



幽门螺杆菌胞内感染机制与临床思考*

唐智慧¹, 符立发¹, 刘人捷¹, 陈昱作¹, 别明江^{2,3△}, 王保宁^{1△}

1. 四川大学华西基础医学与法医学院(成都 610041); 2. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院(成都 610041);

3. 四川大学学报(医学版)编辑部(成都 610041)

【摘要】 长期以来,幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)被认为是一种胞外菌。最近研究表明,*H. pylori*能进入到宿主细胞内,逃避宿主免疫系统攻击和药物的杀伤,形成稳定的胞内生态位,并可以重新释放到细胞外导致反复感染。*H. pylori*胞内感染引起细胞信号传导和代谢改变,可能与肿瘤的发生和发展密切相关,为*H. pylori*的临床根除治疗带来新的挑战。本文从临床的角度对*H. pylori*实现宿主生物屏障突破、免疫逃逸、抗自噬等胞内感染机制进行了综述,并对*H. pylori*的临床防治策略、胞内衍化以及对宿主细胞的损伤等问题进行了思考和展望。

【关键词】 幽门螺杆菌 胞内感染机制 临床思考 综述

Mechanisms of *Helicobacter pylori* Intracellular Infection and Reflections Concerning Clinical Practice TANG Zhihui¹, FU Lifa¹, LIU Renjie¹, CHEN Yuzuo¹, BIE Mingjiang^{2,3△}, WANG Baoning^{1△}. 1. West China School of Basic Medical Sciences and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Office of the Editorial Board of Journal of Sichuan University (Medical Sciences), Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, BIE Mingjiang, E-mail: 13941057@qq.com; WANG Baoning, E-mail: 345182273@qq.com

【Abstract】 *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), for a long time, has generally been considered an extracellular bacterium. However, recent findings have shown that *H. pylori* can gain entry into host cells, evade attacks from the host immune system and the killing ability of medication, form stable intracellular ecological niche, and achieve re-release into the extracellular environment, thus causing recurrent infections. *H. pylori* intracellular infection causes cellular signaling and metabolic alterations, which may be closely associated with the pathogenesis and progression of tumors, thereby presenting new challenges for clinical eradication treatment of *H. pylori*. Herein, examining this issue from a clinical perspective, we reviewed reported findings on the mechanisms of how *H. pylori* achieved intracellular infection, including the breaching of the host cell biological barrier, immune evasion, and resistance to autophagy. In addition, we discussed our reflections and the prospects of important questions concerning *H. pylori*, including the clinical prevention and control strategy, intracellular derivation, and the damage to host cells.

【Key words】 *Helicobacter pylori* Intracellular infection mechanisms Clinical considerations Review

1 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一种可引起人慢性胃炎、消化性溃疡、胃腺癌等疾病的病原体^[1],其在人群中的携带率超过50%^[2-3]。*H. pylori*能通过多种方式逃避机体免疫系统的攻击,形成持续感染^[4]。过去认为,*H. pylori*是一种胆固醇依赖的胞外寄生菌,通常定位于胃上皮细胞的细胞膜附近,利于其提取胃上皮细胞膜中的胆固醇^[5-7]。近年来研究人员在念珠菌^[8]、人巨噬细胞^[9]、小鼠胃腺细胞^[10]、人胃上皮细胞^[11]等细胞内部观察到了疑似*H. pylori*的细菌。尽管临床上广泛使用包括两

种抗生素、质子泵抑制剂、铋剂的四联疗法,但*H. pylori*的耐药率^[12]和复发率^[13]仍逐年升高,这也提示*H. pylori*可能存在胞内感染。

病原体一旦进入到宿主细胞内,抗体、补体、抗菌肽、溶菌酶等抗菌物质就很难对其产生作用^[14]。由于细胞膜具有选择透过性,许多抗菌药物难以在胞内达到杀死病原体的有效浓度^[15],从而诱导*H. pylori*耐药表型的出现,促进了耐药菌株的传播^[16]。这为研究*H. pylori*在体内的免疫逃逸策略和耐药策略提供了新思路。

2 *H. pylori*进入细胞内的研究进展

2.1 *H. pylori*胞内存活的研究证据

WYLE等^[17]对胃黏膜中*H. pylori*的定植位置进行了研究,证实*H. pylori*主要粘附于胃上皮细胞表面,但也有少量的*H. pylori*存在于上皮细胞、壁细胞、主细胞内部。随

* 国家自然科学基金项目(No. 82260402)资助

△ 通信作者, 别明江, E-mail: 13941057@qq.com; 王保宁, E-mail: 345182273@qq.com

出版日期: 2023-11-20

后CALDERA等^[18]在患者的胃上皮细胞膜表面和胞质中的吞噬溶酶体里发现了*H. pylori*。

BIRKNESS等^[19]利用庆大霉素建立了一种研究*H. pylori*粘附和侵入胞内的体外模型。在这项研究中,研究人员用庆大霉素杀死胞外所有*H. pylori*后,仍能从细胞样本中培养出*H. pylori*,表明*H. pylori*侵入到了胞内。SIAVOSHI等^[20]发现从口腔分离到的酵母菌内存在活动的类细菌体,通过聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)和测序技术从这些酵母菌中检测出*H. pylori*的16S rDNA和*cagA*基因。SALMANIAN等^[10]同样从口腔酵母的总DNA样本中检出*H. pylori*的*vacA* *s1/s2*、*ureAB*基因。该研究团队还进一步用蛋白印迹技术^[21]和免疫荧光技术^[22]从酵母菌中检出了*H. pylori*蛋白。

最近研究表明^[23],用含*H. pylori*的白色念珠菌感染小鼠可导致胃炎发生,其与*H. pylori*直接感染类似,而且白色念珠菌可为*H. pylori*提供保护作用,使其免受抗生素杀伤。AMIEVA等^[24]用庆大霉素敏感的*H. pylori*感染人胃癌AGS细胞后,收集共培养物进行平板涂布。结果发现,平板上出现*H. pylori*菌落,而且这些*H. pylori*菌落与原感染菌株一样对庆大霉素敏感,表明*H. pylori*通过胞内感染方式逃避了庆大霉素的杀伤。当去除培养基中的庆大霉素后,人胃癌AGS细胞中的*H. pylori*可以被重新释放到培养基中并增殖,同时保持对庆大霉素的敏感性。临床上使用*H. pylori*敏感的抗生素进行根除治疗,某些治疗失败的案例或与这种机制有关。NECCHI等^[25]使用免疫电镜技术在胃部疾病患者的胃组织活检标本和胃癌患者的手术切除标本中发现了形态典型的*H. pylori*,且这些*H. pylori*具有合成分泌细胞空泡毒素A(vacuolating cytotoxin A, VacA)的能力。以上研究表明,胞内存活的*H. pylori*并非体外感染中独有,在体内感染中同样存在。BEER等^[11]将814例*H. pylori*感染者的胃组织活检标本进行比对,发现根除治疗后,有13例样本存在克拉霉素敏感株胞内感染,12例样本对克拉霉素产生了耐药性。这项研究发现提示,入胞是*H. pylori*逃避环境中抗生素压力的一种重要方式。

2.2 *H. pylori*对人体其他细胞的感染

除感染胃上皮细胞外,*H. pylori*也可能被机体炎症反应募集的免疫细胞(如巨噬细胞)内化。DU等^[9]发现*H. pylori*能通过胆固醇糖基化作用破坏巨噬细胞的脂筏,影响巨噬细胞的PI3K介导的脂筏内吞途径,从而抵抗巨噬细胞对其的吞噬。即便被吞噬细胞吞噬,*H. pylori*仍能通过其细胞壁上的胆固醇葡萄糖苷类物质,抑制宿主细胞生成溶酶体,维持其胞内生存状态^[9,26]。

过去认为,*H. pylori*只感染胃窦部的胃腺,但经过体外培养发现,*H. pylori*也可进入到其他组织来源的细胞。EVANS等^[27]发现*H. pylori*能进入HEp-2人喉表皮样癌细胞内。ITO等^[28]将*H. pylori*接种到体外培养的肝细胞中,用庆大霉素进行处理后,在重新培养的样本中检出了活的*H. pylori*(约占原接种量的2%),同时在连续传代2个月的感染肝细胞中也检出了*H. pylori*。这些研究结果表明,*H. pylori*一方面可抵抗机体免疫细胞的吞噬清除作用,另一方面又可能被人体不同部位的细胞内化,但其内化机制有待研究。

2.3 胞内*H. pylori*的检测方法

目前,胞内*H. pylori*检测的主要方法包括:①利用电子显微镜^[17-18,25]、普通生物显微镜/荧光显微镜^[20,24]等技术对组织或细胞内的*H. pylori*进行形态和空间定位观察。该方法可以直接证实*H. pylori*在胞内及其在胞内的位置,但难以证实*H. pylori*的活力。②利用PCR^[8,20]、qPCR、Western blot^[21]、免疫荧光^[22]以及免疫电镜^[25]等技术对胞内样本中*H. pylori*的特征分子进行检测。该方法在一定程度上证实了胞内*H. pylori*的分子特征,但其不适用于混有胞外*H. pylori*感染样本的检查。③利用庆大霉素杀死胞外的*H. pylori*并对样本进行重新培养,以获得胞内的活菌^[19,24]。该方法需要考虑庆大霉素的作用时间和剂量,评估其是否完全杀死了胞外的*H. pylori*,降低胞外活菌被误检为胞内菌的可能性。上述3种检测方法均存在一定的缺陷,需要研究者探索更加准确的检测方法。

3 *H. pylori*胞内感染的相关机制

3.1 突破宿主生物屏障

*H. pylori*到达胃部后,首先需要克服胃内的强酸性环境,继而穿透凝胶状黏液到达胃上皮细胞表面^[29]。胃黏膜组织的尿素被*H. pylori*产生的尿素酶分解形成一层保护性“氨云”并中和胃酸,抵抗胃部的强酸性环境,从而有利于*H. pylori*适应胃部的酸性环境以及引发炎症感染^[30-31]。随后,*H. pylori*通过其螺旋状的形态和鞭毛的运动,穿透胃黏液层后在上皮细胞表面定植。

3.2 进入细胞膜

3.2.1 膜拉链形成,促进胞内化

到达胃上皮细胞表面后,大部分*H. pylori*在胞外定植^[6,17-18],少部分*H. pylori*通过膜拉链样机制被内化到细胞内。电镜观察可见胃上皮细胞表面的微绒毛或突起样结构与*H. pylori*菌体建立连接、包裹在菌体周围、内陷、以膜拉链样机制入胞。这一过程与宿主细胞中的肌动蛋白重排和蛋白质酪氨酸磷酸化有关^[32]。

3.2.2 破坏膜脂筏结构, 促进免疫逃逸

胆固醇- α -葡萄糖基转移酶(cholesterol- α -glucosyltransferase, CGT)是近年来新发现的*H. pylori*毒力因子^[7,33]。CGT提取宿主细胞膜上脂筏中的胆固醇,合成其细胞壁中的胆固醇葡萄糖苷类物质,有利于*H. pylori*维持细胞形态、保持细胞壁完整、促进抗生素耐药。同时,CGT破坏宿主细胞脂筏上的 γ 干扰素(IFN- γ)受体的正常组装,阻断IFN- γ 信号转导,进而抑制下游抗菌肽、人 β 防御素3(human β -defensin 3, hBD3)等效应分子的生成,从而逃避宿主先天免疫系统的杀伤。与野生型菌株相比,*cgt*基因敲除的*H. pylori*突变株发生明显的球形变,且很难在小鼠体内定植^[34-35]。研究表明,CGT能通过pH响应性方式合成大量的胆固醇-6'-O-酰基- α -D-糖苷(cholesteryl 6'-O-acyl- α -D-glucoside, CAG),这些物质可以促进*H. pylori*的内化,使自噬体在胞内的数目增多,并通过减少溶酶体生成的方式阻止自噬体被降解,维持*H. pylori*在胞内的存活状态^[26]。此外,*H. pylori*的胆固醇葡萄糖基化作用还能抗巨噬细胞吞噬,使感染持续存在^[9]。

3.3 进入细胞质的作用分子

*H. pylori*进入胞质后,通过分泌VacA^[10,36]和细胞毒性相关蛋白A(cytotoxin-associated gene A protein, CagA)^[37-39]等重要分子来对抗宿主胞内的防御体系,如细胞自噬^[40],从而促进其在胞内定植,维持胞内稳态。

3.3.1 vacA基因阻止溶酶体成熟, 促进*H. pylori*胞内定植

几乎所有的*H. pylori*菌株都含有*vacA*基因,但不同菌株*vacA*基因存在多态性,产生毒素的能力也不同,高水平毒素的菌株往往与更严重的胃病相关,在宿主间的传播也更广泛^[41]。KIM等^[42]发现分泌高毒力VacA的*H. pylori*能强烈抑制宿主细胞的mTORC1信号,激活Unc-51样自噬激活激酶(unc-51-like autophagy activating kinase 1, Ulk1),使细胞自噬显著增强,由合成代谢转向分解代谢。CAPURRO等^[10]发现,与野生型菌株相比,转入高毒力*vacA*基因能够促进*H. pylori*进入到小鼠的胃上皮细胞内,并使*H. pylori*免受抗生素的杀伤。同时,*H. pylori*通过VacA抑制溶酶体钙通道TRPML1活性,阻止溶酶体酸化成熟并与自噬体融合,促进其在胃上皮细胞自噬体内的定植^[10]。

3.3.2 CagA抑制自噬, 促进炎症反应

CagA是由*cagA*基因编码的毒力蛋白,在*H. pylori*引起的胃部炎症中具有关键作用。最新研究发现,*cagA*⁺ *H. pylori*菌株感染后,胃黏膜组织自噬水平低于*cagA*⁻ *H. pylori*菌株的自噬水平,并积累自噬受体蛋白分子

sequestosome 1(SQSTM1)、降低溶酶体相关膜蛋白1(lysosome-associated membrane protein 1, LAMP1)的表达。在体外,*cagA*基因的缺失能降低Akt激酶在Ser 473位点的激活能力,导致自噬活性增加。*c-Met* siRNA可影响CagA介导的自噬,降低p-Akt、p-mTOR和p-S6水平。*H. pylori*一方面通过CagA介导c-Met-PI3K/Akt-mTOR信号通路下调宿主细胞的自噬水平,诱导更多细胞因子生成,增强炎症反应^[37];另一方面通过CagA激活胃上皮细胞中的PI3K/AKT/mTOR通路,促进促炎因子肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF- α)、白细胞介素(interleukin, IL)1 β 、IL-6、CC趋化因子7(chemokine C-C motif ligand 7, CCL7)、CXC趋化因子配体(16CXC ligand 16, CXCL16)和抗菌肽LL37的表达,减少胃黏膜中*H. pylori*菌量^[43]。这些研究结果提示,*H. pylori*可能通过多种毒力因子与宿主细胞作用,调节感染水平。

CagA的递送需要*H. pylori*分泌丝氨酸蛋白酶以破坏胃上皮细胞间的胞间连接,然后穿过打开的单层极化细胞间的通道,到达基底外侧,由IV型分泌系统(type IV secretion system, T4SS)结合极化细胞的整合素- β_1 受体后,注入上皮细胞被磷酸化为活化形式,到达细胞内部^[38,44]。但尚不清楚这种情况是否会导致其毒力蛋白在胞内富集。

4 胞内*H. pylori*感染对临床的挑战

*H. pylori*具有基因多样性,不同菌株感染导致的胞内感染程度不同,产生的临床表现和疾病结局也不同,这可能解释了为什么某些患者对同一种治疗方案的反应不同。由于*H. pylori*本身的这些特性给胞内感染的研究和临床治疗带来了更多的挑战。LAI等^[45]从47例患者中获得了53个*H. pylori*临床分离株,并对这些菌株进行抗生素耐药性和AGS细胞内化活性检测。结果发现,与根除疗法治愈成功的临床分离株相比,治愈失败的分离株表现出更强的内化水平,而且从6例治疗失败的患者体内再次分离的*H. pylori*菌株具有较强的耐药性。

研究表明^[46],约90%的胃癌病例均与*H. pylori*有关,提示胞内*H. pylori*的持续感染促进了胃部肿瘤的发生。慢性*H. pylori*感染而引起的DNA氧化损伤的积累^[47]、CagA对宿主细胞p53凋亡刺激蛋白肿瘤抑制功能的破坏^[48]和通过酪氨酸磷酸酶SHP-2诱导的生长因子样反应^[39]等。多项研究发现^[49-51],*H. pylori*的毒力因子通过多种复杂的机制来促进胃癌的发生和发展。研究认为^[52],根除*H. pylori*对预防胃癌具有积极作用。*H. pylori*从突破免疫屏障、粘附细胞膜上,破坏细胞膜脂筏结构、引起天然免疫系统中断,形成免疫逃逸。同时,*H. pylori*毒素分

子(如VacA和CagA)可影响宿主细胞自噬调控以利于其胞内持续感染,而胞内持续感染是否会对细胞的染色体、细胞器等造成损伤,是否有利于炎症转化等都是临床面临的问题。

目前,在临床实践中准确诊断*H. pylori*细胞内感染的方法也存在一定缺陷。临床常规¹³C-尿素呼气试验、抗体检测以及粪便抗原检测等方法对检测*H. pylori*胞内稳态存在具有一定难度。因此,发展简便、快速、准确的*H. pylori*胞内感染诊断方法也是临床面临的挑战。总之,*H. pylori*细胞内感染给临床治疗带来的新挑战不仅是耐药率的上升、治愈率下降或感染复发等问题,更是一个宿主细胞和细菌排斥、清除以及染色体损伤、炎症形成、凋亡

与自噬等各种因素互相作用的复杂问题。

5 总结与展望

综上所述,大量研究已经证实*H. pylori*存在胞内感染的现象。*H. pylori*突破胞外的化学和物理屏障,在细胞膜表面形成膜拉链,促其进胞内化;CGT破坏膜脂筏结构,并通过阻断IFN- γ 信号转导,抑制下游效应分子,促进*H. pylori*免疫逃逸;*H. pylori*入胞后,在VacA以及CagA等分子作用下,通过抑制炎症因子表达、阻止溶酶体酸化成熟、调节自噬等方式对抗宿主胞内的防御体系,从而促进其在胞内定植,维持其胞内稳态(图1)。*H. pylori*这种入胞生存策略使其发生持续感染,进而影响临床根除率^[45]。

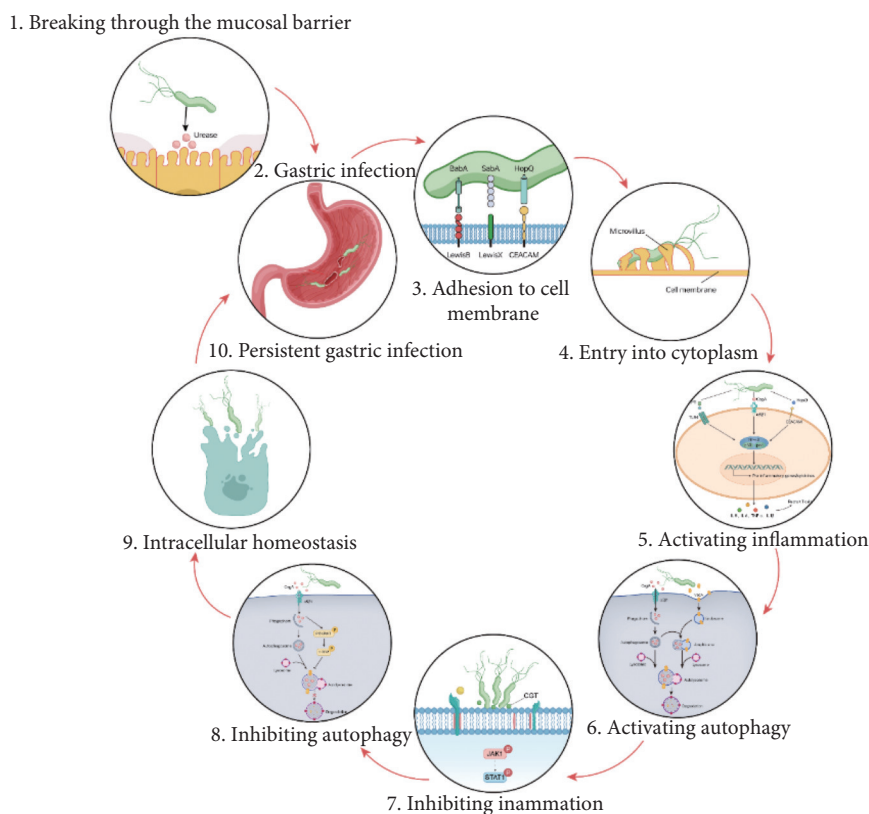


图1 *H. pylori*胞内感染过程及其稳态机制

Fig 1 The process of *H. pylori* intracellular infection and the mechanism of homeostasis

由于胞内感染具有较强的隐蔽性,临床根除治疗时需要考虑以下三个方面的问题。①临床防治策略问题,如临床上如何有效诊断*H. pylori*胞内感染、用哪些药物治疗、胞内感染对*H. pylori*耐药基因有何影响等。②胞内衍化问题,如*H. pylori*入胞形成的持续感染是否存在菌株毒力因子对宿主细胞的偏好性、*H. pylori*入胞后的活性变化、是否存在增殖和遗传物质改变的现象等。③细胞损伤问题,如*H. pylori*入胞后是否导致宿主细胞的形态、细胞周期、代谢、分子特征等发生变化,*H. pylori*是如何攻

克免疫系统来促进其胞内稳态形成等。

研究胞内感染对理解*H. pylori*如何突破宿主屏障、造成细胞损伤、激发炎症、免疫逃逸、抵抗自噬等问题具有重要意义。如何科学认知、彻底解决*H. pylori*感染这一全球性的公共卫生问题,值得深入研究和深思。

* * *

作者贡献声明 唐智慧负责论文构思、数据审编、正式分析、调查研究、初稿写作和审读与编辑写作,符立发和刘人捷负责论文构思、数据审编、调查研究和审读与编辑写作,陈昱作和别明江负责论文构思、数

据审编、调查研究、可视化和审读与编辑写作,王保宁负责论文构思、数据审编、经费获取、调查研究、监督指导和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] GENTA R M. *Helicobacter pylori*, inflammation, mucosal damage, and apoptosis: pathogenesis and definition of gastric atrophy. *Gastroenterology*, 1997, 113(6 Suppl): S51-S55. doi: 10.1016/s0016-5085(97)80012-1.
- [2] JAMES K Y H, WAN Y L, WEE K N, *et al*. Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology*, 2017, 153(2): 420-429. doi: 10.1053/j.gastro.2017.04.022.
- [3] SJOMINA O, PAVLOVA J, NIV Y, *et al*. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*, 2018, 23 Suppl 1: e12514. doi: 10.1111/hel.12514.
- [4] AMIEVA M R, EL-OMAR E M. Host-bacterial interactions in *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology*, 2008, 134(1): 306-323. doi: 10.1053/j.gastro.2007.11.009.
- [5] TESTERMAN T L, MCGEE D J, MOBLEY H L. *Helicobacter pylori* growth and urease detection in the chemically defined medium Ham's F-12 nutrient mixture. *J Clin Microbiol*, 2001, 39(11): 3842-3850. doi: 10.1128/JCM.39.11.3842-3850.2001.
- [6] HATHROUBI S, SERVETAS S L, WINDHAM I, *et al*. *Helicobacter pylori* biofilm formation and its potential role in pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2018, 82(2): e00001-18. doi: 10.1128/MMBR.00001-18.
- [7] HSU C Y, YEH J Y, CHEN C Y, *et al*. *Helicobacter pylori* cholesterol- α -glucosyl transferase manipulates cholesterol for bacterial adherence to gastric epithelial cells. *Virulence*, 2021, 12(1): 2341-2351. doi: 10.1080/21505594.2021.1969171.
- [8] SALMANIAN A H, SIAVOSHI F, AKBARI F, *et al*. Yeast of the oral cavity is the reservoir of *Helicobacter pylori*. *J Oral Pathol Med*, 2008, 37(6): 324-328. doi: 10.1111/j.1600-0714.2007.00632.x.
- [9] DU S Y, WANG H J, CHENG H H, *et al*. Cholesterol glucosylation by *Helicobacter pylori* delays internalization and arrests phagosome maturation in macrophages. *J Microbiol Immunol Infect*, 2016, 49(5): 636-645. doi: 10.1016/j.jmii.2014.05.011.
- [10] CAPURRO M I, GREENFIELD L K, PRASHAR A, *et al*. VacA generates a protective intracellular reservoir for *Helicobacter pylori* that is eliminated by activation of the lysosomal calcium channel TRPML1. *Nat Microbiol*, 2019, 4(8): 1411-1423. doi: 10.1038/s41564-019-0441-6.
- [11] BEER A, HUDLER H, HADER M, *et al*. Apparent intracellular *Helicobacter pylori* detected by immunohistochemistry: the missing link in eradication failure. *Clin Infect Dis*, 2021, 73(7): e1719-e1726. doi: 10.1093/cid/ciaa839.
- [12] LEE J W, KIM N, CHOI S I, *et al*. Prevalence and trends of multiple antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* in one tertiary hospital for 20 years in Korea. *Helicobacter*, 2023, 28(1): e12939. doi: 10.1111/hel.12939.
- [13] ZHAO H T, YAN P J, ZHANG N, *et al*. The recurrence rate of *Helicobacter pylori* in recent 10 years: a systematic review and meta-analysis. *Helicobacter*, 2021, 26(6): e12852. doi: 10.1111/hel.12852.
- [14] SCHNUPF P, SANSONETTI P J. Shigella pathogenesis: new insights through advanced methodologies. *Microbiol Spectr*, 2019, 7(2). doi: 10.1128/microbiolspec.BAI-0023-2019.
- [15] PELGRIFT R Y, FRIEDMAN A J. Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65(13/14): 1803-1815. doi: 10.1016/j.addr.2013.07.011.
- [16] ANDERSSON D I, HUGHES D. Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. *Nat Rev Microbiol*, 2014, 12(7): 465-478. doi: 10.1038/nrmicro3270.
- [17] WYLE F A, TARNAWSKI A, SCHULMAN D, *et al*. Evidence for gastric mucosal cell invasion by *C. pylori*: an ultrastructural study. *J Clin Gastroenterol*, 1990, 12 Suppl 1: S92-S98. doi: 10.1097/00004836-199001001-00016.
- [18] CALDERA S R, RUIZ M E, VILLALOBOS M M, *et al*. Ultrastructural study of the antral mucosa to determine the presence of *Helicobacter pylori* and its association with chronic active gastritis. *G E N*, 1991, 45(4): 298-303.
- [19] BIRKNESS K A, GOLD B D, WHITE E H, *et al*. *In vitro* models to study attachment and invasion of *Helicobacter pylori*. *Ann N Y Acad Sci*, 1996, 797: 293-295. doi: 10.1111/j.1749-6632.1996.tb52983.x.
- [20] SIAVOSHI F, SALMANIAN A H, AKBARI F, *et al*. Detection of *Helicobacter pylori*-specific genes in the oral yeast. *Helicobacter*, 2005, 10(4): 318-322. doi: 10.1111/j.1523-5378.2005.00319.x.
- [21] SANIEE P, SIAVOSHI F, BROUJENI G N, *et al*. Immunodetection of *Helicobacter pylori*-specific proteins in oral and gastric *Candida* yeasts. *Arch Iran Med*, 2013, 16(11): 624-630.
- [22] SANIEE P, SIAVOSHI F, BROUJENI G N, *et al*. Localization of *H. pylori* within the vacuole of *Candida* yeast by direct immunofluorescence technique. *Arch Iran Med*, 2013, 16(12): 705-710.
- [23] HIENGGRACH P, PANPETCH W, CHINDAMPORN A, *et al*. *Helicobacter pylori*, protected from antibiotics and stresses inside *Candida albicans* vacuoles, cause gastritis in mice. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(15): 8568. doi: 10.3390/ijms23158568.
- [24] AMIEVA M R, SALAMA N R, TOMPKINS L S, *et al*. *Helicobacter pylori* enter and survive within multivesicular vacuoles of epithelial cells. *Cell Microbiol*, 2002, 4(10): 677-690. doi: 10.1046/j.1462-5822.2002.00222.x.
- [25] NECCHI V, CANDUSSO M E, TAVA F, *et al*. Intracellular, intercellular, and stromal invasion of gastric mucosa, preneoplastic lesions, and cancer by *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, 2007, 132(3): 1009-1023. doi: 10.1053/j.gastro.2007.01.049.
- [26] MUTHUSAMY S, JAN H M, HSIEH M Y, *et al*. Enhanced enzymatic production of cholesteryl 6'-acylglucoside impairs lysosomal degradation for the intracellular survival of *Helicobacter pylori*. *J Biomed Sci*, 2021, 28(1): 72. doi: 10.1186/s12929-021-00768-w.
- [27] EVANS D G, EVANS Jr D J, GRAHAM D Y. Adherence and internalization of *Helicobacter pylori* by HEp-2 cells. *Gastroenterology*, 1992, 102(5): 1557-1567. doi: 10.1016/0016-5085(92)91714-F.
- [28] ITO K, YAMAOKA Y, OTA H, *et al*. Adherence, internalization, and

- persistence of *Helicobacter pylori* in hepatocytes. *Dig Dis Sci*, 2008, 53(9): 2541–2549. doi: 10.1007/s10620-007-0164-z.
- [29] KAWAKUBO M, ITO Y, OKIMURA Y, *et al.* Natural antibiotic function of a human gastric mucin against *Helicobacter pylori* infection. *Science*, 2004, 305(5686): 1003–1006. doi: 10.1126/science.1099250.
- [30] NIM Y S, FONG I Y H, DEME J, *et al.* Delivering a toxic metal to the active site of urease. *Sci Adv*, 2023, 9(16): ead7790. doi: 10.1126/sciadv.adf7790.
- [31] KEARNEY D J, RITCHIE K, PEACOCK J S. Gastric-juice ammonia assay for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and the relationship of ammonia concentration to gastritis severity. *Am J Gastroenterol*, 2000, 95(12): 3399–3403. doi: 10.1111/j.1572-0241.2000.03351.x.
- [32] KWOK T, BACKERT S, SCHWARZ H, *et al.* Specific entry of *Helicobacter pylori* into cultured gastric epithelial cells via a zipper-like mechanism. *Infect Immun*, 2002, 70(4): 2108–2120. doi: 10.1128/IAI.70.4.2108-2120.2002.
- [33] LAI C H, HUANG J C, CHENG H H, *et al.* *Helicobacter pylori* cholesterol glucosylation modulates autophagy for increasing intracellular survival in macrophages. *Cell Microbiol*, 2018, 20(12): e12947. doi: 10.1111/cmi.12947.
- [34] QARIA M A, KUMAR N, HUSSAIN A, *et al.* Roles of cholesteryl- α -glucoside transferase and cholesteryl glucosides in maintenance of *Helicobacter pylori* Morphology, cell wall integrity, and resistance to antibiotics. *mBio*, 2018, 9(6): e01523-18. doi: 10.1128/mBio.01523-18.
- [35] MOREY P, PFANNKUCH L, PANG E, *et al.* *Helicobacter pylori* depletes cholesterol in gastric glands to prevent interferon gamma signaling and escape the inflammatory response. *Gastroenterology*, 2018, 154(5): 1391–1404.e9. doi: 10.1053/j.gastro.2017.12.008.
- [36] ISOMOTO H, MOSS J, HIRAYAMA T. Pleiotropic actions of *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin, VacA. *Tohoku J Exp Med*, 2010, 220(1): 3–14. doi: 10.1620/tjem.220.3.
- [37] LI N, TANG B, JIA Y P, *et al.* *Helicobacter pylori* CagA protein negatively regulates autophagy and promotes inflammatory response via c-Met-PI3K/Akt-mTOR signaling pathway. *Front Cell Infect Microbiol*, 2017, 7: 417. doi: 10.3389/fcimb.2017.00417.
- [38] BUß M, TEGTMAYER N, SCHNIEDER J, *et al.* Specific high affinity interaction of *Helicobacter pylori* CagL with integrin α V β 6 promotes type IV secretion of CagA into human cells. *FEBS J*, 2019, 286(20): 3980–3997. doi: 10.1111/febs.14962.
- [39] HIGASHI H, TSUTSUMI R, MUTO S, *et al.* SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. *Science*, 2002, 295(5555): 683–686. doi: 10.1126/science.1067147.
- [40] DIKIC I, ELAZAR Z. Mechanism and medical implications of mammalian autophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(6): 349–364. doi: 10.1038/s41580-018-0003-4.
- [41] SALAMA N R, OTTO G, TOMPKINS L, *et al.* Vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori* plays a role during colonization in a mouse model of infection. *Infect Immun*, 2001, 69(2): 730–736. doi: 10.1128/IAI.69.2.730-736.2001.
- [42] KIM I J, LEE J, OH S J, *et al.* *Helicobacter pylori* infection modulates host cell metabolism through VacA-dependent inhibition of mTORC1. *Cell Host Microbe*, 2018, 23(5): 583–593.e8. doi: 10.1016/j.chom.2018.04.006.
- [43] FENG G J, CHEN Y, LI K. *Helicobacter pylori* promote inflammation and host defense through the cagA-dependent activation of mTORC1. *J Cell Physiol*, 2020, 235(12): 10094–10108. doi: 10.1002/jcp.29826.
- [44] TEGTMAYER N, WESSLER S, NECCHI V, *et al.* *Helicobacter pylori* employs a unique basolateral type IV secretion mechanism for CagA delivery. *Cell Host Microbe*, 2017, 22(4): 552–560. doi: 10.1016/j.chom.2017.09.005.
- [45] LAI C H, KUO C H, CHEN P Y, *et al.* Association of antibiotic resistance and higher internalization activity in resistant *Helicobacter pylori* isolates. *J Antimicrob Chemother*, 2006, 57(3): 466–471. doi: 10.1093/jac/dki479.
- [46] MOSS S F. The clinical evidence linking *Helicobacter pylori* to gastric cancer. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2016, 3(2): 183–191. doi: 10.1016/j.jcmgh.2016.12.001.
- [47] FARINATI F, CARDIN R, DEGAN P, *et al.* Oxidative DNA damage accumulation in gastric carcinogenesis. *Gut*, 1998, 42(3): 351–356. doi: 10.1136/gut.42.3.351.
- [48] BUTI L, SPOONER E, Van Der VEEN A G, *et al.* *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated gene A (CagA) subverts the apoptosis-stimulating protein of p53 (ASPP2) tumor suppressor pathway of the host. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(22): 9238–9243. doi: 10.1073/pnas.1106200108.
- [49] MAUBACH G, VIETH M, BOCELLATO F, *et al.* *Helicobacter pylori*-induced NF- κ B: trailblazer for gastric pathophysiology. *Trends Mol Med*, 2022, 28(3): 210–222. doi: 10.1016/j.molmed.2021.12.005.
- [50] NAVASHENAG J G, SHABGAH A G, BANACH M, *et al.* The interaction of *Helicobacter pylori* with cancer immunomodulatory stromal cells: new insight into gastric cancer pathogenesis. *Semin Cancer Biol*, 2022, 86(Pt 3): 951–959. doi: 10.1016/j.semcancer.2021.09.014.
- [51] YAO X B, SMOLKA A J. Gastric parietal cell physiology and *Helicobacter pylori*-induced disease. *Gastroenterology*, 2019, 156(8): 2158–2173. doi: 10.1053/j.gastro.2019.02.036.
- [52] MALFERTHEINER P, MEGRAUD F, O'MORAIN C A, *et al.* Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht V/Florence consensus report. *Gut*, 2017, 66(1): 6–30. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312288.

(2023-06-20收稿, 2023-08-17修回)

编辑 何学令



开放获取 本文遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0), 允许第三方对本刊发表的论文自由共享(在任何媒介以任何形式复制、发行原文)、演绎(即修改、转换或以原文为基础进行创作), 必须给出适当的署名, 提供指向本文许可协议的链接, 同时标明是否对原文作了修改; 不得将本文用于商业目的。CC BY-NC 4.0许可协议访问<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

© 2023《四川大学学报(医学版)》编辑部 版权所有