

螺杆菌属细菌致病基因系统进化分析

徐乐, 刘兴, 吴琦, 华召来, 杨菲, 张军峰

徐乐, 张军峰, 南京中医药大学医学院 江苏省南京市 210023

刘兴, 杨菲, 南京师范大学生命科学学院 江苏省南京市 210023

吴琦, 中国科学院微生物研究所 北京市 100101

华召来, 扬中市人民医院肿瘤防治研究所 江苏省镇江市 212299

徐乐, 在读研究生, 研究方向为消化道癌前病变的发生机制。

基金项目: 国家自然科学基金, No. 82274369; 江苏省中医药科技发展计划项目, No. MS2021003.

作者贡献分布: 张军峰提出研究思路; 徐乐、刘兴和杨菲共同完成数据分析; 吴琦指导数据分析; 徐乐撰写论文稿件; 张军峰和华召来指导论文修改。

通讯作者: 张军峰, 教授, 210023, 江苏省南京市栖霞区仙林大道138号, 南京中医药大学医学院. zhangjunfeng419@njucm.edu.cn

收稿日期: 2023-11-14

修回日期: 2023-12-01

接受日期: 2024-01-11

在线出版日期: 2024-01-28

Phylogenetic analysis of pathogenic genes in *Helicobacter* species

Le Xu, Xing Liu, Qi Wu, Zhao-Lai Hua, Fei Yang, Jun-Feng Zhang

Le Xu, Jun-Feng Zhang, School of Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China

Xing Liu, Fei Yang, School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China

Qi Wu, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Zhao-Lai Hua, Institute of Tumor Prevention and Control, People's Hospital of Yangzhong City, Zhenjiang 212299, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 82274369; Chinese Medicine Science and Technology Program of Jiangsu Province, No. MS2021003.

Corresponding author: Jun-Feng Zhang, Professor, School of Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, No. 138 Xianlin Avenue, Qixia District, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China. zhangjunfeng419@njucm.edu.cn

Received: 2023-11-14

Revised: 2023-12-01

Accepted: 2024-01-11

Published online: 2024-01-28

Abstract BACKGROUND

Helicobacter bacteria are associated with gastrointestinal diseases, especially *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). With the isolation of many non-*Helicobacter pylori* *Helicobacters* (NHPH) from the liver, intestines, and gallbladder of natural animal reservoirs, NHPH have been potential zoonotic pathogens, but their infection and pathogenic mechanisms are still unclear.

AIM

To explore the phylogenetic relationship of *Helicobacter* species based on their pathogenic genes.

METHODS

The present study collected the genomic sequences of 50 strains in genus *Helicobacter*, including 12 strains of *H. pylori* and 38 strains of NHPH. Based on 16S rRNA gene and several pathogenic genes (flagella, urease, and virulence factors), MAGA software (Version 11.0) was used to align their sequences and construct phylogenetic trees.

RESULTS

The phylogenetic tree of 16S rRNA gene showed that gastric *Helicobacter* (GH) and enterohepatic *Helicobacter* species (EHS) were clustered into two large branches, respectively. All of the GH's hosts were mammals, while the hosts of EHS were many wild poultry and mammals. Based on the flagella motility-related genes (*flaA*, *flaB*, *fliP*, *fliQ*, *fliR*, *fliG*,

fliM, and *fliN*), the phylogenetic trees were divided into two major branches (GH and EHS). Similarly, the phylogenetic trees of lipopolysaccharide (LPS) biosynthesis-related genes (*lptA*, *waaC*, and *waaF*) presented two major branches (GH and EHS), too. The urease genes existed in all of the 12 strains of *H. pylori*, 13 strains of gastric NHPH, and 4 strains of EHS (*H. hepaticus*, *H. muridarum*, *H. bilis*, and *H. anseris*). However, no significant phylogenetic patterns of GH and EHS were observed in the seven urease genes (*ureA*, *ureB*, *ureE*, *ureF*, *ureG*, *ureH*, and *ureI*).

CONCLUSION

The phylogenetic relationship of *Helicobacter* species' pathogenic genes is dominated distinctly by the special colonization areas including gastric and enterohepatic niches.

© The Author(s) 2024. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter* species; 16S rRNA; Pathogenicity genes; Phylogenetic analysis

Citation: Xu L, Liu X, Wu Q, Hua ZL, Yang F, Zhang JF. Phylogenetic analysis of pathogenic genes in *Helicobacter* species. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2024; 32(1): 58-70

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v32/i1/58.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v32.i1.58>

摘要

背景

螺杆菌属(*Helicobacter*)与多种消化道疾病相关,除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)外,多种非*H. pylori*螺杆菌属细菌(non-*Helicobacter pylori* *Helicobacters*, NHPH)也从多种动物宿主的肝脏、肠道和胆囊中分离出来,作为潜在的人畜共患病病原体,其感染和致病机制尚不清楚。

目的

基于*H. pylori*致病基因探讨螺杆菌属细菌的系统进化关系。

方法

调取12株*H. pylori*和38株NHPH的基因组,基于16S rRNA、鞭毛、尿素酶以及毒力因子基因,利用MAGA 11软件进行序列比对并构建系统进化树。

结果

基于16S rRNA基因的系统进化分析结果显示,胃内螺杆菌(Gastric *Helicobacter*, GH)和肝肠螺杆菌(Enterohepatic *Helicobacter* Species, EHS)聚集为2个大支, GH宿主均为哺乳动物,而EHS宿主多为禽类和哺乳动物。基于细菌鞭毛动力相关基因(*flaA*、*flaB*、*fliP*、*fliQ*、*fliR*、*fliG*、*fliM*、*fliN*)的系统进化分析支持基于16S rRNA基因所得到的系统发育关系,基于脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)合成相关基因(*lptA*,

*waaC*和*waaF*)的系统进化关系也具有类似的规律。尿素酶基因存在于12株*H. pylori*和13株胃内NHPH中,仅在4株EHS(*H. hepaticus*、*H. muridarum*、*H. bilis*、*H. anseris*)中存在,但7个尿素酶基因的系统进化树未见明显一致性规律。

结论

螺杆菌属细菌的系统进化受到胃和肝肠定植部位的显著影响。

© The Author(s) 2024. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 螺杆菌属; 16S rRNA; 致病基因; 进化分析

核心提要: 基于幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)致病基因,本文分析了12株*H. pylori*和38株非*H. pylori*螺杆菌属细菌的系统进化关系,发现胃和肝肠生态位是系统进化的主要驱动力,为深入研究非*H. pylori*螺杆菌属细菌的进化与感染机制提供了系统发生证据。

文献来源: 徐乐, 刘兴, 吴琦, 华召来, 杨菲, 张军峰. 螺杆菌属细菌致病基因系统进化分析. *世界华人消化杂志* 2024; 32(1): 58-70

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v32/i1/58.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v32.i1.58>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的发现结束了胃内无菌论,非培养依赖的分子生物学检测技术发现胃内存在大量非*H. pylori*细菌,如拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、梭杆菌门(Fusobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)等^[1]。研究证实,包括*H. pylori*在内的螺杆菌属是胃内优势菌属(相对丰度可大于50%),不仅参与胃黏膜病变的发生发展,而且深刻影响胃菌群的结构与共生关系^[2]。最新研究发现,慢性萎缩性胃炎患者感染携带毒力因子*H. pylori*的比例显著高于非萎缩性胃炎,且胃内菌群多样性降低^[3],在*H. pylori*阴性患者胃内也能检测到螺杆菌属细菌^[4],提示非*H. pylori*螺杆菌属细菌(non-*Helicobacter pylori* *Helicobacters*, NHPH)可能是胃黏膜病变的新病原体,其详细机制尚不清楚。

最先发现的NHPH是从雪貂胃内分离出的*H. mustelae*,后又从猫、狗胃内分离得到*H. felis*,从赤狐胃内分离得*H. labacensis*、*H. mehlei*、*H. vulpis*^[5]。除定植于胃部,在某些动物的肝脏、肠道和胆囊也能发现螺杆菌属的存在,如*H. hepaticus*和*H. marmot*。目前已鉴定出的NHPH有47种,根据寄居部位分为胃内螺杆菌(Gastric *Helicobacter*, GH)和肝肠螺杆菌(enterohepatic *Helicobacter* species, EHS),多呈隐性感染,参与消化系统疾病的发生发展^[6]。作为螺杆菌属的代表性菌株, *H. pylori*感染全球

约50%的成年人群, 可导致慢性胃炎、萎缩性胃炎、肠化生甚至胃癌^[7], *H. pylori*感染者罹患胃癌的风险可增加约2-8倍^[8]。动物实验显示, 多种NHPH与消化系统疾病相关, *H. hepaticus*灌胃BALB/c小鼠可诱导肝脏纤维化和癌前病变^[9], *H. bilis*可诱导小鼠炎症性肠病^[10], *H. suis*与猪胃炎和胃溃疡有关^[11]。这些结果提示, NHPH感染参与胃、肠、肝等消化器官病变。

*H. pylori*感染致病过程大致分为四个阶段: (1)对胃黏膜酸性环境的适应; (2)利用鞭毛向上皮细胞移动; (3)上皮细胞屏障的穿透与特定受体的附着; (4)毒素的释放及细胞毒性作用^[12]。尿素酶是辅助*H. pylori*定植的关键因子, 由尿素酶基因簇编码。在生理pH水平下, 尿素酶阴性的*H. pylori*突变株丧失胃黏膜定植能力, 而尿素酶阳性的*H. pylori*可水解尿素, 释放氨升高胃内pH值^[13]。*H. pylori*鞭毛作为动力提供器官, 能保护细菌免受胃部酸性环境的侵袭, 使致病菌能够迁移到黏膜上皮, 鞭毛基因(*flaA*和*flaB*)突变则会降低*H. pylori*的运动和定植能力^[12]。组成细菌鞭毛的几种鞭毛蛋白, 如HpA、FlaA或FlaB, 可能在感染后引起体液免疫并刺激特异性抗体反应^[14]。而在成功定植后, *H. pylori*会释放毒素和侵袭因子, 主要包括血型抗原结合黏附素(blood group antigen-binding adhesion, BabA)、唾液酸结合黏附素(sialic acid-binding adhesin, SabA)、黏附相关脂蛋白(adherence-associated lipoprotein, AlpA/B)、CagA、空泡细胞毒素相关蛋白(vacuolating cytotoxin, VacA)等, 其中CagA和VacA能够利用IV型分泌系统进入上皮细胞^[12], 参与诱导胃黏膜上皮损伤和持续性炎症, 促进胃癌发生^[15]。因此,*H. pylori*致病机制为揭示NHPH致病性提供了参考依据。

螺杆菌属与人类共存数万年或更久, 为适应不同的环境, 基因组呈现高度异质性和多样性, 在不同人群和地域间存在显著差异。为了探索螺杆菌属细菌的感染与进化机制, 本研究调取了50株细菌的基因组, 基于16S rRNA基因、鞭毛基因、尿素酶基因、脂多糖合成相关基因, 构建系统进化树, 为更好理解螺杆菌属致病潜能提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 螺杆菌属菌株筛选: Genus(<https://lpsn.dsmz.de/genus>)网站查找螺杆菌属成员, 根据目前已发表的文献, 确定各螺杆菌的标准株、宿主、寄居部位和致病性, 每种NHPH优先选择标准菌株作为研究对象, 如果无标准株, 则随机选择1个基因组完整的非标准株。*H. pylori*菌株数量很多, 本研究以毒力因子CagA/VacA基因携带状态为标准, 选择CagA⁺/VacA⁺、CagA⁺/VacA⁻、CagA⁻/VacA⁺、CagA⁻/VacA⁻的*H. pylori*各3株,

作为*H. pylori*代表菌株。

1.1.2 螺杆菌属菌株基因序列提取: 美国国家生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)Assembly(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库下载螺杆菌属菌株基因组数据, 包括核酸序列信息文件(fasta nucleic acid file, fna)、基因对应蛋白质序列信息文件(fasta Amino Acid file, faa)和基因组注释文件(general feature format, gff)。在Gene数据库中检索螺杆菌完整16S rRNA序列, 以完整序列作为参照序列, 在TBtools(version 1.098745)软件或NCBI的Blast(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)工具中进行相似性检索, 调取其他菌株16S rRNA基因序列信息, 根据位点信息和匹配度, 选择匹配度较高的序列进行系统进化分析。基于*H. pylori*致病机制, 选择尿素酶、鞭毛、黏附素和毒力因子等常见致病物质基因进行分析, 观察这些基因在螺杆菌属细菌基因组中的分布, 在核酸序列信息fna文件中调取相应基因序列, 以调取到的完整序列进行系统进化分析。

1.2 方法

1.2.1 基因序列比对: 将调取到的16S rRNA和致病物质基因序列导入MAGA软件(<https://www.megasoftware.net/>)进行序列比对, 核对修正, 去掉首尾两端不规则冗余序列, 筛选标准: (1)菌株名称一致; (2)序列连续性较好, 缺口(gap)≤5; (3)序列长度大于原始序列1/3。选择符合标准的基因序列, 进行系统进化分析。

1.2.2 系统进化分析: 序列比对完成后采用邻接法(neighbor-joining method, NJ)或最大似然法(maximum likelihood method, ML)在MAGA软件中进行构树, 进化树采用重复抽样分析(Bootstrap Analysis)1000次的方法检验各分支的置信度, 利用Figtree(<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>)软件对进化树进行优化调整。

2 结果

2.1 螺杆菌属细菌基因组信息 首先, 在NCBI Assembly数据库查询“*Helicobacter pylori*”, 共得3385株*H. pylori*基因组信息, 根据毒力因子CagA/VacA基因的4种携带状态, 每种状态选择3个菌株, 其中, CagA⁺/VacA⁺携带状态*H. pylori*菌株为FDAARGOS_298、ATCC 43504和NCTC 11637, CagA⁺/VacA⁻携带状态*H. pylori*菌株为83、J99和MT5135, CagA⁻/VacA⁺携带状态*H. pylori*菌株为B659-C2、280-A-EK1和HUP-B14, CagA⁻/VacA⁻携带状态*H. pylori*菌株为HP14039、LIM-008和HPY。其次, 查阅文献获得38株正式命名的NHPH, 其中4株(*H. nemestrinae*、*H. westmeadii*、*H. suncus*、*H. apr*)缺失基因组信息。最后, 本研究纳入50个螺杆菌属菌株作为研究对象, 表1展示了菌株名称、宿主、致病性、基因组编号等信息。

2.2 螺杆菌属细菌16S rRNA基因系统进化分析 NCBI Gene数据库中, *H. pylori*和6株NHPH(*H. felis*、*H. cinaedi*、*H. pullorum*、*H. bilis*、*H. bizzozeronii*、*H. suis*)具有完整的16S rRNA序列, 作为参照序列进行序列调取。*H. nemestrinae*、*H. westmeadii*、*H. suncus*、*H. apri*缺失基因组信息, *H. fennelliae*和*H. salomonis*的16S rRNA基因序列长度少于参照序列的1/3, 均不纳入分析, 最后共获得44株螺杆菌属菌株的16S rRNA基因序列信息, 利用NJ法构建系统进化树(图1)。结果显示, 进化树分为两个大支, 第I支24株螺杆菌的寄生部位均为胃, 宿主集中在猫、鼠、狗、人等哺乳动物; 除*H. mustelae*寄生在胃内, 第II支19株螺杆菌的寄生部位为肝、肠和胆囊, 宿主不仅包括哺乳动物, 也包括鸡、鹅、鸟等禽类。在第I支的24个菌株中, 12个*H. pylori*菌株紧密聚集形成单系分支, 与2个NHPH菌株(*H. acinonychis*、*H. cetorum*)聚成一簇, 属间亲缘关系较近; 其他10株胃内NHPH构成一个独立的大支系。第II支的20个菌株未发现显著的聚群。结果提示, 寄生部位(胃和肝肠)是螺杆菌属菌株系统进化中最重要的影响因素。

2.3 螺杆菌属细菌致病物质基因系统进化分析

2.3.1 螺杆菌属细菌致病物质基因分布情况: 以*H. pylori*为例, 致病物质主要包括侵袭因子和毒素, 本研究检索了35个致病基因在螺杆菌属菌株中的分布状态(表2)。其中, 尿素酶基因存在于12株*H. pylori*和20株NHPH, 鞭毛基因存在全部的44个菌株, 脂多糖合成相关基因分布于12株*H. pylori*和30株NHPH; 然而, AlpA/B、BabA、SabA、OipA、HopE等黏附因子以及毒力因子CagA仅存在于*H. pylori*, VacA还存在于*H. bizzozeronii*, 黏膜接触诱导因子(induced by contact with epithelium, iceA)存在于*H. pylori*菌株和*H. bilis*。结果提示, NHPH具有一定的致病性, 但大多数缺少完整的毒力因子基因, 致病性较弱。

2.3.2 螺杆菌属细菌鞭毛基因系统进化分析: 细菌鞭毛作为动力器官, 可分为丝状体、钩状体和基体三部分。其中, 丝状体由flaA和flaB基因编码的鞭毛结构蛋白多聚体FlaA、FlaB组成^[13], FlgE是鞭毛钩状体的主要蛋白, FlgE突变则菌株失去动力^[50]; 基体又称为细菌鞭毛马达, 为鞭毛提供动力, 由外膜环(L ring)、周质环(P ring)、内膜环(MS ring)、胞质环(C ring)、联动杆(rod)及分泌装置(export apparatus)组成^[51]。选择完整的基因序列进行系统进化分析, NJ法或ML法构建系统进化树(图2)。

首先, 鞭毛丝状体基因分析显示, 基于28个菌株的flaA基因系统进化树分为2个大支, 第I支主要由12株*H. pylori*和8株胃内NHPH(*H. acinonychis*、*H. cetorum*、*H. labacensis*、*H. vulpis*、*H. baculiformis*、*H.*

cynogastricus、*H. felis*、*H. ailurogastricus*)构成, 而肝肠螺杆菌*H. cholecystus*位于此支基部; 第II支包含的7个菌株(*H. hepaticus*、*H. typhlonius*、*H. cinaedi*、*H. jaachi*、*H. marmotae*、*H. equorum*、*H. winghamensis*)寄生部位均为肝肠, 未发现显著聚群。类似的, 基于33个菌株的flaB基因系统进化树也包括2个大支, 第I支包括12株*H. pylori*和10株胃内NHPH(*H. acinonychis*、*H. cetorum*、*H. bizzozeronii*、*H. mehlei*、*H. ailurogastricus*、*H. cynogastricus*、*H. felis*、*H. labacensis*、*H. baculiformis*、*H. vulpis*); 第II支主要由12株肝肠螺杆菌(*H. jaachi*、*H. cinaedi*、*H. typhlonius*、*H. hepaticus*、*H. marmotae*、*H. canis*、*H. winghamensis*、*H. anseris*、*H. brantae*、*H. pametensis*、*H. bilis*、*H. trogonum*)和胃内螺杆菌*H. mustelae*组成, 提示*H. mustelae*可能在胃和肝肠均可寄生。

其次, 鞭毛钩状体基因分析显示, 基于38个菌株的flgE基因系统树分为2个大支, 5株肝肠螺杆菌(*H. winghamensis*、*H. canadensis*、*H. pullorum*、*H. rodentium*、*H. ganmani*)聚为1支, 12株*H. pylori*、12株胃内NHPH(*H. acinonychis*、*H. cetorum*、*H. heilmannii*、*H. ailurogastricus*、*H. suis*、*H. bizzozeronii*、*H. mehlei*、*H. cynogastricus*、*H. felis*、*H. baculiformis*、*H. labacensis*、*H. vulpis*)和其他9株肝肠螺杆菌(*H. bilis*、*H. trogonum*、*H. muridarum*、*H. equorum*、*H. marmotae*、*H. jaachi*、*H. cinaedi*、*H. hepaticus*、*H. typhlonius*)聚为另一大支, 提示鞭毛钩状体基因的系统进化与寄生部位关系不确定。

最后, 鞭毛马达的组装受到精确的控制, 先合成装配MS环和C环, 其次合成装配分泌装置, 再合成装置联动杆, 最后合成装配P环和L环^[51], 本研究分析了鞭毛马达13个基因的系统进化关系。MS环由蛋白FliF组装, 基于34个菌株的fliF基因系统进化树包括2个大支, 6株肝肠螺杆菌(*H. bilis*、*H. trogonum*、*H. typhlonius*、*H. hepaticus*、*H. jaachi*、*H. cinaedi*)单独聚为一个支, 12株*H. pylori*、11株胃内NHPH和5株肝肠螺杆菌杂聚为另一大支。C环是鞭毛马达的旋转复合体, 控制旋转方向, 由蛋白质FliG、FliM和FliN组成, 基于这3个基因的系统进化树显著受到寄生部位的影响, 譬如, 基于35个菌株的fliG基因系统进化树分为2个大支, 第I支包括12株*H. pylori*和11株胃内NHPH(*H. acinonychis*、*H. cetorum*、*H. suis*、*H. bizzozeronii*、*H. mehlei*、*H. ailurogastricus*、*H. cynogastricus*、*H. felis*、*H. baculiformis*、*H. labacensis*、*H. vulpis*); 第II支中, 除胃内螺杆菌*H. mustelae*外, 其他11株均为肝肠螺杆菌(*H. bilis*、*H. trogonum*、*H. winghamensis*、*H. ganmani*、*H. pullorum*、*H. equorum*、*H. jaachi*、*H. cinaedi*、*H. marmotae*、*H. typhlonius*、*H. hepaticus*)。类似的, 分泌装置由蛋白质FliP、FliQ和FliR构成, 基于这3个基因的系统进化树显著受到寄生部位

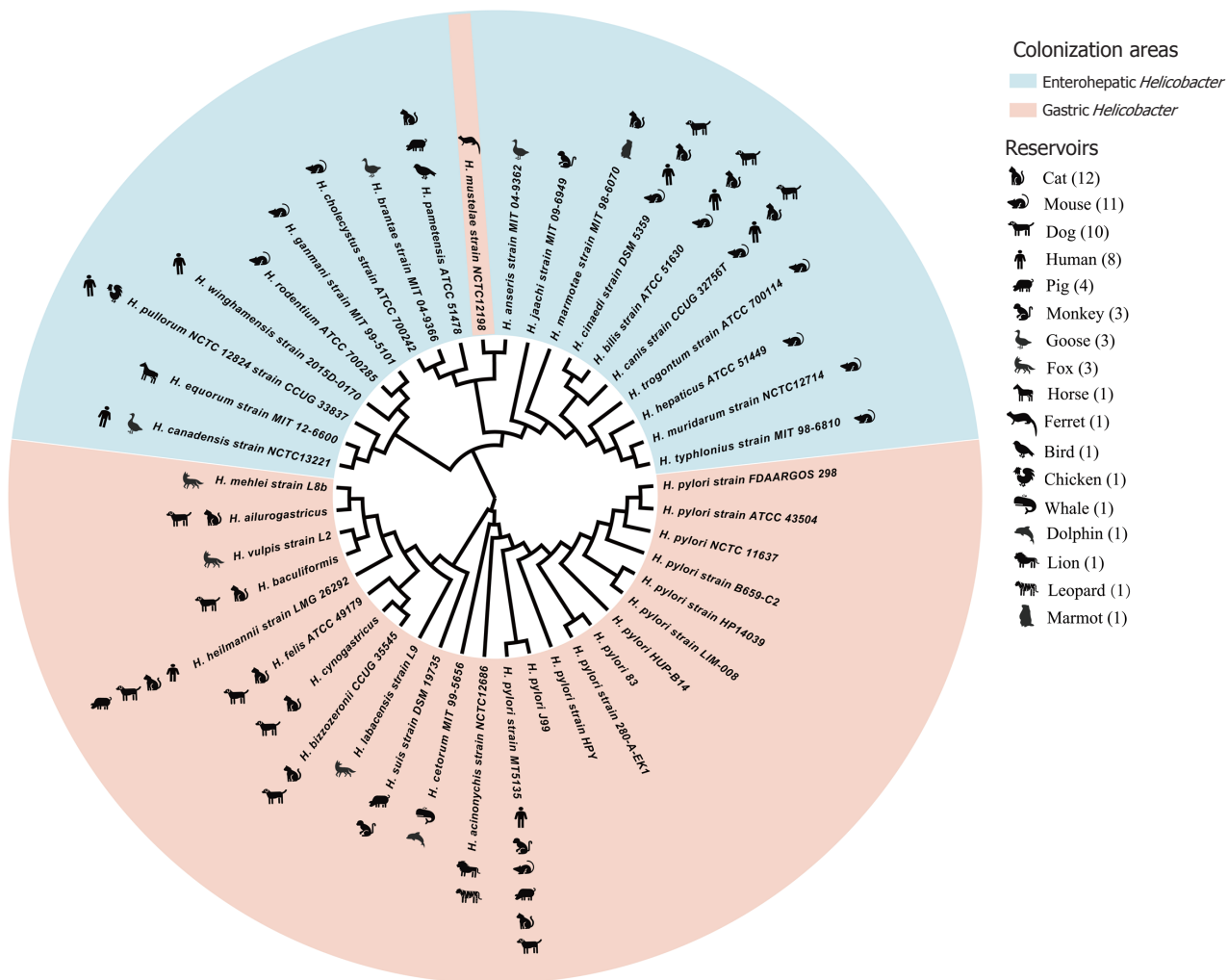


图 1 螺杆菌属基于16S rRNA序列利用邻接法构建的系统进化树. 红色区域: 胃内螺杆菌; 蓝色区域: 肝肠螺杆菌.

的影响, *H. pylori* 菌株和胃内NHPH聚为一个 大支, 肝肠螺杆菌聚为另一大支. 联动杆由蛋白质FliE, FlgB, FlgC, FlgF和FlgG组装, 其中flgF基因在NCBI gene数据库无完整序列作为参照序列, 不进行系统进化分析. 基于flgC基因构建的系统进化树显著受到寄生部位的影响, 而fliE、flgB、flgG基因进化关系较为杂乱. 同时, 外膜L环和周质P环相关基因flgH和flgI的系统进化也未发现明显规律. 结果提示, 鞭毛动力和方向控制相关基因的系统进化受到寄生部位的显著影响.

2.3.3 螺杆菌属细菌脂多糖合成相关基因系统进化分析: 脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)是革兰阴性菌的细胞壁成分, 又称内毒素, 由类脂A、核心多糖和O-抗原组成^[52]。LPS合成过程中, 涉及数十种基因, 本研究在NCBI gene数据库查阅到完整序列的基因有3个, 包括脂多糖庚糖基转移酶 I (lipopolysaccharide heptosyltransferase I, Hep I)、脂多糖庚糖基转移酶 II (lipopolysaccharide heptosyltransferase II, Hep

II)和脂多糖转运蛋白A(lipopolysaccharide transport periplasmic protein A, LptA)。Hep I 由waaC基因编码, Hep II 则由waaF基因编码, 庚糖转移酶参与核心多糖的形成, 负责将庚糖添加到核心多糖^[52]。脂多糖转运蛋白A 由lptA基因编码, 负责将胞内装配完整的LPS运输到外膜, 从而发挥抗原特性^[53]。基于26个菌株的lptA基因系统进化分析显示, 12株*H. pylori*与6株胃内NHPH(*H. cetorum*、*H. suis*、*H. bizzozeronii*、*H. mehlei*、*H. cynogastricus*、*H. felis*)以及4株肝肠螺杆菌(*H. marmotae*、*H. cinaedi*、*H. jaachi*、*H. hepaticus*)共同构成第I大支, 4株肝肠螺杆菌(*H. pullorum*、*H. winghamensis*、*H. bilis*、*H. trogonum*)聚为第II大支; 基于waaC和waaF基因构建的系统进化树中, 肝肠螺杆菌均单独聚为一支(图3)。结果提示, LPS合成相关基因的系统进化关系同样受到寄生部位(胃、肝肠)的影响。

2.3.4 螺杆菌属细菌尿素酶基因系统进化分析: *H. pylori* 尿素酶基因簇由结构基因ureA、ureB和5个辅助基因

表 1 螺杆菌属菌株基本信息

菌种	宿主	寄生部位	致病性	菌株	基因组编号
<i>H. pylori</i> ^[16]	人, 猴, 猫, 狗, 猪, 鼠	胃	慢性胃炎, 消化性溃疡, 胃 淋巴瘤, 胃癌	FDAARGOS_298 ATCC 43504 NCTC 11637 B659-C2 280-A-EK1 HUP-B14 83 J99 MT5135 HP14039 LIM-008 HPY	GCF_003050665.1 GCF_004295525.1 GCF_900478295.1 GCF_003639215.1 GCF_006337465.1 GCF_000259235.1 GCF_000213135.1 GCF_000008785.1 GCF_017821535.1 GCF_003636855.2 GCF_016748795.1 GCF_013122115.1
<i>H. mustelae</i> ^[16]	雪貂	胃	慢性胃炎	NCTC12198	GCF_900476215.1
<i>H. felis</i> ^[17]	猫, 狗	胃	慢性胃炎, 胃癌	ATCC 49179	GCF_000200595.1
<i>H. nemestrinae</i> ^[18]	猴	胃	NR	NR	NR
<i>H. cinaedi</i> ^[19]	人, 猫, 狗, 仓鼠	肠道	急性腹泻, 菌血症	DSM 5359	GCF_017979495.1
<i>H. fennelliae</i> ^[19]	人, 狗	肠道	肠炎, 菌血症	NCTC11613	GCF_900451005.1
<i>H. muridarum</i> ^[20]	鼠	胃, 肠道	胃炎	NCTC12714	GCF_900450885.1
<i>H. acinonychis</i> ^[21]	豹	胃	胃炎	NCTC12686	GCF_900461455.1
<i>H. canis</i> ^[22]	人, 猫, 狗	肝脏, 肠道	腹泻, 肝炎	CCUG 32756T	GCF_008693005.1
<i>H. hepaticus</i> ^[23]	鼠	肝肠, 肠道	肝炎, 肝癌, 炎症性肠病	ATCC 51449	GCF_000007905.1
<i>H. pametensis</i> ^[24]	鸟, 猫, 猪	肠道	NR	ATCC 51478	GCF_000518225.1
<i>H. pullorum</i> ^[25]	人, 鸡	肝脏, 肠道	胃肠炎, 慢性肝炎	CCUG 33837	GCF_017979475.1
<i>H. bilis</i> ^[26]	猫, 狗, 人	肝脏, 肠道	慢性肝炎	ATCC 51630	GCF_000765785.2
<i>H. bizzozeroni</i> ^[27]	猫, 狗, 鼠	胃	胃炎	CCUG 35545	GCA_000263275.1
<i>H. trogonum</i> ^[28]	鼠	肠道	NR	ATCC 700114	GCF_000765905.2
<i>H. cholecystus</i> ^[29]	仓鼠	胆囊	胰腺炎, 胆管炎, 肝炎	ATCC 700242	GCF_003364215.1
<i>H. salomonis</i> ^[30]	猫, 狗	胃	NR	CIP 105607	GCF_017979425.1
<i>H. rodentium</i> ^[31]	鼠	肠道	腹泻	ATCC 700285	GCF_000687535.1
<i>H. westmeadi</i> ^[32]	人	肝脏, 肠道	NR	NR	NR
<i>H. suncus</i> ^[33]	麝	胃	慢性胃炎	NR	NR
<i>H. typhlonius</i> ^[34]	鼠	肠道	盲肠炎	MIT 98-6810	GCF_000765765.2
<i>H. canadensis</i> ^[35]	人, 鹅	肝脏, 肠道	腹泻	NCTC13221	GCF_900450815.1
<i>H. ganmani</i> ^[36]	鼠	肝脏, 肠道	NR	MIT 99-5101	GCF_003364315.1
<i>H. vinghamensis</i> ^[37]	人	肠道	腹泻, 胃肠炎	2015D-0170	GCF_014931175.1
<i>H. cetorum</i> ^[38]	海豚, 鲸鱼	胃	胃溃疡, 胃炎	MIT 99-5656	GCF_000259275.1
<i>H. marmotae</i> ^[39]	猫, 土拨鼠	肝脏, 肠道	肝癌	MIT 98-6070	GCF_003364255.1
<i>H. cynogastricus</i> ^[40]	狗	胃	NR	NR	GCF_900197855.1
<i>H. anseris</i> ^[41]	鹅	肠道	NR	MIT 04-9362	GCF_003364335.1
<i>H. brantae</i> ^[41]	鹅	肠道	NR	MIT 04-9366	GCF_003364205.1
<i>H. equorum</i> ^[42]	马	肠道	NR	MIT 12-6600	GCF_003364175.1
<i>H. suis</i> ^[43]	猴, 猪	胃	食管及胃部炎症, 胃溃疡	DSM 19735	GCF_017979375.1
<i>H. baculiformis</i> ^[44]	猫, 狗	胃	NR	NR	GCF_900197685.1
<i>H. heilmanni</i> ^[45]	人, 猫, 狗, 猪	胃	胃炎, 胃溃疡	LMG 26292	GCF_017979395.1
<i>H. ailurogastricus</i> ^[46]	猫, 狗	胃	胃炎, 胃溃疡	NR	GCF_900197675.1
<i>H. jaachi</i> ^[47]	猴	胃, 肝脏, 肠道	肝炎, 胆囊炎, 肠炎	MIT 09-6949	GCF_000763135.2
<i>H. apr</i> ^[48]	野猪	胃, 肝脏, 肠道	NR	NR	NR
<i>H. mehleri</i> ^[49]	赤狐	胃	NR	L8b	GCF_007280785.1
<i>H. labacensis</i> ^[49]	赤狐	胃	NR	L9	GCF_003660285.1
<i>H. vulpis</i> ^[49]	赤狐	胃	NR	L2	GCF_003660395.1

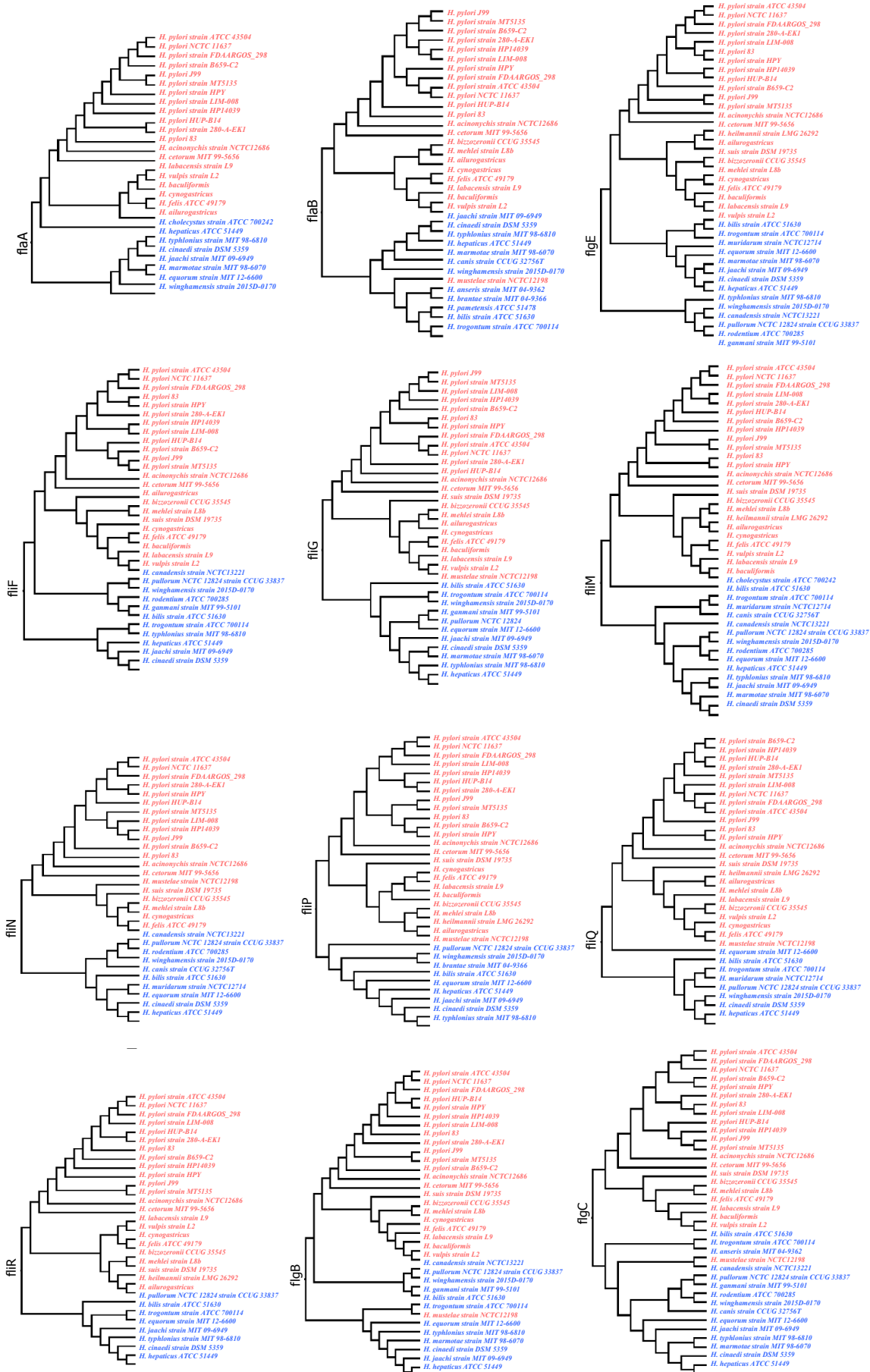
NR: 无记录.

表 2 螺杆菌属致病物质基因在螺杆菌属细菌基因组中的分布

菌种	菌株	侵袭因子							毒素			
		Urease	Flagellin	AlpA/B	BabA	SabA	OipA	HopE	LPS	CagA	VacA	IceA
<i>H. pylori</i>	FDAARGOS_298	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	ATCC 43504	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	NCTC 11637	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B659-C2	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+
	280-A-EK1	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-
	HUP-B14	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
	83	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
	J99	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	MT5135	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+
	HP14039	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-
	LIM-008	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
	HPY	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
<i>H. acinonychis</i>	NCTC12686	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. cetorum</i>	MIT 99-5656	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. suis</i>	DSM 19735	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. labacensis</i>	L9	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. bizzozeronii</i>	CCUG 35545	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>H. cynogastricus</i>	NR	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. felis</i>	ATCC 49179	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. heilmannii</i>	LMG 26292	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. baculiformis</i>	NR	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. vulpis</i>	L2	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. ailurogastricus</i>	NR	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. mehlei</i>	L8b	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. canadensis</i>	NCTC13221	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. equorum</i>	MIT 12-6600	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. pullorum</i>	CCUG 33837	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H. winghamensis</i>	2015D-0170	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. rodentium</i>	ATCC 700285	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. ganmani</i>	MIT 99-5101	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. cholecystus</i>	ATCC 700242	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. brantae</i>	MIT 04-9366	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. pametensis</i>	ATCC 51478	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. mustelae</i>	NCTC12198	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. anseris</i>	MIT 04-9362	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. jaachi</i>	MIT 09-6949	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. marmotae</i>	MIT 98-6070	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. cinaedi</i>	DSM 5359	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. bilis</i>	ATCC 51630	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
<i>H. canis</i>	CCUG 32756	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. trogonum</i>	ATCC 700114	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. hepaticus</i>	ATCC 51449	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. muridarum</i>	NCTC12714	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>H. typhlonius</i>	MIT 98-6810	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-

对于基因在基因组中的分布状态, +: 存在该基因序列, -: 不存在该基因序列.

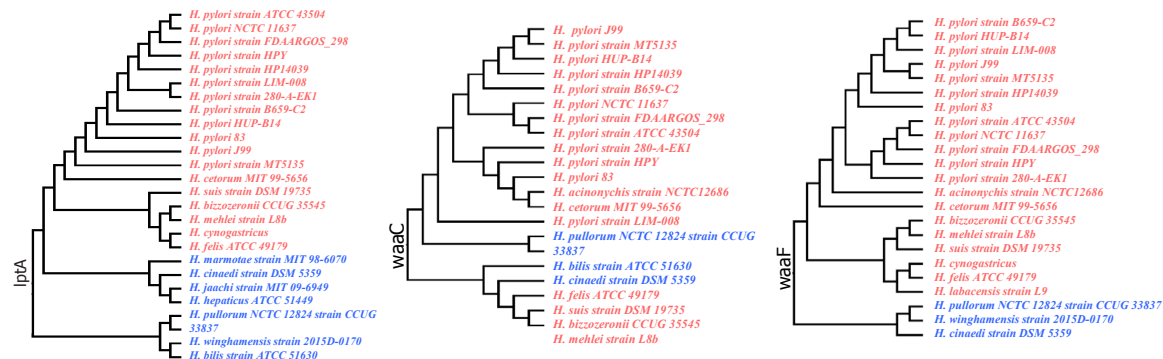
(ureE、ureF、ureG、ureH、ureI)构成^[54]. 系统进化分析显示, 仅1株EHS(*H. hepaticus*)同时具有完整的ureA、ureB、ureG基因序列, 另外3株EHS(*H. muridarum*、*H. bilis*、*H. anseris*)只具有完整的ureA基因序列. GH具有





DOI: 10.11569/wcjd.v32.i1.58 Copyright ©The Author(s) 2024.

图 2 螺杆菌属细菌鞭毛相关基因系统进化分析. 红色区域: 胃内螺杆菌; 蓝色区域: 肝肠螺杆菌.



DOI: 10.11569/wcjd.v32.i1.58 Copyright ©The Author(s) 2024.

图 3 螺杆菌属细菌脂多糖合成相关基因系统进化分析.

较为完整的尿素酶基因簇, 系统进化树未见明确的规律 (图4). 结果提示, 在螺杆菌属系统进化中, 尿素酶基因对GH是必需的, 对EHS是非必需的.

3 讨论

螺杆菌属细菌高度多样且深度分化, 广泛定植于多种宿主主体内, 根据寄生部位分为GH和EHS. 越来越多的证据显示, 作为新兴的人类病原体 and 潜在的人畜共患病原体, 螺杆菌属与人类急性胃肠炎、炎症性肠病、慢性肝胆疾病的发生发展相关, 因此, 阐明螺杆菌属细菌的宿

主及传播途径是控制此类细菌感染的关键^[6]. Mannion等^[55]对100多个GH和EHS菌株的基因组进行了系统进化分析, 发现GH和EHS基因组之间生理和毒力相关基因具有显著异质性, EHS表现为非糖酵解依赖特性, 更多依赖氨基酸/有机酸进行能量代谢; GH缺乏蛋氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成途径, 依赖于环境摄取途径; 代谢功能预测结果表明, GH和EHS的进化主要是为了适应营养丰富的胃和营养缺乏的肝肠; 毒力因子基因图谱分析发现, GH和EHS可能利用不同的致病机制感染宿主并诱导炎症和组织损伤. Haque等^[56]分析了13

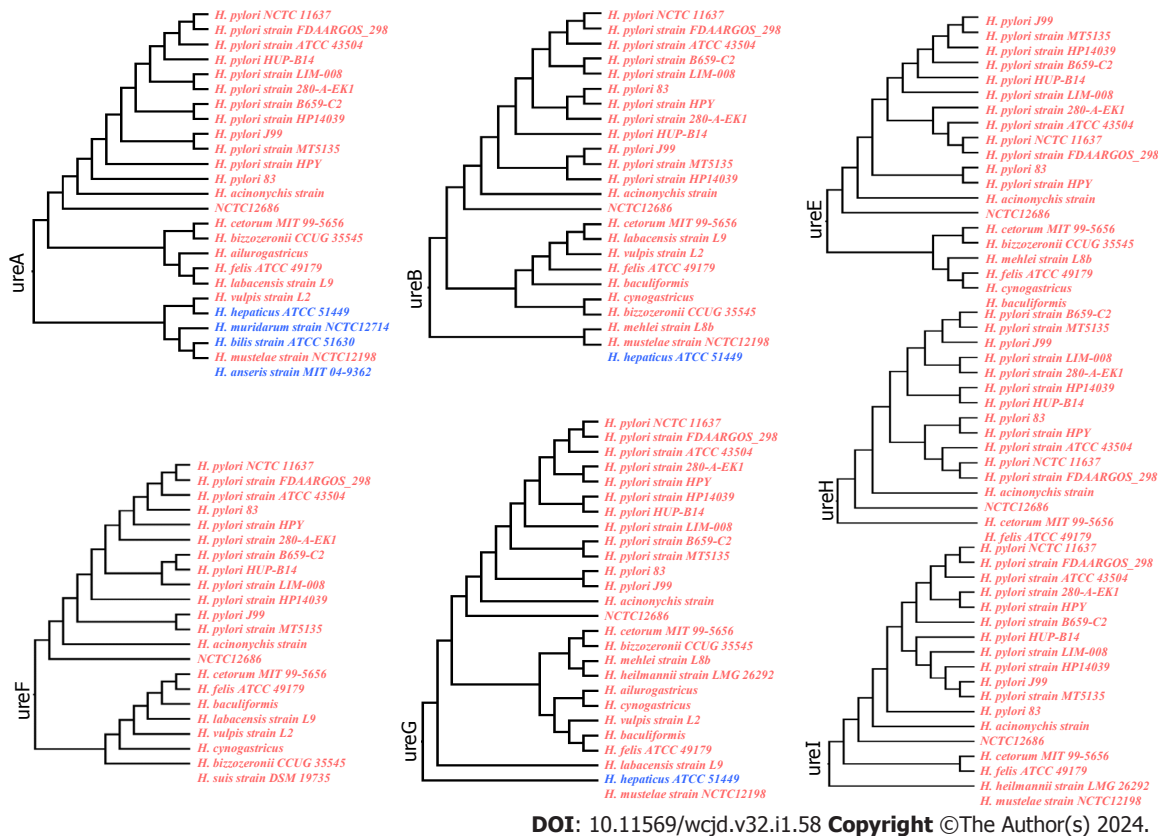


图 4 螺杆菌属细菌尿素酶基因进化分析.

种螺杆菌属细菌的脂肪酸谱, 结果发现, GH的脂肪酸以19-碳环丙烷脂肪酸和十四烷酸为主, EHS的脂肪酸则以十六烷酸和十八烯酸为主. 这些结果提示, 胃与肝肠不同营养环境驱动的新陈代谢差异是螺杆菌属细菌系统进化的关键驱动力.

本研究收集了12株*H. pylori*和38株NHPH的宿主、寄生部位、致病性和基因组, 基于16S rRNA基因的系统进化分析显示, 螺杆菌属细菌的进化树主要根据寄生部位分为两大支, 第I支是在哺乳动物胃内寄生的GH, 第II支是在哺乳动物和禽类肝肠寄生的EHS. 值得注意的是, 从雪貂胃黏膜中分离出的*H. mustelae*和EHS亲缘关系更密切, *H. mustelae*主要定植于雪貂胃部, 但在粪便中也能检测到, 提示*H. mustelae*具有胃、肠、肝跨器官感染的潜力. 本研究还发现, 鞭毛动力和方向控制相关基因的系统进化也受到胃和肝肠寄生部位的显著影响. Bansil等^[57]利用体外实验观察螺杆菌属细菌的运动性, 发现细菌在胃黏液层中的游动速度随着鞭毛数量的增加而增加, 具有双极鞭毛的*H. suis*的游动机制比单极的*H. pylori*更复杂; 在没有尿素的情况下, *H. pylori*在pH<4的猪胃黏蛋白(porcine gastric mucin, PGM)凝胶中无法游动, 鞭毛束空转; 添加尿素后, 尿素水解产生NH₃, 升高黏蛋白凝胶的pH值, 促进细菌游动, 提示尿素是*H. pylori*在酸性胃黏液中游动的关键因素. 本研究发现, 尿素酶基

因存在于多数GH中, 仅在4株EHS中表达, 提示尿素酶基因对GH是必需的, 对EHS是非必需的. 动物实验发现, 尿素酶基因敲除的EHS(*H. hepaticus* 3B1)对盲肠定植水平没有影响, 但诱导肝炎发生的能力下降, 提示尿素酶基因能够增强EHS的致病性^[58]. 脂多糖也是革兰阴性螺杆菌的重要致病物质, 糖基转移酶基因是细菌脂多糖合成过程中的关键基因, InterProScan分析显示, GH和EHS拥有不同的糖基转移酶基因, 表明螺杆菌属脂多糖的结构和合成存在显著差异^[55]. 本研究发现, 基于糖基转移酶基因(waaC和waaF)构建的系统进化树, EHS均单独聚为一支. 综合以上结果, 决定螺杆菌属细菌系统进化的遗传基础更偏向于生态位(即胃和肝肠), 而不是宿主物种.

胃和近端小肠比远端肠环境的酸性更强, 是食物杀菌与消化吸收的主要部位^[59]. 正常状态下, 约85%的碳水化合物、66%-95%的蛋白质和所有脂肪在进入大肠前被吸收^[60]. 由于胃和小肠拥有营养丰富环境, 有研究认为GH可以直接利用环境营养物质, 参与生物合成途径的基因则部分丢失, 形成较小的基因组; EHS的生存环境营养较为匮乏, 需要更大的基因组和更多样化的生物合成途径完成复杂的新陈代谢^[55]. 结果提示, *H. pylori*致病基因在EHS基因组中丢失, 可能是适应肝肠环境新陈代谢的结果. 因此, 毒力较弱的EHS感染致病可能需要依赖其他肠道微生物的协同作用. Whary等^[61]发现罗伊氏

乳杆菌PTA-6475(*L. reuteri* PTA-6475)是一种潜在的益生菌, 在体外具有抗炎作用, 然而, 与*H. hepaticus*共同感染B6.129P2-IL-10^{tm1Cgn}(IL-10^{-/-})小鼠, 能够显著促进结肠炎的发生。Yang等^[62]利用IL-10基因敲除的C57BL/6J小鼠作为感染对象, 发现2种环境(MHH和MIT)饲养的C57BL/6J IL-10^{-/-}小鼠, 对*H. hepaticus*诱导的盲肠结肠炎具有高度可重复的差异, 提示螺旋杆菌属细菌的易感性差异与肠道菌群相关。此外, GH仅定植于胃黏膜, 而EHS不仅在肠道中定植, 也能在肝脏和胆囊中定植, 提示EHS可能经历了更为复杂的环境进化压力。

随着越来越多的螺杆菌属细菌被发现, 其感染传播已引起广泛关注。中国是*H. pylori*高感染和胃癌的高发区, 总体感染率约为55.8%, 家庭总体感染率为71.2%, 明显高于个体感染率, 感染者是主要的传播源^[63]。NHPH宿主多为哺乳动物和禽类, 具有潜在的人畜共患性, 人类与动物的密切接触是螺杆菌属致病风险因素^[6]。譬如, *H. heilmanii*最初发现于人类胃黏膜活检, 也广泛分布于猪、猫、狗等宿主, 临床曾发现1例传染源为宠物狗的慢性胃炎。*H. heilmanii*感染患者, *H. pullorum*最先发现于肉鸡的盲肠及肝脏, 与肉鸡肝炎和肠炎相关, 也能从肠炎患者粪便和菌血症患者血液中分离培养, 提示*H. pullorum*是一种人畜共患病原体, 肉鸡是传染源, 传播途径可能与粪便污染、饲养环境暴露、食用未煮熟的鸡肉等相关^[64]。这些结果提示, 螺杆菌属细菌存在跨宿主传播感染的潜力, 但对人类致病性依然不完全清楚。

4 结论

综上, 除某些致病基因(如IV型分泌系统)在NHPH菌株基因组中分布碎片化而无法进行系统进化分析外, 本研究基于*H. pylori*致病物质基因对螺杆菌属菌株进行了系统进化分析, 发现胃和肝肠生态位是GH和EHS系统进化的主要驱动力, 为研究NHPH与*H. pylori*协同进化与感染机制提供了系统发生证据。

文章亮点

实验背景

螺杆菌属与多种消化道疾病相关, 除了幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)外, 现已从多种自然动物宿主体内分离出了38种非*H. pylori*螺杆菌属细菌(non-*Helicobacter pylori* *Helicobacters*, NHPH), 但对NHPH的致病性研究尚不充分。

实验动机

全面分析NHPH细菌的系统进化关系, 为深入研究NHPH的进化与感染机制提供系统发生证据。

实验目标

探讨螺杆菌属细菌的系统进化关系。

实验方法

本研究调取了12株*H. pylori*和38株NHPH的基因组, 基于16S rRNA、鞭毛、尿素酶以及毒力因子基因, 利用MAGA 11软件进行序列比对并构建系统进化树。

实验结果

基于16S rRNA基因、细菌鞭毛动力相关基因(*flaA*、*flaB*、*fliP*、*fliQ*、*fliR*、*fliG*、*fliM*、*fliN*)、脂多糖合成相关基因(*lptA*, *waaC*和*waaF*)的系统进化关系显示, 胃内螺杆菌(Gastric *Helicobacter*, GH)和肝肠螺杆菌(Enterohepatic *Helicobacter* Species, EHS)分别聚集为2个大支。GH具有较为完整的尿素酶基因簇, EHS中少见尿素酶基因。

实验结论

寄生部位(胃和肝肠)是螺杆菌属菌株系统进化的主要驱动力。

展望前景

近年来非培养依赖的高通量测序技术证实螺旋杆菌属是胃优势菌群, 本研究发现尿素酶基因对GH是必需的, 对EHS是非必需的, 因此, 临床应用不依赖尿素酶活性的分子生物学诊断技术, 有助于深入研究螺杆菌属细菌(特别是NHPH)参与消化系统疾病的致病机制。

5 参考文献

- Bessède E, Mégraud F. Microbiota and gastric cancer. *Semin Cancer Biol* 2022; 86: 11-17 [PMID: 35533800 DOI: 10.1016/j.semcancer.2022.05.001]
- Liatos C, Papaefthymiou A, Kyriakos N, Galanopoulos M, Douberis M, Giakoumis M, Petridou E, Mavrogiannis C, Rokkas T, Kountouras J. *Helicobacter pylori*, gastric microbiota and gastric cancer relationship: Unrolling the tangle. *World J Gastrointest Oncol* 2022; 14: 959-972 [PMID: 35646287 DOI: 10.4251/wjgo.v14.i5.959]
- Hua Z, Xu L, Zhu J, Xiao L, Lu B, Wu J, Wu Z, Zhou Q, Zhang J. *Helicobacter pylori* infection altered gastric microbiota in patients with chronic gastritis. *Front Cell Infect Microbiol* 2023; 13: 1221433 [PMID: 37662018 DOI: 10.3389/fcimb.2023.1221433]
- Zhao Y, Gao X, Guo J, Yu D, Xiao Y, Wang H, Li Y. *Helicobacter pylori* infection alters gastric and tongue coating microbial communities. *Helicobacter* 2019; 24: e12567 [PMID: 30734438 DOI: 10.1111/hel.12567]
- Smet A, Menard A. Review: Other *Helicobacter* species. *Helicobacter* 2020; 25 Suppl 1: e12744 [PMID: 32918348 DOI: 10.1111/hel.12744]
- Ochoa S, Collado L. Enterohepatic *Helicobacter* species - clinical importance, host range, and zoonotic potential. *Crit Rev Microbiol* 2021; 47: 728-761 [PMID: 34153195 DOI: 10.1080/1040841X.2021.1924117]
- Yang H, Hu B. Immunological Perspective: *Helicobacter pylori* Infection and Gastritis. *Mediators Inflamm* 2022; 2022: 2944156 [PMID: 35300405 DOI: 10.1155/2022/2944156]

- 8 Huang Y, Wang QL, Cheng DD, Xu WT, Lu NH. Adhesion and Invasion of Gastric Mucosa Epithelial Cells by *Helicobacter pylori*. *Front Cell Infect Microbiol* 2016; 6: 159 [PMID: 27921009 DOI: 10.3389/fcimb.2016.00159]
- 9 Cao S, Miao J, Qian M, Zhu C, Ding S, Yin J, Zhu L, Zhang Q. *Helicobacter hepaticus* Infection Promotes the Progression of Liver Preneoplasia in BALB/c Mice via the Activation and Accumulation of High-Mobility Group Box-1. *Front Microbiol* 2021; 12: 789752 [PMID: 35046917 DOI: 10.3389/fmicb.2021.789752]
- 10 Peng W, Zhao X, Li X. *Helicobacter bilis* Contributes to the Occurrence of Inflammatory Bowel Disease by Inducing Host Immune Disorders. *Biomed Res Int* 2022; 2022: 1837850 [PMID: 35983246 DOI: 10.1155/2022/1837850]
- 11 Taillieu E, Chiers K, Amorim I, Gärtner F, Maes D, Van Steenkiste C, Haesebrouck F. Gastric *Helicobacter* species associated with dogs, cats and pigs: significance for public and animal health. *Vet Res* 2022; 53: 42 [PMID: 35692057 DOI: 10.1186/s13567-022-01059-4]
- 12 Sharndama HC, Mba IE. *Helicobacter pylori*: an up-to-date overview on the virulence and pathogenesis mechanisms. *Braz J Microbiol* 2022; 53: 33-50 [PMID: 34988937 DOI: 10.1007/s42770-021-00675-0]
- 13 Baj J, Forma A, Sitarz M, Portincasa P, Garruti G, Krasowska D, Maciejewski R. *Helicobacter pylori* Virulence Factors-Mechanisms of Bacterial Pathogenicity in the Gastric Microenvironment. *Cells* 2020; 10 [PMID: 33375694 DOI: 10.3390/cells10010027]
- 14 Gu H. Role of Flagella in the Pathogenesis of *Helicobacter pylori*. *Curr Microbiol* 2017; 74: 863-869 [PMID: 28444418 DOI: 10.1007/s00284-017-1256-4]
- 15 Muzaheed. *Helicobacter pylori* Oncogenicity: Mechanism, Prevention, and Risk Factors. *Scientific World Journal* 2020; 2020: 3018326 [PMID: 32765194 DOI: 10.1155/2020/3018326]
- 16 Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov. respectively. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1989; 39: 397-405
- 17 Paster BJ, Lee A, Fox JG, Dewhirst FE, Tordoff LA, Fraser GJ, O'Rourke JL, Taylor NS, Ferrero R. Phylogeny of *Helicobacter felis* sp. nov., *Helicobacter mustelae*, and related bacteria. *Int J Syst Bacteriol* 1991; 41: 31-38 [PMID: 1704791 DOI: 10.1099/00207713-41-1-31]
- 18 Bronsdon MA, Goodwin CS, Sly LI, Chilvers T, Schoenkecht FD. *Helicobacter nemestrinae* sp. nov., a spiral bacterium found in the stomach of a pigtailed macaque (*Macaca nemestrina*). *Int J Syst Bacteriol* 1991; 41: 148-153 [PMID: 1995031 DOI: 10.1099/00207713-41-1-148]
- 19 Vandamme P, Falsen E, Rossau R, Hoste B, Segers P, Tytgat R, De Ley J. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1991; 41: 88-103 [PMID: 1704793 DOI: 10.1099/00207713-41-1-88]
- 20 Lee A, Phillips MW, O'Rourke JL, Paster BJ, Dewhirst FE, Fraser GJ, Fox JG, Sly LI, Romaniuk PJ, Trust TJ. *Helicobacter muridarum* sp. nov., a microaerophilic helical bacterium with a novel ultrastructure isolated from the intestinal mucosa of rodents. *Int J Syst Bacteriol* 1992; 42: 27-36 [PMID: 1736969 DOI: 10.1099/00207713-42-1-27]
- 21 Eaton KA, Dewhirst FE, Radin MJ, Fox JG, Paster BJ, Krakowka S, Morgan DR. *Helicobacter acinonyx* sp. nov., isolated from cheetahs with gastritis. *Int J Syst Bacteriol* 1993; 43: 99-106 [PMID: 8379970 DOI: 10.1099/00207713-43-1-99]
- 22 Stanley J, Linton D, Burnens AP, Dewhirst FE, Owen RJ, Porter A, On SL, Costas M. *Helicobacter canis* sp. nov., a new species from dogs: an integrated study of phenotype and genotype. *J Gen Microbiol* 1993; 139: 2495-2504 [PMID: 8254320 DOI: 10.1099/00221287-139-10-2495]
- 23 Fox JG, Dewhirst FE, Tully JG, Paster BJ, Yan L, Taylor NS, Collins MJ Jr, Gorelick PL, Ward JM. *Helicobacter hepaticus* sp. nov., a microaerophilic bacterium isolated from livers and intestinal mucosal scrapings from mice. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1238-1245 [PMID: 8051250 DOI: 10.1128/jcm.32.5.1238-1245.1994]
- 24 Dewhirst FE, Seymour C, Fraser GJ, Paster BJ, Fox JG. Phylogeny of *Helicobacter* isolates from bird and swine feces and description of *Helicobacter pametensis* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1994; 44: 553-560 [PMID: 7520743 DOI: 10.1099/00207713-44-3-553]
- 25 Stanley J, Linton D, Burnens AP, Dewhirst FE, On SL, Porter A, Owen RJ, Costas M. *Helicobacter pullorum* sp. nov.-genotype and phenotype of a new species isolated from poultry and from human patients with gastroenteritis. *Microbiology (Reading)* 1994; 140 (Pt 12): 3441-3449 [PMID: 7533595 DOI: 10.1099/13500872-140-12-3441]
- 26 Fox JG, Yan LL, Dewhirst FE, Paster BJ, Shames B, Murphy JC, Hayward A, Belcher JC, Mendes EN. *Helicobacter bilis* sp. nov., a novel *Helicobacter* species isolated from bile, livers, and intestines of aged, inbred mice. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 445-454 [PMID: 7536217 DOI: 10.1128/jcm.33.2.445-454.1995]
- 27 Hänninen ML, Happonen I, Saari S, Jalava K. Culture and characteristics of *Helicobacter bizzozeronii*, a new canine gastric *Helicobacter* sp. *Int J Syst Bacteriol* 1996; 46: 160-166 [PMID: 8573490 DOI: 10.1099/00207713-46-1-160]
- 28 Mendes EN, Queiroz DM, Dewhirst FE, Paster BJ, Moura SB, Fox JG. *Helicobacter trogonum* sp. nov., isolated from the rat intestine. *Int J Syst Bacteriol* 1996; 46: 916-921 [PMID: 8863417 DOI: 10.1099/00207713-46-4-916]
- 29 Franklin CL, Beckwith CS, Livingston RS, Riley LK, Gibson SV, Besch-Williford CL, Hook RR Jr. Isolation of a novel *Helicobacter* species, *Helicobacter cholecystus* sp. nov., from the gallbladders of Syrian hamsters with cholangiofibrosis and centrilobular pancreatitis. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2952-2958 [PMID: 8940429 DOI: 10.1128/jcm.34.12.2952-2958.1996]
- 30 Jalava K, Kaartinen M, Utriainen M, Happonen I, Hänninen ML. *Helicobacter salomonis* sp. nov., a canine gastric *Helicobacter* sp. related to *Helicobacter felis* and *Helicobacter bizzozeronii*. *Int J Syst Bacteriol* 1997; 47: 975-982 [PMID: 9336895 DOI: 10.1099/00207713-47-4-975]
- 31 Shen Z, Fox JG, Dewhirst FE, Paster BJ, Foltz CJ, Yan L, Shames B, Perry L. *Helicobacter rodentium* sp. nov., a urease-negative *Helicobacter* species isolated from laboratory mice. *Int J Syst Bacteriol* 1997; 47: 627-634 [PMID: 9226892 DOI: 10.1099/00207713-47-3-627]
- 32 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 [PMID: 9114397 DOI: 10.1128/jcm.35.5.1144-1150.1997]
- 33 Goto K, Ohashi H, Ebukuro S, Itoh K, Tohma Y, Takakura A, Wakana S, Ito M, Itoh T. Isolation and characterization of *Helicobacter* species from the stomach of the house musk shrew (*Suncus murinus*) with chronic gastritis. *Curr Microbiol* 1998; 37: 44-51 [PMID: 9625789 DOI: 10.1007/s002849900335]
- 34 Franklin CL, Gorelick PL, Riley LK, Dewhirst FE, Livingston RS, Ward JM, Beckwith CS, Fox JG. *Helicobacter typhlonius* sp. nov., a Novel Murine Urease-Negative *Helicobacter* Species. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3920-3926 [PMID: 11682508 DOI: 10.1128/JCM.39.11.3920-3926.2001]
- 35 Fox JG, Chien CC, Dewhirst FE, Paster BJ, Shen Z, Melito PL, Woodward DL, Rodgers FG. *Helicobacter canadensis* sp. nov. isolated from humans with diarrhea as an example of an emerging pathogen. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 2546-2549 [PMID: 10878041 DOI: 10.1128/JCM.38.7.2546-2549.2000]
- 36 Robertson BR, O'Rourke JL, Vandamme P, On SL, Lee A. *Helicobacter ganmani* sp. nov., a urease-negative anaerobe isolated from the intestines of laboratory mice. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001;

- 51: 1881-1889 [PMID: 11594622 DOI: 10.1099/00207713-51-5-1881]
- 37 Melito PL, Munro C, Chipman PR, Woodward DL, Booth TF, Rodgers FG. *Helicobacter winghamensis* sp. nov., a novel *Helicobacter* sp. isolated from patients with gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 2412-2417 [PMID: 11427547 DOI: 10.1128/JCM.39.7.2412-2417.2001]
- 38 Harper CG, Feng Y, Xu S, Taylor NS, Kinsel M, Dewhirst FE, Paster BJ, Greenwell M, Levine G, Rogers A, Fox JG. *Helicobacter cetorum* sp. nov., a urease-positive *Helicobacter* species isolated from dolphins and whales. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4536-4543 [PMID: 12454148 DOI: 10.1128/JCM.40.12.4536-4543.2002]
- 39 Fox JG, Shen Z, Xu S, Feng Y, Dangler CA, Dewhirst FE, Paster BJ, Cullen JM. *Helicobacter marmotae* sp. nov. isolated from livers of woodchucks and intestines of cats. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2513-2519 [PMID: 12089272 DOI: 10.1128/JCM.40.7.2513-2519.2002]
- 40 Van den Bulck K, Decostere A, Baele M, Vandamme P, Mast J, Ducatelle R, Haesebrouck F. *Helicobacter cynogastricus* sp. nov., isolated from the canine gastric mucosa. *Int J Syst Evol Microbiol* 2006; 56: 1559-1564 [PMID: 16825630 DOI: 10.1099/ijs.0.63860-0]
- 41 Fox JG, Taylor NS, Howe S, Tidd M, Xu S, Paster BJ, Dewhirst FE. *Helicobacter anseris* sp. nov. and *Helicobacter brantiae* sp. nov., isolated from feces of resident Canada geese in the greater Boston area. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72: 4633-4637 [PMID: 16820454 DOI: 10.1128/AEM.02876-05]
- 42 Moyaert H, Decostere A, Vandamme P, Debruyne L, Mast J, Baele M, Ceelen L, Ducatelle R, Haesebrouck F. *Helicobacter equorum* sp. nov., a urease-negative *Helicobacter* species isolated from horse faeces. *Int J Syst Evol Microbiol* 2007; 57: 213-218 [PMID: 17267952 DOI: 10.1099/ijs.0.64279-0]
- 43 Baele M, Decostere A, Vandamme P, Ceelen L, Hellemans A, Mast J, Chiers K, Ducatelle R, Haesebrouck F. Isolation and characterization of *Helicobacter suis* sp. nov. from pig stomachs. *Int J Syst Evol Microbiol* 2008; 58: 1350-1358 [PMID: 18523177 DOI: 10.1099/ijs.0.65133-0]
- 44 Baele M, Decostere A, Vandamme P, Van den Bulck K, Gruntar I, Mehle J, Mast J, Ducatelle R, Haesebrouck F. *Helicobacter baculiformis* sp. nov., isolated from feline stomach mucosa. *Int J Syst Evol Microbiol* 2008; 58: 357-364 [PMID: 18218931 DOI: 10.1099/ijs.0.65152-0]
- 45 Smet A, Flahou B, D'Herde K, Vandamme P, Cleenwerck I, Ducatelle R, Pasmans F, Haesebrouck F. *Helicobacter heilmannii* sp. nov., isolated from feline gastric mucosa. *Int J Syst Evol Microbiol* 2012; 62: 299-306 [PMID: 21421932 DOI: 10.1099/ijs.0.029207-0]
- 46 Joosten M, Lindén S, Rossi M, Tay AC, Skoog E, Padra M, Peters F, Perkins T, Vandamme P, Van Nieuwerburgh F, D'Herde K, Van den Broeck W, Flahou B, Deforce D, Ducatelle R, Marshall B, Haesebrouck F, Smet A. Divergence between the Highly Virulent Zoonotic Pathogen *Helicobacter heilmannii* and Its Closest Relative, the Low-Virulence "*Helicobacter ailurogastricus*" sp. nov. *Infect Immun* 2016; 84: 293-306 [PMID: 26527212 DOI: 10.1128/IAI.01300-15]
- 47 Shen Z, Feng Y, Sheh A, Everitt J, Bertram F, Paster BJ, Fox JG. Isolation and characterization of a novel *Helicobacter* species, *Helicobacter jaachi* sp. nov., from common marmosets (*Callithrix jacchus*). *J Med Microbiol* 2015; 64: 1063-1073 [PMID: 26297446 DOI: 10.1099/jmm.0.000113]
- 48 Zanoni RG, Piva S, Florio D, Bassi P, Mion D, Cnockaert M, Luchetti A, Vandamme P. *Helicobacter apri* sp. nov., isolated from wild boars. *Int J Syst Evol Microbiol* 2016; 66: 2876-2882 [PMID: 27064324 DOI: 10.1099/ijsem.0.001071]
- 49 Gruntar I, Papić B, Pate M, Zajc U, Ocepek M, Kušar D. *Helicobacter labacensis* sp. nov., *Helicobacter mehlei* sp. nov., and *Helicobacter vulpis* sp. nov., isolated from gastric mucosa of red foxes (*Vulpes vulpes*). *Int J Syst Evol Microbiol* 2020; 70: 2395-2404 [PMID: 32068523 DOI: 10.1099/ijsem.0.004050]
- 50 You Y, Ye F, Mao W, Yang H, Lai J, Deng S. An overview of the structure and function of the flagellar hook FlgE protein. *World J Microbiol Biotechnol* 2023; 39: 126 [PMID: 36941455 DOI: 10.1007/s11274-023-03568-6]
- 51 Tan J, Zhang X, Wang X, Xu C, Chang S, Wu H, Wang T, Liang H, Gao H, Zhou Y, Zhu Y. Structural basis of assembly and torque transmission of the bacterial flagellar motor. *Cell* 2021; 184: 2665-2679.e19 [PMID: 33882274 DOI: 10.1016/j.cell.2021.03.057]
- 52 Li H, Liao T, Debowski AW, Tang H, Nilsson HO, Stubbs KA, Marshall BJ, Benghezal M. Lipopolysaccharide Structure and Biosynthesis in *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2016; 21: 445-461 [PMID: 26934862 DOI: 10.1111/hel.12301]
- 53 Hicks G, Jia Z. Structural Basis for the Lipopolysaccharide Export Activity of the Bacterial Lipopolysaccharide Transport System. *Int J Mol Sci* 2018; 19 [PMID: 30201863 DOI: 10.3390/ijms19092680]
- 54 Woo HJ, Yang JY, Lee P, Kim JB, Kim SH. Zerumbone Inhibits *Helicobacter pylori* Urease Activity. *Molecules* 2021; 26 [PMID: 34062878 DOI: 10.3390/molecules26092663]
- 55 Mannion A, Shen Z, Fox JG. Comparative genomics analysis to differentiate metabolic and virulence gene potential in gastric versus enterohepatic *Helicobacter* species. *BMC Genomics* 2018; 19: 830 [PMID: 30458713 DOI: 10.1186/s12864-018-5171-2]
- 56 Haque M, Hirai Y, Yokota K, Mori N, Jahan I, Ito H, Hotta H, Yano I, Kanemasa Y, Oguma K. Lipid profile of *Helicobacter* spp.: presence of cholesteryl glucoside as a characteristic feature. *J Bacteriol* 1996; 178: 2065-2070 [PMID: 8606185 DOI: 10.1128/jb.178.7.2065-2070.1996]
- 57 Bansil R, Constantino MA, Su-Arcaro C, Liao W, Shen Z, Fox JG. Motility of Different Gastric *Helicobacter* spp. *Microorganisms* 2023; 11 [PMID: 36985208 DOI: 10.3390/microorganisms11030634]
- 58 Ge Z, Lee A, Whary MT, Rogers AB, Maurer KJ, Taylor NS, Schauer DB, Fox JG. *Helicobacter hepaticus* urease is not required for intestinal colonization but promotes hepatic inflammation in male A/JCr mice. *Microb Pathog* 2008; 45: 18-24 [PMID: 18486436 DOI: 10.1016/j.micpath.2008.02.003]
- 59 Farré R, Fiorani M, Abdu Rahiman S, Matteoli G. Intestinal Permeability, Inflammation and the Role of Nutrients. *Nutrients* 2020; 12 [PMID: 32340206 DOI: 10.3390/nu12041185]
- 60 Krajmalnik-Brown R, Ilhan ZE, Kang DW, DiBaise JK. Effects of gut microbes on nutrient absorption and energy regulation. *Nutr Clin Pract* 2012; 27: 201-214 [PMID: 22367888 DOI: 10.1177/0884533611436116]
- 61 Whary MT, Taylor NS, Feng Y, Ge Z, Muthupalani S, Versalovic J, Fox JG. *Lactobacillus reuteri* promotes *Helicobacter hepaticus*-associated typhlocolitis in gnotobiotic B6.129P2-IL-10(tm1Cgn) (IL-10(-/-)) mice. *Immunology* 2011; 133: 165-178 [PMID: 21426337 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2011.03423.x]
- 62 Yang I, Eibach D, Kops F, Brenneke B, Woltemate S, Schulze J, Bleich A, Gruber AD, Muthupalani S, Fox JG, Josenhans C, Suerbaum S. Intestinal microbiota composition of interleukin-10 deficient C57BL/6J mice and susceptibility to *Helicobacter hepaticus*-induced colitis. *PLoS One* 2013; 8: e70783 [PMID: 23951007 DOI: 10.1371/journal.pone.0070783]
- 63 Zhou XZ, Lyu NH, Zhu HY, Cai QC, Kong XY, Xie P, Zhou LY, Ding SZ, Li ZS, Du YQ. Large-scale, national, family-based epidemiological study on *Helicobacter pylori* infection in China: the time to change practice for related disease prevention. *Gut* 2023; 72: 855-869 [PMID: 36690433 DOI: 10.1136/gutjnl-2022-328965]
- 64 Mladenova-Hristova I, Grekova O, Patel A. Zoonotic potential of *Helicobacter* spp. *J Microbiol Immunol Infect* 2017; 50: 265-269 [PMID: 28655571 DOI: 10.1016/j.jmii.2016.11.003]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

