3　讨论

Hp 是导致消化道溃疡和胃癌等疾病的重要病因。目前认为，研制有效的疫苗是预防和根治 *Hp* 感染最有前景的方法[5]。当前对于 *Hp* 全菌疫苗、重组亚单位疫苗的报道较多，但对核酸疫苗的报道则较少。Todoroki 等[6]构建了分别编码 HspA、B 的裸质粒 DNA，经皮下免疫小鼠后，可有效降低攻毒实验中的细菌定植数目，显示 *Hp* 核酸疫苗免疫能产生一定的保护性效果。

本研究采用了具有双真核启动子的穿梭质粒 pTCAE，当抗原基因插入其中一个真核启动子之后，另一处仍空缺，其目的是为最终构建抗原基因和细胞因子基因共表达的核酸疫苗做准备。pTCAE 质粒是高效真核表达载体，含有氨苄青霉素抗性基因（AMPR）。两个启动子均为来源于巨细胞病毒的 CMV，目前已有研究报道[7]，并取得了较好结果。

疫苗的抗原性质也是影响疫苗效果的重要因素。*Hp* 保护性抗原包括尿素酶（Urease）、尿素酶 B 亚单位（UreB）、热休克蛋白（heat shock protein，HSP）、过氧化氢酶（Catalase）、hpaA 等。在这些抗原中，UreB 和 HpaA 因为其功能和保护性效果而备受关注[8,9]。因此本研究选用 *Hp* 的 ureB 基因构建表达质粒，并与携带有 hpaA 基因的表达质粒作比较，观察所诱导的免疫应答的强弱，从而为筛选理想的疫苗方案奠定基础。

肌肉注射是目前将质粒导入机体最常用和较简单的方法，骨骼肌则是常选择的注射部位[10]。在本实验中，我们采用了肌肉注射的免疫方式比较 pT-ureB、pT-hpaA 的免疫效果。注射前用蔗糖处理肌注部位是因为有研究表明[11]，在注射前 15 min，25% 蔗糖溶液处理注射部位能降低个体之间的差异，其可能原因是在高渗溶液存在的情况下，体液静水压升高，使肌纤维相互分离，有利于重组质粒均匀分散在肌纤维周围，便于肌细胞摄取质粒，从而获得理想效果。

疫苗注射免疫后，用包被相同量抗原的 ELISA 板检测血清特异性抗体水平，结果表明 pT-ureB、pT-hpaA 诱导的特异性 IgG 抗体滴度随时间延长而升高；免疫后第 6 周 pT-ureB 诱导的抗体水平滴度显著高于 pT-hpaA 免疫组，说明 pT-ureB 诱导体液免疫应答的能力优于 pT-hpaA。分析其原因可能是两种抗原蛋白自身抗原性差异造成的，比如 UreB 分子量大、含有的表位可能多于 HpaA 等。

综上所述，本研究通过动物实验对携带 *Hp* 不同抗原基因的两种真核表达质粒进行了免疫原性的比较，为下一步 *Hp* 核酸疫苗的研究奠定了基础。

参考文献：

[1] Srivastava I K, Liu M A. Gene vaccines[J]. Ann Intern Med, 2003, 138(7): 550－559.

[2] 鲁东水，毛旭虎，邹全明，等. 重组大幽门螺杆菌尿素酶 B 亚单位及其生物学性质[J]. 第一军医大学学报，2003，23(6)：549－552.

[3] 王绮鲲，邹全明，张卫军，等. 从包涵体中纯化重组大幽门螺杆菌热休克蛋白 A 亚单位[J]. 第三军医大学学报，2002，24(11)：1332－1335.

[4] 曾韦锟，邹全明，井申荣. 幽门螺杆菌 hpaA 真核表达质粒的构建及鉴定[J]. 第三军医大学学报，2005，27(6)：547－549.

[5] Corthesy Theulaz I. Vaccination against *Helicobacter pylori*[J]. Recent Results Cancer Res, 2000, 156: 55－59.

[6] Todoroki T, Joh T, Watanabe K, *et al*. Suppressive effects of DNA vaccines encoding heat shock protein on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in mice[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 277(1): 159－163.

[7] Wu Y Z, Zhao J P, Wan Y, *et al*. Mimovirus: a novel form of vaccine that induces hepatitis B virus-specific cytotoxic T-lymphocyte responses *in vivo*[J]. J Virol, 2002, 76(20): 10264－10269.

[8] Corthesy Theulaz I, Porta N, Glauser M, *et al*. Oral immunization with *Helicobacter pylori* urease B subunit as a treatment against Helicobacter infection in mice[J]. Gastroenterology, 1995, 109(1): 115－121.

[9] Kim B O, Shin S S, Yoo Y H, *et al*. Peroral immunization with *Helicobacter pylori* adhesin protein genetically linked to cholera toxin A2B subunits[J]. Clin Sci (Lond), 2001, 100(3): 291－298.

[10] 聂青和. 基因疫苗的基础研究及应用现状[J]. 世界华人消化杂志，2003，11(2)：125－129.

[11] Davis H L, Whalen R G, Demeneix B A. Direct gene transfer into skeletal muscle *in vivo*: factors affecting efficiency of transfer and stability of expression[J]. Hum Gene Ther, 1993, 4(2): 151－159.

（编辑　冷怀明）

血压计量单位恢复 mmHg 表示法

根据国家质量技术监督局和卫生部联合发出的质技监局量函[1998]《关于血压计量单位使用规定的补充通知》的精神，血压计量单位恢复使用毫米汞柱（mmHg），但首次使用时应注明 mmHg 与千帕[斯卡]（kPa）的换算系数。

本刊编辑部