

幽门螺杆菌感染和胃内微生态



张国新

江苏省人民医院
南京医科大学第一附属医院

消化科

幽门螺杆菌感染和胃内微生态



- 胃内微生物研究发展史
- 胃内微生态概况
- Hp感染对胃内微生态的影响
- 胃内微生态与Hp相关疾病
- 胃内微生态致病机制
- 微生物的临床应用

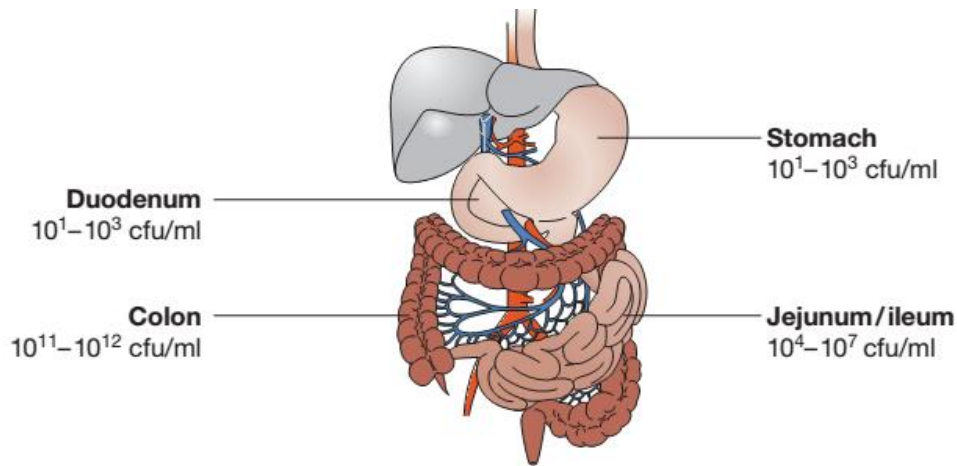
胃内微生物研究发展史

- ◆ 1893 — 1983（90年）
- ◆ 1983年Warren报道了他历经3年在胃活检标本上发现了弯曲状或S状杆菌。
- ◆ 1984年，Warren与Marshall合作，发现了幽门螺杆菌（Hp），打破了胃是一个无菌器官的传统观念。



胃内微生物研究发展史

- 研究发现，胃内有上百种细菌定植，微生物密度为 10^1 - 10^3 CFU/g。
当然，与肠道内的细菌数量(10^{10} - 10^{12} CFU/g)相比，胃内的细菌量很少。
- 微生物与人类的健康息息相关，宿主与微生物之间的相互作用关系到新陈代谢、免疫稳态等生理反应。



1. Korecka A, et al. J Oral Microbiol. 2012.
2. O'Hara AM, et al. EMBO Rep. 2006.

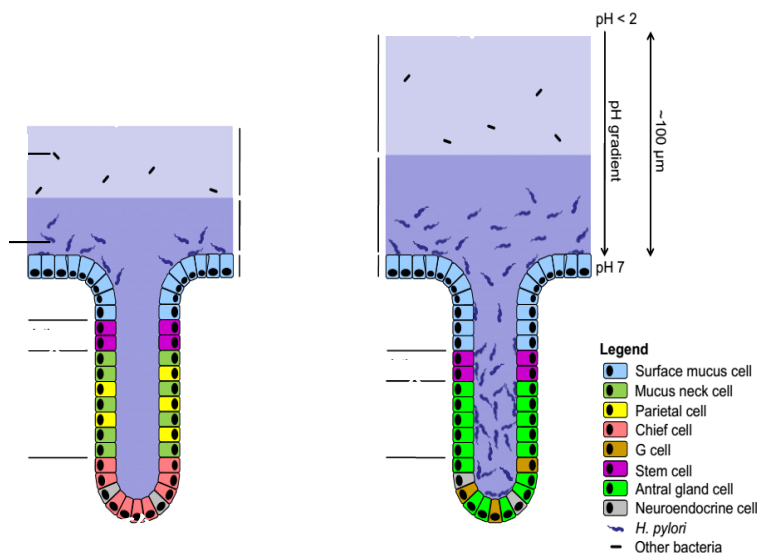
幽门螺杆菌感染和胃内微生态



- 胃内微生物研究发展史
- 胃内微生态概况
- Hp感染对胃内微生态的影响
- 胃内微生态与Hp相关疾病
- 胃内微生态致病机制
- 微生物的临床应用

胃内微生物概况——细菌分布

胃内细菌定植模式图



- 1) 在上皮细胞和胃腺体表面覆盖有粘液层，粘液层的主要成分MUC5ac、MUC6。
- 2) 粘液层分外层和内层，内层紧贴上皮细胞。
- 3) *Hp*主要定植于内层，而胃内的其他细菌可能定植于外层。

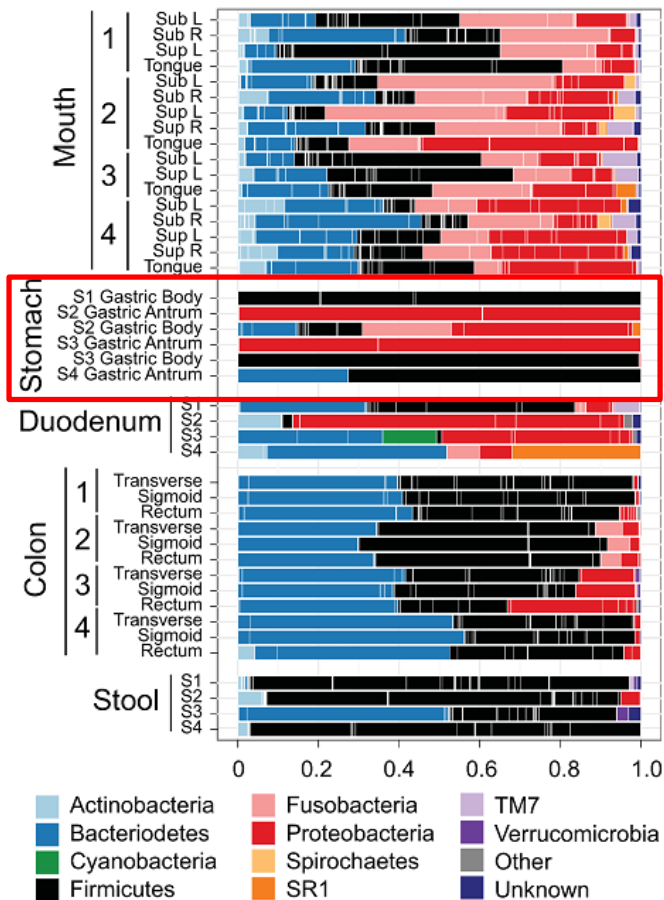
胃内微生物生态概况—胃内核心菌群



核心菌群: 绝大多数人群中都普遍存在的微生物种类。

可变菌群: 受外部和内部条件影响仅存在于少量人群中的微生物种类。

胃内微生物生态概况—胃内核心菌群



人消化道不同区段核心菌群

1) 健康人胃内主要是厚壁菌门、拟杆菌门和放线菌门，但其丰度和比例存在差异。

2) 不同解剖部位的细菌组成差异：

胃窦主要是变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门；

胃体主要是厚壁菌门、变形菌门梭杆菌门和拟杆菌门。

3) 不同个体细菌组成差异：

男性胃样本中变形菌门大于99%；

女性胃样本以厚壁菌门(72.6%)和拟杆菌门(27.3%)为主。

胃内微生物概况—胃内核心菌群

Phylum	Genus or species	Method	Reference
Mice			
Actinobacteria		454 pyrosequencing	Lofgren <i>et al.</i> (2011)*
		PhyloChip analysis	Rolig <i>et al.</i> (2013)*
Bacteroidetes		454 pyrosequencing	Lofgren <i>et al.</i> (2011)
		PhyloChip analysis	Rolig <i>et al.</i> (2013)
Firmicutes	<i>Lactobacillus</i> spp.	454 pyrosequencing	Lofgren <i>et al.</i> (2011)
		PhyloChip analysis	Rolig <i>et al.</i> (2013)
		16S rRNA gene-based qPCR	Aebischer <i>et al.</i> (2006)
		Culture; 16S rRNA gene-based qPCR	Sahasakul <i>et al.</i> (2012)
		Culture	Takahashi <i>et al.</i> (2011)
	<i>L. acidophilus</i>	<i>Lactobacillus</i> species-specific qPCR	Takahashi <i>et al.</i> (2011)
	<i>L. gasseri</i>	16S rRNA gene-based PCR-DGGE and sequencing	Sahasakul <i>et al.</i> (2012)
		<i>Lactobacillus</i> species-specific qPCR	Takahashi <i>et al.</i> (2011)
	<i>L. intestinalis</i>	Culture; 16S rRNA gene clone library analysis	Tan <i>et al.</i> (2007)
	<i>L. johnsonii</i>	16S rRNA gene-based PCR-DGGE and sequencing	Sahasakul <i>et al.</i> (2012)
		<i>Lactobacillus</i> species-specific qPCR	Takahashi <i>et al.</i> (2011)
	<i>L. murinus</i>	Culture; 16S rRNA gene clone library analysis	Tan <i>et al.</i> (2007)
	<i>L. reuteri</i>	Culture; 16S rRNA gene clone library analysis	Tan <i>et al.</i> (2007)
		16S rRNA gene-based PCR-DGGE and sequencing	Sahasakul <i>et al.</i> (2012)
Proteobacteria		454 pyrosequencing	Lofgren <i>et al.</i> (2011)
		PhyloChip analysis	Rolig <i>et al.</i> (2013)
Verrucomicrobia		PhyloChip analysis	Rolig <i>et al.</i> (2013)

Mongolian gerbils			
Actinobacteria	<i>Atopobium</i> cluster	16S rRNA gene-based qPCR	Osaki <i>et al.</i> (2012)
	<i>Bifidobacterium</i> spp.	16S rRNA gene-based qPCR	Osaki <i>et al.</i> (2012)
		Culture	Yin <i>et al.</i> (2011)
Bacteroidetes	<i>Bacteroides</i> spp.	Culture	Yin <i>et al.</i> (2011)
Firmicutes	<i>Clostridium</i> <i>coccoides</i> group	16S rRNA gene-based qPCR	Osaki <i>et al.</i> (2012)
	<i>Clostridium</i> <i>leptum</i> subgroup	16S rRNA gene-based qPCR	Osaki <i>et al.</i> (2012)
	<i>Enterococcus</i> spp.	16S rRNA gene-based qPCR	Osaki <i>et al.</i> (2012)
	<i>Lactobacillus</i> spp.	16S rRNA gene-based qPCR	Osaki <i>et al.</i> (2012)
		Culture	Sun <i>et al.</i> (2003b)
		16S rRNA gene pyrosequencing (clone library)	Sun <i>et al.</i> (2003b)
		Culture	Yin <i>et al.</i> (2011)
	<i>L. gasseri</i>	16S rRNA gene pyrosequencing (clone library)	Sun <i>et al.</i> (2003b)
	<i>L. amylovorus</i>	16S rRNA gene pyrosequencing (clone library)	Sun <i>et al.</i> (2003b)
	<i>L. reuteri</i>	16S rRNA gene pyrosequencing (clone library)	Sun <i>et al.</i> (2003b)
	<i>L. murinus</i>	16S rRNA gene pyrosequencing (clone library)	Sun <i>et al.</i> (2003b)
Proteobacteria	<i>Escherichia coli</i>	Culture	Zaman <i>et al.</i> (2010)
	<i>Kluyvera</i> spp.	Culture	Zaman <i>et al.</i> (2010)

• 小鼠:

放线菌门、拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门、疣微菌门。

• 蒙古沙鼠:

放线菌门、拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门。

1. Yang I, *et al.* FEMS Microbiol Rev. 2013.
2. Sheh A, *et al.* Gut Microbes. 2013.

胃内微生物概况—胃内核心菌群

啮齿类动物与人胃内核心菌群最重要的两个差别：

1、**Hp的定植状况**：人胃内 $\text{pH} < 4$ ，而小鼠胃内 pH 在3-4之间，蒙古沙鼠胃内 $\text{pH} < 2$ ，因而构建动物模型时所需的Hp细菌量不同，感染成功后的定植密度也有差异。

2、**胃内非Hp细菌的组成**：人胃内的主要菌群为厚壁菌门、拟杆菌门和放线菌门；而小鼠胃内除了厚壁菌门、拟杆菌门外，还有不同比例的变形菌门、放线菌门、蓝藻菌门。而在人胃内主要的链球菌属和普雷沃氏菌属，在小鼠和蒙古沙鼠胃内则很少。

1. Yang I, et al. FEMS Microbiol Rev. 2013.
2. Sheh A, et al. Gut Microbes. 2013.

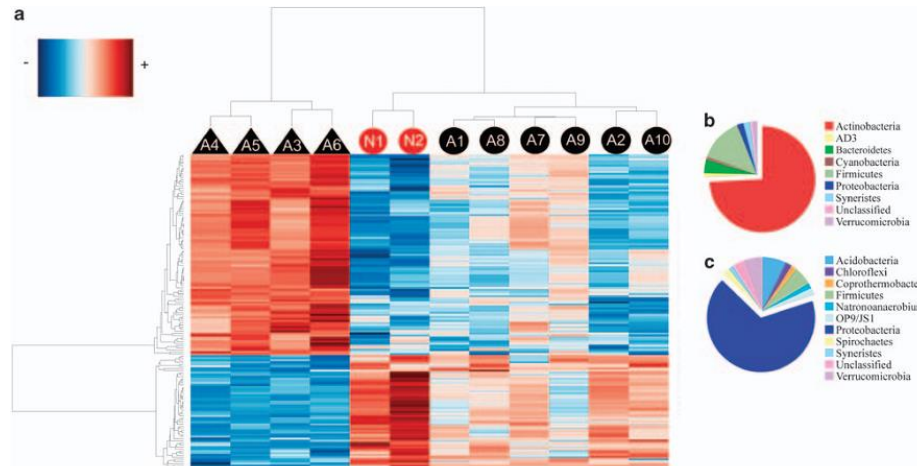
胃内微生物概况—影响因素

- 1、年龄：不同年龄阶段人群胃内优势菌群存在差异。
- 2、性别：例如正常男性胃内中变形菌门大于99%；而女性胃内以厚壁菌门(72.6%)和拟杆菌门(27.3%)为主。
- 3、饮食：例如用纯化的饲料喂养的小鼠，与普通饲料喂养小鼠相比，胃内乳酸杆菌增加。
- 4、药物：例如抗生素、PPI会影响胃内细菌结构。
- 5、感染：例如H. pylori感染会影响胃内细菌结构。
- 6、地域环境：有待进一步验证
- 7、个人习惯：有待进一步验证

幽门螺杆菌感染和胃内微生态

- 胃内微生物研究发展史
- 胃内微生态概况
- **Hp感染对胃内微生态的影响**
- 胃内微生态与Hp相关疾病
- 胃内微生态致病机制
- 微生物的临床应用

H. pylori感染对胃内微生态的影响

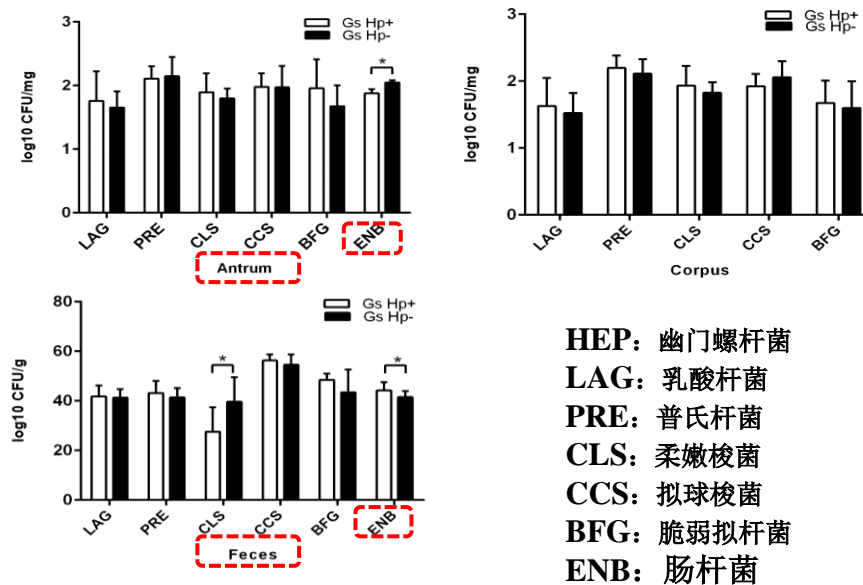


*H. pylori*阳性患者及健康人
胃内微生物组成

- 幽门螺杆菌阳性的患者胃粘膜组织中检测到的非幽门螺杆菌多为上呼吸道微生物，其优势菌群为链球菌属、奈瑟菌属、罗氏菌属、葡萄球菌属
- 正常志愿者胃内多为耐酸性的韦永氏球菌属、乳酸杆菌属、梭菌属^[1]。

H. pylori感染对胃内微生态的影响——我们的临床研究

幽门螺杆菌感染对慢性胃炎患者胃内微生物菌群的影响

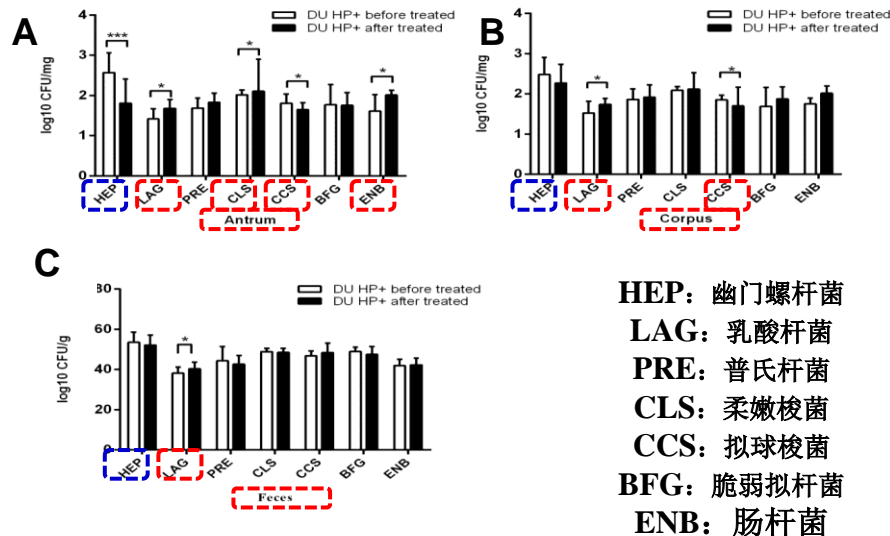


Hp阳性的慢性胃炎患者:

- 胃窦部肠杆菌数量下降;
- 粪便中的肠杆菌数量增加。

结果二

幽门螺杆菌根除前后的十二指肠球部溃疡患者特定微生物菌群数量的改变



Hp阳性十二指肠球部溃疡治愈后

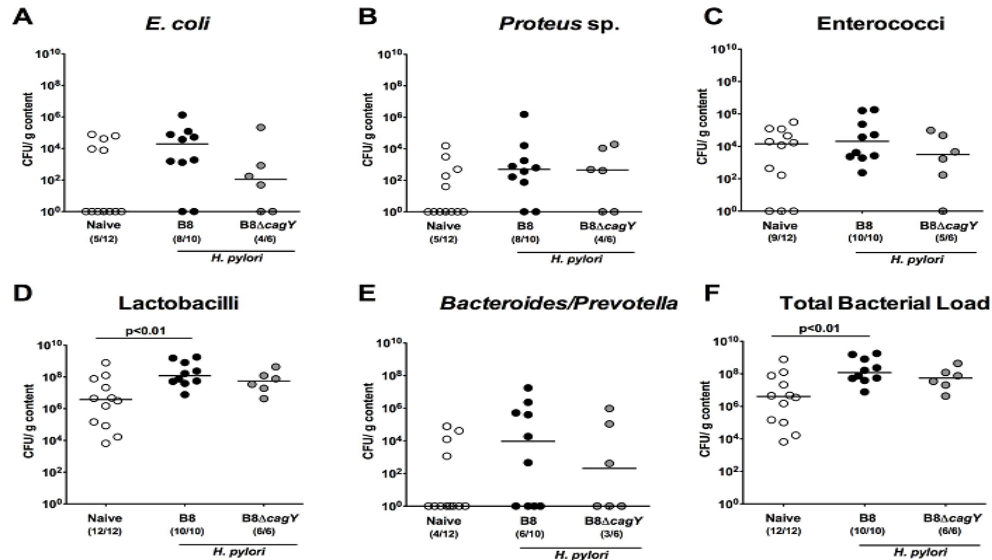
- 胃窦部乳酸杆菌、柔嫩梭菌、肠杆菌增多，拟球梭菌下降；
- 胃体部乳酸杆菌增多，拟球梭菌下降，粪便菌群中仅乳酸杆菌增多。

H. pylori感染对胃内微生态的影响

➤ 动物实验

蒙古沙鼠胃内原籍微生物群的组成可能被长期的幽门螺杆菌感染所破坏。在感染和未感染*H. pylori*的蒙古沙鼠胃黏膜中均检测到奇异菌属，双歧杆菌属，拟球梭菌属，柔嫩梭菌属，肠球菌属，乳酸杆菌属。而圆柱状真杆菌属、普氏菌属仅在*H. pylori*定植失败的胃黏膜中表达。

H. pylori感染对胃内微生态的影响



Hp对胃内微生态的影响还与菌株有关。

野生型Hp感染可增加胃内细菌总量，且乳酸杆菌数量增多；

而Cag⁻的Hp菌株对胃内微生态影响不明显。

大纲

- 胃内微生物研究发展史
- 胃内微生态概况
- Hp感染对胃内微生态的影响
- 胃内微生态与Hp相关疾病
- 胃内微生态致病机制
- 微生物的临床应用

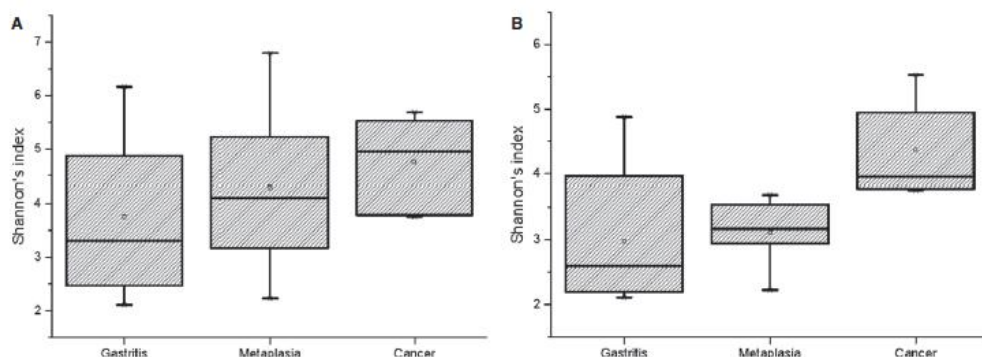
胃内微生物与Hp相关疾病

➤ 目前，胃内微生物的改变已经被认为是各种胃内疾病的重要病因。

萎缩性胃炎——胃内普氏菌属减少，链球菌明显增多

胃癌——胃内细菌种类减少，假单胞菌数目增多

➤ 幽门螺杆菌感染会明显改变胃内微生物的组成。



1. Yu G, et al. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2014.
2. Chang Soo Eun, et al. Helicobacter 19: 407–416.

胃内微生物生态与Hp相关胃癌

➤ 临床研究

胃癌患者的幽门螺杆菌数量相对较低，优势微生物菌群是由不同类别的链球菌属、乳酸菌属、韦永氏球菌属和普雷沃菌属构成，而这些菌种在胃癌发生发展中的致病机制有待进一步研究。另有研究发现，上消化道微生物生态结构与胃内癌前病变状态相关，胃内细菌的丰度下降与PG I / II 比例下降相关^[2]。

➤ 动物实验

幽门螺杆菌感染的基础下，肠道菌群（梭菌、拟杆菌、乳杆菌）加速幽门螺杆菌相关胃炎发展为上皮内瘤变的进程，促进胃癌的发生发展^[3]。

1. Dicksved J, et al. J Med Microbiol. 2009.
2. Yu G, et al. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2014.
3. Lertpirayapong K, et al. Gut. 2014.

胃内微生物生态与Hp相关胃癌

► 细胞实验

肠球菌促进胃癌细胞株内活性氧的生成，通过NF- κ B诱导促炎症细胞因子IL-8、TNF- α 的表达，以及阻止损伤DNA的修复，**促进胃癌的发生发展**^[1]。

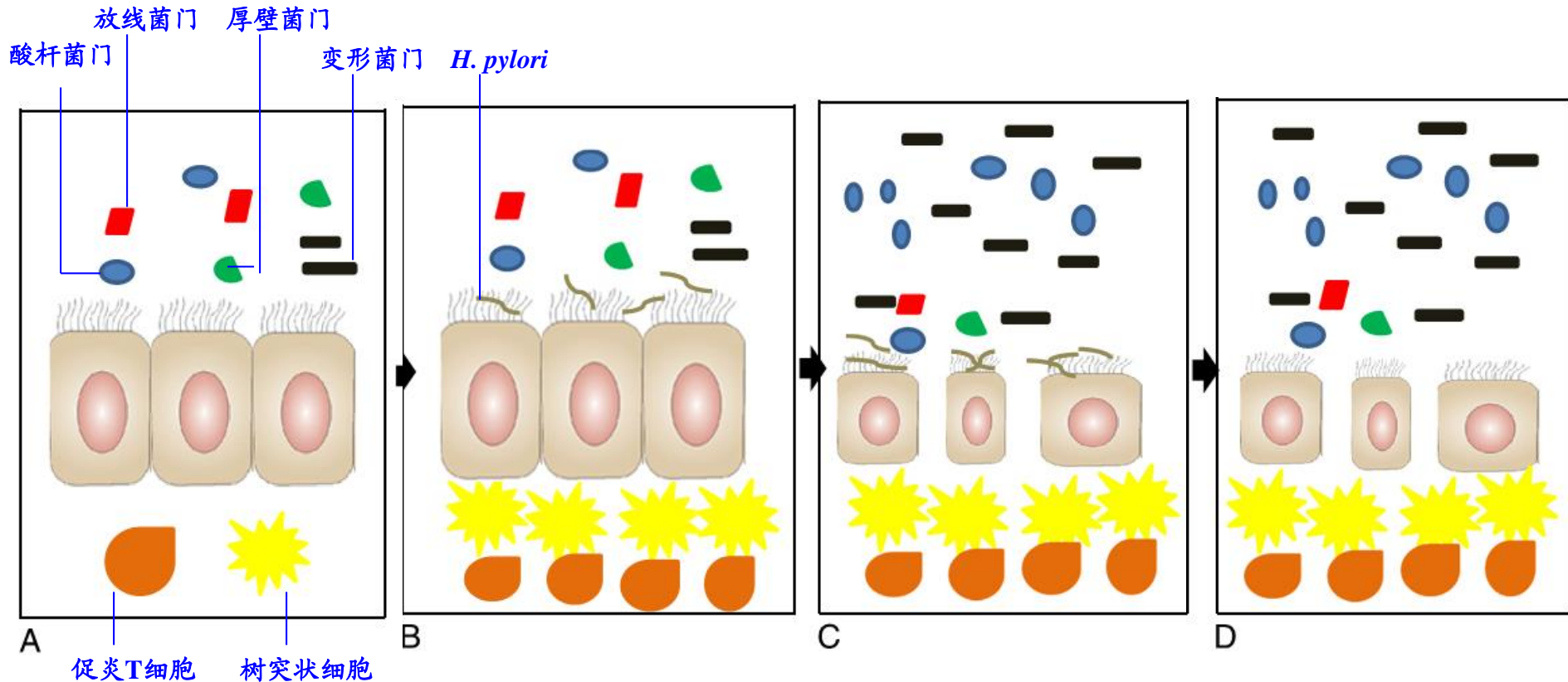
文献报道COX2在胃癌中高表达，且高表达的COX2胃癌患者生存率低^[2]。乳酸杆菌刺激胃癌细胞株后COX1，COX2表达水平的改变，提示**乳酸杆菌有抑制胃癌生长的作用**^[3]。

双歧杆菌细胞表面成分胞外多糖（EPS）可通过延长G0/G1期抑制胃癌细胞的生长，且呈剂量时间反应关系，随着浓度的降低，对胃癌细胞的抑制率有升高的趋势^[4]。

1. Strickertsson JA, et al. Plos One. 2013.
2. Mrena J, et al. Clin Cancer Res. 2005.
3. Mahkonen A, et al. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2008.
4. 陈旭等. 微生物学报. 2009.

胃内微生物与Hp相关胃癌

Hp和其他细菌在炎症转变过程中cross-talk模式图



Hp长期定植及微生态紊乱共同影响胃黏膜屏障完整性，破坏上皮屏障，建立有利于肿瘤发展的微环境。Hp感染后健康状态Hp菌刺激黏膜的cross-talk。Hp和过度生长细菌的某些成分，共同影响机体免疫状态，破坏上皮屏障，建立有利于肿瘤发展的微环境。

大纲

- 胃内微生物研究发展史
- 胃内微生态概况
- Hp感染对胃内微生态的影响
- 胃内微生态与Hp相关疾病
- 胃内微生态致病机制
- 微生物的临床应用

潜在机制——微生物生态与免疫

➤ 已有研究表明，共生菌群可以通过调节 T 细胞的分化来影响机体免疫^[1]，而一些特定菌株及其代谢产物，则能直接影响宿主 T 细胞的发育和分化，如：

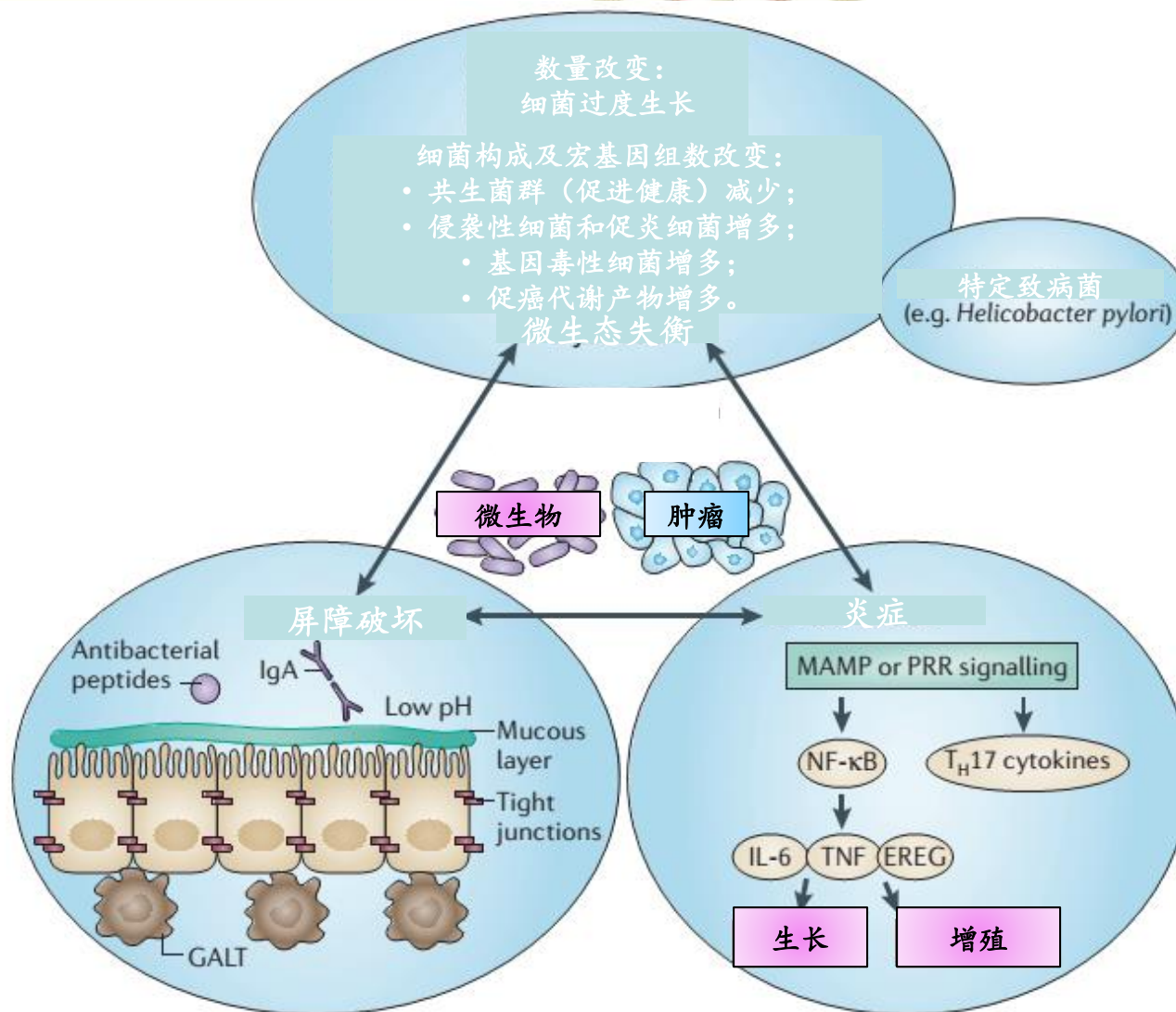
分节杆菌能诱导 Th17 细胞反应^[2]，

脆弱拟杆菌和梭菌能诱导 Treg 细胞反应^[3, 4]，

梭菌的代谢产物短链脂肪酸、丁酸能促进小鼠 Treg 细胞的生成^[5, 6]。

1. Chung H, et al. Cell. 2012.
2. Ivanov II, et al..Cell. 2009.
3. Round JL, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2010.
4. Atarashi K, et al. Science. 2011.
5. Smith PM, et al. Science. 2013.
6. Arpaia N, et al. Nature. 2013.

潜在机制——微生物生态致肿瘤的免疫炎症机制



微生物致癌机制模式图

潜在机制——胃-脑/肠-脑轴

胃-脑轴 (stomach-brain axis)

是肠-脑轴的一部分，对摄食、饱足、糖代谢和脂代谢均有影响。

电刺激

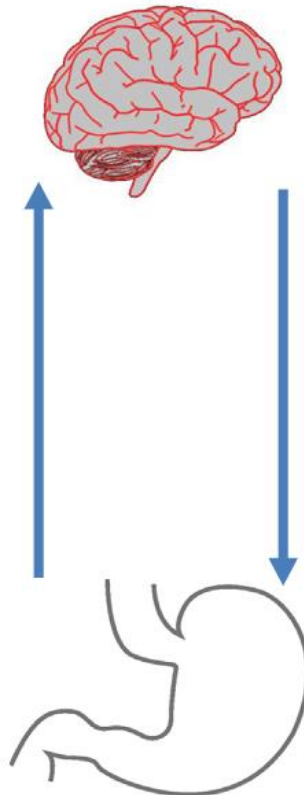
- 激活脑干、杏仁核和枕叶区域
- 抑制中枢痛觉反应

机械刺激

- 前扣带皮层发送抑制信号（将阿片、血清素、去甲肾上腺素等释放至脊髓背角），抑制疼痛信号。

有害的腔内容物

- 激活孤束核，诱导呕吐；激活延髓和下丘脑



头侧刺激

- 增加胃酸分泌

心理应激

- 抑制消化间期
- 对基础胃酸分泌无影响
- 膳食刺激反应变量

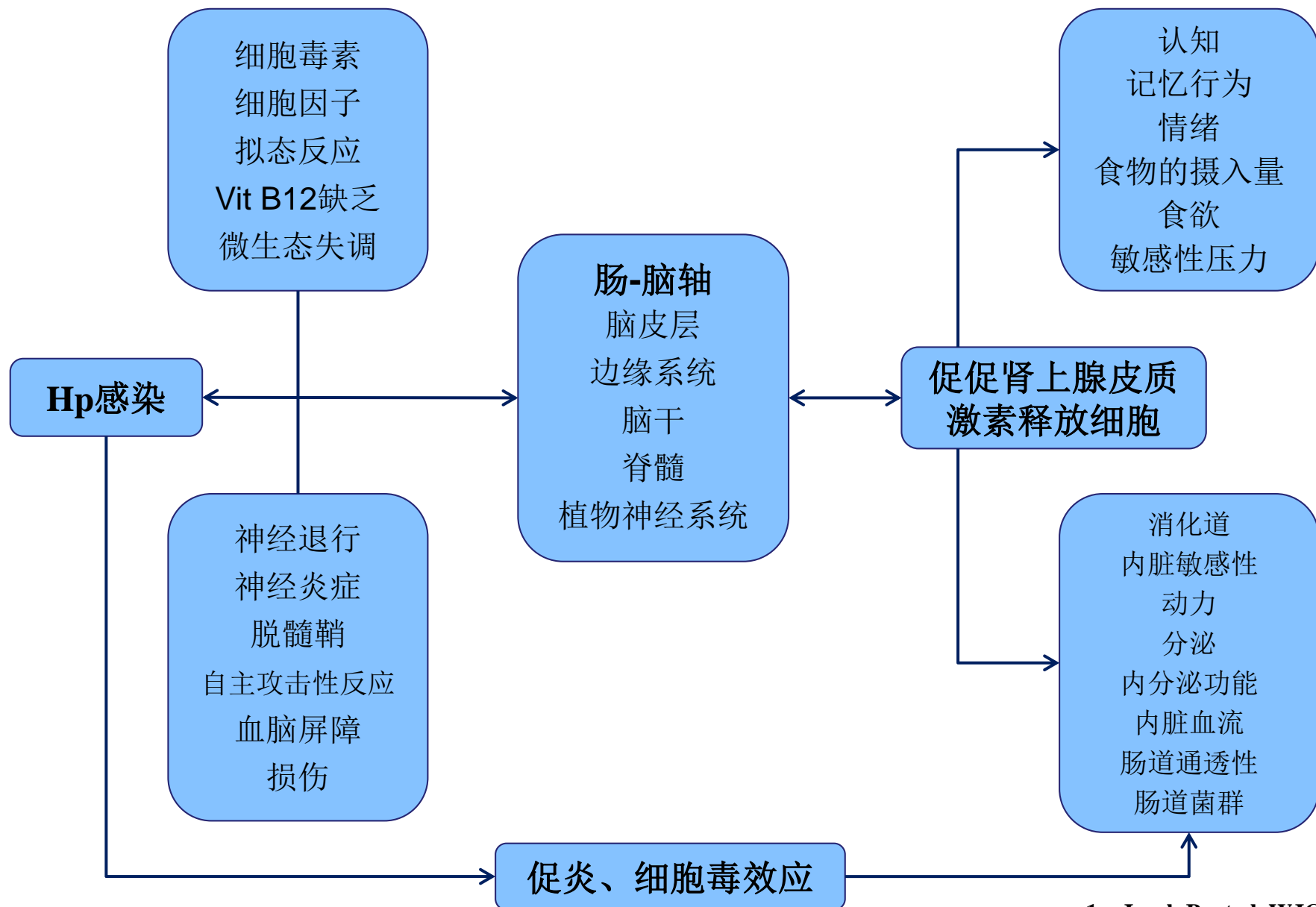
放松（催眠）

- 减少刺激胃酸分泌

麻醉

- 抑制胃排空

Hp感染参与肠-脑轴的病理生理学机制



大纲

- 胃内微生物研究发展史
- 胃内微生态概况
- Hp感染对胃内微生态的影响
- 胃内微生态与Hp相关疾病
- 胃内微生态致病机制
- 微生物的临床应用

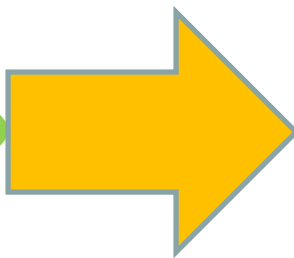
微生物生态的调节

传统感染观念 强调从疾病病因出发，通过一味地杀灭致病菌来治疗疾病。

- 抗生素滥用

- 免疫抑制剂

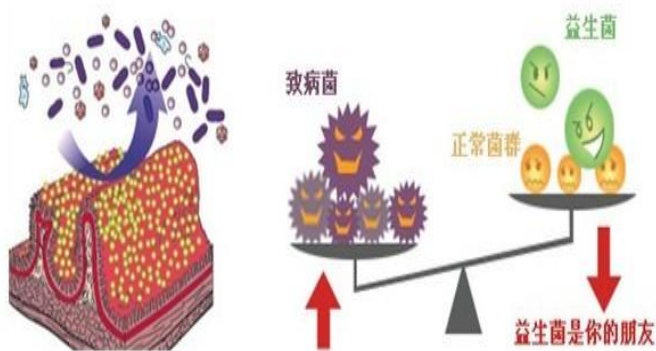
- 手术等创伤



微生物生态的调节

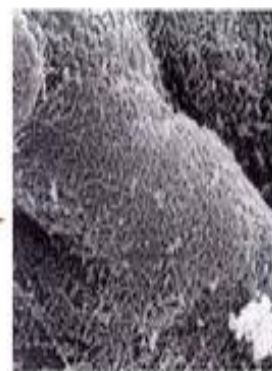
现代感染观念 从健康出发，注重菌群平衡，维护整体功能，同时通过杀菌及促菌来提高防治效率，合理利用抗生素，减少耐药性的发生，维护微生物生态的平衡从而促进人类健康。

益生菌 是一类对宿主有益的活性微生物，是定植于人体肠道、生殖系统内，能产生确切健康功效从而改善宿主微生物生态平衡、发挥有益作用的活性有益微生物的总称。



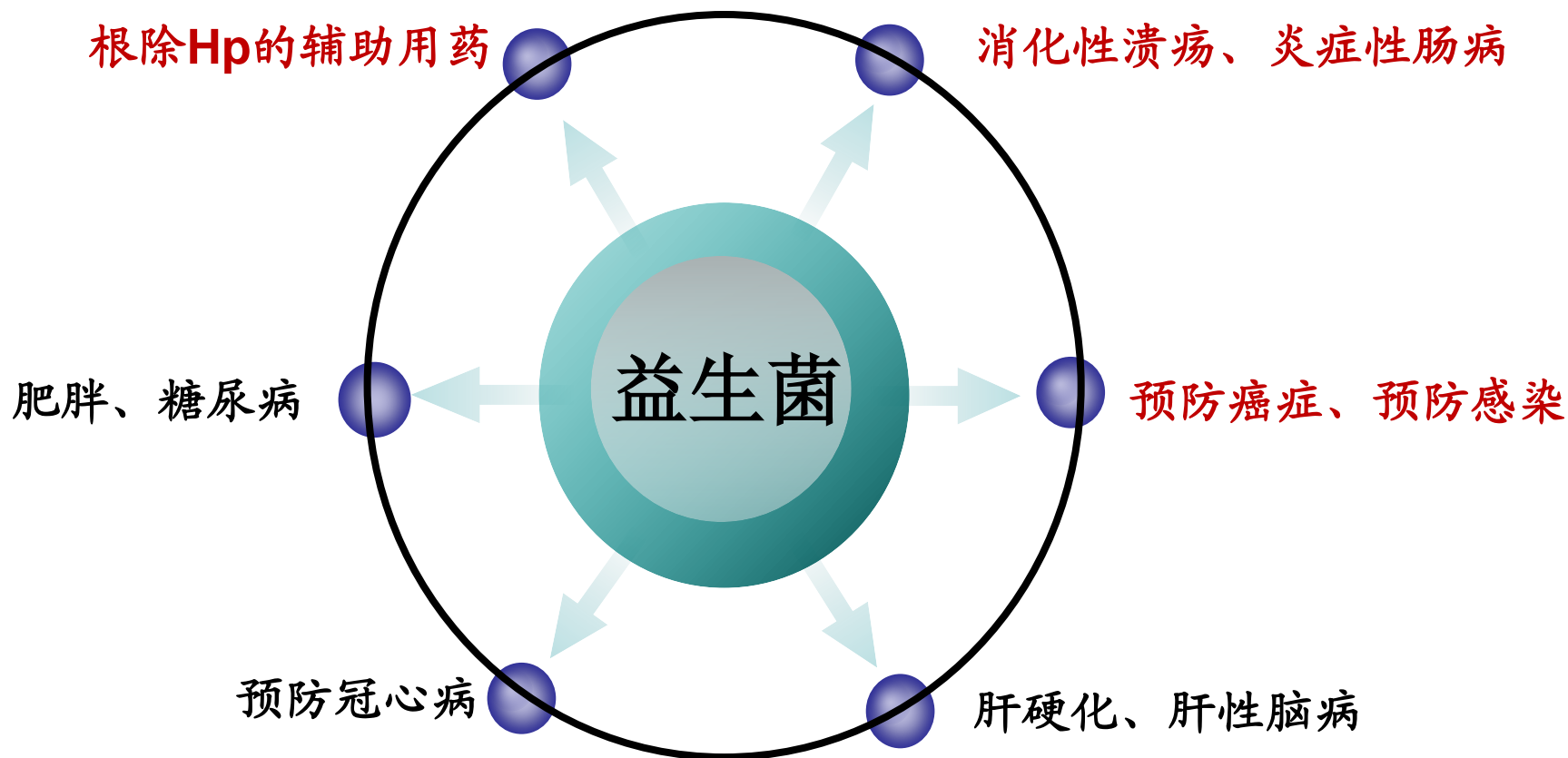
不平衡菌相

服用益生菌后



健康平衡菌相

微生物的调节——益生菌的临床应用



微生物的调节——辅助根除 *H. pylori*

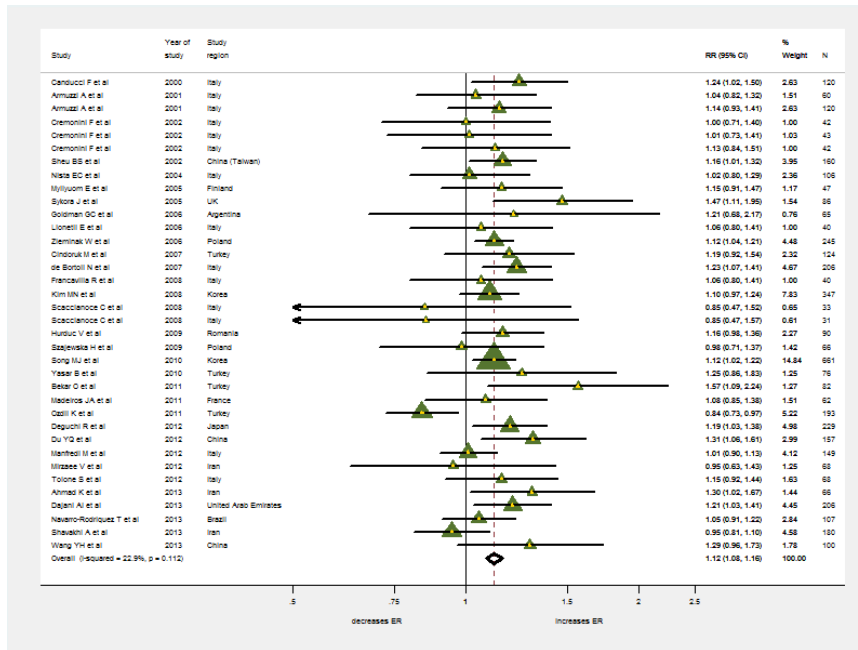


图1：根除率森林图

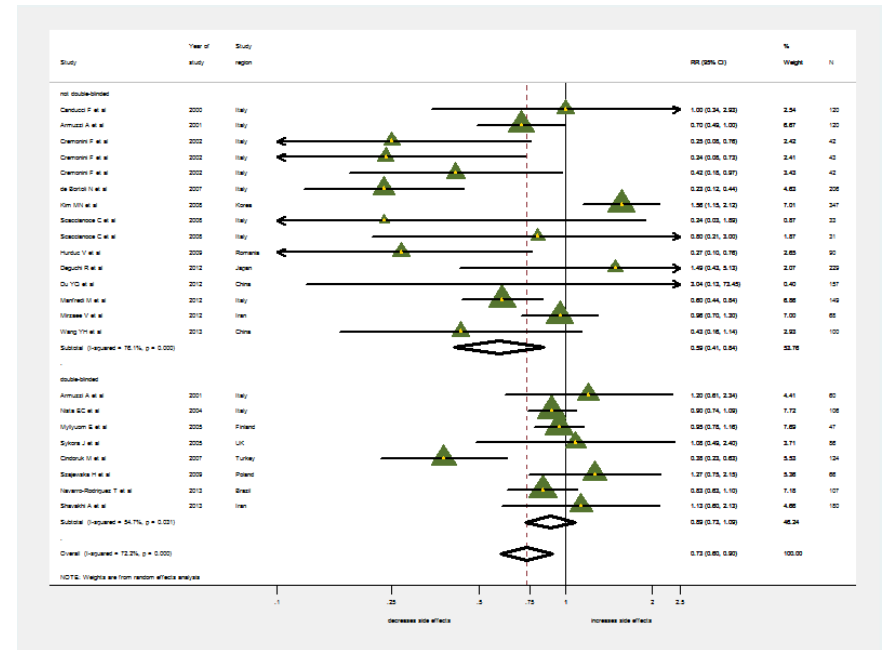


图2：副反应森林图

本课题组对31篇已发表文献进行meta分析，发现益生菌辅助治疗能有效提高 *H. pylori* 根除率，并减少治疗过程中不良反应的发生。

微生物生态的调节——治疗*H. pylori*感染

- *H. pylori*感染的蒙古沙鼠，长期使用含嗜酸乳杆菌及乳酸双歧杆菌等益生菌的酸奶可以降低*H. pylori*感染率、减轻*H. pylori*感染诱发的炎症反应，IL-10表达增加而TNF- α 表达下降^[1]。
- 研究表明益生菌及其代谢产物可通过抑制幽门螺杆菌在胃黏膜上皮的定植和生长，降低幽门螺杆菌活力，并破坏细胞壁等方式来抑制和杀灭幽门螺杆菌^[2]。

微生物生态的调节——粪菌移植治疗

➤ 粪菌移植（fecal microbiota transplantation, FMT）是指将健康人粪便内的细菌移植到病人肠道内，纠正肠道菌群失调，恢复正常菌群，从而治疗相关疾病，是恢复胃肠道菌群结构**最直接、最有效**的方式。

➤ 作用机制：

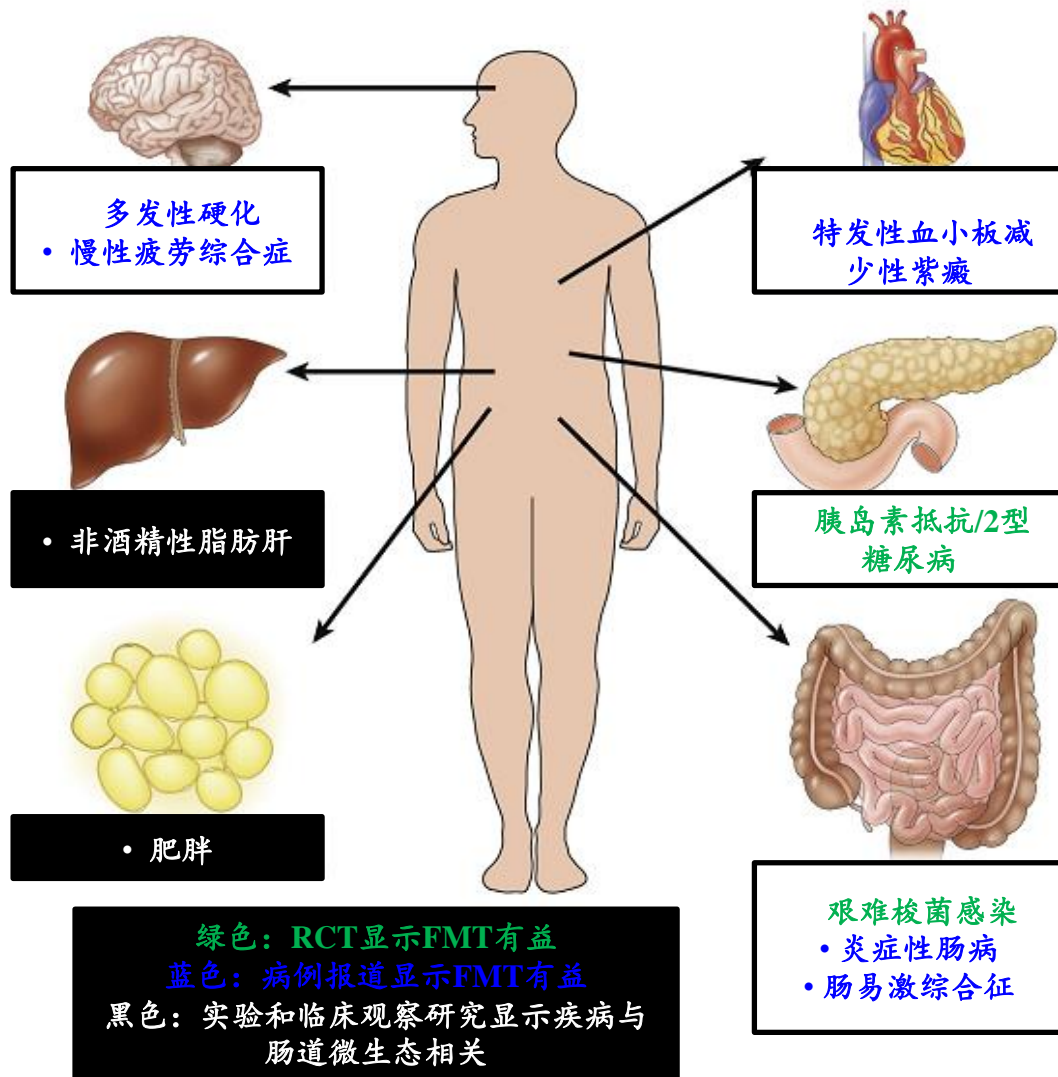
- 1) 通过竞争性抑制恢复优势菌种比例，
- 2) 通过参与代谢反应影响致病菌群的生命活动^[1]，
- 3) 移植菌群作用于受体免疫系统，诱发促炎或抗炎反应，恢复免疫功能^[2]。

1. Petrof EO, et al. Gastroenterology. 2014.

2. Pamer EG. Mucosal Immunol. 2014.

微生物的调节——粪菌移植治疗

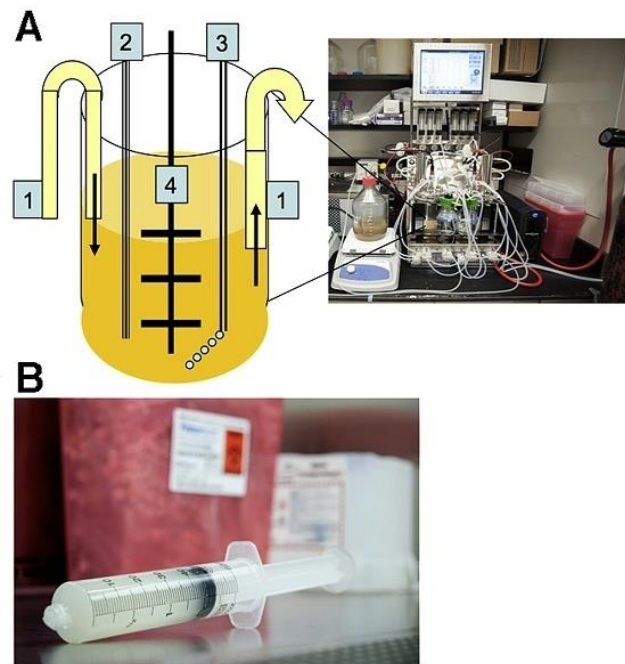
粪菌移植的临床应用



微生物的调节——粪菌移植治疗

➤ 粪菌移植未来发展的两个可行方向:

- 1、分离出健康志愿者的所有粪菌成分，制备粪菌合剂。
- 2、针对特定疾病，组合特定菌群，制备微生物治疗。



Thank you for your attention!