幽门螺杆菌 CagA 及 VacA 致病机制的研究进展

涂宏飞¹, 费素娟²

(¹ 徐州医科大学, 江苏 徐州 221004;

² 徐州医科大学附属医院 消化内科, 江苏 徐州 221002)

关键词: 幽门螺杆菌; CagA; VacA; 致病机制

doi: 10.3969/j.issn.1671-038X.2019.05.19

中图分类号: R57 文献标志码: A

幽门螺杆菌是世界上感染率最高的细菌之一^[1]。虽然在世界许多地区幽门螺杆菌的感染率较前有所下降,但世界上仍有近一半的人口受到幽门螺杆菌的影响^[2]。大多数感染幽门螺杆菌的人没有明显的临床症状,然而幽门螺杆菌是与消化系统疾病发展相关的一个重要因素。据统计,大约不到 0.01% 的幽门螺杆菌感染者发展为胃黏膜相关淋巴瘤(MALT),0.1%~3% 发展为胃癌,1%~10% 发展为消化性溃疡,高达 10%~15% 将发展为幽门螺杆菌相关疾病^[3],而在上述疾病的发生发展过程中,毒力因子 CagA 和 VacA 起到了关键性的作用。

1 幽门螺杆菌与宿主免疫反应

幽门螺杆菌可以激活先天性和适应性免疫反应。幽门螺杆菌在胃黏膜中的定殖激活宿主先天性免疫应答的机制,如 NOD1,它可以刺激胃上皮细胞表达抗菌和促炎因子^[4]。幽门螺杆菌还可通过 TLR2,TLR4,TLR5 和 TLR9 触发促炎基因的表达^[5]。此外,适应性免疫反应在胃十二指肠疾病过程中起关键作用^[6]。宿主对幽门螺杆菌的免疫反应包括全身和局部抗体的产生以及细胞反应^[7]。在胃黏膜中定植后,幽门螺杆菌的免疫原性特性会引起中性粒细胞性胃炎的炎症反应,最终导致感染的临床表现,介导这一过程的宿主因子是 IFN- γ ,IL-1,IL-2,IL-6,IL-8,IL-12,IL-32 和 TNF- α ,这些因子能够促进活性氧和细胞因子的释放,并导致黏膜损伤^[8-9]。

2 幽门螺杆菌毒力因子

1997 年,科学家完成了幽门螺杆菌的全基因组序列,它包含一个由 1 667 867 个碱基对组成的环形

基因组。到目前为止,在这个基因组中发现了 1590 个编码序列。分析表明,幽门螺杆菌还具有一个先进的移动、获取亚铁和调整 DNA 的系统^[7]。

vacA 及 cagA 有多种基因亚型,墨西哥的一项研究证明,vacA s1 m1 基因型和 cagA EPIYA-ABC 基因型在慢性胃炎患者中分离的幽门螺杆菌菌株中占主导地位^[10]。目前,许多报道证实幽门螺杆菌毒力因子的基因型和宿主基因的多态性或许会决定幽门螺杆菌感染的临床表现严重程度,因此有学者认为联合分析菌株和宿主基因型比评估个体胃癌风险更加重要。幽门螺杆菌毒力因子主要分为 3 类。第 1 类出现在部分幽门螺杆菌菌株中,编码细菌 IV 型分泌系统(T4SS)的 cag 致病岛(cag PAI)是该类别中最具代表性的。第 2 类涉及可通过生长或在不同条件下改变的因素,以确保幽门螺杆菌存活。例如编码外膜蛋白(OMPS)的 6 个基因,包括 OIPA、SABA、SABB、BABA、BABC 和 HOPZ,这类基因所经历的阶段性变化存在于所有幽门螺杆菌菌株中。最后一类基因属于具有可变基因型或结构的基因组,具体取决于菌株,如 VacA 基因^[11-13]。

一些研究评估了与该细菌致病性相关的有效因子,并引入了细菌毒力因子如 cag 致病岛(cag PAI),CagA(细胞毒素相关基因 A),VacA(空泡细胞毒素基因),血型抗原结合粘附素(BabA)和可能的十二指肠溃疡产生基因(dupA)。幽门螺杆菌诱导消化性溃疡或胃癌的分子机制尚不清楚,但很可能涉及宿主的遗传易感性、细菌的毒力因子(如 VacA 和 CagA 蛋白)、黏膜的机械损伤以及胃和十二指肠分泌物的改变^[14]。因此,探讨这些毒力因子与幽门螺杆菌感染相关疾病之间的关系并讨论其发生机制很有意义。

3 CagA 致病机制

幽门螺杆菌 CagA 是一种高免疫原性蛋白,分子量为 120~140 kDa,由位于致病岛(cag PAI)末端的 cagA 基因编码,与细胞损伤和更严重的临床

收稿日期:2019-02-17

作者简介:涂宏飞,男,在读硕士研究生,研究方向:幽门螺杆菌致病机制

通讯作者:费素娟,E-mail:xyfyfeisj99@163.com

结局相关,如胃腺癌和十二指肠溃疡^[15]。证据表明,CagA 阳性幽门螺杆菌菌株可增强萎缩性胃炎和胃癌的风险。在西方国家分离的幽门螺杆菌菌株约 60% 的为 cag PAI 阳性,而几乎所有的东亚型幽门螺杆菌菌株都是 cag PAI 阳性,且东亚型 cag PAI 被认为比西方型更具有毒性。在宿主细胞内,CagA 可以被蛋白质 C 末端区域存在的谷氨酸-脯氨酸-异亮氨酸-酪氨酸-丙氨酸(EPIYA)基序上的 Abl 激酶或 Src 激酶磷酸化,EPIYA 氨基酸序列的多态性影响了 CagA 活性的大小和其发挥作用的持续时间,这或许决定了 CagA 在胃癌发展中的潜在毒力。此外,CagA 还可以在非磷酸化状态下直接发挥作用,影响细胞紧密连接、细胞极性、细胞增殖和分化、细胞散射、诱导炎症反应以及细胞伸长。许多研究表明,抗 CagA 蛋白抗体阳性的患者更易罹患消化性溃疡病和胃癌^[16-18]。此外,CagA 在消化系统疾病发生和发展中起重要作用已经在人体内得到证明。临床上,感染 CagA 阳性的幽门螺杆菌与更高级别的胃黏膜炎症以及严重的萎缩性胃炎有关,并被认为是胃癌的发展中起重要作用。

据报道,cag PAI 诱导的核因子(NF- κ B)和活化蛋白-1(AP-1)的活化调节了多种促炎细胞因子的表达^[19-20]。cag PAI 与其他细菌因子的合作,如外膜蛋白 A(Oip A),可以适当增强 IL-8 的分泌。独立于 Cag-TFSS 系统,CagA 也可以单独激活能促进炎症因子和 IL-8 释放的 NF- κ B^[19]。CagA 还可以通过氧化应激诱导胃上皮细胞的 DNA 损伤和凋亡^[21]。幽门螺杆菌采用独特的基底外侧 IV 型分泌机制输送 CagA^[22]。幽门螺旋杆菌的肽聚糖也可以通过 TFSS 进入细胞并引起由 NOD1 介导的炎症反应的激活。研究表明,幽门螺杆菌 CagA 通过触发致癌 YAP 途径促进胃癌发生过程中上皮间充质的转化^[23]。幽门螺杆菌的氢代谢也可通过促进 CagA 易位在胃癌发生中发挥作用^[24]。

4 VacA 致病机制

幽门螺杆菌分泌的空泡细胞毒素(VacA)是一种 88 kDa 的蛋白质,具有 2 个重要的亚基 p33 和 p55。蛋白质 N-末端的 p33 形成氯离子转运的内通道,蛋白质 N-末端的 p55 对于毒素与宿主细胞的结合是必不可少的。几乎在所有的幽门螺杆菌菌株中都发现了 vacA 基因的存在,vacA 基因编码分泌成孔蛋白 VacA,其基因突变主要存在于信号区域(sla,slb,slc 和 s2)、中部区域(m1 和 m2)以及媒介区域(i1 和 i2)中^[25-26]。在最近的研究中,vacA 基因上 2 个新的与疾病相关的多态性位点被发现,即位于 i 区和 m 区之间的 d 区和位于 vacA 基因 3' 末端

的 c 区。d 区和 c 区均具有 2 种不同表型,及 d1、d2 和 c1、c2 基因型,d1 和 c1 基因亚型被认为是胃癌高风险的标志物,但是 d 区和 c 区基因以及其组合对细胞空泡形成的作用尚未完全确定^[27]。

VacA 具有多种生物活性,由细菌通过 V 型自转录系统分泌,并通过内吞作用进入宿主细胞。幽门螺杆菌感染可通过 VacA 依赖性抑制 mTORC1 调节宿主细胞代谢^[28]。VacA 的主要生物学特性是诱使细胞空泡样变性和致细胞凋亡,此外 VacA 可通过多种致病机制发挥其细胞毒作用,造成机体损伤。与宿主细胞结合后,VacA 在不同的细胞间隔内积聚并诱导细胞凋亡。此外,VacA 可通过转移至线粒体而导致线粒体跨膜电位($\Delta\Psi_m$)的耗散、细胞色素 c 的释放和促凋亡因子 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)的激活,从而导致细胞凋亡^[29]。此外,VacA 促进上皮细胞紧密连接的破坏,并分布在固有层中。VacA 在固有层中结合受招募作用而转移到感染部位的 T 细胞,因此 T 细胞的增殖和功能受到抑制,使得幽门螺杆菌得以持续存在。据报道,VacA 对 T 细胞也有间接作用,其作用机制尚不清楚。VacA 还有促进 DC 耐受和调节性 T 细胞诱导的作用,然而这种作用尚未在人类细胞中得到证实^[30]。尽管 VacA 可以通过抑制 T 细胞活化来改变宿主的炎症反应,但这种毒素也能诱导由 NF- κ B 活化介导的炎症反应,并导致 IL-8 上调。此外,由 VacA 引起的自噬破坏反应是 VacA 诱导胃内炎症并促进胃癌发生的另一种机制^[31]。

5 CagA 和 VacA 之间的相互作用

大量证据表明 CagA 和 VacA 之间存在相互作用,这种相互作用可影响胃肠道疾病的严重程度。Yokoyama 等报道了 CagA 和 VacA 对 NFAT 途径的拮抗作用。简言之,CagA 通过磷脂酶 γ 激活钙调磷酸酶激活 NFAT 途径,而 VacA 则通过其介导的孔蛋白减少钙流量来阻止钙调磷酸酶激活,从而抑制 NFAT 途径。此外,最近的研究表明 CagA 可以阻断 VacA 的凋亡活性。VacA 和 CagA 在改变细胞形态方面还具有拮抗作用^[32]。最新研究结果表明 VacA 在幽门螺杆菌感染期间能够促进胃上皮细胞中 CagA 的积累^[33]。总之,这些相互作用可以解释 VacA、CagA 和更严重的疾病表现之间的联系。

6 总结

幽门螺杆菌是一种具有多种毒力因子的致病菌,幽门螺杆菌感染与胃癌发展之间的紧密联系引发了大量的临床研究,这些研究成果阐明了毒力因子在胃癌发生发展中的作用。CagA 是第 1 个被证

实与更严重消化系统疾病相关的幽门螺杆菌毒力因子,它以磷酸化依赖性和独立性两种方式发挥作用,能够影响许多细胞过程。此外,大量证据也证明了 VacA 对宿主细胞的影响,该毒素具有从诱导细胞凋亡到调节免疫系统的广泛功能。这 2 种毒力因子在功能上有一定重叠,二者都能影响细胞形态、调节免疫细胞并激活致癌途径。虽然人们对幽门螺杆菌的毒力因子进行了大量研究,但仍有许多机制尚未完全明确。因此,进一步探讨幽门螺杆菌毒力因子与宿主细胞之间的相互作用,将为研究幽门螺杆菌相关疾病发生发展的生物学机制提供新的助力。

参考文献

- [1] Shu L, Zheng PF, Zhang XY. Dietary patterns and *Helicobacter pylori* infection in a group of Chinese adults ages between 45 and 59 years old: An observational study[J]. *Medicine*, 2019, 98(2): e14113.
- [2] Mégraud F. Antibiotic Resistance Is the Key Element in Treatment of *Helicobacter pylori* Infection[J]. *Gastroenterology*, 2018, 155(5): 1300—1302.
- [3] Nejati S, Karkhah A, Darvish H, et al. Influence of *Helicobacter pylori* virulence factors CagA and VacA on pathogenesis of gastrointestinal disorders[J]. *Microb Pathog*, 2018, 117(1): 43—48.
- [4] Tran LS, Tran D, De Paoli A, et al. NOD1 is required for *Helicobacter pylori* induction of IL-33 responses in gastric epithelial cells[J]. *Cell Microbiol*, 2018, 20(5): e12826.
- [5] Tourani M, Habibzadeh M, Shokri-Shirvani J, et al. Association of *Helicobacter pylori* infection with Toll-like receptor-4 Thr399 Ile polymorphism increased the risk of peptic ulcer development in North of Iran[J]. *APMIS*, 2018, 126(1): 76—84.
- [6] Khatoun J, Prasad KN, Rai RP, et al. Expression levels of A disintegrin and metalloproteases (ADAMs), and Th17-related cytokines and their association with *Helicobacter pylori* infection in patients with gastroduodenal diseases[J]. *Pathog Dis*, 2018, 76(8): 224—228.
- [7] Kivrak Salim D, Sahin M, Kksoy S, et al. Local Immune Response in *Helicobacter pylori* Infection[J]. *Medicine*, 2016, 95(20): e3713.
- [8] Hong JB, Zuo W, Wang AJ. *Helicobacter pylori* Infection Synergistic with IL-1 β Gene Polymorphisms Potentially Contributes to the Carcinogenesis of Gastric Cancer[J]. *Int J Med Sci*, 2016, 13(4): 298—303.
- [9] Melchiades JL, Zabaglia LM, Sallas ML, et al. Polymorphisms and haplotypes of the interleukin 2 gene are associated with an increased risk of gastric cancer The possible involvement of *Helicobacter pylori*[J]. *Cytokine*, 2017, 96: 203—207.
- [10] Atrisco-Morales J, Martnez-Santos VI, Romn-Romn A, et al. vacA s1 m1 genotype and cagA EPIYA-ABC pattern are predominant among *Helicobacter pylori* strains isolated from Mexican patients with chronic gastritis[J]. *J Med Microbiol*, 2018, 67(3): 314—324.
- [11] Safaralizadeh R, Dastmalchi N, Hosseinpourfeizi M, et al. *Helicobacter pylori* virulence factors in relation to gastrointestinal diseases in Iran[J]. *Microb Pathog*, 2017, 105: 211—217.
- [12] Bagheri N, Azadegan-Dehkordi F, Rafieian-Kopaei M, et al. Clinical relevance of *Helicobacter pylori* virulence factors in Iranian patients with gastrointestinal diseases [J]. *Microb Pathog*, 2016, 100: 154—162.
- [13] Cherati M. R, Shokri-Shirvani J, Karkhah A, et al. *Helicobacter pylori* cagL amino acid polymorphism D58 E59 pave the way toward peptic ulcer disease while N58 E59 is associated with gastric cancer in north of Iran[J]. *Microb. Pathog*, 2017, 107: 413—418.
- [14] Steensma DP, Kyle RA, J Robin Warren: *Helicobacter Pylori* and Peptic Ulcer[J]. *Mayo Clin Proc*, 2016, 91(9): e129—130.
- [15] de Brito BB, da Silva FAF, de Melo FF. Role of polymorphisms in genes that encode cytokines and *Helicobacter pylori* virulence factors in gastric carcinogenesis [J]. *World J Clin Oncol*, 2018, 9(5): 83—89.
- [16] Inagaki T, Nishiumi S, Ito Y, et al. Associations Between CagA, VacA, and the Clinical Outcomes of *Helicobacter Pylori* Infections in Okinawa, Japan[J]. *Kobe J Med Sci*, 2017, 63(2): E58—E67.
- [17] Phan TN, Santona A, Tran VH, et al. Genotyping of *Helicobacter pylori* shows high diversity of strains circulating in central Vietnam [J]. *Infect Genet Evol*, 2017, 52: 19—25.
- [18] Sokolova O. NF- κ B Signaling in Gastric Cancer [J]. *Toxins*, 2017, 9(4): 119—141.
- [19] Yang F, Xu Y, Liu C, et al. NF- κ B/miR-223-3p/ARID1 A axis is involved in *Helicobacter pylori* CagA-induced gastric carcinogenesis and progression [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(1): 12—25.
- [20] 魏茜, 余树林, 黄宜峰. 胃癌组织中 P53、IL-1 β 、NF- κ B 的表达及与幽门螺杆菌感染的相关性分析 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2019, 27(3): 228—231.
- [21] Tran LS, Tran D, De Paoli A, et al. NOD1 is required for *Helicobacter pylori* induction of IL-33 responses in gastric epithelial cells [J]. *Cell Microbiol*, 2018, 20(5): e12826.
- [22] Tegtmeier N, Wessler S, Necchi V, et al. *Helicobacter pylori* Employs a Unique Basolateral Type IV Secretion Mechanism for CagA Delivery [J]. *Cell Host Microbe*, 2017, 22(4): 552—560.
- [23] Li N, Feng Y, Hu Y, et al. *Helicobacter pylori* CagA

- promotes epithelial mesenchymal transition in gastric carcinogenesis via triggering oncogenic YAP pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):280–290.
- [24] Wang G, Romero-Gallo J, Benoit SL, et al. Hydrogen Metabolism in *Helicobacter pylori* Plays a Role in Gastric Carcinogenesis through Facilitating CagA Translocation[J]. *MBio*, 2016, 7(4):e01022–16.
- [25] McClain MS, Beckett AC. *Helicobacter pylori* Vacuolating Toxin and Gastric Cancer [J]. *Toxins*, 2017, 9(10):316–333.
- [26] Timothy L. *Helicobacter pylori* Diversity and Gastric Cancer Risk[J]. *MBio*, 2016, 7(1):1869–1884.
- [27] Bakhti SZ, Latifi-Navid S, Mohammadi S, et al. Relevance of *Helicobacter pylori* vacA 3'-end Region Polymorphism to Gastric Cancer[J]. *Helicobacter*, 2016, 21(4):305–316.
- [28] Kim IJ, Lee J, Oh SJ, et al. *Helicobacter pylori* Infection Modulates Host Cell Metabolism through VacA-Dependent Inhibition of mTORC1[J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 23(5):583–593.
- [29] Chauhan N, Tay ACY, Marshall BJ. *Helicobacter pylori* VacA, a distinct toxin exerts diverse functionalities in numerous cells: An overview[J]. *Helicobacter*, 2019, 24(1):e12544.
- [30] Djekic A, Müller A. The immunomodulator VacA promotes immune tolerance and persistent *Helicobacter pylori* infection through its activities on T-cells and antigen-presenting cells[J]. *Toxins*, 2016, 8(6):E187–196.
- [31] Zhu P, Xue J, Zhang ZJ, et al. *Helicobacter pylori* VacA induces autophagic cell death in gastric epithelial cells via the endoplasmic reticulum stress pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(12):3207–3219.
- [32] Nejati S, Karkhah A, Darvish H, et al. Influence of *Helicobacter pylori* virulence factors CagA and VacA on pathogenesis of gastrointestinal disorders[J]. *Microb Pathog*, 2018, 117:43–48.
- [33] Abdullah M, Greenfield LK, Bronte-Tinkew D, et al. VacA promotes CagA accumulation in gastric epithelial cells during *Helicobacter pylori* infection[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):38–46.

科技论文中插图的规范化

科技期刊中插图可大致分为两大类,即线条图和照片图,照片图又有黑白照片图和彩色照片图之分。

图片要求 图序、图题说明不要标注在图上,如需标注,请附 2 张图,一张为有标注的图,一张为原图,图需按比例缩放,以免失真。

插图的位置 与表格一样,插图的编排应随文列出,出现在与图相呼应的词语,如:“见图×”或“(见图×)”或“如图×所示”后的自然段落之下,即要先见文字后见插图。

插图的精选 图的内容不可与文字、表格重复,应删除一切可不要的插图。

图序与图题 按照国家标准,插图必须有图序和图题。图序即插图的序号。图序应按插图在文中出现的先后用从“1”开始的阿拉伯数字连续编号,如“图 1”、“图 2”等。如果一篇论文中只有 1 幅插图,则图序编为“图 1”。图题指插图的名称。图题应准确得体,能准确反映主题的特定内容,具有专指性,让读者一目了然,快速了解插图信息。图应具有“自明性”,即只看图、图题和图例,不阅读正文,就可理解图意。

纵、横坐标 纵、横坐标上的标目应齐全,标目应采用量/单位的形式,如 $TC/(mmol \cdot L^{-1})$ 。图中的量、单位、符号、缩略词等必须与正文一致。1 条坐标轴上至少必须写出 3 个标值,标值一定要等距。

图注 必要时,应将图上的符号、标记、代码,以及实验条件等,用最简练的文字,居中横排于图与图题之间,作为图注说明。图注说明文字应力求简洁准确,所选用的名词术语一定要与正文中所使用的相一致。图中的 P 值结果也应排在图注中。

其他 照片图要求主要显示部分的轮廓清晰,层次分明,反差适中,无杂乱的背景。人体照片只需显示必要部位,但应能看出是人体的哪一部分。颜面或全身照片,如不需显示眼部和阴部,应加遮盖。病理显微照片应标明染色方法和放大倍数(如×200)。实物照片涉及尺寸者应附有表示目的物尺寸大小的标度。