

幽门螺杆菌 *jhp947* 基因对 C57BL/6 小鼠致病性研究

孙各琴, 余菲菲*, 李能, 陈豪

(福建医科大学病原生物学系, 福建省高校感染与肿瘤重点实验室, 福州 350004)

摘要: 检测 *jhp947* 对幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 所致动物胃上皮细胞病变和基因表达的影响。

【方法】 将 27 只无特定病原体的 (specified-pathogens free, SPF) 6 W 龄 C57BL/6 小鼠随机分成 3 组, 分别以 J99、 Δ J99-947 (缺失 *jhp947* 基因) 和 PBS 灌胃, 菌量为 10^9 CFU/mL, 0、2、4 d 各一次, 4 W 后宰杀所有小鼠, 无菌操作取胃组织, 分别作快速尿素酶试验, Hp 培养, 组织病理学检查; 免疫组化检测 ESE-3A、NDRG1、MATP 基因表达; 半定量 RT-PCR 检测 *jhp947* 基因对小鼠 ESE-3A、NDRG1、MATP 等基因转录的影响。**【结果】** J99 组和 Δ J99-947 组快速尿素酶试验和 Hp 培养的阳性率均为 100%, PBS 对照组快速尿素酶试验和 Hp 培养阴性。组织病理学检查, PBS 对照组小鼠胃黏膜 100% 正常, J99 组小鼠胃黏膜 33.3% (3/9) 轻度糜烂, 66.7% (6/9) 重度糜烂。 Δ J99-947 组小鼠胃黏膜 22.2% (2/9) 正常, 77.8% (7/9) 轻度糜烂, 没有重度糜烂。J99 组小鼠胃黏膜的损伤比 Δ J99-947 组重。免疫组化检测结果, J99 组比 Δ J99-947 组 ESE-3A、NDRG1、MATP 表达显著降低 ($P < 0.05$)。半定量 RT-PCR 检测结果, J99 组比 Δ J99-947 组 ESE-3A、NDRG1、MATP 表达显著降低 ($P < 0.05$)。**【结论】** *JHP947* 基因存在可使 Hp 感染所致的胃黏膜损伤程度加重。在体内 *jhp947* 基因可能通过下调 NDRG1、MATP 等肿瘤抑制基因的表达, 这可能与胃癌的发生有关。

关键词: 幽门螺杆菌; *jhp947*; 动物实验; 基因表达

中图分类号: Q936 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2009) 08-1109-06

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 的可塑区基因约占基因组的 3% ~ 4%。J99 (分离自溃疡患者) 可塑区基因有 45 kb, 26695 (分离自胃炎患者) 有 68 kb, 其 G + C 含量低^[1-3], 且具有菌株特异性。由于 J99 来源于严重消化性疾病的患者, 研究人员推测与胃癌发生有关的基因位于该菌可塑区。J99 的可塑区含 38 个 ORF, 即 *jhp914-951*^[4-7], 其中 *jhp947* 经流行病学调查显示与胃溃疡和胃癌的发生有关。目前对 *jhp947* 基因了解仅限于流行病学调查, 其引起上述改变和相关性的机理仍不明。鉴于此, 本试验通过动物实验, 了解 *jhp947* 全基因剔除的 Hp 菌株 Δ J99-947 在小鼠胃中是否定殖; 是否引起小鼠胃黏膜的炎症反应。通过小鼠胃组织免疫组化实验和半

定量 RT-PCR, 验证本实验室在基因芯片检测中发现 *jhp947* 基因引起的细胞基因表达下调的 ESE-3A、NDRG1、MATP 在体内的表达情况, 以进一步探索 *jhp947* 基因的功能。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株: HpJ99 购自中国疾病预防控制中心传染病研究所, *jhp947* 全基因剔除的 Hp 菌株 Δ J99-947 由本实验室构建。

1.1.2 实验动物: C57BL/6 小鼠 27 只, 6 周龄, 雌性, 体重 18 ± 2 g, 购自中国科学院上海实验动物中心, 实验动物质量合格证号为 0031015。按随机分组

基金项目: 福建省教育厅资助项目 (js06007); 福建省高校科技创新团队培育计划基金项目 (FMU-RT001)

* 通信作者。Tel: +86-591-83569309; E-mail: cy1606@163.com

作者简介: 孙各琴 (1972-), 女, 湖北人, 博士, 主要从事幽门螺杆菌与胃癌关系的研究。E-mail: sungeqing@yahoo.com.cn

收稿日期: 2009-03-19; 修回日期: 2009-05-26

原则,将小鼠分为:①PBS 阴性对照组;②J99 组;③△J99-947 组,每组 9 只,由福建省医学科学研究所动物实验室 SFP 级小鼠饲养室饲养,许可证号为 SCXK(沪)2007-0005。

1.1.3 主要试剂:山羊抗小鼠 ESE-3A 多克隆抗体,山羊抗小鼠 MATP 多克隆抗体,山羊抗小鼠 NDRG1 多克隆抗体, FITC 标记的驴抗山羊 IgG 二抗,均购自美国 Santa Cruz 公司;Trizol 试剂,美国 Invitrogen 公司;StrataScript 反转录酶和 StrataScript II 逆转录试剂盒,Stratagen 公司;Taq DNA 聚合酶,上海中科开瑞生物有限公司。

1.2 △J99-947 菌株感染 C57BL/6 小鼠

J99 与△J99-947 在固体培养基上培养 2~3 d,传代后用布氏肉汤洗下,吸到一无菌管中,调整细菌浓度至 10^9 CFU/mL。所有小鼠灌胃前禁食 12 h,禁水 4 h。每只小鼠先用灌胃针灌饲 3% 的碳酸氢钠 100 μ L 以中和胃酸,30 min 后菌液灌胃:①PBS 对照组灌饲 PBS 0.5 mL;②J99 组灌饲 J99 菌悬液 0.5 mL;③△J99-947 组灌饲 △J99-947 菌悬液 0.5 mL,2 h 后恢复供水和饲料。每隔 2 d 一次,连续 3 次。

1.3 小鼠处死取胃组织

于末次灌胃后 4 w,小鼠禁食 1 d,摘眼球放血处死动物,用 75% 的酒精浸泡小鼠体表 5 min 以上。在超净工作台内无菌操作迅速取出胃,留取标本进行下一步实验。将胃沿大弯纵行切为 4 部分,一份做快速尿素酶试验;一份细菌 Hp 培养;一份置 10% 福尔马林固定供组织病理学检查;一份置液氮速冻,于 -80°C 冰箱保存,供免疫组化;一份置液氮速冻,于 -80°C 冰箱保存,供半定量 RT-PCR。

1.4 胃组织细菌学检测

1.4.1 快速尿素酶试验:往含尿素酶底物的反应孔中滴加 2 滴酶促反应液,将小块胃组织放入孔中,观察颜色变化,15 min 内变浅红色至紫红色定为阳性。

1.4.2 细菌培养:取小鼠胃黏膜研磨后,涂布于布氏平板(含 5% 羊血), 37°C 微氧环境(5% O_2 , 10% CO_2 , 85% N_2) 培养 3~5 d。经涂片染色、尿素酶试验和 16S rRNA PCR 鉴定。

1.5 组织病理学检查

标本经 10% 福尔马林常规固定后的梯度乙醇脱水,石蜡包埋,连续垂直切片(5 μm),脱蜡复水后苏木精-伊红染色(Hematein eosin stain, HE stain) 30 min 水洗,100% 乙醇脱水,二甲苯透明,风干后封片。光镜下镜检评价胃组织的炎症程度。

1.6 免疫组化检测

检测在小鼠胃中引起的 ESE-3A、NDRG1、MATP 基因表达有无差异。

冰冻切片, 4°C 冷丙酮固定 20 min,风干固定,免疫荧光组织化学染色,滴加封闭血清,室温孵育 30 min 倾去,勿洗。分别滴加一抗(ESE-3A、NDRG1、MATP 多克隆抗体,1:200 稀释) 4°C 孵育过夜,阴性对照用 PBS 代替一抗,0.1 mol/L PBS 冲洗 5 min 3 次。滴加二抗(1:200 稀释),室温孵育 30 min(避光操作),0.1 mol/L PBS 冲洗 5 min 3 次。缓冲甘油封片剂封片。镜检:Leica DMLB 荧光显微镜观察,Leica MPS 60 照相系统镜检照相。灰度值及阳性面积测定:于南京捷达 JD801 图象分析系统,分别观察 GFAP 的免疫荧光染色切片,测定灰度值及阳性面积。

1.7 半定量 RT-PCR 检测

检测在小鼠胃中引起的 ESE-3A、NDRG1、MATP 基因表达有无差异。

根据 GenBank 所提供的序列,设计并合成 ESE-3A、NDRG1、MATP 基因引物(以 GAPDH 为内参,表 1)。提取小鼠胃组织总 RNA 以 Strata Script 反转录酶逆转录为 cDNA,再 PCR 扩增各基因片段。以各基因的最佳 PCR 反应条件及线性反应循环数扩增,每个反应重复 5 次,PCR 产物以 1.2% 琼脂糖凝胶电泳, Syngene 凝胶成像系统(GENE 公司)成像, Syngene Genetool(GENE 公司)软件分析各基因特异条带灰度值,取各基因与 GAPDH PCR 产物灰度值的相对比值。

表 1 RT-PCR 引物

Table 1 Primers used for RT-PCR

Gene	Primers (5'→3')	Products/bp
ESE-3A F	CITTTGGTGAAGGTTAT	425
ESE-3A R	CTTAGGCACTGTCTTCTG	
MTAP F	GATTGTTGGAAGGAGCAT	417
MTAP R	AATAGGAAAAGTGAGACAGA	
NDRG1F	GTCTGGGATGAGTCTTTAGG	405
NDRG1R	TTCAAGGTTAGCCACAGTAA	
GAPDH F	TGCACCACCACTGCTTAGC	218
GAPDH R	AGCTCAGGGATGACCTTGCC	

1.8 统计学分析

所有检验均采用 SPSS for windows 13.0 软件包进行。 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 提示差异显著和极显著。

2 结果

2.1 C57BL/6 小鼠 Hp 灌胃后胃组织的细菌学检查

J99 组快速尿素酶试验和 Hp 培养的阳性率均为 100%。△J99-947 组快速尿素酶试验和 Hp 培养的阳性率均为 100%,Hp 在胃组织的定殖密度均在

10^6 CFU/g 以上。PBS 对照组无 Hp 感染,快速尿素酶试验和 Hp 培养的阴性(表 2)。表明 Δ J99-947 仍可定植于胃黏膜。 Δ J99-947 组和 J99 组相比, Hp 在小鼠胃组织的定殖密度无明显差异($P > 0.05$)。

表 2 C57BL/6 小鼠胃黏膜的细菌学检查结果

Table 2 Bacteriological analysis of gastric mucosa in

C57BL/6 mice challenged with PBS, J99 and Δ J99-947 respectively

Group (n = 10)	Bacterial Culture Positive		Urease Positive	
	$\times 10^6$ CFU/g	Rate/%	number	Rate/%
PBS	0	0	0	0
J99	$9(4.20 \pm 0.85)$	100	9	100
Δ J99-947	$9(4.17 \pm 0.82)$	100	9	100

Each group nine mice were challenged with J99, Δ J99-947 and PBS respectively, at a dose of 10^9 CFU. After 4 weeks mice were sacrificed and the stomach were cut into two parts to perform rapid urease test and bacteria culture.

2.2 C57BL/6 小鼠 Hp 灌胃后胃粘膜的组织病理学检查

Hp 攻击 4 W 后取 C57BL/6 小鼠胃组织进行组织学检查,不同组别小鼠胃黏膜幽门部呈正常、轻度糜烂(黏膜缺损 $\leq 1/3$)或重度糜烂(黏膜缺损 $> 1/3$)。轻度糜烂和重度糜烂的黏膜固有层均有淋巴细胞浸润。

PBS 阴性对照组,小鼠胃黏膜 100% 正常。J99 组小鼠 3 只胃黏膜轻度糜烂(33.3%) 6 只重度糜烂(66.7%)。 Δ J99-947 组小鼠 2 只胃黏膜正常(22.2%), 7 只呈轻度糜烂(77.8%), 无重度糜烂。提示 J99 组小鼠胃黏膜的损伤比 Δ J99-947 组重(见图 1)。

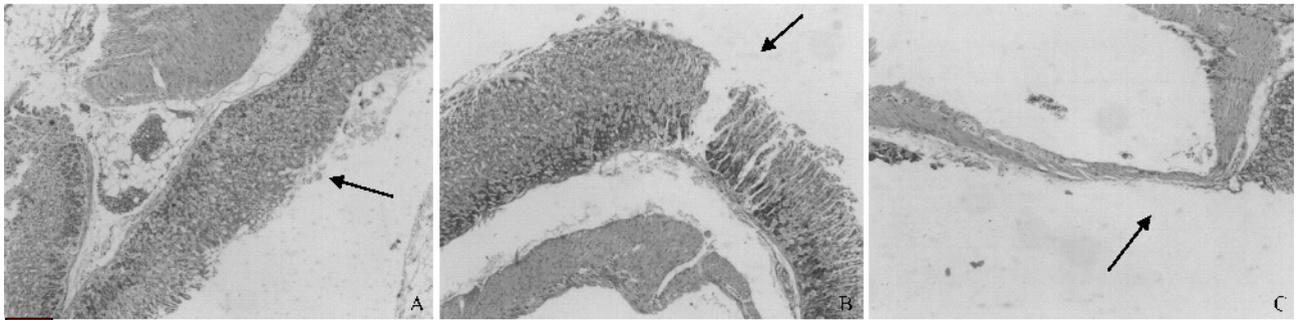


图 1 PBS 组(A)、 Δ J99-947 组(B)、J99 组(C)小鼠胃黏膜的组织病理学检查 HE 染色($\times 200$)。箭头示小鼠胃黏膜正常(PBS 组)、轻度糜烂(Δ J99-947 组)、重度糜烂(J99 组)

Fig. 1 HE stain for gastric mucosa of PBS(A), Δ J99-947(B) and J99(C) Group mice($\times 200$).

2.3 C57BL/6 小鼠 Hp 灌胃后小鼠胃组织免疫组化检测结果

荧光显微镜下观察和拍照,于图象分析系统,分别观察 ESE-3A、NDRG1、MATP 的免疫荧光染色切片,测定灰度值及阳性面积,以 SPSS13.0 统计分析软件分别分析灰度值及阳性面积,两样本进行 *t* 检验分析,结果显示:

2.3.1 PBS 阴性对照组、J99 组、 Δ J99-947 组均表达 ESE-3A、NDRG1、MATP,检出率为 100%(图 2)。

2.3.2 J99 组和 Δ J99-947 组比 PBS 阴性对照组 ESE-3A、NDRG1、MATP 蛋白表达均显著增高($P < 0.05$) (表 3)。

2.3.3 J99 组比 Δ J99-947 组 ESE-3A、NDRG1、MATP 蛋白表达显著降低($P < 0.05$) (表 3)。

2.4 C57BL/6 小鼠 Hp 灌胃后小鼠胃组织半定量 RT-PCR 检测结果

J99 组比 Δ J99-947 组 ESE-3A、NDRG1、MATP 基因表达显著降低($P < 0.001$)。(见图 3,表 4)

3 讨论

Hp 是引起慢性胃炎和消化性溃疡的病原,与胃癌及黏膜相关淋巴组织淋巴瘤的发生密切相关。这些病变的发生与 Hp 毒力基因有关。Hp 的可塑区中 JHP947 被认为是目前新发现的 Hp 致病标志,流行病学调查发现其与临床上的胃溃疡、胃癌有关,但机制不明。本文通过 Hp *jhp947* 基因对 C57BL/6 小鼠致病性的研究,对 *jhp947* 基因功能进行初步探讨。国内外学者对 Hp 感染动物模型进行了大量的研究,最初成功建立了雪貂、悉生乳猪及猴等动物的 HP 感染模型,但此类模型价格昂贵、操作繁琐、各种处理因素不容易控制,不适合大规模的研究^[8]。1997 年 Lee 等将新鲜分离的临床 HP 菌株长期感染小鼠,逐步筛选出适应小鼠胃环境的驯化株,命名为 SS1,其可以持续定植于多种遗传背景小鼠,小鼠胃黏膜 HP 感染量高、感染可持续数月,为进一步的研究提供了机会^[9]。但是许多重复实验中发现,HP SS1 虽可成功建立 HP 感染动物模型,但感染率及感染维持时间存在差异^[10]。李岩等应用不同的 HP 菌

株感染不同遗传背景小鼠,观察 HP 的感染状况及病理特征。证实 C57BL/6 小鼠接种 HP SS1 可获得较好的 HP 感染模型^[11],相对于 BALB/C 等其他小

鼠,C57BL/6 小鼠能在较长时间内定殖,且定殖量较高,炎症病理改变较重。所以本文选择 C57BL/6 小鼠为 HP 感染的动物模型。

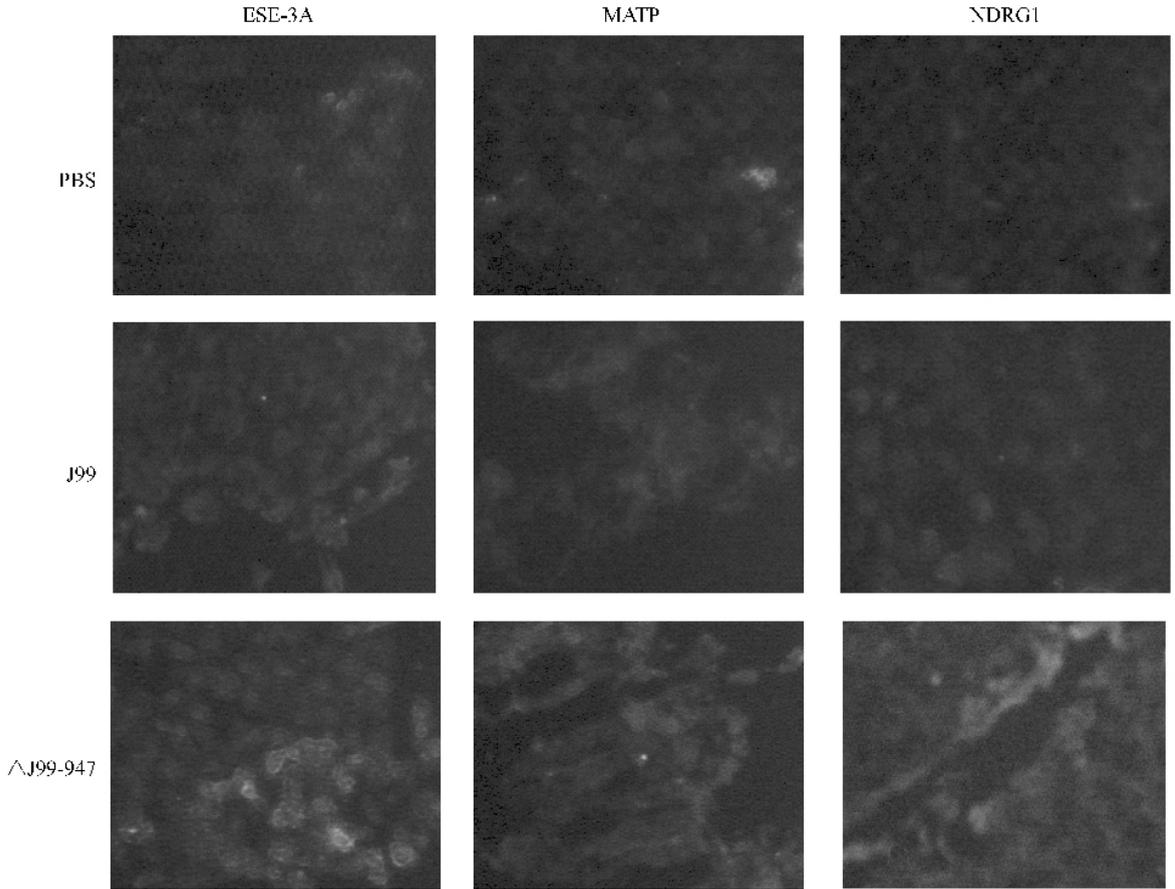


图 2 PBS 组、J99 组、ΔJ99-947 组 ESE-3A、MATP、NDRG1 免疫荧光染色,FITC 标记驴抗羊 IgG 显绿光

Fig.2 Immunofluorescent labling for ESE-3A ,MATP ,NDRG1 in group PBS ,J99 ,ΔJ99-947 respectively ,Fluorescein-Conjugated AffiniPure Donkey Anti-Goat IgG excited green light (× 200).

表 3 ESE-3A、NDRG1、MATP 阳性表达面积和蛋白表达灰度值

Table 3 Positive areas and gray scale of ESE-3A ,NDRG1 ,MATP protein

Group (n = 9)	ESE-3A		NDRG1		MATP	
	Positive areas	Gray scale	Positive areas	Gray scale	Positive areas	Gray scale
PBS	27.15 ± 2.01	69.41 ± 8.57	27.79 ± 1.93	69.68 ± 8.08	29.59 ± 1.10	67.37 ± 8.15
J99	31.71 ± 2.21	104.19 ± 9.87	33.16 ± 2.24	105.60 ± 9.94	34.36 ± 2.44	104.79 ± 11.24
ΔJ99-947	40.65 ± 4.43	136.15 ± 12.58	41.14 ± 4.28	135.98 ± 14.05	41.97 ± 4.13	135.70 ± 15.70

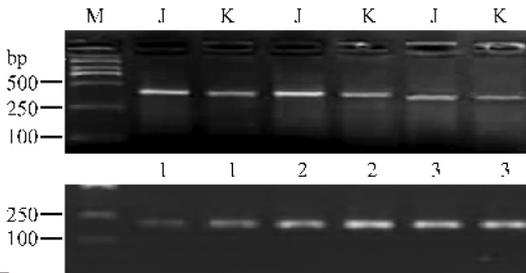


图 3 J99 组和 ΔJ99-947 组小鼠胃组织 ESE-3A、MTAP、NDRG1 的半定量 RT-PCR 检测结果

Fig.3 Semiquantitative RT-PCR of gastric tissues of J99 and ΔJ99-947 Group mice. J :J99 group ; K :ΔJ99-947 group ; M :Marker(DL2000) ; 1 :ESE-3A ; 2 :MTAP ; 3 :NDRG1 .

表 4 J99 组和 ΔJ99-947 组小鼠胃组织 ESE-3A、MTAP、NDRG1 的 RNA 相对表达量(n = 5)

Table 4 Relative expression levels of RNA of ESE-3A ,MTAP , NDRG1 in gastric tissues of J99 and ΔJ99-947 Group mice

Relative expression levels of RNA	ESE-3A	MTAP	NDRG1
J99	0.7674 ± 0.063	0.7953 ± 0.051	0.5140 ± 0.038
ΔJ99-947	1.1698 ± 0.128	1.1786 ± 0.117	1.3487 ± 0.020
J99 /ΔJ99-947	down	down	down
P	0.001	0.001	0.001

小鼠 Hp 灌胃后胃组织的细菌学检查结果显示:J99 组和 Δ J99-947 组快速尿素酶试验和 Hp 培养的阳性率均为 100%, Δ J99-947 组和 J99 组相比, Hp 在小鼠胃组织的定殖密度无明显差异。PBS 对照组快速尿素酶试验和 Hp 培养阴性。说明 J99 野生株与 Δ J99-947 突变株均可在小鼠胃中定殖, JHP947 基因对细菌的定殖能力无明显影响。组织病理学检查, PBS 对照组小鼠胃黏膜 100% 正常, J99 组小鼠胃黏膜 33.3% 轻度糜烂, 66.7% 重度糜烂。 Δ J99-947 组小鼠胃黏膜 22.2% 正常, 77.8% 轻度糜烂, 无重度糜烂。J99 组小鼠胃黏膜的损伤比 Δ J99-947 组重。这表明 *jhp947* 基因的存在与否可影响胃黏膜的损伤程度。其原因还有待进一步研究, 分析可能与以下因素有关: *jhp947* 基因毒力强, 正如本实验室已做的芯片结果显示的那样, *jhp947* 基因从影响细胞周期、信号转导、转录因子、催化活性等相关基因, 干扰细胞周期, 参与酶活性调节, 干扰细胞基因正常的转录调控, 信号转导, 改变细胞的有关的酶活性, 干扰细胞正常的物质代谢而引起细胞代谢紊乱等途径引起胃部病变, 加重胃黏膜的损伤程度。

免疫组化检测结果, J99 组比 Δ J99-947 组 ESE-3A、NDRG1、MATP 表达显著降低 ($P < 0.05$); 半定量 RT-PCR 检测结果, J99 组比 Δ J99-947 组 ESE-3A、NDRG1、MATP 表达显著降低 ($P < 0.05$)。免疫组化与半定量 RT-PCR 检测结果一致, 也与本实验室已做的芯片结果一致, 更进一步验证了芯片结果。

N-myc 下调基因 1 (NDRG1) NDRG1 是 N-myc 下调基因家族中的一个成员, 归属于 α/β 水解酶超家族, 编码胞浆蛋白, 该蛋白参与应急反应, 激素反应, 细胞生长和分化。NDRG1 被认为是肿瘤转移抑制基因。在许多癌症中, NDRG1 起着抑制肿瘤的作用。在乳腺癌, 前列腺癌, 结肠癌中, NDRG1 表达均下调。而且, NDRG1 表达与肿瘤转移成负相关。体内体外的实验 NDRG1 高表达的肿瘤细胞转移能力显著的降低。这些细胞的侵袭能力也降低。在食道鳞状上皮细胞癌中, NDRG1 低表达与进行性肿瘤和预后不良相关。NDRG1 低表达的患者与 NDRG1 高表达的患者相比, 手术后存活率更低。尽管 NDRG1 的功能还不清楚, 但以前的研究表明 NDRG1 显著地减慢肿瘤生长和起着肿瘤转移抑制作用^[12]。

MTAP 编码在聚胺代谢中起主要作用的一种酶。该酶在腺嘌呤和甲硫氨酸补救合成途径中起重要作用。Subhi AL 等将 MTAP 基因插入人乳腺癌细胞系, 观察 MTAP 基因在这些细胞致瘤的性质方面

的影响。发现细胞在标准的组织培养条件下, MTAP 的表达并不影响细胞的增长率, 但是严重抑制细胞在软琼脂或胶原上形成克隆的能力。而且, 将这些细胞植入 SCID 小鼠后, 抑制肿瘤形成。MTAP 可作为肿瘤抑制基因, 其肿瘤抑制作用与它的聚胺调节平衡作用有关^[13]。MTAP 表达导致细胞内的聚胺水平显著的下降, 改变了腐胺与总聚胺的比率^[14]。

ESE-3A 基因编码的蛋白质归属于 ETS 转录因子亚科, 以上皮细胞表达为特点。ESE-3A 编码的蛋白质可作为转录抑制因子参与上皮细胞的分化。主要起着与 DNA 核酸结合的作用。

以上研究表明 *jhp947* 基因可通过下调 NDRG1、MATP 等肿瘤抑制基因和 ESE-3A 转录因子的表达, 引起动物胃部病变, 促进肿瘤发生发展等, 参与致癌过程导致胃癌。

总之, *jhp947* 对 Hp 所致胃上皮细胞病变和基因表达确实产生了明显的影响。

参考文献

- [1] Tomb JF, White O, Kerlavage AR, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*, 1997, 388: 539 - 547.
- [2] Alm RA, Ling LS, Moir DT, et al. Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*, 1999, 397: 176 - 180.
- [3] Alm RA, Trust TJ. Analysis of the genetic diversity of *Helicobacter pylori*: the tale of two genomes. *Journal of molecular medicine*, 1999, 77: 834 - 846.
- [4] Occhialini A, Marais A, Alm R, et al. Distribution of open reading frames of plasticity region of strain J99 in *Helicobacter pylori* strains isolated from gastric carcinoma and gastritis patients in Costa Rica. *Infection and immunity*, 2000, 68: 6240 - 6249.
- [5] Santos A, Queiroz DM, Menard A, et al. New pathogenicity marker found in the plasticity region of the *Helicobacter pylori* genome. *J Clin Microbiol*, 2003, 41: 1651 - 1655.
- [6] de Jonge R, Kuipers EJ, Langeveld SC, et al. The *Helicobacter pylori* plasticity region locus *jhp0947-jhp0949* is associated with duodenal ulcer disease and interleukin-12 production in monocyte cells. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2004, 41: 161 - 167.
- [7] Kersulyte D, Velapattino B, Mukhopadhyay AK, et al. Cluster of type IV secretion genes in *Helicobacter pylori*'s plasticity zone. *J Bacteriol*, 2003, 185: 3764 - 3772.
- [8] O'Rourke JL, Lee A. Animal models of *Helicobacter pylori* infection and disease. *Microbes and infection*, 2003, 5: 741 - 748.

- [9] Lee A ,Rourke JO ,Corazon M ,et al. A standardized mouse model of *Helicobacter pylori* infection introducing the Sydney strain. *Gastroenterology* ,1997 ,112 :1386 – 1393 .
- [10] Johnson-Henry KC ,Mitchell DJ ,Avitzur Y ,et al. Reduce bacterial colonization and gastric inflammation in *H. pylori*-infected mice. *Dig Dis Sci* 2004 49(7 – 8) :1095 – 1102 .
- [11] 李岩 ,王江滨 ,焦健 ,等 . 不同品系小鼠幽门螺杆菌感染实验模型的建立及其病理特征的比较 . 中国实验诊断学(*Chinese Journal of Laboratory Diagnosis*) ,2007 , 11(4) :537 – 540 .
- [12] Ando T ,Ishiguro H ,Kimura M ,et al. Decreased expression of NDRG1 is correlated with tumor progression and poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* . 2006 ,19(6) :454 – 458 .
- [13] Subhi AL , Tang B , Balsara BR , et al. Loss of methylthioadenosine phosphorylase and elevated ornithine decarboxylase is common in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* . 2004 Nov 1 ;10(21) :7290 – 7296 .
- [14] Christopher SA , Diegelman P , Porter CW , et al. Methylthioadenosine phosphorylase , a gene frequently codeleted with p16 (cdkN2a/ARF) , acts as a tumor suppressor in a breast cancer cell line. *Cancer Res* . 2002 , 15 6(22) :6639 – 6644 .

Pathogenicity of Hp *jhp947* gene to C57BL/6 mice

Geqin Sun ,Feifei She* ,Neng Li ,Hao Chen

(Research Center of Microbiology ,Fujian Medical University ,Fuzhou 350004 ,China)

Abstract [Objective] To study the effects of *Helicobacter pylori jhp947* gene on the pathogenesis of epithelial cells and gene express pattern by animal studies. **[Methods]** Twenty-seven special pathogen free (SPF) C57BL/6 mice were divided equally into 3 groups ,and challenged with *Helicobacter pylori* J99 ,*Helicobacter pylori* \triangle J99-947 and phosphate buffer (PBS) respectively at a dose of 10^9 colony formine unit (CFU) at 0 ,2 ,and 4 days . Mice were sacrificed 4 weeks after the last challenge and went through rapid urease test ,culture of Hp ,histological examination ,immunofluorescent histochemistry and semiquantitative reverse transcription PCR (RT-PCR) of gastric mucosa. **[Results]** The result of rapid urease test and culture of Hp indicated that the positive rates in J99 and \triangle J99-947 group were both 100% while 0% in PBS group . The result of histology examination indicated that garstirc mucosa is all normal in PBS group ; in J99 group ,33.3% (3/9) had slightly anabrosis , 66.7% (6/9) had seriously anabrosis ; in \triangle J99-947 group 22.2% (2/9) is normal ,77.8% (7/9) had slightly anabrosis . The degree of anabrosis seems to be more severe in J99 than in \triangle J99-947 . The result of immunofluorescent histochemistry and semiquantitative RT-PCR of gastric mucosa indicated that the expression level of ets homologous factor ,N-myc downstream regulated gene 1 ,methylthioadenosine phosphorylase is significantly lower in J99 than in \triangle J99-947 group ($P < 0.05$). **[Conclusion]** The degree of anabrosis seems to be more severe in Hp with *jhp947* gene than in Hp without *jhp947* gene . In vivo , *jhp947* may induce tumorigenesis by inhibiting anti-oncogenes (N-myc downstream regulated gene 1 and methylthioadenosine phosphorylase).

Keywords : *Helicobacter pylori* ; *jhp947* gene ; animal studies ; gene expression

(本文责编 : 张晓丽 ,谷志静)