

• 综述 •

口腔内幽门螺杆菌的探讨

郭瑞¹综述,居军^{2△},杨森¹审校

(1. 兰州大学第一临床医学院,甘肃兰州 730000;2. 甘肃省人民医院检验中心,甘肃兰州 730000)

关键词:口腔幽门螺杆菌; 流行病学; 检测方法; 口腔疾病; 幽门螺杆菌治疗**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.24.039**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2014)24-3390-03

幽门螺杆菌(Hp)是慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤和胃癌的主要致病因素,1994年被世界卫生组织列为I类致癌因子。多年以来,人们普遍认为胃是Hp主要的生长环境,而大量研究证明人口腔内牙菌斑、唾液、舌苔中也可检测出Hp,并可能是胃内Hp复发再感染的来源。这对研究Hp的传播途径和治疗方法有着重要的意义。

1 口腔内 Hp 的分离和证实

自1983年澳大利亚学者Warren和Marshall首次从慢性活动性胃炎患者的胃黏膜活检组织中分离出Hp。之后,Krajden等^[1]和Ferguson等^[2]分别从胃炎患者的牙菌斑和唾液中分离培养出Hp,表明口腔环境适宜Hp聚集和定植,可能是人体的另一个聚集地。胡文杰等^[4]对牙菌斑、含漱液、舌背黏膜、颊黏膜及腭黏膜表面的Hp进行检测,认为口腔多部位存在Hp,牙菌斑中居多,并呈一定的分布规律。因此,研究口腔Hp需要多部位、正确的标本采集,才能反映口腔Hp定植和分布的真实情况。口腔Hp的存在与胃内Hp相关。Wang等^[5]对31例胃炎和消化性溃疡的唾液标本和胃黏膜标本的细胞毒素基因进行比较,聚合酶链式反应(PCR)方法分析cagA、vacA m1、vacA m2、vacA s1 4种基因,扩增产物进行DNA测序,结果显示,胃黏膜标本与其相对应的唾液标本至少有1种基因型相一致的为95%,2种基因型一致的为86%,3种基因型一致的为59%,27%4种基因型完全一致,推测口腔HpDNA与相应胃黏膜Hp十分相似,具有同源性。

2 Hp 的流行病学研究

2.1 Hp 的感染状况 Hp 在全球自然人群的感染率超过50%,与地理、年龄、社会经济状况、卫生状况、个人受教育程度和饮食习惯等社会因素相关。在发达国家成年人占25%~50%不等,发展中国家感染率可高达70%~90%。国内Hp感染率处在40%~70%水平^[6],且农村人群的感染率问题、胃癌高发区的高感染率问题、胃癌高发区发病低龄化问题尤为突出。大多数Hp感染是在幼年获得,随年龄增大而感染率升高。口腔Hp的感染率与个人的口腔卫生、牙周状况(牙菌斑、牙周袋的形成)相关^[7],通过控制牙菌斑和改善口腔卫生状况可提高胃Hp的根除率^[8]。

2.2 Hp 传播途径 大多数研究认为人类是Hp唯一的传染源,粪-口、口-口传播方式是已被公认的传播途径,但其传播机制尚不清楚。

儿童是获得Hp的主要阶段,Muhsen等^[9]对3~5岁儿童进行3~4年随访,认为有感染的兄弟姐妹是其较早年龄和长时间持续感染的独立因素。Nam等^[10]发现胃癌年轻患者兄弟姐妹Hp感染率明显高于对照组。其他横断面研究也支持感

染的兄弟姐妹和母亲,落后的社会生活条件是儿童幽门螺杆菌感染的危险因素^[11]。

Hp可从牙菌斑、唾液、舌背、口腔溃疡表面、口腔肿瘤中分离检测出,提示了Hp口-口传播的可能性。研究表明,口腔Hp与胃内Hp菌株基因型相似,胃内Hp阳性者口腔Hp(45.0%)阳性率明显高于胃内阴性者(23.9%)(OR=3.61,P<0.01)^[12],胃内系统治疗虽能根除胃内Hp,但不能有效根除口腔内Hp,这些研究支持了口腔是Hp感染、复发、传播的来源。

粪便中的Hp主要为不可培养的球状形态,而HpDNA多次在人类粪便中检测到。Momtaz等^[13]对300例行胃镜检查者分别采集胃黏膜组织、唾液、粪便标本,运用快速尿素酶实验和PCR方法鉴定,结果显示胃黏膜组织Hp阳性率为77.66%,而唾液仅为10.72%,粪便标本为71.67%,且唾液、胃黏膜组织、粪便标本基因型高度相似,证明粪-口途径是Hp传播的主要途径。Samra等^[14]应用PCR方法对饮用水检测,显示Hp阳性率为40%,且Hp感染在经济发达国家明显低于经济落后国家,卫生条件好的地区明显低于卫生条件差的地区。这些研究均提示了粪-口传播的可能。

动物传播Hp的可能性是极小的,Brown等^[15]对山东临朐县3328例Hp阳性者进行问卷调查,未发现儿童期和成年期与宠物或家畜接触与Hp感染相关,说明在中国农村Hp经动物传播证据尚不足。

3 口腔 Hp 的检测

目前对口腔Hp的感染诊断尚无统一标准。如何快速、准确地诊断Hp是大家关注的问题。

细菌培养是分离细菌的金标准,口腔中菌群复杂,微生物种类多达300多种,虽然Hp培养条件较为严格,培养过程加入选择性抗菌药物,但采用牙菌斑与唾液标本进行培养时,仍可见大量杂菌过度生长。故细菌培养常不能获得理想结果,需要更特异和敏感的方法来检测口腔Hp。

快速尿素酶试验属间接试验,操作简便、检测快速,但用于检测口腔Hp的特异性不好,易出现假阳性。因为口腔内除Hp外,具有尿素酶活性的细菌还有唾液链球菌、内氏放线菌等。

唾液中含有Hp的IgA和低水平的IgG抗体,前者由唾液腺局部产生,后者主要从血液渗漏到牙龈液中。Marshall等^[16]对81例行胃镜者采集唾液和血清进行IgG抗体检测,并以此(培养、组织学、脲酶试验)为标准,得出结论,唾液IgG抗体敏感性和特异性分别为94%和85%,认为唾液IgG抗体检测可作为一种非入侵、较为可靠的Hp检测方法。Kullavanij-

jaya 等^[17]对 8 种 Hp 检测方法进行分析评价,结果显示金标准细菌培养敏感性为 55.9%,特异性为 100%,唾液 IgA 敏感性仅为 26.8%,特异性分别为 75%。由此得出结论,唾液 IgA 不适于检测 Hp。

PCR 法较其他方法更为敏感,能检出常规方法不能检出的 Hp,目前已用于各种临床标本的检测尤其是口腔 Hp 的检测。PCR 对标本的要求低,牙菌斑、唾液、龈沟液均可进行 Hp DNA 检测,其关键是引物的特异性。近年来出现的实时荧光定量 PCR 技术实现了 PCR 从定性到定量的飞跃,其以特异性强、灵敏度高、重复性好、定量准确、速度快、可全封闭反应等优点成为了分子生物学研究中的重要工具。目前,SYBR Green 荧光定量 PCR^[18] 和 TaqMan 荧光定量 PCR^[19] 已经应用于 Hp 感染检测。

幽门螺杆菌唾液测试板(HPS)是应用胶体金层析式双抗体夹心技术,定性检测人体唾液具有毒力标志(CagA) Hp 释放的尿素酶,这种尿素酶的结构和口腔中其他细菌产生的尿素酶,经证实无交叉反应^[8]。HPS 检测技术的灵敏度在 10 ng/mL 左右,具有较高的敏感性和特异性。Song 等^[20]用 HPS 和 13C 尿素酶呼气试验(13C-urea breath test, 13C-UBT)分别检测口腔和胃内 Hp 感染,HPS 检测阳性率为 74.9%,HPS 阳性者的 Hp 根除率低于 HPS 阴性者(78.4%、93.3%)。口腔 Hp 与胃内 Hp 测试结果并不一致,但 HPS 与 13C-UBT 联合检测,就可以区分胃 Hp 与口腔 Hp 合并感染、单纯胃 Hp 感染或单纯口腔 Hp 感染,为制定个体化治疗方案提供更确切的实验室依据。

4 口腔 Hp 的致病作用

Hp 是一种条件致病菌,广泛存在于健康人和慢性胃炎患者的口腔内,在一般情况下可能不会致病,但当环境改变时则会引起疾病的发生。

口腔黏膜与胃黏膜同属消化系统、均来自外胚层,其组织表面可能存在共同的抗原成分,引发口腔黏膜损伤的抗口腔黏膜抗体(AOMA)与引发胃黏膜损伤的抗胃壁黏膜抗体(AS-MA)相互作用并部分交叉免疫。关于 Hp 金早蓉等^[21]对 40 例已确诊口腔扁平苔藓(OLP)患者进行检测,结果显示 OLP 患者 Hp 阳性率明显高于对照组,糜烂型明显高于非糜烂型,认为 Hp 与 OLP 之间存在相关性。而 Pourshahidi 等^[22]对 41 例 OLP 患者进行 Hp-IgG 抗体检测,未发现两者之间存在差异性。徐捷和黄炳新^[23]通过 PCR 研究复发性口腔溃疡(ROU)患者口腔中的 Hp,轻型 ROU 患者 Hp 阳性率明显低于重型 ROU 患者,认为 ROU 的发病与口腔中 Hp 感染可能有关,Hp 可能参与 ROU 的形成,或者是导致 ROU 的反复发作的原因之一。然而 Victoria 等^[24]对 ROU 患者与健康志愿者同时检测 Hp,无充分证据支持 Hp 参与 ROU 的发生、发展过程。

牙周病是目前人类最常见的口腔疾病之一,牙周病变有可能增加 Hp 感染,同时 Hp 阳性者更容易发生牙周病,Hp 感染与炎症的程度和活动性呈正相关。高静等^[25]依据 Hp 特异的尿素酶 C 和 cagA 基因设计引物,用 PCR 方法检测 37 例牙周炎患者口腔菌斑和含漱液中的 Hp,结果显示:尿素酶 C 基因在牙周炎组的阳性率为 64.8%,健康组为 38.5%;尿素酶 C 基因和 cagA 基因共同阳性率在牙周炎组为 32.4%,明显高于健康组(7.7%);且轻型牙周炎患者口腔 Hp 阳性率低于中、重型患者,推测认为 Hp 参与了慢性牙周炎的致病过程,抑或是加

强了其他因素的致病过程。牙周炎为 Hp 在牙菌斑中的生长繁殖创造了有利条件。但是,HP 在牙周炎的发生、发展中,是单独发挥致病机制,还是通过某种机制促进了牙周可疑致病菌的作用,尚待进一步探讨。

Hp 感染可能是慢性口臭的重要病因。Nao Suzuki 等^[26]对 326 例无消化不良症状患者进行 PCR 检测 Hp 和牙周致病菌。其中 251 例口臭患者,75 例无口臭,326 例患者 Hp 阳性率为 6.4%,得出结论,Hp 感染可能间接与牙周病导致的口臭有关。傅长来等^[27]排除牙周来源的口臭,发现口臭患者 Hp 感染率显著高于无口臭的受试者,且 PPI 三联 Hp 的治疗方法,可有效治疗口臭,进一步证实胃 Hp 可能是口臭的直接致病菌。另外,口腔 HP 与干槽症、龋病、口腔癌等疾病关系也在研究中。

5 Hp 的根除治疗

常规三联疗法即质子泵抑制剂加 2 种抗菌药物,是目前最常用、最有效的根除 Hp 的治疗方法,但治疗后疾病仍有可能出现复发难以彻底治愈。影响 Hp 感染治疗效果的原因可能有:Hp 菌株对抗菌药物耐药、高 Hp 负荷量、定植于口腔内的 Hp 等。药物治疗不能根除口腔 Hp 可能是由于 Hp 存在于唾液、龈沟液及牙菌斑中,全身用药对它们的作用甚微,尤其是菌斑微生物具有独特的“生物膜”结构,药物难以到达而发挥作用。因此,对 Hp 感染的治疗除了必须定期监测 Hp 的耐药率,筛选敏感的抗菌药物外,还应采用 14C-尿素呼气试验(14C-UBT)与 HPS 联合检测 Hp,对胃内 Hp 和口腔 Hp 合并感染的患者,改变根除 Hp 治疗的策略,即从单纯治疗胃内 Hp 的根除方案,调整成为胃内和口腔两处 Hp 感染同步进行治疗和干预的方案,以提高 Hp 根除率。Bouziane 等^[28]认为牙周治疗同三联疗法相结合可有效降低 63% 胃肠道疾病患者胃内 Hp 持续存在的相对危险性。由此可推测在根除 Hp 的药物中加入局部治疗口腔中 Hp 的措施将有助于降低 Hp 的再感染或复发率。

6 小结

口腔是 Hp 的另一储存部位,唾液、牙菌斑中的细菌可能是 Hp 重要传染源,也是胃内 Hp 复发、根除失败的重要原因。随着 Hp 研究工作的不断深入,应用于口腔 Hp 检测的 HPS 应用于临床,在一定程度上反映胃内 Hp 的感染情况,HPS 与 14C-UBT 联合检测,对胃内 Hp 和口腔 Hp 合并感染的患者,在根除 Hp 的药物中加入局部治疗口腔中的 Hp 措施将有助于降低的 Hp 再感染或复发率。

参考文献

- [1] Krajden S, Fuksa M, Anderson J, et al. Examination of human stomach biopsies, saliva, and dental plaque for campylobacter-py- lori[J]. J Clin Microbiol, 1989, 27(6): 1397-1398.
- [2] Ferguson DA, Li CF, Patel NR, et al. Isolation of helicobacter-py- lori from saliva[J]. J Clin Microbiol, 1993, 31(10): 2802-2804.
- [3] Eskandari A, Mahmoudpour A, Abolfazli N, et al. Detection of Helicobacter pylori using PCR in dental plaque of patients with and without gastritis[J]. Med Oral Patol Oral Y Cirug Bucal, 2010, 15(1): E28-E31.
- [4] 胡文杰,曹采方,孟焕新,等.幽门螺杆菌在口腔中的特征性分布[J].中国微生态学杂志,2004,16(2):93-95.
- [5] Wang J, Chi DS, Laffan JJ, et al. Comparison of cytotoxin geno- types of Helicobacter pylori in stomach and saliva[J]. Dig Dis Sci,

- 2002, 47(18): 1850-1856.
- [6] 覃丽英, 许敏玲, 陈少兰, 等. 某镇教师幽门螺旋杆菌感染的流行病学调查[J]. 中国医药指南, 2012, 10(2): 160-162.
- [7] Wichelhaus A, Brauchli L, Song Q, et al. Prevalence of Helicobacter pylori in the adolescent oral cavity dependence on orthodontic therapy, oral flora and hygiene[J]. Journal of Orofacial Orthopedics, 2011, 72(3): 187-195.
- [8] Jia CL, Jiang GS, Li CH, et al. Effect of dental plaque control on infection of helicobacter pylori in gastric mucosa[J]. J Periodon, 2009, 80(10): 1606-1609.
- [9] Muhsen K, Athamna A, Bialik A, et al. Presence of Helicobacter pylori in a Sibling is Associated with a Long-Term Increased Risk of H-pylori Infection in Israeli Arab Children[J]. Helicobacter, 2010, 15(2): 108-113.
- [10] Nam JH, Choi LJ, Cho SJ, et al. Helicobacter pylori infection and histological changes in siblings of young gastric cancer patients [J]. J Gastroen Hepatol, 2011, 26(7): 1157-1163.
- [11] Dattoli VCC, Veiga RV, Cunha S, et al. Seroprevalence and potential risk factors for helicobacter pylori infection in brazilian children[J]. Helicobacter, 2010, 15(4): 273-278.
- [12] Zou QHR, Li Q. Helicobacter pylori in the oral cavity and gastric mucosa: a meta-analysis[J]. J Oral Pathol, 2011, 40(4): 317-324.
- [13] Momtaz H, Souod N, Dabiri H, et al. Study of Helicobacter pylori genotype status in saliva, dental plaques, stool and gastric biopsy samples[J]. Gastroen, 2012, 18(17): 2105-2111.
- [14] Samra ZQ, Javaid U, Ghafoor S, et al. PCR assay targeting virulence genes of Helicobacter pylori isolated from drinking water and clinical samples in Lahore metropolitan[J]. Journal of Water and Health, 2011, 9(1): 208-216.
- [15] Brown LM, Thomas TL, Ma JL, et al. Helicobacter pylori infection in rural China: Exposure to domestic animals during childhood and adulthood[J]. Scand J Infect Dis, 2001, 33(9): 686-691.
- [16] Marshall BA, Howat PA, Wright. Oral fluid antibody detection in the diagnosis of Helicobacter pylori inflection[J]. J Me Microb, 1999, 48(11): 1043-1046.
- [17] Kullavanijaya P, Thong-Ngam D, Hanvivatvong O, et al. Analysis of eight different methods for the detection of Helicobacter pylori infection in patients with dyspepsia[J]. J Gastroen Hepatol, 2004, 19(12): 1392-1396.
- [18] Ou ZY, Xiong LY, Li DY, et al. Evaluation of a new fluorescence quantitative PCR test for diagnosing Helicobacter pylori infection in children[J]. Bmc Gastroen, 2013, 13(2): 210-212.
- [19] Monno R, Giorgio F, Carmine P, et al. Helicobacter pylori clarithromycin resistance detected by Etest and TaqMan real-time polymerase chain reaction: a comparative study[J]. Apmis, 2012, 120(9): 712-717.
- [20] Song HY, Li Y. Can eradication rate of gastric Helicobacter pylori be improved by killing oral Helicobacter pylori[J]. J Gastroen, 2013, 19(39): 6645.
- [21] 金早蓉, 蓉宋斌, 李曙霞, 等. 口腔黏膜扁平苔藓患者口腔多部位幽门螺杆菌的检测及其意义[J]. 当代医学, 2010, 16(1): 1-3.
- [22] Pourshahidi S, Fakhri F, Ebrahimi H, et al. Lack of association between helicobacter pylori infection and oral lichen planus[J]. Asian Pac J Cancer P, 2012, 13(5): 1745-1747.
- [23] 徐捷, 黄炳新. 口腔幽门螺杆菌与复发性口腔溃疡的相关性研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(12): 1380-1381.
- [24] Victoria JMN, Kalapothakis E, Silva JDC, et al. Helicobacter pylori DNA in recurrent aphthous stomatitis[J]. J Oral Pathol, 2003, 32(4): 219-223.
- [25] 高静, 张丽, 靳松, 等. 慢性胃病患者口腔与胃内幽门螺杆菌基因型关系的研究[J]. 临床口腔医学杂志, 2010, 26(5): 266-269.
- [26] Suzuki N, Yoneda M, Naito T, et al. Detection of Helicobacter pylori DNA in the saliva of patients complaining of halitosis[J]. J Med Microb, 2008, 57(12): 1553-1559.
- [27] 傅长来, 唐光华, 蒋丹斌, 等. 胃幽门螺杆菌与口臭关系的临床研究[J]. 中国医药导刊, 2010, 9(12): 1527-1528.
- [28] Bouziane A, Ahid S, Abouqal R, et al. Effect of periodontal therapy on prevention of gastric Helicobacter pylori recurrence: a systematic review and meta-analysis[J]. J Clin Per, 2012, 39(12): 1166-1173.

(收稿日期: 2014-04-29)

• 综述 •

胞外体在微 RNA 转运过程中的作用

陈胜, 王伟, 王亮 综述, 张颖, 贾战生 审校

(解放军第四军医大学唐都医院感染病科, 陕西西安 710038)

关键词: 胞外体; 微 RNA; 综述

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.24.040

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2014)24-3392-03

胞外体来源于多种真核细胞的多泡体(MVBs)内部的小囊泡, 在电镜下呈典型的杯状, 由脂质双层膜包绕的扁平半球体, 直径约 40~100 nm。MVBs 可能通过内出芽的方式形成小囊泡, 而一些蛋白、脂质和核酸就分选进入这些小囊泡中, 被释放到细胞间隙成为胞外体^[1]。胞外体的实质是细胞内产生的小囊泡, 在形成过程中“不可避免”携带参与细胞生命过程的各种蛋白、脂质以及核酸。微 RNA(MicroRNA)是由 21~25

个核苷酸构成的非编码小分子 RNA, 曾经被视为无功能的分子^[2]。近年来已经成为分子生物学领域的研究热点, 参与了细胞内多种基因的表达调控^[3]。已经证实 microRNA 存在于胞外体中, 胞外体如同“特洛伊木马”参与 microRNA 在细胞间的转运而影响靶细胞功能。

1 胞外体中的 microRNA

根据胞外体内容物数据库(Exocarta)的记录, 目前已确定