[29]</sup>发现*H. pylori lon*基因编码的Lon

蛋白酶在体外通过改变*rdxA*编码的硝基还原酶的活性, 也能够间接增强细菌对甲硝唑的耐药性.

呋喃唑酮是硝基呋喃类药物, 生物活性和甲硝唑类似, 研究发现*frxA*、*rdxA*等基因的编码的产物不能还原呋喃唑酮, 因此对于*frxA*、*rdxA*基因的突变引起*H. pylori*对甲硝唑耐药, 呋喃唑酮可以作为替代药物. 但在根除*H. pylori*的应用中, 同样也有耐药现象的发生, 其机制仍然是氧化还原受阻. Su等<sup>[30]</sup>发现编码铁氧化还原蛋白和黄素氧化还原蛋白的*porD*和*oorD*突变导致呋喃唑酮不能得到电子被还原而耐药, 其中*porD*基因突变位点是G353A、A356G、C357T, *oorD*基因突变位点是A041G、A122G、C349A.

### 4 破坏渗透屏障与主动外排机制

抗生素发挥抗菌作用, 首先需要穿越细胞壁、细胞膜进入胞内与靶位结合. 在耐药情况下, 细菌通过降低细菌壁、细胞膜的通透性, 或者产生生物膜而形成一道有效的屏障, 阻碍抗生素进入胞内产生耐药作用. 此外, 对于进入胞内的抗生素, 细菌外排泵系统发挥作用使其流出增加, 也是导致有效抗菌浓度下降而耐药的另一重要原因. *H. pylori*利用渗透屏障和主动外排机制并不局限针对某种特定抗生素, 推测其可能是导致多重耐药的一个重要原因.

与*H. pylori*渗透屏障相关的蛋白为外膜蛋白(outer membrane proteins, OMPs), OMPs分为五个家族, 分别是粘附素、孔蛋白、铁转运蛋白、外排蛋白、未知功能蛋白. Smiley等<sup>[31]</sup>学者揭示OMP的改变能够导致*H. pylori*克拉霉素耐药. Co等<sup>[32]</sup>发现PBP1位点突变导致亲和力降低及*hopB*、*hopB*基因的突变造成膜通透性的降低都可能与阿莫西林耐药机制有关.

Yonezawa等<sup>[33]</sup>最新发表的综述, 指出生物膜是由细菌和他所分泌的胞外多聚物如胞外多糖等所组成的外观呈膜状的多菌集合体, 通过改变渗透性及营养限制与耐药有关. Carron等<sup>[34]</sup>首次发现*H. pylori*黏附在人的胃黏膜表面形成了生物膜. 最新研究显示其体外也可以产生生物膜<sup>[35]</sup>. Attaran等<sup>[36]</sup>将感染*H. pylori*的鼠成功地在胃内建立了生物膜模型. 2013年

### ■ 创新盘点

本文从病原菌角度综述了目前报道有关*H. pylori*抗生素耐药性的主要分子机制, 并将各种耐药分子机制以及由此导致的何种抗生素耐药予以详细综述, 将为有效根除*H. pylori*提供新的研究策略和理论参考.

### 应用要点

掌握*H. pylori*耐药的分子机制, 将为有效根除*H. pylori*提供研发新药的策略和治疗新途径, 也有助于探索新的耐药检测方法, 有助于提高临床根除效果。

Yonezawa等<sup>[37]</sup>研究结果表明生物膜降低了*H. pylori*对克拉霉素的敏感性, 同时形成生物膜的*H. pylori*细胞比与之相对的浮游细胞更容易产生对克拉霉素耐药的点突变。尽管生物膜在*H. pylori*耐药中起到一定的作用, 但与其他耐药机制之间的关系尚需要进一步研究。

细菌外排泵是一种膜蛋白, 也是造成细菌耐药的一种原因, 有五个家族, 在革兰阴性菌中与耐药有关的主要是RND家族的AcrAB-TolC外排泵, 也是多重耐药最主要的外排系统。研究发现编码AcrAB-TolC的有三个操纵子, 分别是hefABC、hefDEF、hefGHI, 其中hefA、hefD、hefG编码外膜通道蛋白TolC, hefB、hefE、hefH编码膜融合蛋白AcrA, hefC、hefF、hefI编码外排泵蛋白AcrB<sup>[38]</sup>。Mehrabadi等<sup>[39]</sup>对耐甲硝唑*H. pylori*菌株TolC的四种同源基因*hp0971*、*hp1327*、*hp1489*、*hp0605*在不同浓度甲硝唑作用下的转录表达水平进行研究, 发现随着甲硝唑浓度的增加, 四种同源基因的转录水平增高, 揭示TolC和*H. pylori*耐甲硝唑有关。Hirata等<sup>[40]</sup>为了探讨外排泵在*H. pylori*耐克拉霉素中的作用, 在临床分离得到的15株耐克拉霉素*H. pylori*中检测到外排泵的表达, 并发现在使用外排泵抑制剂后最低抑菌浓度值降低, 表明外排泵在*H. pylori*耐克拉霉素中发挥作用。另外, 在2000年就有报道<sup>[41]</sup>称外排泵在*H. pylori*耐阿莫西林中也起到一定的作用。此外Li等<sup>[42]</sup>报道*hp1165*基因编码类似于TetA(P)的外排蛋白, 其基因突变使得*H. pylori*对四环素更敏感。由此可见, *H. pylori*对抗生素产生耐药, 外排泵可能也是其中一个因素。

## 5 其他

除上述耐药机制外, 最近研究发现存在其他与*H. pylori*耐药相关的分子机制。例如, Tsugawa等<sup>[43]</sup>发现氧自由基清除能力增强也可能与*H. pylori*耐药相关。在甲硝唑耐药菌株中发现作为超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)转录抑制因子的铁吸收调节蛋白(ferric uptake regulator, Fur)的氨基酸发生突变(C78Y, P114S), 导致SOD表达增加, 氧自由基清除能力增加, 一方面可以减少宿主对*H. pylori*强烈氧化应激反应的损伤, 另一方面产生解毒作用, 使甲硝唑类产生的硝基阴离子自由基等被清除导致耐药。Choi等<sup>[44]</sup>同样也发现Fur的突变可以改变*H.*

*pylori*对甲硝唑的敏感性。此外, Hirata等<sup>[40]</sup>发现DNA损伤或者复制能力的改变也能够影响*H. pylori*的耐药性。例如, 编码DNA修复酶的*recA*基因的突变可引起DNA损伤的甲硝唑对脆弱拟杆菌耐药<sup>[45]</sup>。

## 6 结论与展望

本文从病原菌角度综述了目前报道有关*H. pylori*抗生素耐药性的主要分子机制, 包括产生灭活抗生素的灭活酶、改变抗菌药物作用的结合靶位、改变氧化还原电位的电子传递、破坏渗透屏障与主动外排机制等(表1)。本文将为有效根除*H. pylori*提供新的研究策略和理论参考。

目前, 根据细菌耐药机制, 寻找和研制具有抗菌活性, 尤其对耐药菌株有活性的新型抗菌药物成为可能。例如从增加膜通透性角度出发, 最近Narayana等<sup>[46]</sup>在体内评价了一种具有抗菌活性的多肽——抗菌肽Epinecidin-1的疗效, 它含高阳离子, 具有广谱杀菌活性, 能够吸附、破坏带负电的细菌细胞膜造成内容物的泄露, 杀死细菌; 同时也可以促进其他药物进入细胞内产生协同作用, 是一种安全、有效, 具有前景的药物。从抑制代谢合成中所需酶的角度出发, 有学者提出可以通过抑制腺苷同型半胱氨酸核苷酶, 阻碍甲基奈醌类物质产生作为抗击*H. pylori*的新策略<sup>[47]</sup>。国外学者Gonzalez-Bello<sup>[48]</sup>提出莽草酸途径中莽草酸激酶、脱氢奎尼酸II两个关键酶的抑制剂对于治疗*H. pylori*也可能成为一种新的方法。此外, 从耐药菌产生的灭活酶、生物膜角度出发, 寻找有效的酶抑制剂、生物膜溶解剂。Jung等<sup>[49]</sup>构建了脂质体亚麻酸, 通过作用胞膜使其通透性增加, 膜完整性破坏而快速杀死*H. pylori*。在其他方面, 有报道<sup>[50]</sup>称来自酒、苹果皮、橄榄油内的多酚类物质也有抗*H. pylori*的作用, 其机制推测和抑制尿素酶、黏附分子SabA、VacA和降解外膜有关。

然而, 尽管*H. pylori*耐药机制的报道很多, 至今仍存在很多问题尚不明确。例如, 针对同一种抗生素可能存在多种耐药机制, 它们之间是如何联系的? 针对同一个患者在治疗的不同阶段可能存在单一耐药或多重耐药, 高耐药或低耐药, 它们之间又是如何转换的? 此外, *H. pylori*无论是耐药现象还是耐药机制都存在地

表 1 幽门螺杆菌常用抗生素耐药有关的菌体因素及其相关基因

分类	原理	抗生素	相关基因和蛋白	参考文献
产生抗生素	$\beta$ -内酰胺酶	阿莫西林		[10-12]
灭活酶				
改变抗菌药	青霉素结合蛋白(PBPs)	阿莫西林	<i>PBP1</i>	[13]
物作用靶位			<i>PBP2</i> 、 <i>PBP3</i>	[14]
	核糖体	克拉霉素	A2143G、A2142G、 A2142C A2144G	[15,16] [17]
			T2115G、G2141A、 T2190C、C2195T、 A2223G、C2694A G2254T、G2172T	[18] [19]
			23SrRNA V区之外 T2717C、T2289C、 G2224A、C2245T <i>hsp1314(vpl22)</i>	[20] [21]
			30S亚基 L22	
		四环素	AGA(926-928)变成TTC	[22]
		甲硝唑	<i>rpsU</i>	[23]
		喹诺酮	91、88、87 97	[24] [25]
	DNA回旋酶	<i>gyrA</i>	463	[26]
		<i>gyrB</i>		
	DNA依赖的RNA聚合酶	$\beta$ 亚基	<i>rpoB</i> 524-525、585	[27]
氧化还原电	硝基还原酶	利福平		[28]
位		利福布汀		
	铁氧化还原蛋白	甲硝唑	<i>rdxA</i> G3A、 <i>frxA</i> <i>lon</i>	[23] [29]
	黄素氧化还原蛋白	呋喃唑酮	<i>porD</i> : G353A、 A356G、C357T <i>oorD</i> : A041G、 A122G、C349A	[30]
渗透屏障和	细胞膜通透性改变	克拉霉素、	OMPs、 <i>hopB</i> 、 <i>hopC</i>	[31,32]
主动外排	生物膜形成	阿莫西林 克拉霉素、		[37]
	主动外排机制	阿莫西林 甲硝唑、	TolC、 <i>hsp1165</i>	[39-42]
		阿莫西林 克拉霉素、		
其他	氧自由基清除系统	四环素		
	DNA修复酶	甲硝唑	Fur: C78Y、P114S	[43,44]
		甲硝唑、	<i>recA</i>	[45]
		吉米沙星		

■名词解释

灭活酶：是耐药菌株产生的具有破坏或灭活抗菌药物活性的酶，它可以通过水解、钝化或修饰作用破坏抗生素的结构使其失去活性。有两种：(1)水解酶，如 $\beta$ -内酰胺酶或头孢菌素；(2)钝化酶，可催化某些基团的OH基或NH<sub>2</sub>基上，使抗生素失活，如乙酰转移酶。

域性、多样性的差别，今后仍然有必要从地域性角度出发揭示其耐药性及相关分子机制。

7 参考文献

1 Calvet X, Ramírez Lázaro MJ, Lehours P, Mégraud F. Diagnosis and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2013; 18 Suppl 1: 5-11 [PMID: 24011238 DOI: 10.1111/hel.12071]  
2 Ghotaslou R, Milani M, Akhi MT, Nahaei MR, Hasani A, Hejazi MS, Meshkini M. Diversity of *Helicobacter Pylori* *cagA* and *vacA* Genes and Its Relationship with Clinical Outcomes in Azerbaijan, Iran. *Adv Pharm Bull* 2013; 3: 57-62 [PMID: 24312813 DOI: 10.5681/apb.2013.010]  
3 Hajimahmoodi M, Shams-Ardakani M, Saniee

P, Siavoshi F, Mehrabani M, Hosseinzadeh H, Foroumadi P, Safavi M, Khanavi M, Akbarzadeh T, Shafiee A, Foroumadi A. In vitro antibacterial activity of some Iranian medicinal plant extracts against *Helicobacter pylori*. *Nat Prod Res* 2011; 25: 1059-1066 [PMID: 21726128 DOI: 10.1080/14786419.2010.501763]  
4 Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June 1994. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1994; 61: 1-241 [PMID: 7715068]  
5 Doorakkers E, Lagergren J, Engstrand L, Brusselsaers N. Eradication of *Helicobacter pylori* and Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis of Cohort Studies. *J Natl Cancer Inst* 2016; 108: [PMID:



# 同行评价

查阅文献较多, 内容较丰富, 条理较清楚, 基本把握了目前该领域的最新进展。

- 27416750 DOI: 10.1093/jnci/djw132]
- 6 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ. Management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012; 61: 646-664 [PMID: 22491499 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302084]
- 7 Liu WZ, Xie Y, Cheng H, Lu NH, Hu FL, Zhang WD, Zhou LY, Chen Y, Zeng ZR, Wang CW, Xiao SD, Pan GZ, Hu PJ. Fourth Chinese National Consensus Report on the management of *Helicobacter pylori* infection. *J Dig Dis* 2013; 14: 211-221 [PMID: 23302262 DOI: 10.1111/1752-2980.12034]
- 8 Thung I, Aramin H, Vavinskaya V, Gupta S, Park JY, Crowe SE, Valasek MA. Review article: the global emergence of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance. *Aliment Pharmacol Ther* 2016; 43: 514-533 [PMID: 26694080 DOI: 10.1111/apt.13497]
- 9 Kuo CH, Lu CY, Shih HY, Liu CJ, Wu MC, Hu HM, Hsu WH, Yu FJ, Wu DC, Kuo FC. CYP2C19 polymorphism influences *Helicobacter pylori* eradication. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 16029-16036 [PMID: 25473155 DOI: 10.3748/wjg.v20.i43.16029]
- 10 Horii T, Kimura T, Sato-Kawamura K, Nada T, Shibayama K, Ohta M. beta-Lactamase inhibitors have antibacterial activities against *Helicobacter pylori*. *J Infect Chemother* 1999; 5: 206-207 [PMID: 11810518 DOI: 10.1007/s101569900027]
- 11 Ojetti V, Migneco A, Zocco MA, Nista EC, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Beta-lactamase inhibitor enhances *Helicobacter pylori* eradication rate. *J Intern Med* 2004; 255: 125-129 [PMID: 14687248 DOI: 10.1046/j.0954-6820.2003.01239.x]
- 12 Tseng YS, Wu DC, Chang CY, Kuo CH, Yang YC, Jan CM, Su YC, Kuo FC, Chang LL. Amoxicillin resistance with beta-lactamase production in *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Invest* 2009; 39: 807-812 [PMID: 19614952 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2009.02166.x]
- 13 Qureshi NN, Morikis D, Schiller NL. Contribution of specific amino acid changes in penicillin binding protein 1 to amoxicillin resistance in clinical *Helicobacter pylori* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 101-109 [PMID: 20956585 DOI: 10.1128/AAC.00545-10]
- 14 Qureshi NN, Gallaher B, Schiller NL. Evolution of amoxicillin resistance of *Helicobacter pylori* in vitro: characterization of resistance mechanisms. *Microb Drug Resist* 2014; 20: 509-516 [PMID: 24901497 DOI: 10.1089/mdr.2014.0019]
- 15 Alfaresi MS, Elkoush AA. Characterization of clarithromycin resistance in isolates of *Helicobacter pylori* from the UAE. *Indian J Gastroenterol* 2010; 29: 116-120 [PMID: 20658326 DOI: 10.1007/s12664-010-0034-z]
- 16 Khashei R, Dara M, Bazargani A, Bagheri Lankarani K, Taghavi A, Moeini M, Dehghani B, Sohrabi M. High rate of A2142G point mutation associated with clarithromycin resistance among Iranian *Helicobacter pylori* clinical isolates. *APMIS* 2016; Jun. 30 [Epub ahead of print] [PMID: 27357065 DOI: 10.1111/apm.12567]
- 17 Miyamoto S, Watanabe Y, Oikawa R, Ono S, Mabe K, Kudo T, Yamamoto H, Itoh F, Kato M, Sakamoto N. Analysis of *Helicobacter pylori* genotypes in clinical gastric wash samples. *Tumour Biol* 2016; Jan. 29 [Epub ahead of print] [PMID: 26825980 DOI: 10.1007/s13277-016-4886-4]
- 18 Dadashzadeh K, Milani M, Rahmati M, Akbarzadeh A. Real-time PCR detection of 16S rRNA novel mutations associated with *Helicobacter pylori* tetracycline resistance in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15: 8883-8886 [PMID: 25374223 DOI: 10.7314/APJCP.2014.15.20.8883]
- 19 Zhen-Hua Z, De-Qiang H, Yong X, Lin-Lin L, Nong-Hua L. Characterization of 23S rRNA gene mutation in primary and secondary clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* strains from East China. *Turk J Gastroenterol* 2013; 24: 5-9 [PMID: 23794337 DOI: 10.4318/tjp.2013.0525]
- 20 Hao Q, Li Y, Zhang ZJ, Liu Y, Gao H. New mutation points in 23S rRNA gene associated with *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin in northeast China. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1075-1077 [PMID: 15052698 DOI: 10.3748/WJG.v10.i7.1075]
- 21 Binh TT, Shiota S, Suzuki R, Matsuda M, Trang TT, Kwon DH, Iwatani S, Yamaoka Y. Discovery of novel mutations for clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* by using next-generation sequencing. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69: 1796-1803 [PMID: 24648504 DOI: 10.1093/jac/dku050]
- 22 Suzuki RB, Almeida CM, Sperança MA. Absence of *Helicobacter pylori* high tetracycline resistant 16S rDNA AGA926-928TTC genotype in gastric biopsy specimens from dyspeptic patients of a city in the interior of São Paulo, Brazil. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 49 [PMID: 22594560 DOI: 10.1186/1471-230X-12-49]
- 23 Binh TT, Suzuki R, Trang TT, Kwon DH, Yamaoka Y. Search for novel candidate mutations for metronidazole resistance in *Helicobacter pylori* using next-generation sequencing. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59: 2343-2348 [PMID: 25645832 DOI: 10.1128/aac.04852-14]
- 24 Garcia M, Raymond J, Garnier M, Cremliner J, Burucoa C. Distribution of spontaneous gyrA mutations in 97 fluoroquinolone-resistant *Helicobacter pylori* isolates collected in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 550-551 [PMID: 22064536 DOI: 10.1128/AAC.05243-11]
- 25 Moore RA, Beckthold B, Wong S, Kureishi A, Bryan LE. Nucleotide sequence of the gyrA gene and characterization of ciprofloxacin-resistant mutants of *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 107-111 [PMID: 7695290 DOI: 10.1128/AAC.39.1.107]
- 26 Rimbara E, Noguchi N, Kawai T, Sasatsu M. Fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*: role of mutations at position 87 and 91 of GyrA on the level of resistance and identification of a resistance conferring mutation in GyrB. *Helicobacter* 2012; 17: 36-42 [PMID: 22221614 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00912.x]
- 27 Heep M, Rieger U, Beck D, Lehn N. Mutations in the beginning of the rpoB gene can induce resistance to rifamycins in both *Helicobacter pylori* and *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 1075-1077 [PMID: 10722516]
- 28 Nishizawa T, Suzuki H, Matsuzaki J, Muraoka H, Tsugawa H, Hirata K, Hibi T. *Helicobacter pylori* resistance to rifabutin in the last 7 years.

- Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 5374-5375 [PMID: 21896915 DOI: 10.1128/aac.05437-11]
- 29 Tu IF, Liao JH, Yang FL, Lin NT, Chan HL, Wu SH. Lon protease affects the RdxA nitroreductase activity and metronidazole susceptibility in *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2014; 19: 356-366 [PMID: 24834789 DOI: 10.1111/hel.12140]
  - 30 Su Z, Xu H, Zhang C, Shao S, Li L, Wang H, Wang H, Qiu G. Mutations in *Helicobacter pylori* porD and oorD genes may contribute to furazolidone resistance. *Croat Med J* 2006; 47: 410-415 [PMID: 16758519]
  - 31 Smiley R, Bailey J, Sethuraman M, Posecion N, Showkat Ali M. Comparative proteomics analysis of sarcosine insoluble outer membrane proteins from clarithromycin resistant and sensitive strains of *Helicobacter pylori*. *J Microbiol* 2013; 51: 612-618 [PMID: 24173641 DOI: 10.1007/s12275-013-3029-5]
  - 32 Co EM, Schiller NL. Resistance mechanisms in an in vitro-selected amoxicillin-resistant strain of *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 4174-4176 [PMID: 17000747 DOI: 10.1128/AAC.00759-06]
  - 33 Yonezawa H, Osaki T, Kamiya S. Biofilm Formation by *Helicobacter pylori* and Its Involvement for Antibiotic Resistance. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 914791 [PMID: 26078970 DOI: 10.1155/2015/914791]
  - 34 Carron MA, Tran VR, Sugawa C, Coticchia JM. Identification of *Helicobacter pylori* biofilms in human gastric mucosa. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 712-717 [PMID: 16713544 DOI: 10.1016/j.jgassur.2005.10.019]
  - 35 Yonezawa H, Osaki T, Kurata S, Zaman C, Hanawa T, Kamiya S. Assessment of in vitro biofilm formation by *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25 Suppl 1: S90-S94 [PMID: 20586874 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06213.x]
  - 36 Attaran B, Falsafi T, Moghaddam AN. Study of biofilm formation in C57Bl/6J mice by clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Saudi J Gastroenterol* 2016; 22: 161-168 [PMID: 26997224 DOI: 10.4103/1319-3767.178529]
  - 37 Yonezawa H, Osaki T, Hanawa T, Kurata S, Ochiai K, Kamiya S. Impact of *Helicobacter pylori* biofilm formation on clarithromycin susceptibility and generation of resistance mutations. *PLoS One* 2013; 8: e73301 [PMID: 24039906 DOI: 10.1371/journal.pone.0073301]
  - 38 Du D, Wang Z, James NR, Voss JE, Klimont E, Ohene-Agyei T, Venter H, Chiu W, Luisi BF. Structure of the AcrAB-TolC multidrug efflux pump. *Nature* 2014; 509: 512-515 [PMID: 24747401 DOI: 10.1038/nature13205]
  - 39 Mehrabadi JF, Sirous M, Daryani NE, Eshraghi S, Akbari B, Shirazi MH. Assessing the role of the RND efflux pump in metronidazole resistance of *Helicobacter pylori* by RT-PCR assay. *J Infect Dev Ctries* 2011; 5: 88-93 [PMID: 21389587 DOI: 10.3855/jidc.1187]
  - 40 Hirata K, Suzuki H, Nishizawa T, Tsugawa H, Muraoka H, Saito Y, Matsuzaki J, Hibi T. Contribution of efflux pumps to clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25 Suppl 1: S75-S79 [PMID: 20586871 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06220.x]
  - 41 Bina JE, Alm RA, Uria-Nickelsen M, Thomas SR, Trust TJ, Hancock RE. *Helicobacter pylori* uptake and efflux: basis for intrinsic susceptibility to antibiotics in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 248-254 [PMID: 10639345 DOI: 10.1128/AAC.44.2.248-254.2000]
  - 42 Li Y, Dannelly HK. Inactivation of the putative tetracycline resistance gene HP1165 in *Helicobacter pylori* led to loss of inducible tetracycline resistance. *Arch Microbiol* 2006; 185: 255-262 [PMID: 16482431 DOI: 10.1007/s00203-006-0093-9]
  - 43 Tsugawa H, Suzuki H, Satoh K, Hirata K, Matsuzaki J, Saito Y, Suematsu M, Hibi T. Two amino acids mutation of ferric uptake regulator determines *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole. *Antioxid Redox Signal* 2011; 14: 15-23 [PMID: 20518707 DOI: 10.1089/ars.2010.3146]
  - 44 Choi SS, Chivers PT, Berg DE. Point mutations in *Helicobacter pylori*'s fur regulatory gene that alter resistance to metronidazole, a prodrug activated by chemical reduction. *PLoS One* 2011; 6: e18236 [PMID: 21464913 DOI: 10.1371/journal.pone.0018236]
  - 45 Steffens LS, Nicholson S, Paul LV, Nord CE, Patrick S, Abratt VR. *Bacteroides fragilis* RecA protein overexpression causes resistance to metronidazole. *Res Microbiol* 2010; 161: 346-354 [PMID: 20435137 DOI: 10.1016/j.resmic.2010.04.003]
  - 46 Narayana JL, Huang HN, Wu CJ, Chen JY. Epinecidin-1 antimicrobial activity: In vitro membrane lysis and In vivo efficacy against *Helicobacter pylori* infection in a mouse model. *Biomaterials* 2015; 61: 41-51 [PMID: 25996410 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.05.014]
  - 47 Wang S, Cameron SA, Clinch K, Evans GB, Wu Z, Schramm VL, Tyler PC. New Antibiotic Candidates against *Helicobacter pylori*. *J Am Chem Soc* 2015; 137: 14275-14280 [PMID: 26494017 DOI: 10.1021/jacs.5b06110]
  - 48 Gonzalez-Bello C. Inhibition of Shikimate Kinase and Type II Dehydroquinase for Antibiotic Discovery: Structure-Based Design and Simulation Studies. *Curr Top Med Chem* 2016; 16: 960-977 [PMID: 26303426 DOI: 10.2174/1568026615666150825142527]
  - 49 Jung SW, Thamphiwatana S, Zhang L, Obonyo M. Mechanism of antibacterial activity of liposomal linolenic acid against *Helicobacter pylori*. *PLoS One* 2015; 10: e0116519 [PMID: 25793403 DOI: 10.1371/journal.pone.0116519]
  - 50 Parreira P, Fátima Duarte M, Reis CA, Martins MC. *Helicobacter pylori* infection: A brief overview on alternative natural treatments to conventional therapy. *Crit Rev Microbiol* 2016; 42: 94-105 [PMID: 24606042 DOI: 10.3109/1040841x.2014.892055]

编辑: 马亚娟 电编: 李瑞芳







Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
8226 Regency Drive, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

