

Exploration on the Antibiotic Resistance of Helicobacter Pylori from the Perspective of Pathogenic Bacteria

Yan Li¹ Ruifang Guo^{2*}

1.Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010000, China

2.Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, 010000, China

Abstract

Helicobacter pylori (Helicobacter pylori, Hp) is a common gastrointestinal pathogen, the infection rate in the population can be as high as 90%. Although multiple antibiotic regimens are effective in Hp eradication, the emergence of antibiotic-resistant Hp strains is compromising therapeutic efficacy. The increasing antibiotic resistance of Hp poses great problems for human health. This review mainly explores the drug resistance of Hp to antibiotics from the perspective of pathogens, so as to improve the understanding of drug resistance mechanisms and provide a reasonable and effective basis for the treatment of Hp infection.

Keywords

helicobacter pylori; antibiotic resistance; drug resistance mechanism

从病原菌角度探讨幽门螺杆菌对抗生素的耐药性

李艳¹ 郭瑞芳^{2*}

1.内蒙古医科大学, 中国·内蒙古 呼和浩特 010000

2.内蒙古自治区人民医院, 中国·内蒙古 呼和浩特 010000

摘要

幽门螺杆菌 (Helicobacter pylori, Hp) 是常见的胃肠道致病菌, 在人群中的感染率可高达90%。虽然多种抗生素方案可以有效根除Hp, 但抗生素耐药Hp菌株的出现正在危及治疗效果。Hp抗生素耐药性不断增加, 给人类健康带来了极大的问题。本综述主要从病原菌角度探讨Hp对抗生素的耐药性, 从而提高对耐药机制的认识, 为治疗Hp感染提供合理有效的依据。

关键词

幽门螺杆菌; 抗生素耐药性; 耐药机制

1 引言

幽门螺杆菌 (Helicobacter pylori, Hp) 是一种呈螺旋状的微需氧革兰氏阴性杆菌, 长期定植于人体的上消化道黏膜上^[1]。其感染在世界范围内流行, 感染了 50%~70% 的世界人口, 中国的感染率约为 55.8%^[2]。它与慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴瘤、胃癌的发生发展密切相关, 是胃癌的 I 类致癌原^[3,4]。目前中国多采用“质子泵抑制剂 + 两种抗生素 + 铋剂”组成的四联疗法作为根除 Hp

的一线治疗方案^[5], 但由于抗菌药物的不规范使用, 导致 Hp 耐药性逐年上升, 根除 Hp 遇到了前所未有的挑战。因此, 抗生素耐药性已成为成功根除 Hp 的关键。近年来发现 Hp 对不同的抗菌或杀菌抗生素通过不同的机制产生耐药性。

2 细胞靶点的突变以逃避抗生素活性

2.1 与核酸合成相关的基因突变

一些抗生素可以阻断细菌 DNA 的复制和转录, 抑制细菌的分裂和繁殖。在耐药的情况下, 抗菌靶基因的突变可能会使 Hp 逃避抗生素活性。

DNA 旋转酶由 *gyrA/B* 基因编码, 在 DNA 复制、重组和转录中发挥重要作用。因此, *gyrA* 和 *gyrB* 基因突变可以阻止抗生素和酶的结合, 导致细菌 DNA 不可逆转的损伤, 这是导致 Hp 氟喹诺酮类药物的主要原因。喹诺酮类耐药性多为 *gyrA* 基因的耐药决定区域的突变所致^[6]。在该区域已经发现了两个与喹诺酮类药物耐药有关的氨基酸位点: N87 和 N91, 高水平耐药性与 N87I 或 N87K 突变一致,

【基金项目】内蒙古自治区重大专项 (项目编号: 2021ZD0014); 内蒙古营养学会青年科研基金 (项目编号: QNJJ202201)。

【作者简介】李艳 (1998-), 女, 蒙古族, 中国内蒙古兴安盟人, 在读硕士, 从事消化内科研究。

【通讯作者】郭瑞芳 (1968-), 女, 中国内蒙古呼和浩特人, 博士, 二级主任医师, 从事消化内科研究。

而低水平耐药性存在于具有 D91G 或 D91Y 突变的分离株中^[7,8]。此外,新发现的一些突变位点,如 D99N/D22G/D11N 也被发现与喹诺酮类耐药有关^[9]。虽然 *gyrB* 突变也可以在喹诺酮类药物耐药中发挥作用,但这些突变通常与 *gyrA* 突变共存^[10]。已知的可能导致耐药性的 *gyrB* 基因突变包括 D481E、D484G12、R484K^[9],但这些突变的发生率明显低于 *gyrA* 突变。

氧化还原系统通过电子传递完成一系列反应,以维持病原体的生长和生存,在微生物的生长发育中起着重要的作用。在 Hp 中,氧化还原酶编码基因包括 *rdxA* (编码氧不敏感的 NADPH 硝基还原酶)、*frxA* (编码 NADPH: 黄素氧化还原酶) 和 *fdxB* (编码铁还蛋白样蛋白)。这些氧化还原酶编码基因的移码、插入和缺失突变可导致酶活性丧失,这是 Hp 对甲硝唑耐药的主要机制。Chu^[11] 等人通过自然转化实验和在纽约进行的全基因组测序证实, *rdxA* 中 R16H 突变与表型耐药高度相关, κ 系数为 0.76。这表明 *rdxA* 的 R16H 突变有助于以 100% 特异性确定甲硝唑耐药性。*frxA* 基因的突变存在一些争议,认为 *frxA* 基因单独突变无法诱导 Hp 分离株的甲硝唑耐药性,只有在 *fdxA* 基因突变的情况下 *frxA* 基因的突变增加 Hp 耐药性^[12,13]。

2.2 与蛋白质翻译相关的基因突变

核糖体 RNA (rRNA) 作为信使核糖核酸的骨架,促进多肽链的合成。23S rRNA 是核糖体 50S 大亚基的一部分,其 V 区具有多肽酰基转移酶活性。一些抗生素与 23S rRNA 的 V 区结合,抑制细菌蛋白质的合成。23S rRNA 基因 V 域内的点突变已被证明降低了大环内酯类化合物(如克拉霉素)与 23S 核糖体亚单位的结合能力^[14]。最普遍且有据可查的突变发生在两个特定的相邻核苷酸位置,即在 2142 位 (A2142G) 或 2143 位 (A2143G) 处发生腺嘌呤到鸟嘌呤的转变,或者在不太常见的位置 2142 (A2142C) 发生腺嘌呤到胞嘧啶的转变。此外,还发现了一些新的突变位点,包括 A2115G、A2144T、G2141A、G2224A、G2144T 和 C2245T。这些新突变是否与核糖体结合能力降低有关还有待证实。最近,一项研究发现编码核糖体蛋白 L22 的 *hp1314* (*Rpl22*) 基因也与 Hp 克拉霉素耐药有关。

16S rRNA 是原核生物 30S 核糖体小亚基的一部分,具有与 23S rRNA 相似的功能。16SrRNA 编码基因突变会降低抗生素与核糖体的亲和力,这是导致抗生素对四环素等抗生素产生耐药性的主要原因。Hp 对四环素的耐药性很少见,涉及四环素主要结合位点的突变常见于 926-928 位上的 *rmA/B* 基因内的碱基对替换。

2.3 与细胞壁合成相关的基因突变

编码青霉素结合蛋白 (PBPs) 基因中的点突变导致阿莫西林耐药,在这些基因中, *pbp1A* 基因似乎是关键之一。在最近的一项研究中有新的发现,即 *pbp1A* 基因的插入突变 *Glu/Asn*₄₆₄₋₄₆₅ 和 *Ser/Ala/Gly*₅₉₅₋₅₉₆ 以及其他邻近的突变与

阿莫西林耐药有关。但需要进一步的研究来验证这些突变在赋予阿莫西林耐药性中的作用。

3 减少抗生素在细胞内的积累,从而降低抗菌活性

抗生素需要穿过细胞壁和细胞膜的渗透屏障,才能进入细胞内环境,在那里它们通过与靶标结合来发挥抗菌作用。在耐药的情况下, Hp 可以通过改变其外排系统或细胞膜来减少抗生素化合物在细胞内的积累,从而降低抗菌活性。

3.1 外排泵

细菌中有一系列运输蛋白,可以获取营养并挤出代谢副产物,其中一些蛋白质称为外排泵。微生物通过外排泵排除有毒物质(抗菌剂、代谢物和群体感应化学信号)来调节内部环境以适应其外部环境。细菌外排泵有六大家族,其中 RND 超家族的 *AcrAB-TolC* 外排泵是导致多药耐药的最重要的外排系统。外排泵的过表达可能与甲硝唑、多西环素、克拉霉素和红霉素引起的耐药模式有关。虽然 Hp 外排泵由许多转运体组成,但参与 Hp 耐药的蛋白质很少,这些蛋白质是否参与 Hp 耐药调控还需要进一步研究。药物外排泵不仅介导固有和获得性多药耐药,还参与其他功能,包括细菌应激反应和致病性。此外,外排泵与其他耐药机制(如与外膜渗透性屏障)协同作用,以提高耐药水平。

3.2 细胞膜通透性降低

研究表明, Hp 外膜蛋白在耐药机制中也起着重要作用。在耐药的情况下,外膜蛋白 (OMP) 的高表达形成了一种天然屏障,减少了抗生素化合物在细胞内的积累。*HomB* 和 *HomA* 是 Hp 研究中研究最多的 OMP,因为它们具有依从性,超生物膜形成,抗生素耐药性中起着至关重要的作用,并且还参与严重的胃恶性肿瘤。但 *HomA* 和 *HomB* 在有关其结构和功能的发病机制中的作用尚未得到评估。

3.3 生物膜的形成

生物膜是一种高度结构化和空间排列的微生物细胞砾岩,浸入自产的细胞外基质中,与周围环境形成一个间期。这种结构使微生物生产者能够聚集并提高它们在不利条件下的存活率。在 1999 年, Stark 等人首次证实了 Hp 具有形成生物膜的能力。生物膜的形成代表了一种独立的机制,可能有助于抗生素耐药性的发展和/或加强, Krzyżek 等人观察到对克拉霉素耐药或具有多重耐药的 Hp 菌株中生物膜形成能力显著提高。尽管在上述背景下这一过程的重要性对于 Hp 仍然知之甚少,无疑需要进一步探索。

4 影响抗生素活性的毒力因子的分泌

Hp 相关的三大毒力因子在细菌感染过程中各有独特的进入途径和致病机制,其中细胞毒素相关基因 A (*CagA*) 和空泡细胞毒素 A (*VacA*) 是研究最多的。感染 *CagA-VacA s1m1* 阳性菌株会增加严重胃肠道疾病的风险。同时

表明,携带 CagA 和 VacA 产物的菌株可以增加根除 Hp 感染的机会。然而,报告存在异质性,有人研究了 CagA-致病性岛 (CagPAI) 与甲硝唑耐药性的相关性,他们发现含有完整 CagPAI 区域的菌株对甲硝唑敏感,而具有部分缺失的 CagPAI 区的菌株对甲硝唑耐药。Karbalaei 等人也表明,CagA 阳性菌株可以显著增加对甲硝唑的耐药性。此外,他们还观察到 VacA s1m1 显著增加了对甲硝唑的耐药性,而 VacA s1m2 降低了对克拉霉素和甲硝唑的耐药性。一些作者分析了毒力基因和克拉霉素耐药性,有人认为 VacA 和 CagA 基因型会影响 Hp 的根除率。Alarcón-Millán 等人对毒力因子和克拉霉素耐药相关突变的研究表明, VacA s1m1 / CagA+ 基因型与 A2142G 突变有关。这一结果与 Agudo 等人报道的不一致,他们认为 Hp 分离株中的克拉霉素耐药性与 VacA s2 / m2 基因型密切相关;而与 23S rRNA 基因突变和 VacA/CagA 基因型不相关。不同的研究得出不同的结果,因此需要多中心研究来研究克拉霉素耐药相关突变与 Hp 的 VacA/CagA 基因型之间的关系。

5 形态变异阻止抗生素清除

形态变异性是与微生物适应环境条件和增加对抗菌物质的耐受性相关的表型特征之一。Hp 可以在不利条件下发生形态变异,并可以从螺旋形转变为可存活但不可培养的球状。从螺旋 / 杆状变为球状的能力与该细菌细胞的许多生理变化有关,这些变化伴随着避免宿主免疫系统检测的能力增强和抗生素敏感性的显著降低。有研究表明,球状 Hp 形式的存在是与患者治疗失败相关的独立危险因素。Kadkhodaei 等人能够获得仅以球状形式出现的可培养 Hp,与螺旋形亲本菌株不同,前者的特征是黏液分泌过多且对所有测试的抗生素耐药。杨梅素作为一种抗毒化合物能够干扰杆状或螺旋状 Hp 转化为球状体,并且增强抗生素对 Hp 的活性。目前对球状 Hp 形式作用的认识水平不足。确定抗菌物质对 Hp 活性的研究往往忽略了这些细菌产生球形的能力。然而,这种机制可能在降低抗菌治疗的有效性方面具有至关重要的作用。因此,扩大对球形 Hp 形式及其对抗菌物质活性的影响的认识非常重要。

6 结语

尽管我们对 Hp 耐药的了解取得了重要进展,但仍有许多挑战有待解决。关于病原菌耐药性,目前除 23S rRNA 和 gyrA 基因突变检测外,甲硝唑耐药性的 rdxA 预测在实验上仍有困难,开发更有效的基因检测方法将有助于解决这一问题。重要的是,目前的分子检测一般只检测影响某些抗生素耐药性的特定突变,而不检测外排泵、膜通透性、毒力因子、球状或其他耐药机制的变化,因此,需要在这些领域进行进一步研究。未来的研究应进一步探索与 Hp 耐药相关的分子机制,建立一套完善的分子检测方法,并利用已确定的分子

靶点建立精确的治疗模型。

参考文献

- [1] Peleteiro B, Bastos A, Ferro A, et al. Prevalence of Helicobacter pylori infection worldwide: a systematic review of studies with national coverage[J]. Digestive diseases and sciences, 2014(59):1698-1709.
- [2] Hu Y, Zhu Y, Lu N H. The management of Helicobacter pylori infection and prevention and control of gastric cancer in China[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2022(12):1794.
- [3] Sugano K, Tack J, Kuipers E J, et al. Kyoto global consensus report on Helicobacter pylori gastritis[J]. Gut, 2015, 64(9): 1353-1367.
- [4] 张薇,吴李培,宣世海.东台地区幽门螺杆菌多重耐药现状和相关基因突变的分析[J].实用预防医学, 2019, 26(3): 364-367.
- [5] 刘文忠,谢勇,陆红,等.第五次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告[J].中国实用内科杂志, 2017, 37(6): 509-524.
- [6] Rhie S Y, Park J Y, Shin T S, et al. Discovery of a novel mutation in DNA gyrase and changes in the fluoroquinolone resistance of Helicobacter pylori over a 14-year period: A single center study in Korea[J]. Antibiotics, 2020, 9(6): 287.
- [7] Murakami K, Okimoto T, Kodama M, et al. Sitafloxacin activity against Helicobacter pylori isolates, including those with gyrA mutations[J]. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2009, 53(7): 3097-3099.
- [8] Mannion A, Dzink-Fox J A, Shen Z, et al. Helicobacter pylori antimicrobial resistance and gene variants in high-and low-gastric-cancer-risk populations[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2021, 59(5): 10.
- [9] Saranathan R, Levi M H, Wattam A R, et al. Helicobacter pylori infections in the Bronx, New York: surveying antibiotic susceptibility and strain lineage by whole-genome sequencing[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2020, 58(3): 10.1128.
- [10] Miftahussurur M, Shrestha P K, Subsomwong P, et al. Emerging Helicobacter pylori levofloxacin resistance and novel genetic mutation in Nepal[J]. BMC microbiology, 2016, 16(1): 1-10.
- [11] Chu A, Wang D, Guo Q, et al. Molecular detection of H. pylori antibiotic-resistant genes and molecular docking analysis[J]. The FASEB Journal, 2020, 34(1): 610-618.
- [12] Marques B, Donato M M, Cardoso O, et al. Study of rdxA and frxA genes mutations in metronidazole-resistant and-susceptible Helicobacter pylori clinical isolates from the central region of Portugal[J]. Journal of global antimicrobial resistance, 2019(17): 300-304.
- [13] Binh T T, Suzuki R, Trang T T H, et al. Search for novel candidate mutations for metronidazole resistance in Helicobacter pylori using next-generation sequencing[J]. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2015, 59(4): 2343-2348.