



反-2-癸烯醛体外抑制幽门螺杆菌的作用和机制研究*

何 蕾¹, 何琪云娜², 田海英¹, 付羽萍¹, 蔡 琳¹, 廖 娟^{1, 3△}

1. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院(成都 610041); 2. 成都市金牛区疾病预防控制中心(成都 610036);

3. 四川大学华西-协和陈志潜健康研究院慢病研究中心(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨反-2-癸烯醛体外抑制和杀灭幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的能力及潜在机制。方法 采用微量肉汤稀释法得到反-2-癸烯醛对临床分离*H. pylori*以及标准菌株ATCC43504的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)和最低杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC);通过观察MIC值的变化,分析反-2-癸烯醛连续诱导*H. pylori*后的耐药情况。采用分数抑制浓度指数评估反-2-癸烯醛与抗生素甲硝唑(metronidazole, MTZ)、克拉霉素(clarithromycin, CLA)、阿莫西林(amoxicillin, AMX)和左氧氟沙星(levofloxacin, LEV)的协同抑菌作用。用反-2-癸烯醛处理*H. pylori*标准菌株,通过扫描电镜与透射电镜、半固体穿刺和Berthelot法观察*H. pylori*形态及细胞结构、迁移力以及脲酶活性的影响。结果 不同*H. pylori*临床耐药株(C907、C101、R1、R2、R4、R10、R16、R24、R36和R40)MIC范围为8~16 µg/mL, MBC范围为16~32 µg/mL。*H. pylori*标准菌株ATCC 43504 MIC为16 µg/mL, MBC为16 µg/mL。反-2-癸烯醛能在低浓度、短时间内抑制*H. pylori*,且不易诱导*H. pylori*产生耐药性。与MTZ和LEV联用可降低抗生素使用剂量并呈相加效应。反-2-癸烯醛通过改变*H. pylori*形状以及诱导菌体破裂、抑制其生物膜形成、减少成熟生物膜数量、降低其脲酶活性和*H. pylori*迁移力发挥作用。结论 反-2-癸烯醛可能通过多种机制在体外发挥抑制*H. pylori*的作用且不易导致*H. pylori*产生耐药性。

【关键词】 幽门螺杆菌 反-2-癸烯醛 抗菌活性 体外

Study on the Inhibitory Effect and Mechanism of Trans-2-Decenal on *Helicobacter pylori* in vitro

HE Lei¹, HE Qiyunna², TIAN Haiying¹, FU Yuping¹, CAI Lin¹, LIAO Juan^{1, 3△}. 1. West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Jinniu District Center for Disease Control and Prevention, Chengdu 610036, China; 3. Non-communicable Diseases Research Center, West China-PUMC C. C. Chen Institute of Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: juanliao@scu.edu.cn

This study was supported by the Sichuan University Interdisciplinary Innovation Fund and the Sichuan University Horizontal Project (No. 22H1375).

[Abstract] Objective To investigate the *in vitro* inhibitory and bactericidal activities of the trans-2-decenal compound against *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) and explore its potential mechanism. **Methods** The minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of trans-2-decenal against *H. pylori* clinical isolates and the standard strain ATCC43504 were determined using the broth microdilution method. Changes in MIC values were monitored to assess drug resistance in *H. pylori* induced by continuous treatment with trans-2-decenal. The synergistic antibacterial effect of combining trans-2-decenal with antibiotics such as metronidazole (MTZ), clarithromycin (CLA), amoxicillin (AMX), and levofloxacin (LEV) was evaluated using the fractional inhibitory concentration index (FICI). After treating standard *H. pylori* strains with trans-2-decenal, scanning electron microscopy, transmission electron microscopy, crystal violet staining, the semi-solid puncture method, and the Berthelot method were used to assess the effects of trans-2-decenal on the morphology, cell structure, migration, and urease activity of *H. pylori*. **Results** The MIC range for clinically resistant *H. pylori* strains C907, C101, R1, R2, R4, R10, R16, R24, R36, and R40 was 8-16 µg/mL, with an MBC range of 16-32 µg/mL. The MIC for the *H. pylori* standard strain ATCC43504 was 16 µg/mL, with an MBC of 16 µg/mL. Trans-2-decenal inhibits *H. pylori* at low concentrations for short durations and does not easily induce *H. pylori* resistance. Trans-2-decenal reduces the required dosage of antibiotics (metronidazole and levofloxacin), showing an additive effect. Trans-2-decenal alters the shape of *H. pylori* and promotes bacterial rupture. Furthermore, Trans-2-decenal exerts its effects by altering *H. pylori* morphology, inducing bacterial rupture, inhibiting biofilm formation,

* 四川大学交叉学科创新基金和四川大学横向课题(No. 22H1375)资助

△ 通信作者, E-mail: juanliao@scu.edu.cn

出版日期: 2026-01-20

reducing the number of mature biofilms, and decreasing urease activity and *H. pylori* migration ability. **Conclusion** Trans-2-decenal may inhibit *H. pylori* *in vitro* through multiple mechanisms and is unlikely to promote the development of *H. pylori* resistance.

[Key words] *Helicobacter pylori* Trans-2-decenal Antibacterial activity *In vitro*

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*)感染率高,是引起萎缩性胃炎、消化性溃疡以及胃癌的重要致病因素^[1-2],目前,临床常用根除疗法是各种抑制胃酸分泌药物联合抗生素组成的三联、四联等治疗方案^[3-4]。但因抗生素耐药性等问题,其临床根除率并不理想^[5-7]。寻找具有抗菌活性的天然产物是提升*H.pylori*根除率的潜在策略。

研究表明,马兜铃^[8]、芫荽及甜姜^[9-10]等植物的提取物具有抗菌作用。其主要活性成分脂肪醛类化合物反-2-癸烯醛(Trans-2-decenal)。

本团队前期研究发现*H.pylori*多具有三重耐药特性,对甲硝唑(metronidazole, MTZ)、克拉霉素(clarithromycin, CLA)和左氧氟沙星(levofloxacin, LEV)的耐药率较高^[11]。为解决*H.pylori*耐药株难治的问题,本研究探讨反-2-癸烯醛是否具有抗*H.pylori*活性,并初步探索其作用机制。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

三气培养箱、酶标仪、NanoDrop2000超微量分光光度计、NanoDrop2000超微量分光光度计、小型高速离心机购自美国ThermoFisher公司; ProFlexTMPCR仪购自美国ABI公司; CFX96Real-TimeSystem购自美国BIO-RAD公司; 二级生物安全柜购自青岛海尔股份有限公司; 电子天平购自赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; GI154TW全自动立式高压灭菌锅购自厦门致微仪器有限公司; 去离子水机四川优普超纯科技有限公司。

反-2-癸烯醛购自上海迈瑞尔生化科技有限公司; 二甲基亚砜(DMSO)购自美国AbMoleBioScience公司; 哥伦比亚琼脂、脑心浸液肉汤(BHI)、布氏肉汤购自海博生物技术有限公司; MTZ、CLA、阿莫西林(amoxicillin, AMX)、LEV购自美仑生物科技有限公司; 优级胎牛血清购自Biosharp; 无菌去纤维羊血购自郑州益康生物工程有限公司; 戊二醛、尿素、亚硝基铁氰化钠、次氯酸钠、分析纯95%乙醇购自成都市科隆化学品有限公司; 乙酰氧肟酸(acetohydroxamicacid, AHA)购自北京索莱宝科技有限公司; 水杨酸钠、水杨酸钠购自天津奥普升化工有限公司; 蛋白酶抑制剂购自上海雅酶生物科技有限公司; 氨水购自成都金山化学试剂有限公司; 结晶紫购自上海麦克

林生化科技股份有限公司; BCA蛋白浓度测定试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; EvoM-MLV反转录试剂预混液、SYBRGreenProTaqHS预混型qPCR试剂盒购自湖南艾科瑞生物工程有限公司; RNAPrepPure培养细胞/细菌总RNA提取试剂盒购自天根生化科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 *H.pylori*菌株的生长条件

H. pylori C907、C101、R1、R2、R4、R10、R16、R24、R36和R40为本团队前期从*H.pylori*根除失败患者胃体或胃窦组织中分离出的耐药株(耐药情况详见网络资源附件附表1); *H. pylori*标准菌株ATCC43504为四川大学华西公共卫生学院实验室保存菌种。

将临床分离株与标准株分别接种在含7%羊血的哥伦比亚琼脂或含10%胎牛血清的BHI肉汤培养基中,于37℃、5%O₂、10%CO₂和85%N₂的微需氧环境中孵育。

1.2.2 MIC及MBC的测定

将反-2-癸烯醛(512~4 μg/mL, BHI两倍梯度稀释)与OD_{600 nm}=0.100的*H. pylori*悬液等体积混合,孵育3~5 d。最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)为加样孔与阴性对照组(仅含*H. pylori*菌悬液)OD值差异无统计学意义时反-2-癸烯醛的最低浓度。最低杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)为从前述MIC测试板中吸取各孔10 μL菌液滴加7%羊血的哥伦比亚琼脂培养基上,孵育3~5 d后,细菌存活率下降99.9%的最低浓度。

1.2.3 时间-抑菌曲线测定

*H. pylori*菌悬液暴露于含将反-2-癸烯醛(4 μg/mL、8 μg/mL和16 μg/mL)的BHI肉汤。放入培养箱中孵育72 h,其间每12 h测定1次OD_{600 nm}。阳性对照为含MTZ溶液和*H.pylori*菌悬液的BHI,空白对照仅含BHI。

1.2.4 时间-杀菌曲线测定

*H. pylori*标准菌株菌悬液暴露于终浓度为16 μg/mL、32 μg/mL和64 μg/mL反-2-癸烯醛的BHI肉汤中。24 h内每2 h取样100 μL, 10倍稀释后活菌计数[log₁₀(CFU/mL)]。阳性对照和空白对照同1.2.3。

1.2.5 反-2-癸烯醛体外诱导*H. pylori*耐药实验

*H. pylori*标准菌株(MTZ耐药)和临床菌株C101

(AMX、CLA、LEV和MTZ皆耐药)与1/2 MIC(8 µg/mL)反-2-癸烯醛于96孔板中等体积孵育3 d后,接种到哥伦比亚血平板孵育2 d,检测此时反-2-癸烯醛的MIC。收集平板上对数生长期的细菌用于下一个周期MIC的测定。重复上述步骤至第9代,通过比较不同周期MIC值的变化来判断*H. pylori*耐药性的改变,其中MTZ处理组作为阳性对照。

1.2.6 棋盘法联合药敏实验

*H. pylori*标准菌株和临床分离耐药株C101、R1和R24,分别与反-2-癸烯醛以及四种终浓度为1/16、1/8、1/4、1/2、1、2 MIC的抗生素(AMX、CLA、LEV和MTZ)混匀,于微需氧环境中培养3~5 d($V_{\text{反-2-癸烯醛}} : V_{\text{抗生素}} : V_{\text{菌液}} = 1 : 1 : 2$)。使用分数抑制浓度指数(fractional inhibitory concentration index, FICI)评估反-2-癸烯醛与4种抗生素之间的联合作用。判断标准: $FICI \leq 0.5$ 为协同作用, $0.5 < FICI \leq 1$ 为相加作用; $1 < FICI \leq 2$ 为无关作用, $FICI > 2$ 为拮抗作用。计算公式如下:

$$FICI = \frac{MIC_{\text{反-2-癸烯醛(联合)}}}{MIC_{\text{反-2-癸烯醛(单独)}}} + \frac{MIC_{\text{抗生素(联合)}}}{MIC_{\text{抗生素(单独)}}} \quad (1)$$

1.2.7 观察反-2-癸烯醛对*H. pylori*形态及细胞超微结构的影响

取 $OD_{600 \text{ nm}}$ 为0.600的对数期*H. pylori*标准菌株菌落,用BHI培养基稀释20倍后与终浓度为16 µg/mL的反-2-癸烯醛等体积孵育4 h,随后5000 r/min、4 °C离心5 min,得到*H. pylori*菌体。取部分菌体沿管壁缓慢加入1 mL 2.5%戊二醛固定液,悬浮固定用于扫描电镜分析;剩余菌体以1 mL 0.5%戊二醛固定液($V_{2.5\% \text{戊二醛}} : V_{\text{PBS}} = 1 : 4$)固定,吹打混匀,4 °C放置5 min;吸取菌液于新的1.5 mL离心管,4 °C、12000 r/min离心10 min,弃上清,加入1 mL 2.5%戊二醛固定,用于透射电镜分析。样品送至成都里来生物科技有限公司检测。

1.2.8 反-2-癸烯醛对*H. pylori*生物膜形成和成熟生物膜作用

收集对数生长期的标准菌株接种于布氏培养基中,过夜培养。取出后用培养基将菌液稀释至 $OD_{600 \text{ nm}}$ 为0.100。取部分菌液和终浓度分别为4 MIC(64 µg/mL)、2 MIC(32 µg/mL)、1 MIC(16 µg/mL)、1/2 MIC(8 µg/mL)的反-2-癸烯醛于微需氧环境中培养3 d,检测反-2-癸烯醛对*H. pylori*生物膜形成的影响;另一部分菌液用BHI液体培养基培养3 d,再与终浓度分别为4 MIC(64 µg/mL)、2 MIC(32 µg/mL)、1 MIC(16 µg/mL)、1/2 MIC(8 µg/mL)的反-2-癸烯醛共培养24 h,检测反-2-癸烯醛对*H. pylori*成

熟生物膜的作用。后续操作如下所述:

弃去培养基,用PBS清洗两次,加入甲醇,固定生物膜10 min。然后,加入0.1%结晶紫染液,染色30 min;再用无菌水洗各孔3次,加入95%乙醇溶液,放置15 min。吸取100 µL上述所得液体于新的96孔板,于570 nm波长处测定吸光度值(A),亦仅含布氏培养基的孔为空白对照,未加反-2-癸烯醛的培养孔为阳性对照。生物膜形成抑制率计算公式如下:

$$\text{抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{A_{\text{处理}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{阳性}} - A_{\text{空白}}} \right) \times 100\% \quad (2)$$

1.2.9 检测反-2-癸烯醛对*H. pylori*脲酶活性的影响

收集对数生长期的*H. pylori*置于-80 °C冰箱。24 h后取出恢复至室温,加入蛋白酶抑制剂和去离子水重悬菌体,超声震荡,4 °C、15000×g离心10 min。收集上清至活化后的透析袋中,4 °C透析过夜,吸出*H. pylori*脲酶溶液与等体积甘油混匀,储存于4 °C冰箱备用。总蛋白浓度测定按照BCA蛋白浓度测定试剂盒说明书进行。

建立氨含量标准曲线后测定脲酶活性:分别取尿素溶液和稀释后的脲酶溶液混匀,室温下避光反应20 min,然后分别加入Berthelot显色液A和B,避光反应10 min,测定 $OD_{635 \text{ nm}}$,按照以下公式并计算脲酶剩余活性。

脲酶稀释液和一系列浓度的反-2-癸烯醛溶液(0~64 µg/mL)或AHA溶液(0~8 mmol/L)混匀并于37 °C避光孵育20 min。后加入尿素溶液避光反应20 min。加入Berthelot显色液A和B,避光反应10 min,测定 $OD_{635 \text{ nm}}$,按照以下公式计算脲酶剩余活性,并以Graphpad Prism软件,求得反-2-癸烯醛对脲酶半数抑制浓度(IC_{50}),并以溶剂作为背景对照、无脲酶的孔作为空白对照。

$$\text{脲酶剩余活性}(\%) = \frac{OD_{\text{处理}} - OD_{\text{背景}}}{OD_{\text{空白}}} \times 100\% \quad (3)$$

1.2.10 半固体穿刺

接种针火焰烧灼灭菌,冷却后,浸入*H. pylori*菌液约3 s,取出垂直插入半固体培养基内停留3 s。穿刺结束后,将培养基正置于37 °C微需氧环境中培养4 d,取出与直尺在同一视野拍照,通过ImageJ软件分析*H. pylori*的扩散面积。

1.2.11 统计学方法

分别使用SPSS 26.0与GraphPadPrism 9.5软件进行统计分析与绘图。统计学差异采用单因素方差分析进行评估,若单因素方差分析结果显示有统计学差异,进一步采用Dunnett's t进行多重比较检验,与选定的参照组进行比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 反-2-癸烯醛对*H. pylori*的体外抑制作用

如表1所示: 针对不同耐药表型的临床分离菌株(见网络资源附件附表1)以及*H. pylori*标准菌株ATCC43504, MIC范围为8~16 μg/mL, MBC范围为16~32 μg/mL, 表明低浓度反-2-癸烯醛对*H. pylori*具有显著的抑菌和杀菌作用。

与阴性对照相比, 反-2-癸烯醛处理*H. pylori*标准菌株48 h时, 1/4 MIC(4 μg/mL)和1/2 MIC(8 μg/mL)的反-2-癸烯醛均抑制了*H. pylori*生长; 随着药物浓度的增加, 抑制作用增强。当反-2-癸烯醛浓度为1 MIC(16 μg/mL)时, 完全抑制了*H. pylori*的生长(图1A)。

表 1 反-2-癸烯醛体外抑制*H. pylori* 菌株的MIC和MBC
Table 1 *In vitro* MIC and MBC values of Trans-2-decenal against *H. pylori* strains

<i>H. pylori</i> strain	MIC/(μg/mL)	MBC/(μg/mL)
R1	8	32
R2	16	32
R4	16	16
R10	16	16
R16	16	32
R24	8	32
R36	16	16
R40	16	16
C101	16	32
C907	16	32
ATCC	16	16

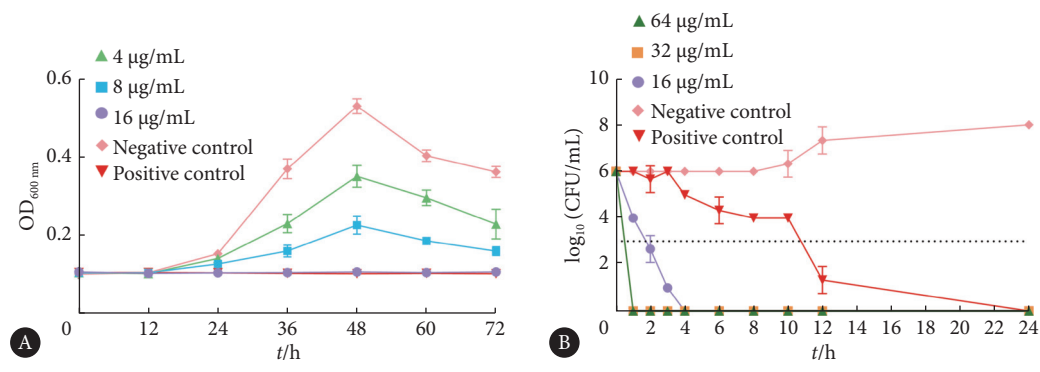


图 1 反-2-癸烯醛体外抗*H. pylori*的抑菌曲线 (A) 和杀菌曲线 (B)
Fig 1 *in vitro* antibacterial curve (A) and bactericidal curve (B) of Trans-2-decenal against *H. pylori*

根据反-2-癸烯醛对*H. pylori*标准菌株的时间杀菌曲线的结果显示, 反-2-癸烯醛的杀菌作用呈剂量和时间依赖性(图1B)。当浓度为1 MBC时, 培养2 h后细菌数量减少了1 000倍, 4 h后无*H. pylori*检出, 并在4~24 h内未检测到存活的*H. pylori*; 反-2-癸烯醛浓度达到2 MBC(32 μg/mL), 甚至4 MBC(64 μg/mL)时, 仅需1 h即可杀死所有*H. pylori*。可见, 反-2-癸烯醛的抗*H. pylori*作用呈剂量和时间依赖性; 而阳性对照抗生素需要24 h才能完全杀死*H. pylori*, 杀菌效果不如反-2-癸烯醛。

此外, 反-2-癸烯醛对*H. pylori*标准菌株和临床菌株C101连续诱导9代后, *H. pylori*标准菌株和C101的MIC均未发生改变。而MTZ处理这两株*H. pylori*后MIC均增加了8倍, 如至第9代时其MIC分别达到512 μg/mL和128 μg/mL。提示与常用抗生素比, 反-2-癸烯醛诱导*H. pylori*产生耐药性的风险较小(图2)。

2.2 反-2-癸烯醛与MTZ和CLA体外联用具有相加效应

反-2-癸烯醛与常用于*H. pylori*治疗的4种抗生素(AMX、MTZ、LEV和CLA)联合作用的抑菌结果如表2所

示, 结果表明反-2-癸烯醛体外与MTZ和CLA联用会出现相加效应。另外, 反-2-癸烯醛分别与四种抗生素联合作用于*H. pylori*菌株R1(MTZ+LEV耐药菌株)时, 与CLA联用时表现出相加效应; 对于*H. pylori*菌株R24(MTZ+LEV+CLA耐药菌株), 反-2-癸烯醛与MTZ联合使用时表现出相加效应; 反-2-癸烯醛与MTZ和CLA联合处理*H. pylori*标准菌株时, 都出现相加效应。上述结果表明反-2-癸烯醛能促进MTZ和CLA体外抗*H. pylori*作用, 且对耐药株亦有效。

此外, 从表2可知, 与反-2-癸烯醛联用时, 不同抗生素对应的MIC均减小, 证明反-2-癸烯醛除具有抑菌活性外, 亦能增强抗生素耐药株的抑菌效果, 为临床降低抗生素使用剂量及其可能产生的毒副作用提供新的解决途径。

2.3 反-2-癸烯醛改变*H. pylori*的形态和细胞超微结构

通过扫描电镜和透射电镜观察, 用1 MIC(16 μg/mL)反-2-癸烯醛处理4 h后的ATCC43504菌体出现了破裂(图3A黄色圆圈标记处), 形态由典型的弯曲杆状变为球状(图3A蓝色箭头)、表面粗糙; 菌体数量减少, 超微结构

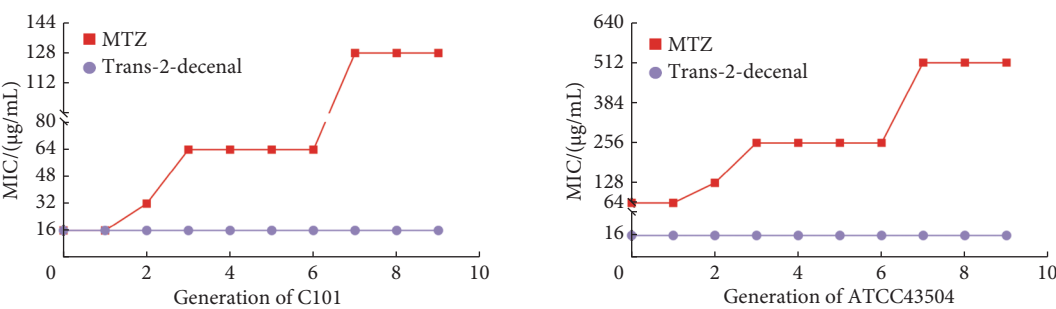


图 2 反-2-癸烯醛对 *H. pylori* 临床菌株 C101 和标准菌株 ATCC43504 耐药性的影响

Fig 2 Effect of Trans-2-decenal on the resistance of clinical strain C101 and standard strain ATCC43504 of *H. pylori*

表 2 反-2-癸烯醛与 *H. pylori* 根除治疗的 4 种常用抗生素体外联用抑菌结果

Table 2 *In Vitro* bacteriostatic effects of combination therapy with Trans-2-decenal and four common antibiotics used in *H. pylori* eradication treatment

<i>H. pylori</i>	Antibiotic A	Antibiotic B	MIC/(μg/mL)			FICI	Interaction
			A	B	A + B		
C101	AMX	Trans-2-decenal	2	16	1 + 16	1.5	Irrelevant effect
	MTZ	Trans-2-decenal	16	16	4 + 16	1.25	Irrelevant effect
	LEV	Trans-2-decenal	16	16	2 + 16	1.062 5	Irrelevant effect
	CLA	Trans-2-decenal	32	16	4 + 16	1.25	Irrelevant effect
R1	AMX	Trans-2-decenal	0.062 5	8	0.003 9 + 8	1.062 4	Irrelevant effect
	MTZ	Trans-2-decenal	64	8	4 + 8	1.062 5	Irrelevant effect
	LEV	Trans-2-decenal	16	8	1 + 8	1.062 5	Irrelevant effect
	CLA	Trans-2-decenal	0.015 6	8	0.000 5+4	0.531 3	Synergistic effect
R24	AMX	Trans-2-decenal	0.25	16	0.015 6 + 16	1.062 5	Irrelevant effect
	MTZ	Trans-2-decenal	32	16	8 + 8	0.75	Synergistic effect
	LEV	Trans-2-decenal	32	16	4 + 16	1.125	Irrelevant effect
	CLA	Trans-2-decenal	32	16	1 + 16	1.062 5	Irrelevant effect
ATCC43504	AMX	Trans-2-decenal	0.062 5	16	0.003 9+16	1.062 5	Irrelevant effect
	MTZ	Trans-2-decenal	64	16	32 + 4	0.75	Synergistic effect
	LEV	Trans-2-decenal	0.25	16	0.015 6+16	1.062 5	Irrelevant effect
	CLA	Trans-2-decenal	0.031 25	16	0.002 0+8	0.562 4	Synergistic effect

Irrelevant effect: There is no mutual influence between the two. Synergistic effect: When the two drugs are used together, the overall effect equals the sum of the effects of each drug used alone.

也出现了变化,如细胞质分布不均匀、细胞边界不清晰、内容物泄漏(图3B)。

2.4 反-2-癸烯醛抑制 *H. pylori* 生物膜的形成和成熟生物膜数量

图4表明,4 MIC(64 μg/mL)、2 MIC(32 μg/mL)、1 MIC(16 μg/mL)、1/2 MIC(8 μg/mL)反-2-癸烯醛对 *H. pylori* 标准菌株 ATCC43504 生物膜形成的抑制率分别为96.0%、95.1%、89.8%和13.1%;其对成熟生物膜的抑制率分别为95.7%、91.0%、91.5%和44.4%,说明不同浓度的反-2-癸烯醛均抑制 ATCC43504 生物膜的形成和生长($P<0.05$);并且,这种抑制作用在1 MIC后不再随药物浓度增长而增强。

2.5 反-2-癸烯醛抑制 *H. pylori* 脲酶活性

结果表明,反-2-癸烯醛对脲酶活性有显著抑制作用,且呈现明显的浓度依赖性,其中IC₅₀为9.484 μg/mL(图5A);而AHA抑制作用比反-2-癸烯醛差,其有效抑制脲酶活性浓度整体较高,IC₅₀为181.5 μg/mL,约为反-2-癸烯醛的20倍(图5B)。

2.6 反-2-癸烯醛抑制 *H. pylori* 的迁移力

半固体穿刺实验结果(图6)显示,对照组中 *H. pylori* 标准菌株的扩散生长面积最大,反-2-癸烯醛处理后 *H. pylori* 的扩散生长面积以浓度依赖性的方式显著减小;当反-2-癸烯醛浓度为2 MIC(32 μg/mL)时,完全抑制了 *H. pylori* 的生长,与前期所测得的MBC结果相符。上述结果

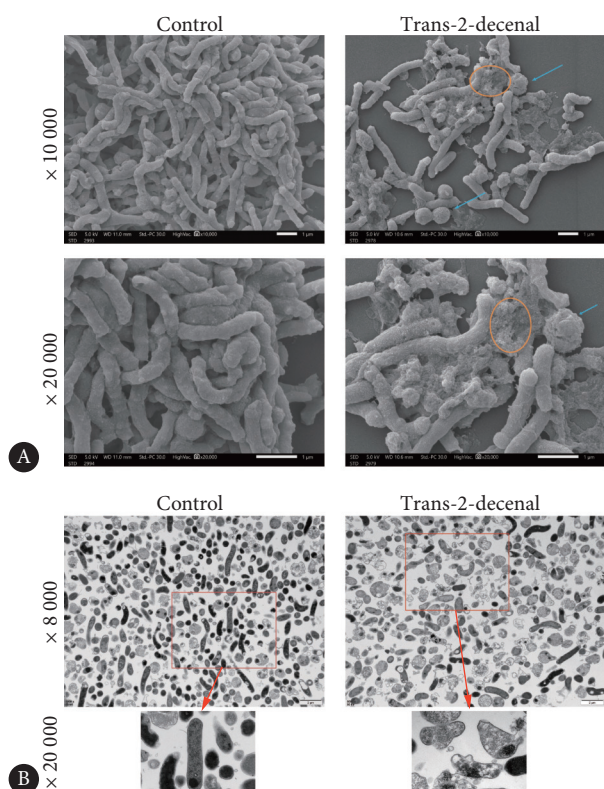


图 3 反-2-癸烯醛改变 *H. pylori* 标准株 ATCC43504 的形态 (A) 和超微结构 (B)

Fig 3 Trans-2-decenal alters the morphology (A) and ultrastructure (B) of *H. pylori* standard strain ATCC43504

The area marked by the yellow circle shows ruptured bacterial cells. The blue arrow indicates that the shape has changed from the typical curved rod-like form to a spherical shape.

表明反-2-癸烯醛可显著抑制 *H. pylori* 的迁移能力。

3 讨论

目前越来越多的临床 *H. pylori* 感染患者对抗生素的耐药性增加, 导致根除率下降。为提高根除率, 通常采用耐药率低的抗生素、增加药物剂量或是种类 (铋剂等) 的

治疗策略。但是, 用于 *H. pylori* 感染的抗生素中耐药率较低的四环素对中枢神经系统有影响, 呋喃唑酮可能具有遗传毒性和致癌作用, 铋剂存在潜在毒性等问题, 导致一些国家并未批准使用这些药物^[12-13]。此外, 临床常用的抗生素治疗方案会引发一系列不良反应如恶心、头痛等; 且复杂的治疗方案会降低患者依从性, 这些都是根除治疗失败的重要原因^[14]。因此, 迫切需要有效针对 *H. pylori* 感染的非抗生素治疗方法, 降低药物副作用和减轻治疗方案复杂度。

目前安全有效的天然疗法是研究的焦点。反-2-癸烯醛是一种天然存在于马兜铃、草果、香姜等植物精油中的化合物, 具有独特而清新的香气, 常被用作香料以提升产品的风味和香气^[15]。本研究发现反-2-癸烯醛对不同耐药表型的 *H. pylori* 均具有显著的抑菌和杀菌作用。根据 MIC 值将植物提取物、天然化合物和合成化合物的抗 *H. pylori* 活性分为强活性 (MIC < 10 $\mu\text{g/mL}$)、强-中等活性 (MIC: 10 ~ 100 $\mu\text{g/mL}$)、弱-中等活性 (MIC: 100 ~ 1000 $\mu\text{g/mL}$) 和弱活性 (MIC > 1000 $\mu\text{g/mL}$)^[16]。反-2-癸烯醛的 MIC 介于 8 ~ 16 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 这表明即使在相对低的浓度下, 反-2-癸烯醛也能有效地抑制 *H. pylori* 的生长。此外, 在时间抑菌和时间杀菌实验中, 我们观察到浓度为 16 $\mu\text{g/mL}$ 时, 作用 4 h 即可完全杀灭细菌。相比之下, MTZ 需要 24 h 才能实现相同的效果, 表明反-2-癸烯醛低剂量、短时间内就能够发挥抗 *H. pylori* 作用。由此可见, 反-2-癸烯醛可作为治疗 *H. pylori* 感染的潜在发展药物。

长期使用抗生素容易导致 *H. pylori* 产生耐药性是根除治疗失败的主要原因。因此, 我们评估了 *H. pylori* 对反-2-癸烯醛产生耐药性的可能性, 并以 MTZ 作为对照^[17]结果显示, 反-2-癸烯醛连续作用于 *H. pylori* 达到 9 代时, 其 MIC 仍未改变, 而 MTZ 的 MIC 增加了 8 倍, 表明相较于抗生素, 反-2-癸烯醛不太可能导致耐药性的发生。此

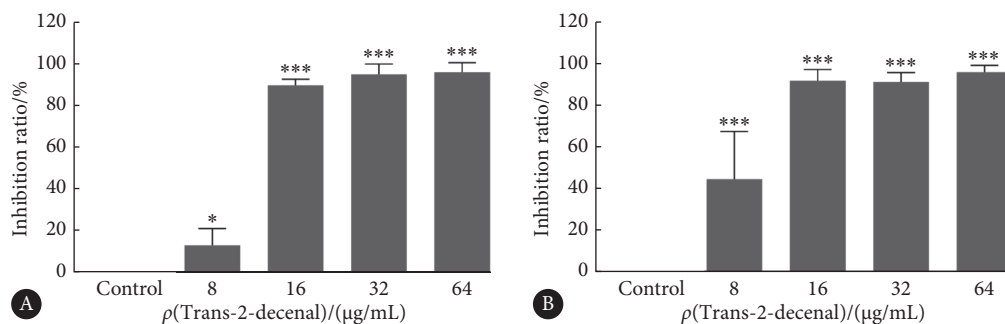
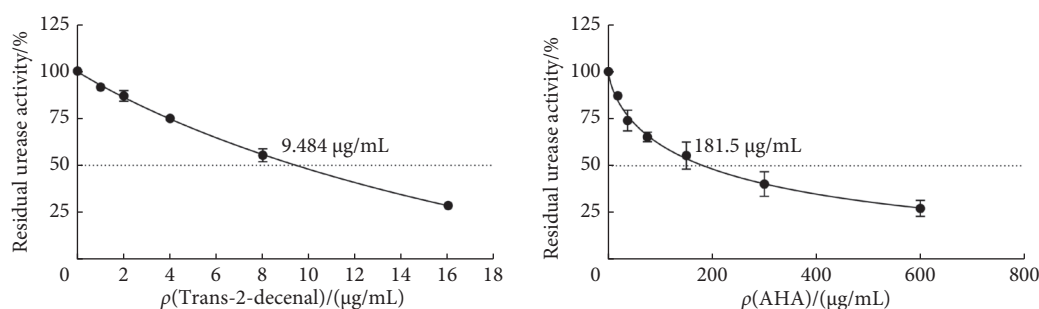
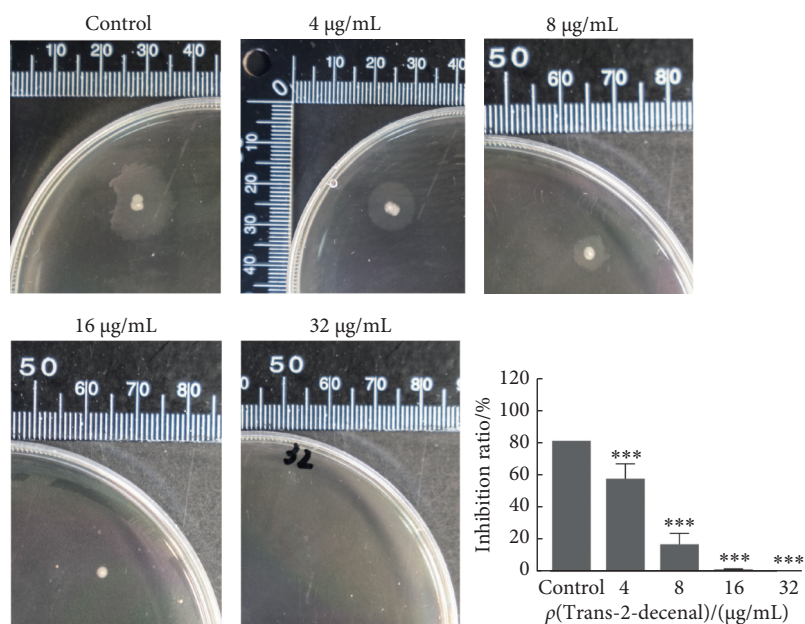


图 4 反-2-癸烯醛抑制 *H. pylori* 生物膜的形成与生长

Fig 4 Trans-2-decenal inhibits the formation and growth of *H. pylori* biofilm

A, Inhibition of ATCC43504 biofilm formation by trans-2-decenal; B, Inhibition of mature ATCC43504 biofilm by Trans-2-decenal. $n = 3$, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, vs. control.

图 5 反-2-癸烯醛抑制 *H. pylori* 脲酶活性 ($n=3$)Fig 5 Trans-2-decenal inhibits urease activity of *H. pylori* ($n=3$)图 6 反-2-癸烯醛对 *H. pylori* 迁移力的影响Fig 6 Effect of Trans-2-decenal on the migratory ability of *H. pylori*

$n=3$. *** $P < 0.001$, vs. control.

外,反-2-癸烯醛与抗生素(MTZ或CLA)联合作用后,降低抗生素的MIC,表明反-2-癸烯醛与抗生素(MTZ或CLA)联用可减少抗生素剂量,减少副作用。

作用机制方面,本研究发现反-2-癸烯醛能改变 *H. pylori* 的形态,引起球形转化,这可能是其生物合成和代谢过程减慢,进而在胃黏膜中存活和定植受到抑制的主要原因^[18-19]。此外, *H. pylori* 有2~6个单极鞭毛,能利用尿素水解产生的 H^+ 梯度作为运动的能量驱动源,从而快速运动逃离胃中酸性环境^[20-21]。在本研究中,反-2-癸烯醛使 *H. pylori* 脲酶活性降低,并以剂量依赖性方式抑制 *H. pylori* 的迁移,说明反-2-癸烯醛可能通过影响 *H. pylori* 的形态及产生脲酶的能力,阻碍其在胃黏膜的定植和存活,达到根除 *H. pylori* 的效果。

综上所述,反-2-癸烯醛具有良好的抗 *H. pylori* 活性,且不易产生耐药性,效果优于抗生素。其可能通过改变

细菌形态结构、降低 *H. pylori* 脲酶活性和迁移力,进一步阻碍其在胃部定植和存活,为临床反复出现的 *H. pylori* 抗生素耐药问题和根除手段提供新候选药物解决途径。

* * *

作者贡献声明 何蕾负责论文构思、正式分析、可视化、初稿写作和审读与编辑写作,何琪云娜负责论文构思、数据审编、研究方法和验证,田海英负责调查研究、研究方法和验证,付羽萍负责审读与编辑写作,蔡琳负责研究项目管理,廖娟负责提供资源、监督指导和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution HE Lei is responsible for conceptualization, formal analysis, visualization, writing--original draft, and writing--review and editing. HE Qiyunna is responsible for conceptualization, data curation, methodology, and validation. TIAN Haiying is responsible for investigation, methodology, and validation. FU Yuping is responsible for writing--review and editing. CAI Lin is responsible for project administration. LIAO Juan is responsible for resources, supervision, and writing--review and editing. All

authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] LI Y, CHOI H, LEUNG K, *et al.* Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection between 1980 and 2022: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2023, 8(6): 553-564. doi: 10.1016/S2468-1253(23)00070-5.
 - [2] TSHIBANGU-KABAMBA E, YAMAOKA Y. *Helicobacter pylori* infection and antibiotic resistance - from biology to clinical implications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(9): 613-629. doi: 10.1038/s41575-021-00449-x.
 - [3] SUN Q, YUAN C, ZHOU S, *et al.* *Helicobacter pylori* infection: a dynamic process from diagnosis to treatment. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1257817. doi: 10.3389/fcimb.2023.1257817.
 - [4] TANG Q, MA Z, TANG X, *et al.* Coptisine inhibits *Helicobacter pylori* and reduces the expression of CagA to alleviate host inflammation *in vitro* and *in vivo*. *J Ethnopharmacol*, 2023, 314: 116618. doi: 10.1016/j.jep.2023.116618.
 - [5] ARSLAN N, YILMAZ O, DEMIRAY-GURBUZ E. Importance of antimicrobial susceptibility testing for the management of eradication in *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(16): 2854-2869. doi: 10.3748/wjg.v23.i16.2854.
 - [6] BANG C S, BAIK G H. Attempts to enhance the eradication rate of *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(18): 5252-5262. doi: 10.3748/wjg.v20.i18.5252.
 - [7] NG H Y, LEUNG W K, CHEUNG K S. Antibiotic Resistance, Susceptibility Testing and Stewardship in *Helicobacter pylori* Infection. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(14): 11702. doi: 10.3390/ijms241411708.
 - [8] LI Z J, NJATENG G S, HE W J, *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from the edible aromatic plant *Aristolochia delavayi*. *Chem Biodivers*, 2013, 10(11): 2032-2041. doi: 10.1002/cbdv.201300066.
 - [9] KUMAR S, AHMAD R, SAEED S, *et al.* Chemical Composition of Fresh Leaves Headspace Aroma and Essential Oils of Four Coriander Cultivars. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 820644. doi: 10.3389/fpls.2022.820644.
 - [10] WU X, WEI F, DING F, *et al.* Phytochemical analysis, antioxidant, antimicrobial, and anti-enzymatic properties of *Alpinia coriandriodora* (sweet ginger) rhizome. *Front Plant Sci*, 2023, 14: 1284931. doi: 10.3389/fpls.2023.1284931.
 - [11] 何琪云娜, 潘美伶, 田海英, 等. 根除治疗失败患者幽门螺杆菌的耐药特性及毒力基因研究. *现代预防医学*, 2024, 51(7): 1331-1337. doi: 10.20043/j.cnki.MPM.202401036.
- HE Q Y N, PAN M L, TIAN H Y, *et al.* Study on drug resistance and virulence genes of *Helicobacter pylori* in patients with failed eradication

Φ

[12]

[13]

[14]

[15]

[16]

[17]

[18]

[19]

[20]

[21]

(2025-08-06收稿, 2026-01-04修回)

编辑 汤 洁



开放获取 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用 4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

OPEN ACCESS This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2026《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of Journal of Sichuan University (Medical Sciences)