

幽门螺杆菌中国菌株致病相关基因 *cagA*、*iceA*、*vacA* 及 HP0519 分布分析

张茂俊 何利华 王振宇 周增芬 张建中

【摘要】目的 分析中国不同人群及不同胃部疾病病例来源的幽门螺杆菌致病相关基因 *cagA*、*iceA*、*vacA* 及 HP0519 的分布。**方法** 采用特异引物聚合酶链式反应(PCR)方法分析 150 株幽门螺杆菌上述基因的多态性分布特点,并对其分布作初步统计分析。**结果** 93% (139/150) 中国菌株 *cagA* 基因 3' 端重复序列的 PCR 产物具有东方菌株特征。75% (113/150) 菌株 *iceA* 基因为 *iceA1*, 19% (29/150) 为 *iceA2*, 不同地区间 *iceA* 基因的分布差异无统计学意义。云南菌株 *iceA1*、*iceA2* 的分布与菌株分离个体的种族特点及临床疾病类型无显著关系。96% 中国菌株(144/150) *vacA* 基因 s 区的等位基因为 s1; m 区等位基因 m2、m1b 和 m1b-m2 的比例分别为 57% (85/150)、27% (41/150) 和 11% (16/150), 仅 2 株福建菌株为 m1a。不同地区间 *vacA* s1、m2、m1b 分布的差异无统计学意义。云南菌株 m1b-m2 的分布高于福建和北京菌株。云南菌株 *vacA* s 区等位基因的多样性与分离个体的种族及临床疾病类型无显著关系。*vacA* m 区等位基因的多样性与分离个体的临床疾病类型无显著关系, 但不同民族间 m2 的分布有显著差异, 白族人群 m2 的分布显著少于汉族和纳西族。93% (140/150) 的中国菌株 HP0519 基因具有 24 bp 和 15 bp DNA 插入和缺失的多态性特点。不同地区间 HP0519 基因的多态性无显著不同。云南菌株 HP0519 的多态性与菌株分离个体的临床疾病类型无显著关系, 但来源不同民族菌株的 HP0519 基因存在差异。**结论** 幽门螺杆菌中国菌株 *cagA* 3' 端 JF/TR 特异引物的扩增结果具有东亚菌株特点。中国菌株 *vacA* 基因多为 s1, 其分布与菌株分离个体的临床疾病类型无关。中国菌株 *vacA* 基因 m 区的分布具有多样性。中国菌株 HP0519 基因具有 24 bp 和 15 bp 插入和缺失的多态性特点。

【关键词】 幽门螺杆菌; 致病相关基因

Distribution of *cagA* 3' region, *iceA*, *vacA* and HP0519 on *Helicobacter pylori* isolated from China
ZHANG Mao-jun*, HE Li-hua, WONG BC, ZHOU Zeng-fen, ZHANG Jian-zhong. *National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

Corresponding author: ZHANG Jian-zhong, Email: helico@public.bta.net.cn

【Abstract】Objective This study was aimed to characterize the *Helicobacter pylori* strains isolated from different geographic regions in China and different ethnic groups in Yunnan province in terms of *cagA*, *iceA*, *vacA* and HP0519 genes which were proposed to be related to the pathogenesis. **Methods** 150 *Helicobacter pylori* strains were collected from Yunnan province, Fujian province and Beijing. Chromosome DNA was extracted and polymerase chain reaction (PCR) was carried out to determine the 3' region of *cagA*, *iceA*, *vacA* and HP0519 status with specific primers. PCR results were analyzed statistically according to their isolated original and clinical outcomes. **Results** For *cagA* 3' region, 93% (139/150) of the Chinese *Helicobacter pylori* strains belonged to East Asian type according to the specific primer of TF/JR. Among the 150 strains, 75% (113/150) belonged to *iceA1*, and 19% (29/150) to *iceA2*. The dissemination of *iceA* was not associated with any of the geographic regions, different ethnic groups or different clinical outcomes. 96% (144/150) of the *vacA* s region belonged to s1. In the *vacA* middle region, m2, m1b, m1b-m2 were 57% (85/150), 27% (41/150) and 11% (16/150) respectively. However, m1a was only observed in two strains from Fujian. Neither *vacA* s1 nor m2 showed significant

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30370078)

作者单位:102206 北京,中国疾病预防控制中心传染病预防控制所诊断室(张茂俊、何利华、张建中);香港大学皇家玛丽医院内科(王振宇);昆明医学院第一附属医院消化科(周增芬)

通讯作者:张建中, Email: helico@public.bta.net.cn

difference between Yunnan, Fujian and Beijing. However, the distribution of m1b-m2 in Yunnan was higher than that in Fujian and Beijing. In Yunnan province, the distribution of *vacA* s1 was not associated with different ethnic groups but m2 from Bai group was less than other two ethnic groups. The ratio of m1b in Bai group was higher than that in other groups. Both *vacA*'s region and m region alleles had no significant relationship with the clinical outcomes. With the 15 bp and 24 bp DNA insertion and deletion primers test, 93% (140/150) of the strains were positive. The distributions of the 15 bp and 24 bp DNA insertion or deletion were different according to the different ethnic groups. **Conclusion** By JF/TR primer, 93% of the Chinese strains *cagA*'s 3' region belonged to East Asian type. Most of the Chinese strains *vacA*'s allele was s1. The distribution of *vacA* s1 had no relationship with the clinical outcome of the isolates. From different geographic regions and ethnic groups, the distribution of *vacA* m region allele was different. 93% of the Chinese strains HP0519 genes had 24 bp or 15 bp insertion or deletion character. The biological meaning of the polymorphism of HP0519 needs advanced investigation.

[Key words] *Helicobacter pylori*; Pathogenic gene

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, HP)的感染与胃癌密切相关,1994年WHO癌症研究中心将HP列为I类致癌因子。HP的显著特点是具有遗传基因的多样性。不同菌株的感染所致的病理改变和临床症状不同,不同菌株之间毒力因子不同可能是致病力差异的根本原因之一,且有研究发现HP的基因结构与其分离地点有关。*cagA*(cytotoxin associated gene A)、*iceA*(induced-by-contact-with-epithelium gene A)、*vacA*(the vacuolating cytotoxin gene A)及HP0519皆为HP的重要致病相关基因,其基因的多态性决定HP菌株的许多致病特点。本文拟利用特异引物PCR的方法对150株中国菌株*cagA*、*iceA*、*vacA*及HP0519基因分布、地区分布、不同民族分布及基因多态性特点进行分析,以加深对中国HP菌株的主要致病相关基因的流行病学特征的认识。

材料与方 法

1. 材料:

(1)菌株及背景:实验菌株由中国疾病预防控制中心传染病预防控制所诊断室(国家幽门螺杆菌菌株库)保存并提供,共150株。其中北京菌株18株,福建菌株34株,云南菌株98株(其中白族人群来源41株,纳西族人群来源22株,汉族人群来源35株;菌株中有46株来源于慢性活动性胃炎患者,18株来源于十二指肠溃疡患者,22株来源于胃溃疡、十二指肠溃疡患者,6株来源于胃溃疡患者)。

(2)PCR试剂:Taq DNA聚合酶购自TAKARAQ生物工程公司。DNA提取试剂盒由QIA gene公司提供。

2. 方法:

(1)模板制备:单菌落来源的HP在含10%羊血

的选择性培养基上,微需氧环境(5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂), 37℃培养24 h;收集细菌悬浮于200 μl PBS中,DNA提取试剂盒提取DNA。

(2)PCR:实验所用引物及PCR产物的判断见表1。PCR反应体系:25 μl反应体系, MgCl₂ (1.5 mmol/L), dNTP(2.5 mmol/L),引物(10 μmol/L)模板DNA(1 μl),Taq DNA聚合酶(1 U)。反应程序为94℃,预变性5 min;94℃ 1 min,55℃ 1 min,72℃延伸1 min 30个循环;72℃延伸5 min。

(3)PCR产物检测:扩增反应完毕后,取5 μl反应液与1 μl 6×溴酚蓝载样缓冲液混合,在1.5%琼脂糖凝胶中电泳,Stratagene Eagle Eye II读胶仪照相记录。

3. 统计学分析:采用 χ^2 检验的方法。

结 果

1. 不同地区分离菌株*cagA*、*iceA*、*vacA*及HP0519的分布:不同地区分离菌株*cagA*、*iceA*、*vacA*及HP0519基因的PCR扩增结果见表2。

150株中国菌株中,93%菌株*cagA* 3'端JF/TR引物PCR扩增结果为阳性,100%菌株TF/TR引物PCR扩增结果为阴性。75%中国菌株为*iceA*1,19%为*iceA*2,另有8株菌用该引物无法区分,需进一步测序或更换引物确定。不同地区间*iceA*基因的分布差异没有统计学意义($\chi^2 = 5.112, 0.1 > P > 0.05$)。96%的*vacA*基因的s区等位基因为s1。仅1株云南菌株为s2。另有5株菌用该引物无法区分。不同地区,云南不同民族间*vacA* s区基因的分布差异无统计学意义。57%的中国菌株*vacA*基因m区为m2。27%为m1b,11%为m1b-m2。其中2株福建菌株为m1a,有6株菌用该引物没有PCR产物。不同地区间m2的分布差异无统计学意义

($\chi^2 = 3.48, 0.25 > P > 0.1$)。云南菌株 M1b-m2 的分布高于福建和北京菌株。应用 24 bp 及 15 bp DNA 的插入和缺失的特异引物, PCR 结果显示 93% (140/150) 的中国菌株 HP0519 基因具有这种多态性的特点。不同地区间 HP0519 的基因多态性

没有显著不同($\chi^2 = 4.95, 0.1 > P > 0.05$)。

2. 云南菌株 *cagA*、*iceA*、*vacA* 及 HP0519 的分布特点: 云南不同民族人群分离菌株 *cagA*、*iceA*、*vacA* 及 HP0519 基因的 PCR 扩增结果, 基因分布与不同临床表现间的关系见表 3 和表 4。

表1 PCR 特异引物序列及扩增产物的片段

基因名称	引物名称	引物序列	PCR 产物(bp)
<i>cagA</i>	TF	5'-ACCCTAGTCGGTAATGGG-3'	300
	JR	5'-GCAATTTTGTTAATCCGGTC-3'	
<i>iceA1</i>	iceA1-F	5'-GCTTGTAAACGATAAGAAAACGCCAGAT-3'	297
	iceA1-R	5'-GGAATGAGCTTGTATTTAGAGCCGAT-3'	
<i>iceA2</i>	iceA2-F	5'-GTTGGGTATATCACAAATTTAT-3'	229 or 334
	iceA2-R	5'-TTRCCCTATTTTCTAGTAGGT-3'	
		5'-ATGGAATAACAACAAACACAC-3'	
<i>vacA</i> -s 区	SF	5'-ATGGAATAACAACAAACACAC-3'	s1: 259
	SR	5'-CTGCTTGAATGCGCCAAAAC-3'	s2: 289
<i>vacA</i> -m 区	m2	F: 5'-GGAGCCCCAGAAAACATTG-3'	352
		R: 5'-CATAACTAGCGCCTTGCAC-3'	
	m1a	F: 5'-GGTCAAAAATGCGGTATGG-3'	290
		R: 5'-CCATTGGTACCTGTAGAAAAC-3'	
	m1b	F: 5'-GGCCCCAATGCAGTCATGGAT-3'	240~270
		R: 5'-GCTGTTAGTGCCCTAAAGAAGCAT-3'	
m1b-m2	F: 5'-GGCCCCAATGCAGTCATGGAT-3'	250	
	R: 5'-CATAACTAGCGCCTTGCAC-3'		
HP0519	15 bp deletion + 24 bp insertion	F: 5'-GGCTTTTTCATAGCCAAATTTCTGCG-3'	270
	15 bp insertion + 24 bp deletion	R: 5'-CGATTATTGATCTTTCAGGTTTGTAG-3'	260
		F: 5'-GTTGCCGTTTTCRCTTTGTATAGCT-3'	
		R: 5'-ATAGCGTTTGTGCATAGAATTGCGC-3'	

表2 不同地区分离菌株 *cagA*、*iceA*、*vacA* 及 HP0519 基因的 PCR 扩增结果

分离地区	<i>cagA</i> 3' 区		<i>iceA</i>			<i>vacA</i> s 区			<i>vacA</i> m 区				HP0519		
	JF/TR	TF/WR	<i>iceA1</i>	<i>iceA2</i>	PCR(-)	s1	s2	PCR(-)	m1a	m1b	m2	m1b-m2	PCR(-)	24+, 15-	24-, 15+
云南省	96	0	69	23	6	94	1	3	0	22	58	14	4	48	27
福建省	31	0	30	2	2	32	0	2	2	13	15	2	2	8	14
北京市	12	0	14	4	0	18	0	0	0	6	12	0	0	8	5
合计	139	0	113	29	8	144	1	5	2	41	85	16	6	64	46

表3 云南省不同民族人群分离菌株 *cagA*、*iceA*、*vacA* 及 HP0519 基因的 PCR 扩增结果

民族	<i>cagA</i> 3' 区		<i>iceA</i>			<i>vacA</i> s 区			<i>vacA</i> m 区				HP0519		
	JF/TR	TF/WR	<i>iceA1</i>	<i>iceA2</i>	PCR(-)	s1	s2	PCR(-)	m1a	m1b	m2	m1b-m2	PCR(-)	24+, 15-	24-, 15+
汉族	35	0	24	10	1	34	0	1	0	4	26	5	0	10	19
白族	40	1	28	10	3	38	1	2	0	16	16	5	4	21	8
纳西族	21	1	17	3	2	22	0	0	0	2	16	4	0	17	0
合计	96	2	69	23	6	94	1	3	0	22	58	14	4	48	27

表4 云南省胃、十二指肠不同临床类型病例分离菌株 *cagA*、*iceA*、*vacA* 及 HP0519 基因的分布

临床类型	<i>cagA</i> 3' 区		<i>iceA</i>			<i>vacA</i> s 区			<i>vacA</i> m 区				HP0519		
	JF/TR	TF/WR	<i>iceA1</i>	<i>iceA2</i>	PCR(-)	s1	s2	PCR(-)	m1a	m1b	m2	m1b-m2	PCR(-)	24+, 15-	24-, 15+
胃炎	43	0	32	9	5	43	1	2	0	12	26	5	3	24	9
十二指肠溃疡	18	0	11	6	1	18	0	0	0	1	13	4	0	7	11
胃、十二指肠溃疡	20	0	14	7	1	22	0	0	0	8	10	4	0	15	3
胃溃疡	6	0	5	1	0	6	0	0	0	0	5	1	0	2	3
合计	87	0	62	23	7	89	1	2	0	21	54	14	3	48	26

云南菌株应用引物 JF/TR PCR 扩增 *cagA* 3' 端阳性率为 98%, 100% 菌株 TF/WR 引物 PCR 扩增结果为阴性。不同民族人群来源菌株, *cagA* 3' 端扩增结果差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.57, 0.5 > P > 0.25$)。不同临床疾病类型来源菌株 *cagA* 3' 端 PCR 扩增结果差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.76, 0.5 > P > 0.25$)。云南菌株 70% *iceA* 基因为 *iceA1*, 23% 为 *iceA2*。不同民族间 *iceA* 基因分布的差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.44, 0.75 > P > 0.5$)。*iceA1*、*iceA2* 的分布与菌株分离个体的临床疾病类型无显著关系 ($\chi^2 = 1.62, 0.5 > P > 0.25$)。云南菌株, 96% 的 *vacA* 基因的 s 区的其等位基因为 s1, *vacA* s1 的分布与分离个体的民族及临床类型没有显著关系。59% 的菌株为 m2 阳性, 22% 为 m1b 阳性。m1b-m2 的阳性率为 14%, 没有菌株为 m1a 阳性。分析 *vacA* m 区的多态性与分离个体的临床类型表明 m2、m1b、m1b-m2 的分布与分离个体的临床类型没有显著相关性 (分别为 $\chi^2 = 0.18, P > 0.5$; $\chi^2 = 0.56, P > 0.25$; $\chi^2 = 1.35, P > 0.1$)。云南菌株 HP0519 的多态性与菌株分离个体的临床类型没有显著相关关系 ($\chi^2 = 0.001, P > 0.9$), 但不同民族间 HP0519 的多态性分布差异有统计学意义 ($\chi^2 = 21, P < 0.05$)。来源于汉族人群的菌株多见 24 bp 缺失, 15 bp 插入, 而来源于白族和纳西族人群的菌株 HP0519 多见 24 bp 的插入, 15 bp 缺失。

讨 论

HP 具有广泛的基因多样性。研究表明, 分布于欧美、亚洲地区, 特别是日本、韩国和中国的东亚地区菌株具有明显的基因多样性和群体特点, HP 的基因多样性与其分离群体的地理位置相关。我国人群 HP 感染率接近世界平均水平, 平均约为 50%~60%。我们分析了来自国内 3 个不同省市 150 株 HP 的 4 个重要致病相关基因, 展示了中国菌株的基因结构特点。云南省属于相对封闭的多民族地区。不同民族间基本保持了自己的民族特点与生活习惯。本文从 3 个民族间及云南地区内分离于不同临床类型病例标本的菌株进行基因特点的分析, 对 HP 群体遗传特点及细菌与宿主间的相互关系的研究进行了初步探索。

cagA 基因位于 HP 的 *cag* 致病岛 3' 末端, 是 *cag* 致病岛的标志^[1]。*cagA* 基因分布较广, 但东西方菌株 *cagA* 基因的分布具有显著差异, 欧美地区

cagA 阳性率约为 50%~60%; 而亚洲地区, 特别是日本、韩国和中国大陆地区 *cagA* 阳性率在 90% 以上。流行病学资料显示, 欧美地区 *cagA* 阳性的 HP 与十二指肠溃疡和非贲门部胃癌发生密切相关, 而亚洲地区却无显著性相关^[2-5]。目前研究发现, *cagA* 3' 端的变异与菌株的感染所致的病理改变和临床结果的不同有密切关系^[6-8]。日本 Yamaoka 等^[9] 研究证明 *cagA* 基因 3' 端重复序列的分子特点可以作为其分离个体群的标志, 用特异引物 PCR 扩增 *cagA* 基因 3' 端可以确定分离菌株的为西方菌株或东方菌株。我们利用 *cagA* 基因 3' 端的特异引物 JF/TR, 通过 PCR 扩增, 根据扩增片段的有无及片段的大小可以明确菌株的东西方来源, 93% 的中国菌株 JF/TR 扩增结果阳性, 100% TF/WR (西方菌株特异引物) 为阴性。证实用这种方法区别菌株的东西方特点具有高度的可靠和实用性。有研究发现 *cagA* 3' 端重复序列的多态性对于 CagA 蛋白的致病性具有重要作用, 其中以 EPIYA 结构域最为重要, Tyr 磷酸化位点就在 EPIYA 结构域中^[10]。由于本文应用的引物设计在 *cagA* 3' 端的第一个重复区域, 而 EPIYA 位点多位于其右端的第二重复区内, 所以得到 *cagA* 3' 端 JF/TR 扩增结果与分离菌株的临床特点没有显著相关性, 尚不能完全说明 *cagA* 3' 端的多样性与其致病性无关。

iceA 基因是 HP 的另一重要致病因子。自 *iceA* 基因被发现以来, 成为研究 HP 分子生物学的标志基因。在 *iceA* 基因位点有 *iceA1* 和 *iceA2* 两种等位基因。*iceA1* 编码的蛋白与奈瑟菌 *Neisseria lactamica* 编码的 CATG 特异性的限制性核酸内切酶高度同源, 而 *iceA2* 与 *iceA1* 基因没有任何相关性, 编码一种未知蛋白。*iceA* 基因的两个等位基因 *iceA1* 和 *iceA2* 广泛存在于东西方菌株中。有研究证明, 在西方菌株中 (荷兰、美国) *iceA1* 是 HP 感染后发展为消化性溃疡的标志基因。而日本、英国等研究发现 *iceA* 基因的分布与 HP 感染后的发展无关^[11-15]。本研究利用 *iceA1*、*iceA2* 的特异引物分析调查中国菌株 *iceA* 基因的分布。研究结果发现中国菌株 *iceA* 基因多为 *iceA1* 等位基因 (75%, 113/150), 只有 19% (29/150) 为 *iceA2*, 而且 *iceA* 基因的分布与菌株分离个体的临床类型无关。

vacA 基因是 HP 的重要毒力基因之一。其编码的空泡毒素是细菌的主要致病因子^[16]。不同菌株 *vacA* 基因的多样性不仅表现在其信号区 (s 区),

同样表现在编码基因的中间区(m区)。不同组成s区和m区基因决定了细菌分泌VacA蛋白的活性。有研究证明s1与HP感染引起的疾病的严重程度相关^[17,18]。本研究利用特异引物对中国菌株vacA基因进行s区和m区的多态性分析。研究发现中国菌株s区多为s1亚型(96%,144/150)。m区多为m2(57%,85/150)。m1b、m1b-m2的阳性率分别为27%(41/150)和11%(16/150),其中2株福建菌株为m1a。云南省不同民族间m2的分布有差异,白族人群m2的分布显著少于汉族和纳西族,白族人群m2和m1b的分布几乎相同。vacA的s区与m区的分布都与分离个体的临床类型无关。

HP0519基因位于HP的cag毒力岛上游,被推测为具有调节作用的长约830bp的基因。目前最新研究发现HP0519与HP的脂多糖LPS的合成有关^[19]。Berg等发现HP0519基因的多态性与HP的地域分布有相关性,其基因左侧24bp和基因右侧15bp的缺失与插入和菌株分离的群体遗传特点相关(未发表结果):96%的西方菌株(西班牙、秘鲁)HP0519有24bp的插入,15bp缺失,而东方菌株(日本)却只有16%24bp的插入,15bp缺失。本研究利用检测HP0519的24bp及15bp插入及缺失的特异引物,发现来源于北京、福建、云南的菌株HP0519基因多态性的差异无统计学意义;但云南省不同民族间,HP0519的多态性存在差异,汉族人群多见24bp的缺失,15bp插入,而白族和纳西族人群多见24bp的插入,15bp缺失,与西班牙和秘鲁菌株相似。以上结果说明云南省来源于不同民族菌株HP0519的基因多态性与其他亚洲国家菌株有差异,这种差异所代表的生物学意义有待进一步研究。

总之,通过对来自我国3个省和云南省3个民族的中国菌株的4个致病相关性基因的分析,初步描述了中国菌株的基因特点,对HP中国菌株分子生物学致病机制的研究、分型诊断方法的建立和疫苗的发展具有较为重要的参考价值。

参 考 文 献

- Censini S, Lange C, Xiang Z, et al. cag, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 14648-14653.
- Hamlet A, Thoreson AC, Nilsson O. Duodenal *Helicobacter pylori* infection differs in cagA genotype between asymptomatic subjects and patients with duodenal ulcers. Gastroenterology, 1999, 116: 259-268.
- Zhou W, Yamazaki S, Yamakawa A, et al. The diversity of vacA and cagA genes of *Helicobacter pylori* in East Asia. FEMS Immunol Med Microbiol, 2004, 40: 81-87.
- Aydin F, Kaklikkaya N, Ozgur O, et al. Distribution of vacA alleles and cagA status of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease and non-ulcer dyspepsia. Clin Microbiol Infect, 2004, 10: 1102-1104.
- Tao R, Fang PC, Liu HY, et al. A new subtype of 3' region of cagA gene in *Helicobacter pylori* strains isolated from Zhejiang province in China. World J Gastroenterol, 2004, 10: 3284-3288.
- Rota CA, Pereira-Lima JC, Blaya C, et al. Consensus and variable region PCR analysis of *Helicobacter pylori* 3' region of cagA gene in isolates from individuals with or without peptic ulcer. J Clin Microbiol, 2001, 39: 606-612.
- Azuma T, Yamakawa A, Yamazaki S, et al. Correlation between variation of the 3' region of the cagA gene in *Helicobacter pylori* and disease outcome in Japan. J Infect Dis, 2002, 186: 1621-1630.
- Yamaoka Y, Kodama T, Kashima K, et al. Variants of the 3' region of the cagA gene in *Helicobacter pylori* isolates from patients with different *H. pylori*-associated diseases. J Clin Microbiol, 1998, 36: 2258-2263.
- Yamaoka Y, Osato MS, Sepulveda AR, et al. Molecular epidemiology of *Helicobacter pylori*: separation of *H. pylori* from East Asian and non-Asian countries. Epidemiol Infect, 2000, 124: 91-96.
- Stein M, Bagnoli F, Halenbeck R, et al. c-Src/Lyn kinases activate *Helicobacter pylori* cagA through tyrosine phosphorylation of the EPIYA motifs. Mol Microbiol, 2002, 43: 971-980.
- van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, et al. Clinical relevance of the cagA, vacA, and iceA status of *Helicobacter pylori*. Gastroenterology, 1998, 115: 58-66.
- Yamaoka Y, Kodama T, Gutierrez O, et al. Relationship between *Helicobacter pylori* iceA, cagA, and vacA status and clinical outcome: studies in four different countries. J Clin Microbiol, 1999, 37: 2274-2279.
- Ito Y, Azuma T, Ito S, et al. Sequence analysis and clinical significance of the iceA gene from *Helicobacter pylori* strains in Japan. J Clin Microbiol, 2000, 38: 483-488.
- Kidd M, Peek RM, Lastovica AJ, et al. Analysis of iceA genotypes in South African *Helicobacter pylori* strains and relationship to clinically significant disease. Gut, 2001, 49: 629-635.
- Han YH, Liu WZ, Zhu HY, et al. Clinical relevance of iceA and babA2 genotypes of *Helicobacter pylori* in a Shanghai population. Chin J Dig Dis, 2004, 5: 181-185.
- Kamiya S, Kai M, Ozawa A, et al. Characteristics of vacuolating toxin produced by *Helicobacter pylori*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 1994, 6 suppl 1: s23-s27.
- Wang J, van Doorn LJ, Robinson PA, et al. Regional variation among vacA alleles of *Helicobacter pylori* in China. J Clin Microbiol, 2003, 41: 1942-1945.
- Owen RJ, Xerry J, Gotada T, et al. Analysis of geospecific markers for *Helicobacter pylori* variants in patients from Japan and Nigeria by triple-locus nucleotide sequence typing. Microbiology, 2004, 150: 151-161.
- Langdon R, Craig JE, Goldrick M, et al. Analysis of the role of HP0208, a phase-variable open reading frame, and its homologues HP1416 and HP0159 in the biosynthesis of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. J Med Microbiol, 2005, 54: 697-706.

(收稿日期:2005-11-03)
(本文编辑:张林东)