

论著 · 临床研究

上海地区部分儿童幽门螺杆菌 cagA、vacA、iceA 基因型别分析

周颖 黄瑛 邵彩虹 王小卉 张冰峰

(复旦大学附属儿科医院消化科 上海 201102)

[摘要] 目的 了解上海部分地区儿童感染幽门螺杆菌(Hp)的cagA、vacA、iceA的基因亚型,探讨其与儿童上消化道疾病的关系。**方法** 收集2007年5月至2008年1月在我院行胃镜检查确诊Hp感染59例患者的胃黏膜组织,分别进行聚合酶链反应(PCR)检测cagA、vacA和iceA基因;病理检查胃窦黏膜炎症程度;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测胃窦黏膜IFN- γ 和IL-4的含量。**结果** cagA基因单独检出率为65%(37/57),vacAs1/m1单独检出率为19%(11/57),vacAs1/m2单独检出率为40%(23/57),iceA1单独检出率为63%(36/57),iceA2单独检出率为19%(11/57),9%(5/57)的菌株iceA1和iceA2均阳性。不同基因型菌株在慢性胃炎和消化性溃疡中的检出率差异无统计学意义($P>0.05$)。不同基因型菌株与胃窦黏膜炎症的严重程度无关($P>0.05$)。不同基因型菌株感染的胃窦黏膜IFN- γ 、IL-4的含量差异亦无统计学意义($P>0.05$)。**结论** cagA/vacAs1/m2/iceA1为上海部分地区儿童中Hp的优势基因型。除了菌株因素外,宿主基因多态性、环境因素对于疾病的发生、发展也发挥了重要作用。

[中国当代儿科杂志,2010,12(4):267-271]

[关键词] 幽门螺杆菌;cagA;vacA;iceA;儿童
[中图分类号] R725.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2010)04-0267-05

cagA, vacA and iceA genotypes of Helicobacter pylori isolated from children in Shanghai

ZHOU Ying, HUANG Ying, SHAO Cai-Hong, WANG Xiao-Hui, ZHANG Bing-Feng. Department of Gastroenterology, Children's Hospital of Fudan University, Shanghai 201102, China (Huang Y, Email: yhuang815@163.com)

Abstract: Objective To investigate cagA, vacA and iceA genotypes of Helicobacter pylori (H. pylori) isolated from children suffering from gastric and duodenal diseases in Shanghai and to explore a possible genotype-phenotype correlation. **Methods** From May 2007 to January 2008, 59 children were confirmed with Hp infection by gastroscopy. Biopsied specimens were taken from the gastric antrum. cagA, vacA and iceA genes were determined by PCR. The histological changes in the gastric mucosa were evaluated. The levels of IFN- γ and IL-4 in the gastric mucosa were measured using ELISA. **Results** cagA, vacAs1/m1, vacAs1/m2, iceA1 and iceA2 were found in 65%, 19%, 40%, 63% and 19% of H. pylori strains, respectively. Both iceA1 and iceA2 were detected in 9% of strains. There were no statistical differences in the distribution of various genotypes between the children with chronic gastritis and peptic ulcer. No association was observed between the genotypes and the degree of inflammation of gastric mucosa. There were no significant differences in levels of IFN- γ and IL-4 in the gastric mucosa infected by different genotypes of H. pylori strains. **Conclusions** cagA/vacAs1/m2/iceA1 may be the commonest genotype combination of H. pylori in children from Shanghai. That there was no association between H. pylori genotypes and clinical variables suggests the potential role of host and environment factors in the development of clinical diseases at a later life.

[Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12 (4):267-271]

Key words: Helicobacter pylori; cagA; vacA; iceA; Child

幽门螺杆菌(Hp)是一种革兰阴性、螺旋状、微需氧菌,其与慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌、胃粘膜相关性淋巴样组织(MALT)淋巴瘤的发生密切相关。1994年WHO将其列为I级致癌原。全世界约一半人感染Hp,其中仅少部分人有临床症状^[1]。现认为菌株基因多态性、宿主、环境共同决定了疾病的转归^[2]。已有研究显示cagA、vacA、iceA基因可能与成人消化性溃疡、胃癌的发生有关,但这些基因分布

[收稿日期]2009-09-07;[修回日期]2009-12-07
[作者简介]周颖,女,硕士,主治医师。
[通信作者]黄瑛,主任医师。

存在地区、人种差异^[3]。

发展中国家儿童是 Hp 感染的高危人群,其感染率达 50%^[4]。成人的流行病学资料表明:50% 以上成人 Hp 感染在儿童期获得,一旦感染,很少自然根除,严重者可引起组织恶变。目前对于 Hp 致病基因的研究多集中于成人,对于儿童的研究很少,尤其是 iceA 与国内儿童消化系统疾病相关性的研究更少。而对于儿童的研究可以为 Hp 感染相关疾病的免疫学发病机制提供重要的依据,因为胃黏膜的变化可以反映细菌-宿主相互作用的早期表现。因此本研究目的在于:(1)检测上海部分地区 Hp 感染儿童中 cagA、vacA、iceA 在胃炎和消化性溃疡中的阳性率;(2)比较菌株不同基因型与疾病类型之间的关系;(3)比较不同基因型菌株感染的患儿其胃黏膜组织学的表现有无差异;(4)比较不同基因型菌株感染的患儿其胃黏膜 IFN- γ 、IL-4 的含量有无差异。通过该研究了解 Hp 感染的发病机制,评估患儿临床病情及预后,为今后更好地指导临床治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2007 年 5 月至 2008 年 1 月因消化道症状(上腹部不适、腹痛、恶心、呕吐、反酸、嗝气等)至复旦大学附属儿科医院就诊,行胃镜检查确诊 Hp 感染患儿 59 例(所有患儿均取胃窦黏膜组织行快速尿素酶试验和病理检查,1 项阳性即临床诊断为 Hp 感染)。对此 59 例患儿的胃窦黏膜组织进一步行聚合酶链反应(PCR)检测 ureA 基因(所有类型的 Hp 均能产生大量的尿素酶,而 ureA 基因是尿素酶基因的组成部分,因此检测该基因可以从分子水平诊断 Hp 感染^[5]),以 57 例阳性者为研究对象(慢性胃炎 41 例,胃溃疡 1 例,十二指肠球部溃疡 15 例)。其中男 35 例,女 22 例,男:女为1.6:1;年龄为 4~17 岁(平均年龄为 10.3 岁),0~5 岁组 4 例,6~9 岁组 15 例,10~17 岁组 38 例。所有患儿胃镜检查前 1 个月内没有服用过抗生素、质子泵抑制剂、H₂ 受体拮抗剂、非甾体类消炎药等。

1.2 苏木精-伊红染色

取胃窦黏膜组织 2 块行病理检查,观察胃窦黏膜的炎症程度,判断标准参照中国慢性胃炎共识意见(2006,上海)中的慢性胃炎的病理诊断标准^[6],即根据黏膜层慢性炎症细胞的密集程度和浸润深度将黏膜的炎症程度划分为无病变、轻度慢性炎症、中

度慢性炎症和重度慢性炎症。由不知菌株背景的病理科医师读片。

1.3 模板制备

取胃窦黏膜 1 块,用 Puregene DNA Purification Kits (Qiagen, Germany)试剂盒抽提胃黏膜及可能的 Hp 基因组,严格按照试剂盒说明步骤和注意事项操作。基因 DNA -20℃ 保存备用。

1.4 PCR 反应

扩增 Hp ureA、cagA、vacA、iceA 基因的引物见表 1。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。反应体系(25 μ L):双蒸水 18.6 μ L;10 $\times$ buffer 2.5 μ L;dNTP 0.5 μ L;MgCl₂ 1 μ L;引物各 0.5 μ L;模板 1 μ L;酶 0.4 μ L。反应条件:95℃ 预变性 20 min,95℃ 变性 30 sec,退火 30 sec,ureA、cagA、vacA s、vacA m、iceA1、iceA2 的退火温度分别为 58℃、57℃、57℃、56℃、50℃、51℃、72℃ 延伸 40 sec,39 个循环,最后 72℃ 延伸 7 min。2% 琼脂糖凝胶电泳,观察结果见图 1。以 Hp NCTC11637 作为阳性对照(国际标准株 NCTC11637 由上海市消化病研究所陆伦根教授惠赠)。每次反应均设立阳性对照、阴性对照和空白对照。

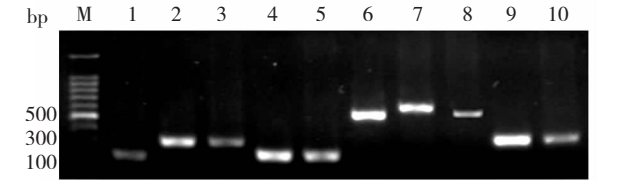


图 1 cagA、vacA、iceA 基因 PCR 检测结果 M:marker, 1:iceA1, 2:iceA2 阳性对照, 3:iceA2, 4:vacA s1 阳性对照, 5:vacAs1, 6:vacA m1 阳性对照, 7:vacA m2, 8:vacA m1, 9:cagA 阳性对照, 10:cagA

表 1 ureA、cagA、vacA、iceA 的引物及产物大小		
目的基因	引物序列	产物大小(bp)
ureA	5'-ACA TTG CGA GCG GGA CAG-3'	294
	5'-CGC CCA ATC TCA CTT TAT CG-3'	
cagA ^[7]	5'-GAT AAC AGG CAA GCT TTT GAG G-3'	349
	5'-CTG CAA AAG ATT GTT TGG CAG A-3'	
vacAs ^[8]	5'-ATG GAA ATA CAA CAA ACA CAC-3'	259(s1)
	5'-CTG CTT GAA TGC GCC AAA C-3'	286(s2)
vacAm ^[8]	5'-CAA TCT GTC CAA TCA AGC GAG-3'	570(m1)
	5'-GCG TCT AAA TAA TTC CAA GG-3'	645(m2)
iceA1 ^[8]	5'-CTA TAG CCA CTT TCT TTG CA-3'	247
	5'-GTG TTT TTA ACC AAA GTA TC-3'	
iceA2 ^[8]	5'-GTT GGG TAT ATC ACA ATT TAT-3'	229/334
	5'-TTA CCC TAT TTT CTA GTA GGT-3'	

1.5 IFN-γ 和 IL-4 的测定

取胃窦黏膜1 块,用 PBS 液冲洗,吸干称重后,装入放有 0.5 mL PBS 液的 Eppendrof 管中,于 4℃ 匀浆,4 000 r/min 离心 5 min,取上清液。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定其含量。ELISA 试剂盒购自美国 RnD 公司(进口分装),按试剂盒说明书操作,其浓度以 pg/mg 表示。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 15.0 统计软件包进行统计处理。采用χ² 检验、Fisher 精确概率法、logistic 回归、多因素方差分析等方法进行分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。存在混合菌株感染的病例(含有 vacA 基因 s 或 m 混合亚型或 iceA 混合基因型者判断为混合感染)不参与统计学分析。

2 结果

2.1 cagA、vacA、iceA 的检出率及与胃十二指肠疾病的关系

在慢性胃炎和消化性溃疡组间 cagA、vacAs1/m1、vacAs1/m2、iceA1、iceA2 的检出率差异无统计学意义(*P* > 0.05),见表 2。有 11 株 Hp 扩增出 s1 型基因,但没有扩增出相应的 m 区基因,占 19% (11/57)。11 株菌株扩增出 iceA2,其中 10 株扩增产物片段为 334 bp,1 株菌株同时具有 229 bp 和 334 bp 的扩增片段,提示存在混合感染。

表 2 cagA、vacA、iceA 在不同疾病组间的检出情况 [例(%)]

	慢性胃炎 (<i>n</i> = 41)	消化性溃疡 (<i>n</i> = 16)	合计 (<i>n</i> = 57)	<i>P</i> 值	χ ² 值
cagA	28 (68)	9 (56)	37 (65)	0.538	0.733
vacAs1	29 (71)	16 (100)	45 (79)	—	—
vacAm1	8 (20)	3 (19)	11 (19)	—	—
vacAm2	14 (34)	9 (56)	23 (40)	—	—
vacAs1/m1	8 (20)	3 (19)	11 (19)	1.0	0.004
vacAs1/m2	14 (34)	9 (56)	23 (40)	0.145	2.336
iceA1	28 (68)	8 (50)	36 (63)	0.316	1.314
iceA2	7 (17)	4 (25)	11 (19)	0.46	0.632
iceA1 + iceA	23 (7)	2 (13)	5 (9)	—	—

2.2 不同基因型 Hp 菌株感染与胃窦黏膜炎症程度的关系

不同基因型 Hp 菌株感染在各胃黏膜炎症等级组间的检出率见表 3,各等级组间的检出率差异无统计学意义,其中仅 1 名患儿病理学检查提示存在中-重度炎症,其菌株基因型为 cagA/vacAs1/m2/iceA1 + iceA2。

表 3 cagA、vacA、iceA 在各胃黏膜炎症等级组间的检出情况 [例(%)]

	胃窦黏膜炎症程度			<i>P</i> 值	χ ² 值
	轻度(<i>n</i> = 21)	轻-中度(<i>n</i> = 17)	中度(<i>n</i> = 18)		
cagA	14 (67)	9 (53)	13 (72)	0.501	1.499
vacAs1	16 (76)	11 (65)	16 (89)	—	—
vacAm1	4 (19)	2 (12)	5 (28)	—	—
vacAm2	10 (48)	5 (29)	7 (39)	—	—
vacAs1/m1	4 (19)	2 (12)	5 (28)	0.539	1.428
vacAs1/m2	10 (48)	5 (29)	7 (39)	0.548	1.308
iceA1	15 (71)	8 (47)	13 (72)	0.309	2.51
iceA2	2 (10)	6 (35)	3 (17)	0.099	4.811
iceA1 + iceA2	1 (5)	2 (12)	1 (6)	—	—

2.3 不同基因型 Hp 菌株感染患儿胃窦黏膜 IFN-γ、IL-4 含量比较

不同基因型(cagA、vacA、iceA) 菌株感染的患儿其胃窦黏膜 IFN-γ、IL-4 的含量差异无统计学意义。见表 4。

表 4 不同基因型 Hp 菌株感染组胃窦黏膜 IFN-λ、IL-4 含量的比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mg)

	IFN-γ	IL-4
cagA	41.8 ± 14.6	57.6 ± 49.5
vacAs1/m1	39.6 ± 10.8	53.9 ± 40.2
vacAs1/m2	38.9 ± 10.9	52.0 ± 32.7
iceA1	42.0 ± 14.8	57.5 ± 39.1
iceA2	32.4 ± 12.0	36.4 ± 25.7
<i>F</i> 值	1.858	0.963
<i>P</i> 值	0.109	0.461

3 讨论

cagA 基因是基因组中存在 cagPAI (cag 致病岛)的标志,其通过转运相关毒素而参与 Hp 诱导的上皮细胞内酪氨酸磷酸化、细胞骨架重排、活化核转录因子 NF-κB、诱导促炎因子的表达等,发挥其致病作用。vacA 基因在所有的 Hp 菌株中都存在,但只有 50% 左右的菌株有 vacA 蛋白的表达,其编码空泡毒素使上皮细胞发生空泡样变性。vacA 基因结构中存在信号系列区(s 区,进一步分为 s1a,s1b,s1c,s2 亚型)和中间区(m 区,进一步分为 m1a,m1b,m2 亚型),s 区和 m 区以不同的形式组成vacA 嵌合体,即 s1/m1、s1/m2 和 s2/m2,它们与 Hp 的毒力水平相关,其中 s1/m1 型表现为较高的毒素活性,s2/m2 型检测不到空泡毒素活性,而 s1/m2 型菌株介于两者之间。近年来,研究者分别就自溃疡病人和胃炎病人分离的 2 株 Hp,比较其 mRNA 转录时发现了一个新的基因。当 Hp 与胃上皮细胞接触后可诱导该基因表达,因此该基因被命名为 iceA (in-

duced by contact with epithelium)^[9]。iceA 其基因位点有两个主要变异体 iceA1 和 iceA2,其具体功能目前还不明确。

与成人相比,目前对于儿童中 Hp cagA、vacA、iceA 基因与临床表现、感染后组织学变化、细胞因子的研究分析较少。而对于儿童的研究可以为 Hp 感染相关疾病的免疫学发病机制提供重要的依据,因为胃黏膜的变化可以反映细菌-宿主相互作用的早期表现。儿童时期根除 Hp 可以降低成人时期消化性溃疡、胃癌的发生率。有研究显示 Hp 基因型影响三联药物的治疗效果,如英国研究显示 vacA s1/m2 与克拉霉素耐药有关^[10]。意大利的研究显示 cagA⁺ 菌株感染的患者其治疗效果较好^[11]。因此检测 Hp 基因型对于指导临床治疗具有重要的意义。

成人研究中,西方国家分离的 Hp 菌株约 50%-67% 具有 cagA,而在日本、中国等亚太地区分离的 Hp 菌株 cagA 阳性率高达 90% 以上^[3,12-13]。本研究 cagA 检出率为 65%,与本地区许春娣等^[14]报道的相接近(62.3%),低于广州儿童中的报道(90.4%)^[15],高于以色列儿童中的报道(25%)^[16]。本研究 19% 菌株无法检测 m 区,与台湾人群中的报道相似(均为 23.3%)^[17],提示 vacA 基因有显著变异,尤其是中间区。本研究中 cagA⁺/vacAs1/m2/iceA1 的检出率最高,为本地区儿童 Hp 的优势基因型,与广州儿童及浙江成人中的报道相一致^[15,18]。葡萄牙儿童以 cagA⁻/vacAs2/m2/iceA2 的检出率最高^[19]。成人中 Hp 的优势基因组合,在日本、朝鲜、阿根廷为 cagA⁺/vacAs1/m1/iceA1^[8,20],美国、哥伦比亚为 cagA⁺/vacAs1/m1/iceA2^[8]。

以上各研究结果提示:Hp 基因存在地区分布差异,成人和儿童之间也存在一定的差异,这种差异考虑与细菌-宿主之间的相互作用有关,而这种相互作用使得细菌在人体内进化过程中,发生基因突变或在多种感染的菌株中,由于自然选择优势菌发生变化,因此同一机体在不同的时期其感染的菌株基因型不同^[19]。

成人和儿童的研究均显示感染 Hp 的宿主存在混合感染的情况,其中成人混合感染率高于儿童。本研究中 5 株(8.8%)菌株 iceA1 和 iceA2 均阳性,1 株菌株同时具有 229 bp 和 334 bp 的基因片段,均提示存在混合感染,混合感染率为 10.5% (6/57)。在 vacA 中未检测到混合感染,与其他报道不一致,考虑与以下因素有关:(1) 对于 vacAs 或 m 基因未进一步行亚型(s1a, s1b, s1c, m1a, m1b)检测;(2)

收集的胃黏膜数目少,仅为胃窦黏膜,而未行胃体黏膜检测。台湾一项研究分别从胃窦、胃体黏膜抽提 DNA 进行菌株基因分型,混合感染率高达 67%^[17]。混合感染可能是原感染菌株在人体内由于药物、饮食等因素诱导发生了变异所致。此外有实验通过使灵长目动物感染多株 Hp 后发现,多菌株感染在不同时间会有变化,有时胃黏膜中为多菌株感染,有时单一菌株定植占优势。因此同一患者胃黏膜中有多株 Hp 定植可能反映了多细菌基因型对同一胃中不同的、非重叠微小部位的适应。

本研究与葡萄牙、韩国的研究均显示菌株基因型与疾病类型、炎症的严重程度无关^[19,21]。而广州的研究显示 iceA1 在胃黏膜病变程度中容易引起重度炎症^[22]。英国儿童研究显示 cagA 与胃窦黏膜炎症的严重程度相关^[23]。以上研究结果各不一致,考虑与以下因素有关:(1) 不同地区 Hp 菌株基因表达类型不同;(2) 除了菌株因素外,宿主基因多态性、环境因素对于疾病的发生、发展也发挥了重要作用,而且这种作用从儿童时期持续至成人时期^[2];(3) 感染一定基因型菌株的患者随着感染时间的延长可能发生不同的临床疾病。

Hp 的致病机制目前尚未明确,一般认为与细胞因子的介导有关。细菌与胃黏膜上皮接触后刺激 Th0 细胞分化为 Th1 和 Th2 细胞。其中 Th1 细胞分泌 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-12 等细胞因子,介导细胞免疫。Th2 细胞分泌 IL-4、IL-10 等细胞因子,介导体液免疫。Th1 和 Th2 互相制约,一般认为 Th1 介导的细胞免疫在 Hp 发病中占优势,其抑制 Th2 细胞分泌细胞因子,从而减少 IgA 的分泌,使机体不足以清除 Hp^[24]。许多研究显示 Hp 感染时机体 IFN- γ 、TNF- α 等细胞因子分泌增多,而 IL-4、IL-10 等细胞因子分泌减少^[25-26]。因此本研究选择 Th1 代表性的细胞因子(IFN- γ)和 Th2 代表性的细胞因子(IL-4)进行检测,以分析比较 Hp 不同基因型与其之间的关系。

本研究显示不同基因型菌株感染的胃窦黏膜 IFN- γ 、IL-4 的含量差异无统计学意义。动物实验亦显示 Hp 感染早期体内 IFN- γ 含量增加,但其与 cagA 无关^[27]。本研究中 cagA⁺ 的表达与 IL-4 之间无统计学关联,而意大利成人的研究^[28]显示 cagA⁻ 感染的患者其胃窦黏膜 IL-4 的含量高于 cagA⁺ 感染的患者。结果的不一致考虑可能与儿童 Hp 感染后产生的免疫反应不同于成人有关。

本研究分析了上海部分地区儿童 Hp cagA、vacA、iceA 基因亚型的分布特点,提示 cagA/vacAs1/

m2/iceA1 为本地区儿童中 Hp 的优势基因型。不同基因型菌株与疾病的类型、胃窦黏膜炎症的严重程度无关,不同基因型菌株感染的胃窦黏膜 IFN- γ 、IL-4 的含量差异亦无统计学意义,均提示宿主因素、环境因素在 Hp 的致病过程中可能发挥了重要作用,其具体机制有待进一步研究以明确。此外本研究中发现 Hp 感染患儿中存在混合感染情况,是否存在混合感染的患者病情更加严重,治疗效果差有待扩大标本进一步深入研究。

[参 考 文 献]

[1] Go MF. Review article: natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2002, 16 (Suppl 1):3-15.

[2] Correa P. New strategies for the prevention of gastric cancer: *Helicobacter pylori* and genetic susceptibility [J]. *J Surg Oncol*, 2005, 90(3):134-138.

[3] Figueiredo C, Van Doorn LJ, Nogueira C, Soares JM, Figueira P, Quint WG, et al. *Helicobacter pylori* genotypes are associated with clinical outcome in Portuguese patients and reveal a high prevalence of infections with multiple strains[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2001, 36(2):128-135.

[4] Oliviera AM, Queiroz DM, Rocha GA, Mendes EN. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in children of low socioeconomic level in Belo Horizonte, Brazil [J]. *Am J Gastroenterol*, 1994, 89 (12):2201-2204.

[5] Zambon CF, Basso D, Navaglia F, Mazza S, Razetti M, Fogar P, et al. Non-invasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: simplified 13C-urea breath test, stool antigen testing or DNA PCR in human faeces in a clinical laboratory setting[J]. *Clin Biochem*, 2004, 37(4):261-267.

[6] 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见(上)(2006,上海)[J]. *中华消化杂志*, 2007, 27(1):49-50.

[7] Van Doorn LJ, Figueiredo C, Rossau R, Jannes G, van Asbroek M, Sousa JC, et al. Typing of *Helicobacter pylori* vacA gene by PCR and reverse hybridization[J]. *J Clin Microbiol*, 1998, 36 (5):1271-1276.

[8] Yamaoka Y, Kodama T, Gutierrez O, Kim JG, Kashima K, Graham DY. Relationship between *Helicobacter pylori* iceA cagA and vacA status and clinical outcome: studies in four different countries [J]. *J Clin Microbiol*, 1999, 37(7):2274-2279.

[9] Peek RM Jr, Thompson SA, Donohue JP, Tham KT, Atherton JC, Blaser MJ, et al. Adherence to gastric epithelial cells induces expression of a *Helicobacter pylori* gene, iceA, that is associated with clinical outcome[J]. *Proc Assoc Am Phys*, 1998, 110(6):531-544.

[10] Elviss NC, Owen RJ, Kerry J, Walker AM, Davies K. *Helicobacter pylori* antibiotic resistance patterns and genotypes in adult dyspeptic patients from a regional population in North Wales[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2004, 54(2):435-440.

[11] Russo F, Berloco P, Cuomo R, Caruso ML, Di Matteo G, Giorgio P, et al. *Helicobacter pylori* strains and histologically-related lesions affect the outcome of triple eradication therapy: a study from southern Italy[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2003, 17(3):421-428.

[12] Ito Y, Azuma T, Ito S, Miyaji H, Hirai M, Yamazaki Y, et al. Analysis and typing of the vacA gene from cagA-positive strains of *Helicobacter pylori* isolated in Japan[J]. *J Clin Microbiol*, 1997,

35(7):1710-1714.

[13] 杜奕奇,许国铭,纪徐淮,丁华,张洪富,满晓华,等. 细胞毒素相关抗原(cagA)基因在中国人幽门螺杆菌中的分布及其临床意义[J]. *中华消化杂志*, 1999, 19(3):165-167.

[14] 许春娣,郑洁,奚容平,陈舜年,徐家裕. 具有 cagA、vacA 基因的幽门螺杆菌感染及其与胃十二指肠疾病的关系 [J]. *中华儿科杂志*, 2002, 40(3):144-147.

[15] 林燕芬,龚四堂,区文玘,潘瑞芳,黄海,何婉儿,等. 广州地区患儿感染幽门螺杆菌 vacA、cagA 及 iceA 基因研究 [J]. *中华儿科杂志*, 2007, 45(9):703-707.

[16] Benenson S, Halle D, Rudensky B, Faber J, Schlesinger Y, Branski D, et al. *Helicobacter pylori* genotypes in Israeli children: the significance of geography[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2002, 35(5):680-684.

[17] Perng CL, Lin HJ, Sun IC, Tseng GY, Facg. *Helicobacter pylori* cagA, iceA and vacA status in Taiwanese patients with peptic ulcer and gastritis[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2003, 18(11):1244-1249.

[18] 陈晶,方平楚,陶然,尤建飞,茅海燕. 浙江地区幽门螺杆菌优势基因型研究 [J]. *浙江预防医学*, 2006, 18(3):1-3.

[19] Costa Lopes AI, Palha A, Monteriro L, Olcastro M, Pelerito A, Fernandes A. *Helicobacter pylori* genotypes in children from a population at high gastric cancer risk: no association with gastroduodenal histopathology[J]. *Am J Gastroenterol*, 2006, 101(9):2113-2122.

[20] Leanza AG, Matteo MJ, Crespo O, Antelo P, Olmos J, Catalano M, et al. Genetic characterization of *Helicobacter pylori* isolates from an Argentinean adult population based on cag pathogenicity island right-end motifs, lspA-glmM polymorphism and iceA and vacA genotypes[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2004, 10(9):811-819.

[21] Ko JS, Kim KM, Oh YL, Seo JK. cagA, vacA, and iceA genotypes of *Helicobacter pylori* in Korean children[J]. *Pediatr Int*, 2008, 50(5):628-631.

[22] 林燕芬,龚四堂,区文玘,潘瑞芳,王凤华,周荣,等. 广州地区儿童感染幽门螺杆菌 iceA 基因型与胃炎的相关性研究 [J]. *广东医学*, 2007, 28(2):213-215.

[23] Dzierzanowska-Fangrat K, Crabtree JE, Rozynek E, Dura W, Celinska-Cedro D, Wojda U, et al. *Helicobacter pylori* cagA genotype and density of colonization in relation to gastric inflammation in children[J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2002, 14(12):1303-1307.

[24] Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2006, 19(3):449-490.

[25] Shimizu T, Haruna H, Ohtsuka Y, Kaneko K, Gupta R, Yamashiro Y. Cytokines in the gastric mucosa of children with *Helicobacter pylori* infection[J]. *Acta Paediatr*, 2004, 93(3):322-326.

[26] Bontems P, Robert F, Van Gossum A, Cadranet S, Mascart F. *Helicobacter pylori* of gastric and duodenal mucosal T cell cytokine secretions in children compared with adults [J]. *Helicobacter*, 2003, 8(3):216-226.

[27] Straubinger RK, Greiter A, McDonough SP, Gerold A, Scanziani E, Soldati S, et al. Quantitative evaluation of inflammatory and immune responses in the early stages of chronic *Helicobacter pylori* infection[J]. *Infect Immun*, 2003, 71(5):2693-2703.

[28] Orsini B, Ottanelli B, Amedei A, Surrenti E, Capanni M, Del Prete G, et al. *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island is associated with reduced expression of interleukin-4 (IL-4) mRNA and modulation of the IL-4 delta2 mRNA isoform in human gastric mucosa[J]. *Infect Immun*, 2003, 71(11):6664-6667.

(本文编辑:黄 榕)