DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.20.034
第26卷第20期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 20
2004年10月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Oct. 2004

文章编号:1000-5404(2004)20-1881-03

综述

幽门螺杆菌全菌疫苗研究进展

Whole-cell vaccine against *Helicobacter pylori* infection

刘开云 综述,邹全明 审校 (第三军医大学医学检验系临床微生物学及免疫学教研室,重庆 400038)

幽门螺杆菌(*helicobacter pylori*, Hp)是定植于人胃内的革兰染色阴性、螺杆状、微需氧菌,目前全球近50%的人口感染了Hp,在发展中国家,其感染率可高达70%以上。Hp的抗感染治疗存在较大问题,使用单剂药物根除率低,而使用多联药物费用昂贵,治愈率不高且不能有效阻止Hp的再感染和复发。此外,耐药菌株的增加也使抗Hp治疗面临越来越复杂的难题,种种因素使Hp疫苗有望成为预防和治疗Hp感染最有效的途径。这也并不是说用有效的疫苗就能克服抗生素治疗缺点,但特定的疫苗治疗,可以根除感染,同时还能提供适当的免疫记忆,避免再感染,而这一点是抗生素永远不能办到的。

动物实验已经有许多明显的证据表明预防性和治疗性疫苗抗Hp是可行的。迄今为止,人们在各种动物模型中研究抗Hp感染免疫,已经明确知道超声粉碎的Hp全菌抗原、灭活的Hp全菌抗原以及提纯的urease、空泡毒素、热休克蛋白和过氧化氢酶等,均能诱导机体产生保护性免疫应答。Hp疫苗的临床实验研究表明,以Hp全菌抗原为基础的疫苗在人体有一定的预防和治疗效果[1~4]。现对疫苗抗幽门螺杆菌感染的免疫机制及全菌疫苗的研究现状作一综述。

1 Hp疫苗的免疫机制

Hp感染是一种很特别的感染,它独特的生活境位于胃粘膜的细胞外。这一特性导致了这样的假设,最好的预防和治疗Hp感染的方式是打破粘膜免疫耐受,最终诱导产生粘膜水平的粘膜免疫应答效应。Hp可以诱导机体产生较强的抗体应答和一定程度的T细胞应答,但这样的应答不足以清除感染,甚至还对机体造成一定的免疫病理损伤。深入了解机体对Hp产生免疫应答的反应机制对于我们研制Hp疫苗具有重要的指导意义。

大量的研究实验已经证明,用疫苗来预防Hp感染和清除已存在的Hp感染均是切实可行的[5],但这些蛋白介导的免疫保护的效应部位和免疫机制仍然还不清楚。另一方面,仍然不清楚对Hp整个菌体有效的理想的疫苗,应该诱导的免疫应答的效应因子是什么(例如抗体、$CD4^+$亚群、细胞因子等)。

1.1 体液免疫与细胞免疫机制

最早期研究认为,胃粘膜分泌的特异性抗Hp抗体IgA(secretory IgA, SIgA)在疫苗对机体的保护性机制中起主要作用。SIgA能够防止细菌和病毒在粘膜表面定植和进一步感染,可抑制细菌抗原的摄取、阻止Hp的粘附和移动以及中和毒素。但是目前对于抗体是否起关键作用尚不肯定,依据有:①免疫小鼠后再用Hp攻击,免疫组与未免疫组抗体滴度最高值相近,并且在抗体滴度升高之前,机体已经产生了保护作用;②单独用Hp抗原免疫小鼠,虽然产生高滴度SIgA,但并无保护作用;③免疫球蛋白基因敲除小鼠不能产生抗体,但接种疫苗后也会产生保护作用[6]。用基因敲除小鼠可能对观察免疫应答的效应器的真正作用产生偏差,因为这些小鼠可能发展一条旁路途径完成免疫介导的保护,例如小鼠被动转移特异性抗体显示对Hp攻毒有保护作用。而且,抗体能够和单核细胞一起限制Hp体外增殖[7]。笔者认为,很有可能感染局部(如胃粘膜)与保护性相关的大多免疫指标,难以用常规方法进行准确评价,血中的抗原特异性抗体和细胞应答不能反映免疫介导的保护状况,所以在疫苗对机体的保护性免疫机制中,可能体液免疫和细胞免疫同时起了重要作用。

1.2 $CD4^+$/$CD8^+$T细胞的作用

利用基因靶向技术敲除小鼠的主要组织相容性抗原(MHC)Ⅰ、Ⅱ基因,研究成熟$CD8^+$和$CD4^+$T细胞在保护性免疫中的作用,结果表明MHC-Ⅱ是针对Hp的保护性所必须的,而MHC-Ⅰ和抗体却是非必须的。Mohammadi等给免疫缺陷小鼠转输免疫后小鼠脾脏$CD4^+$T细胞,证实可以保护小鼠免受Hp或猫胃螺杆菌(*Helicobacterfelis*, H. felis)感染,认为$CD4^+$T细胞是通过分泌细胞因子产生免疫保护性的基本因素。在Hp感染的动物模型中也观察到抗体及$CD4^+$T细胞介导的胃粘液中粘蛋白分泌的改变,可导致Hp定植减少。Hp活动迅速,大部分定植于胃小腔的粘液中,而非上皮细胞表面,周围粘液环境的改变可能影响其运动能力,使它们不能牢固地定植于粘液中而被冲刷掉。在此基础上,Sutton[8]提出保护性免疫机制是$CD4^+$T细胞介导引起的胃粘液生成改变的结果。笔者认为,在疫苗对机体的保护性免疫机制中$CD4^+$T细胞介导的免疫机制起了重要作用。

1.3 Th1/Th2型免疫应答

更多的争论是在感染及疫苗接种以后的Th1型和Th2型免疫应答哪一种相对更关键。自然感染Hp主要诱导Th1型应答,通过增加INF-γ等细胞因子而增强胃粘膜损伤性的炎症反应;免疫接种所诱导的应答却转向Th2型,通过增加IgG1、IL-4和IL-5等细胞因子的产生而阻止Hp在胃粘膜生存,起免疫保护作用[3]。Maeda等[9]用Hp全菌超声抗原加完全弗氏佐剂或氢氧化铝佐剂注射免疫Hp感染的小鼠,发现Hp特异性IgG1

作者简介:刘开云(1974-),男,重庆市人,硕士,助教,主要从事幽门螺杆菌治疗性疫苗方面的研究,发表论文5篇。电话:(023)68755590

收稿日期:2004-02-03;修回日期:2004-05-25

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

增高，而 IgG2a 却无变化，认为 $CD4^+$ Th1 型细胞介导的免疫应答在减少和清除 Hp 感染中起更重要的作用。Garhart 等[10]发现缺乏 IL-12p40 的小鼠免疫后攻毒不被保护，这一发现提示，IL-12p40 在抗 Hp 的有效的粘膜免疫中，有新的非 INF-γ 依赖性的功能。对 IL-4 基因敲除小鼠和 INF-γ 受体缺陷小鼠的免疫接种研究表明，在对 Hp 的保护性免疫中，Th1 和 Th2 反应均是必须的。因此笔者认为，疫苗既要达到免疫保护效果同时又要避免炎症反应过于强烈导致组织损伤，则需要 Th1 和 Th2 反应的平衡。

2 Hp 疫苗的免疫途径

2.1 粘膜途径

早期认为胃粘膜分泌的分泌性抗体 IgA 在疫苗对机体的保护性机制中起主要作用，而胃肠外免疫途径几乎无效。到目前为止，Hp 疫苗的研究仍然是以口服为主，其效果肯定。Corthesy 等用表达 Hp urease B 亚单位的减毒伤寒沙门氏菌滴鼻免疫小鼠，获得了部分保护，Liu 等[11]用同样的伤寒沙门氏菌口服免疫 BALB/c 小鼠，也取得了一定保护性。但伤寒沙门氏菌表达 Hp urease 的口服疫苗在临床实验中，不能诱发人体对抗原可靠的体液和粘膜免疫[4]。

2.2 粘膜外途径

多项研究证实胃肠外免疫途径也能产生保护性作用。Guy 等将 urease 结合皂甙 QS21 或糖脂多肽皮下注射免疫小鼠，结果发现胃内 Hp 定植量减少 1.5~2.5 个数量级，证明经皮下注射免疫小鼠有效。此后进行了多项研究，发现 Urease 吸附铝剂及超声粉碎全菌抗原联合铝剂或完全弗氏佐剂皮下注射免疫小鼠，结果均能产生免疫保护作用[12]。Todoroki 等[13]将编码 Hp 热休克蛋白 A、B 基因的核酸疫苗皮下注射免疫小鼠，再用 Hp 攻击，结果胃内 Hp 定植量比未免疫小鼠少 4~20 倍。

因此，笔者认为粘膜免疫途径与胃肠外免疫途径均有效，而两种途径结合免疫可能会产生更好的保护效应。

3 Hp 全菌疫苗

根据疫苗的构成不同，可以分为全菌疫苗和亚单位疫苗。通过不同的方法(超声、福尔马林处理等)灭活的 Hp 全菌疫苗，通过大量已经进行的动物实验研究，成功地证明无论粘膜免疫或胃肠外途径免疫都有较好的免疫效果[14]。亚单位疫苗包括结构与组成较为明确，并可以引起免疫保护的一类蛋白质、脂多糖和荚膜多糖等微生物组分。与亚单位疫苗相比，全菌疫苗的优点是诱发针对众多抗原的免疫应答，缺点是全菌疫苗包含潜在的细菌危险组分(如脂多糖)，与人体自身抗原有同源性，能诱发宿主抗原表位的交叉免疫反应[15]。

根据疫苗作用的对象是否已经感染病原体，可将其分为预防性和治疗性疫苗。预防性疫苗用于健康个体以预防疾病的发生，首要的是安全性，同时考虑免疫保护性。传统疫苗的基本性质是预防性疫苗，在感染性疾病的预防中发挥了巨大作用。治疗性疫苗与预防性疫苗有许多不同，它的使用对象是持续性感染的个体，免疫应答常为低下水平，治疗性疫苗的组成成分一般不像预防性疫苗那样单纯，可根据需要作各种组合和调整，以便打破免疫耐受，提高对病原体的特异性免疫反应，最终达到治疗目的。由于疫苗疗法属免疫治疗，使用时有一定副作用，常伴有免疫损伤。

3.1 预防性全菌疫苗

最早用于免疫预防 Hp 感染的疫苗是 Chen 等于 1992 年，以超声粉碎的全菌体抗原作为疫苗，加上免疫佐剂霍乱毒素(choleratoxin，CT)可使小鼠获得近 100% 的免疫保护率。Czinn 等用 Hp 死菌喂服免疫小鼠和雪貂可产生抗 Hp 的 IgA 和 IgG，若在免疫时同时加入 CT 后会使抗体滴度增加，从而提出制备 Hp 粘膜疫苗的可行性；在动物模型建立后，又使用 Hp 全菌超声破碎上清和 CT 共同免疫后，可保护小鼠免受 *H. felis* 感染，并且保护率与抗体水平的升高相关。Kotloff 等[2]用 2.5×10^{10} 单位福尔马林灭活的 Hp 全菌加 25 μg 大肠杆菌不耐热肠毒素(heat-labile toxin，LT)(R192G)口服，Hp 阴性志愿者产生显著的淋巴细胞增生(5/10)和针对 Hp 超声上清的 INF-γ(7/10)。但没有证据表明疫苗可以清除 Hp 感染志愿者体内的 Hp，提示用 Hp 灭活全菌疫苗有可能能刺激人体针对 Hp 抗原的粘膜免疫和系统免疫应答。Antex Biologics 灭活全菌疫苗于 2000 开始进行 Ⅱb 期临床试验，接受免疫的志愿者同时产生了全身和粘膜免疫应答，并据有较好的安全性[1,2,16]，并于 2003 年 1 月获得美国 FDA 对其 2002 年 9 月开始的Ⅱ期临床实验的认可。Lee 等[17]临床实验发现，感染及未感染 Hp 的猴和志愿者，口服灭活全菌加 LT 突变体，都有免疫原性但不能根除 Hp。这些疫苗都在动物或人体内诱发了较好的保护性免疫。

3.2 治疗性全菌疫苗

Doidge 等 1994 年报道用超声处理的 Hp 加 CT 治疗 Hp 感染的小鼠，观察 3 个月，有 70%~94% 清除了感染。Kim 等[18]用 SS1 感染 C57BL/6 和 BALB/c，1 个月后，感染小鼠于 1，3，6，30 和 54 d 口服免疫超声破碎的 SS1 全菌加 CT，获得了不同程度的保护。Raghavan[19]用福尔马林灭活的 Hp 全菌疫苗加 CT 用 SS1 感染的 C57BL/6 mice 来评价，发现重复服用灭活的 SS1 能显著抑制已经存在的感染，这种治疗免疫的保护性可以延伸到保护抵御再感染。同时 Antex Biologics 灭活全菌疫苗临床研究表明，对 Hp 感染者体内已经存在的 Hp 有一定的清除作用[2]。

全菌疫苗在临床及动物实验中的预防和治疗效果，更体现了其有效性及应用前景。

4 展望

人体和动物实验研究显示治疗性和预防性的 Hp 疫苗都是可行的。Hp 全菌疫苗有效，特别是在治疗性方面更具有优势，但有潜在的安全性问题。亚单位疫苗成分明确，具有较好的安全性，但需要安全而强效的粘膜佐剂，要给予足够高的剂量发挥佐剂效力，但不能完全避免腹泻等副作用。以前的无细胞百日咳疫苗经验表明，依靠在感染发病机制中不同方面不同的抗原组合参与才能完成有效的免疫。以此为根据，发展由与 Hp 毒力相关的不同蛋白组成的抗 Hp 疫苗，将可能同时具有很高的安全性及较好预防和治疗效果。预防性疫苗在感染性疾病的预防中发挥了巨大作用，治疗性疫苗的研究无疑会带动对免疫学核心理论问题，如保护性免疫、免疫耐受、免疫记忆、免疫

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

识别、免疫效应等的深入认识。相信在不久的将来, 疫苗在预防和治疗人体Hp感染中一定会有良好的应用前景。

关键词: 幽门螺杆菌; 全菌疫苗; 免疫
中图法分类号: R392.7　　文献标识码: A

参考文献:

[1] Lososnky G A, Kotloff K L, Walker R I, *et al*. B cell responses in gastric antrum and duodenum following oral inactivated Helicobacter pylori whole cell (HWC) vaccine and LT(R192G) in H pylori seronegative individuals [J]. Vaccine, 2003, 21(5-6): 562—565.

[2] Kotloff K L, Sztein M B, Wasserman S S, *et al*. Safety and immunogenicity of oral inactivated whole-cell Helicobacter pylori vaccine with adjuvant among volunteers with or without subclinical infection[J]. Infect Immun, 2001, 69(6): 3581—3590.

[3] Ruggiero P, Peppoloni S, Rappuoli R, *et al*. The quest for a vaccine against *Helicobacter pylori*: how to move from mouse to man[J]? Microbes Infect, 2003, 5(8): 749—756.

[4] Dilts D A, Riesenfeld Orn I, Fulginiti J P, *et al*. Phase I clinical trials of aroA aroD and aroA aroD htrA attenuated S. typhi vaccines: effect of formulation on safety and immunogenicity[J]. Vaccine, 2000, 18(15): 1473—1484.

[5] Del-Giudice G. Towards the development of vaccines against Helicobacter pylori: status and issues[J]. Curr Opin Investig Drugs, 2001, 2(1): 40—44.

[6] Sutton P, Wilson J, Kosaka T, *et al*. Therapeutic immunization against Helicobacter pylori infection in the absence of antibodies[J]. Immunol Cell Biol, 2000, 78(1): 28—30.

[7] Peppoloni S, Mancianti S, Volpini G, *et al*. Antibody-dependent macrophage-mediated activity against Helicobacter pylori in the absence of complement[J]. Eur J Immunol, 2002, 32(10): 2721—2725.

[8] Sutton P. Progress in vaccination against Helicobacter pylori[J]. Vaccine, 2001, 19(17-19): 2286—2290.

[9] Maeda K, Yamashiro T, Minoura T, *et al*. Evaluation of therapeutic efficacy of adjuvant Helicobacter pylori whole cell sonicate in mice with chronic H. pylori infection[J]. Microbiol Immunol, 2002, 46(9): 613—620.

[10] Garhart C A, Heinzel F P, Czinn S J, *et al*. Vaccine-induced reduction of Helicobacter pylori colonization in mice is interleukin-12 dependent but gamma interferon and inducible nitric oxide synthase independent[J]. Infect Immun, 2003, 71(2): 910—921.

[11] Liu X, Hu J, Zhang X, *et al*. Oral immunization of mice with attenuated Salmonella typhimurium expressing Helicobacter pylori urease B subunit [J]. Chin Med J (Engl), 2002, 115(10): 1513—1516.

[12] Gottwein J M, Blanchard T G, Targoni O S, *et al*. Protective anti-Helicobacter immunity is induced with aluminum hydroxide or complete Freund's adjuvant by systemic immunization[J]. J Infect Dis, 2001, 184(3): 308—314.

[13] Todoroki I, 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.

[14] Del-Giudice G, Covacci A, Telford J L, *et al*. The design of vaccines against Helicobacter pylori and their development[J]. Annu Rev Immunol, 2001, 19(1): 523—563.

[15] Bumann D, Metzger W G, Mansouri E, *et al*. Safety and immunogenicity of live recombinant Salmonella enterica serovar Typhi Ty21a expressing urease A and B from Helicobacter pylori in human volunteers[J]. Vaccine, 2001, 12, 20(5-6): 845—852.

[16] Giudice G D. Helivax Antex Biologics[J]. Curr Opin Investig Drugs, 2001, 2(7): 896—899.

[17] Lee C K. Vaccination against Helicobacter pylori in non-human primate models and humans[J]. Scand J Immunol, 2001, 53(5): 437—442.

[18] Kim J S, Chang J H, Chung S I, *et al*. Importance of the host genetic background on immune responses to Helicobacter pylori infection and therapeutic vaccine efficacy[J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2001, 31(1): 41—46.

[19] Raghavan S, Hjulstrom M, Holmgren J, *et al*. Protection against experimental Helicobacter pylori infection after immunization with inactivated H. pylori whole-cell vaccines[J]. Infect Immun, 2002, 70(11): 6383—6388.

（编辑　汪勤俭）

欢迎订阅《中国现代普通外科进展》

《中国现代普通外科进展》是教育部主管、山东大学主办的学术性刊物, 国内、外公开发行, 以从事普通外科的临床工作者、科研人员和研究生为主要读者对象, 报道普通外科领域内的最新学术动态与进展、临床实践经验和原创性科研成果, 以及与临床密切结合的基础理论研究。

本刊贯彻我刊顾问、中科院院士裘法祖教授提出的"在'现代'中获得启迪, 读'进展'后有所创新"的办刊方向, 坚持以"现代"、"进展"为导向, 启迪读者, 以提高广大普通外科工作者的业务水平与科研技能。

本刊已被国际六大检索刊物中的美国《CA》、俄罗斯《AJ》收录, 被国内中国科技论文统计与分析数据库等 17 个数据库和检索类刊物收入, 并被确立为外科学类、肿瘤学类和医药卫生类核心期刊, 在国内期刊评奖中多次获奖。本刊为双月刊, 定价: 8 元/册, 全年 48 元。可通过各地邮局订阅, 邮发代号: 24—190。

地　址: 山东省济南市文化西路 107 号《中国现代普通外科进展》编辑部　　邮　编: 250012
联系人: 王秀娟　　电　话: (0531)2169203

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net