

Lars Engstrand, professor, överläkare, avdelningen för bakteriologi, Smittskyddsinstitutet/Mikrobiologiskt och tumörbiologiskt centrum, Karolinska institutet, Solna lars.engstrand@smi.ki.se

Helena Enroth, med dr, molekylärbiolog, avdelningen för klinisk mikrobiologi, Capio Diagnostik AB, Kärn sjukhuset, Skövde

Från kontroversiellt bifynd till Nobelpris

Upptäckten av *Helicobacter pylori* – en osannolik framgångssaga

■ En osannolik framgångssaga – så kan man närmast beskriva händelseutvecklingen under de drygt 20 år som gått sedan Robin Warren och Barry Marshall publicerade hypotesen att gastrit och peptisk ulkussjukdom i själva verket är infektionssjukdomar orsakade av samma bakterie [1]. Den stora skepsis som dominerade under de första tio åren efter upptäckten av »magsårsbakterien« har successivt minskat, och idag är såväl kliniker som grundforskare övertygade om att *Helicobacter pylori* har en avgörande roll vid uppkomsten av peptiska sår. Från att ha klassats som en kontamination av prov från magsäcken blev bakterien en av de mest uppmärksammade medicinska upptäckterna under förra århundradet, av många betraktad som ett av de största medicinska framstegen med inverkan på folkhälsan.

Årets Nobelpris i fysiologi eller medicin tilldelas Warren och Marshall »for their discovery of the bacterium *Helicobacter pylori* and its role in gastritis and peptic ulcer disease«. Deras fynd har lett till ett paradigmskifte, vilket medfört att en tidigare mycket vanlig folksjukdom idag kan botas med en veckas antibakteriell behandling. Upptäckten har också vidgat synen på vad som kan ligga bakom många kroniska inflammatoriska sjukdomar där vi idag inte har något annat att erbjuda än immunmodulerande behandling. Grundforskare har tack vare pristagarnas insats fått ett nytt spännande område att studera. Minst lika viktigt är att kliniker nu på ett enkelt sätt kan bota sina magsårspatienter. Många anser att årets val av pristagare är ett efterlängtat erkännande av den kliniska forskningen. Förhoppningsvis kan priset till Warren och Marshall även stimulera unga kolleger att våga satsa på forskning – trots allt är pristagarna detta år vanliga doktorer som trodde på sin upptäckt och vågade ifrågasätta en väl etablerad dogm – att inga bakterier överlever i magsäcken.

Häpnadsväckande och spektakulär upptäckt

Påståendet att en bakterie kan orsaka peptisk ulkussjukdom och är associerad med utveckling av magcancer ansågs länge som häpnadsväckande, och många tvivlade på att så kunde vara fallet. Warren och Marshall hade svårt att få gehör för sina fynd och blev de första åren efter upptäckten mer eller mindre hånade av sina kolleger.

Ett exempel är när Marshall fick sitt abstrakt med de första fynden refuserat vid den årliga sammankomsten för australiska gastroenterologer i Perth 1983. I svarsbrevet stod att man efter kritisk granskning endast kunde acceptera 56 av 67 insända abstrakt och att Marshalls bidrag tyvärr inte fanns med bland dessa. De föreslog att han i framtiden kunde skicka in sitt abstrakt igen, men först efter en kritisk granskning av sina kolleger. Det kanske mest spektakulära var när Marshall,

Sammanfattat

Robin Warren och Barry Marshall hade kanske en gnutta tur, men utan deras insats hade vi inte stått där vi står idag.

Många magsårspatienter hade kanske fortfarande ordinerats syrahämmande behandling och diet i årtal för sina återkommande magsårsbesvär.

Detta är nu historia, och idag botar vi en tidigare folksjukdom med en veckas antibakteriell behandling riktad mot *Helicobacter pylori* – tack vare årets Nobelpristagare.

efter några misslyckade djurförsök, närmast i desperation själv drack en bakterielösning för att uppfylla Kochs postulat och därmed bevisa sambandet [2].

I Sverige var framför allt några företrädare inom klinisk bakteriologi tidigt ute. Som verksam på ett kliniskt laboratorium var det uppenbarligen lättare att följa upp kontroversiella fynd, vilket också återspeglas när man studerar publikationer under 1980-talet. Det var framför allt inom klinisk patologi och klinisk bakteriologi som det bedrevs forskning inom området på den tiden. Det fanns dock några framsynta gastroenterologer som ansåg att fyndet inte kunde bortförklaras innan man bevisat motsatsen. Docent Sven Gustavsson vid kirurgkliniken i Uppsala var den förste i Sverige att rapportera om bakterien i *Läkartidningen* 35/1986. Han förutspådde då att upptäckten (om den stod sig) var av sådan dignitet att dess upptäckare kunde få Nobelpriset. Idag, 20 år senare, vet vi att han hade rätt.

Vad har hänt sedan millennieskiftet?

Det har sedan upptäckten på 1980-talet publicerats över 22 000 artiklar inom området, varav 11 000 under de senaste fem åren. Således har det hänt mycket under de fem år som gått sedan vi publicerade vår senaste artikel i *Läkartidningen* [3] (Figur 1). Vi spekulerade då kring framtida forskningsområden, framför allt inom grundforskning och klinik, och vi har delvis fått rätt. I ett samtal med Barry Marshall i Köpenhamn veckan efter beskedet att han tilldelats Nobelpriset tillsammans med Warren diskuterade vi dagsläget utifrån våra



Figur 1. Barry Marshall med det nummer av Läkartidningen där vår artikel om *H pylori* publicerades.

spekulationer för fem år sedan. I Sverige har många forskargrupper varit framgångsrika under denna tid, och flera har publicerat sina resultat i ansedda tidskrifter, såsom Nature, Science, PNAS och Gastroenterology. Trots den mycket höga produktivitet inom området kvarstår dock många frågor kring hur bakterien orsakar skada och varför inte alla infekterade individer utvecklar sjukdom. Några axplock, från bl a en del svenska upptäckter som fört forskningsområdet framåt de senaste fem åren, presenteras här nedan.

Smittvägar inom familjen

Smittan överförs under barnaåren, och en infekterad mamma eller infekterade syskon har visat sig vara den största riskfaktorn [4]. Däremot utgör en infekterad pappa inte någon risk alls. Nära kontakt med en smittad mamma eller syskon och en oral-oral smittväg är idag den mest sannolika vägen för bakterien att spridas till en ny individ. Bättre socioekonomisk standard minskar risken för smitta, vilket också är fallet i västvärlden. Andra smittvägar än person-till-person-smitta anses inte lika sannolika som för fem år sedan.

Diagnostiken tillgänglig för alla

Idag har vi en väl etablerad diagnostik för påvisande av *H pylori*-infektion, som är tillgänglig för alla behandlande läkare. Här pågår fortfarande utveckling för att öka sensitiviteten och specificiteten hos framför allt serologiska test. Immunoblotteknik är känsligare än ELISA-test då man använt s k CagA-markör som indikation på en tidigare infektion eller en pågående infektion med få bakterier i magsäcken. Med denna markör visade det sig att *H pylori*-infektion ökar risken att utveckla magcancer tiofalt jämfört med tidigare studier då man använt sedvanlig ELISA-teknik [5]. Vid beräkning anses idag 70 procent av magcancerfallen i Sverige kunna tillskrivas en genomgången eller pågående *H pylori*-infektion. Od-

ling är fortfarande den viktigaste metoden som används vid resistensbestämning och även för påvisande av virulensfaktorer hos bakterien. Påvisande av dessa faktorer är idag inte till hjälp för klinikern, eftersom dessa inte kan användas för att säkert förutsäga sjukdomsförloppet på individnivå. Påvisande av antibiotikaresistens är dock viktigt för behandlingsresultatet. Mer avancerade DNA-baserade metoder har utvecklats för detektion av resistentastammar [6]. Icke-invasiv diagnostik är idag väletablerad och utnyttjas relativt ofta i kliniken. Här avses serologi och ureautandningstest.

Påvisande av atrofisk gastrit med serologi (pepsinogen I/II-kvoten) i kombination med *H pylori*-status kan bli ett viktigt test för att hitta individer med ökad risk för att utveckla magcancer. Negativ *H pylori*-serologi är ett bra sätt att utesluta risk för atrofisk gastrit, vilket visats i en nyligen publicerad svensk populationsbaserad studie [7]. Fecesantigentest har lanserats som en alternativ metod för påvisande av pågående *H pylori*-infektion. Detta test är speciellt attraktivt inom pediatriken. Ett flertal fecestest finns nu på marknaden, och pålitligheten varierar stort, men de bästa har egenskaper som kan jämföras med den hos ureautandningstest. Test baserade på monoklonala antikroppar verkar ha högst sensitivitet och specificitet [8].

Resistensutveckling ett stort hot

Resistensutveckling hos bakterien under de senaste fem åren har medfört att de goda behandlingsresultaten från slutet av 1990-talet har försämrats. I Sverige har vi dock ett mycket gott resistensläge jämfört med många andra länder, där nya behandlingsstrategier nu efterfrågas.

I USA rekommenderar man idag 10–14 dagars behandling för att förbättra resultaten. I Europa och övriga världen kvarstår man vid sju dagars trippelbehandling, men frågan är om inte nya modifierade behandlingsalternativ måste införas

inom en snar framtid i länder med hög primärresistens hos isolaten. Kvadrupelterapi föreslås nu i vissa studier som förstahandsalternativ, där protonpumpshämmare (PPI) kombineras med tre antibiotika alternativt med vismut och två antibiotika [9]. Nya antibakteriella medel och administrationsformer har föreslagits, men det kvarstår många randomiserade studier innan dessa kan rekommenderas som alternativ till dagens behandling.

Resistensutveckling hos *H pylori* är nu det klart största hotet mot en framgångsrik behandling. Idag når vi inte längre de goda behandlingsresultat som redovisades i slutet av 1990-talet, då en veckas trippelbehandling med PPI och två antibiotika introducerades i stor skala.

Sjukdomsframkallande mekanismer och virulensfaktorer

Det är uppenbart att en kombination av bakteriella faktorer, genetiska faktorer hos individen och omgivningsfaktorer är avgörande för sjukdomsutvecklingen vid *H pylori*-infektion. Hos själva bakterien har största intresset de senaste åren riktats mot den s k Cag-patogenitetsön (cagPAI) i *H pylori*-genomet där genen cagA som kodar för virulensmarkören CagA ingår. I bakteriepopulationen i magsäcken förekommer hos vissa individer s k subkloner av samma stam, med avsaknad av hela eller delar av cagPAI, dvs själva ön saknas eller är inte komplett med sina 28 gener [10].

En hypotes är att bakterien genom att variera sitt geninnehåll i cagPAI, eller genom att helt eliminera detsamma, kan modifiera inflammationen och därmed balansera skadeprocessen i magen. Detta skulle kunna förklara varför inte alla individer utvecklar sjukdom. En intakt cagPAI innehåller ett typ IV-sekretionssystem som transporterar bl a proteinet CagA in i värdcellen, där det fosforyleras och utövar sin effekt. En mätbar effekt är ökad produktion av IL-8 i värdcellen. CagA är en markör för ökad virulens och associerad med bl a ökad risk för att utveckla magcancer.

Det är dock uppenbart att även andra faktorer hos bakterien ligger bakom sjukdomsutvecklingen, eftersom stammar som saknar cagPAI ger kronisk inflammation hos inficerade individer [11]. Idag finns kraftfulla DNA-tekniker där vi kan sekvensera hela genom, t ex flera bakterieisolat, från samma mage, vilket kommer att öka kunskapen om dynamiken i bakteriepopulationen och dess koppling till peptisk ulkussjukdom och magcancer [12]. Det tillkommer nya potentiella virulensgener varje år, men betydelsen av de flesta är ännu oklar.

Bakteriell vidhäftning till slemhinnan är en viktig faktor som bidrar till virulens, och där har svensk forskning legat i frontlinjen. Adhesinerna BabA och SabA upptäcktes i Umeå och har väckt stort intresse hos många forskargrupper [13]. Bindningsförmågan hos bakterien är avhängig av om generna är aktiva eller inte, dvs endast detektion av generna är inte tillräckligt för att påvisa bindning till epitelcellerna. Dessa adhesiner är också involverade i vidhäftning till muciner i magsäckens slemskikt. Bakterie-värdinteraktion har också studerats, där betydelsen av Toll-like receptors, signaleringsvägar och regleringsmekanismer för apoptos kartlagts under de senaste fem åren. Aktiviteten inom forskningsområdet mikrobiell patogenes är idag mycket stor. *H pylori* används ofta som en modellorganism för kronisk infektion och inflammation i dessa sammanhang.

Infektion med risk för cancerutveckling

Epidemiologiska studier har funnit en ökad risk hos *H pylori*-inficerade individer att utveckla magcancer. Sannolikt är denna risk undervärderad, eftersom nyare studier där CagA-proteinet använts som markör visat betydande riskökningar jämfört med tidigare studier [5]. Tidig diagnos av atrofisk

gastrit har föreslagits som en möjlighet att upptäcka patienter i riskgruppen. Interventionsstudier är av naturliga skäl svåra att genomföra, eftersom cancerutvecklingen tar lång tid.

I en kinesisk, populationsbaserad, randomiserad och placebokontrollerad interventionsstudie fann man efter 7,5 år att behandling av infektionen minskade risken att utveckla magcancer. Minskningen var dock inte statistiskt signifikant [14]. En signifikant minskning av risken fann man dock hos den grupp av individer som inte hade några tecken på precancerösa förändringar i magsäcken då studien startade. Slutsatserna från studien har diskuterats, och det är idag för tidigt att lansera nya behandlingsindikationer utifrån dessa resultat. Behandling av *H pylori*-infektion hos patienter med MALT-lymfom har dock vid långtidsuppföljning visat sig innebära en stor chans till komplett remission av sjukdomen [15].

Genetiska faktorer hos den inficerade individen har studerats intensivt under de senaste fem åren. Cytokinpolymorfism hos olika etniska grupper har kopplats till såväl ökad som oförändrad risk att utveckla magcancer. Det är uppenbart att skillnader i prevalens av specifika genetiska polymorfismer i olika populationer avgör om dessa biomarkörer kan användas som prediktiva verktyg eller inte.

Hos bakterien har virulensfaktorer, såsom proteinet CagA, även kopplats till ökad cancer risk. Faktorer som är associerade med ökad inflammation och apoptos har rönt störst intresse hos forskarna. Idag talar inget för att vi i framtiden skall kunna identifiera cancerogena *H pylori*-stammar – men betydande genombrott har skett förr.

Drömmen om ett skyddande vaccin

Trots att de flesta större vaccinbolag idag har lagt ner sin forskning kring ett vaccin mot *H pylori*-infektion fortsätter flera forskargrupper sitt arbete med att utveckla ett profylaktiskt eller terapeutiskt vaccin. Många vaccinkandidater bygger på kända virulensfaktorer hos bakterien, t ex VacA, BabA, CagA och HPNAP. Försök med frivilliga individer som inficerats med *H pylori* har utförts av en tysk grupp, där frivilliggruppen först vaccinerades med levande salmonellabakterier som manipulerats genetiskt för att uttrycka *H pylori*-ureas på sin yta [T Meyer, pers medd, Stockholm, 2005]. Därefter drack försökspersonerna en lösning med *H pylori*, och man såg en viss skyddande effekt. Studien var liten och har förstås inte medfört acceptans för denna vaccinstrategi.

Den kroniska inflammationen i magsäcken har studerats ingående hos patienter och i olika djurförsök, och idag vet vi betydligt mer än för fem år sedan. Forskningen de senaste åren har fokuserat på T-cellssvaret (Th1/Th2) samt på proinflammatoriska cytokiner som IL-1b, IL-6, IL-8, IFN- γ och TNF- α . Vi kommer säkert att se fler rapporter med olika vaccinkandidater, olika administrationsätt och olika adjuvans i framför allt olika djurmodeller under de närmaste åren.

Mikrobiell genes även till andra sjukdomar

Upptäckten att en bakterie kan orsaka inflammation och även peptisk ulkussjukdom i magsäcken har vidgat våra vyer och även genererat ett ökat intresse för studier kring mikrobiell genes till många andra kroniska inflammatoriska sjukdomar. *H pylori*-infektionen är en tilltalande modell, som kan användas för att öka förståelsen kring hur en långvarig bakterieinfektion med kolonisation, vidhäftning och interaktion med epiteliala ytor medför sjukdom, som sår och cancer, eller enbart inflammation.

Andra mikroorganismer som fäster vid och interagerar med slemhinnan i olika delar av mag-tarmkanalen kommer säkert att få stor betydelse när vi letar efter möjliga orsaker till kroniska inflammatoriska sjukdomar som Mb Crohn och ulcerös kolit. Även granulomatösa sjukdomar som Wegeners

granulomatos och sarkoidos kan kanske i framtiden visa sig ha en mikrobiell genes om vi lyckas identifiera de mikroorganismer eller störningar i mikrofloran som aktiverar immunförsvaret. Nya kraftfulla molekylära metoder kommer att hjälpa oss i detta arbete [12].

Nobelpristagarnas egen saga

I boken »Helicobacter pioneers«, författad av Barry Marshall själv som en jubileumsutgåva till 20-årsminnet av bakteriens upptäckt 1982, kan man följa den dramatiska tiden direkt efter upptäckten men även de fruktlösa försök som några andra läkare gjorde åren innan [17]. Deras försök att övertyga kolleger och övrig omgivning om att det var en bakterieinfektion som orsakade ulkus och inflammation i magsäcken är ingående beskrivet. Warren och Marshall hade kanske en gnutta tur, men utan deras insats hade vi inte stått där vi står idag. Många magsårspatienter hade kanske fortfarande ordinerats syrahämmande behandling och diet i årtal för sina återkommande magsårsbesvär. Detta är nu historia, och idag botar vi en tidigare folksjukdom med en veckas antibakteriell behandling – tack vare årets Nobelpristagare.

Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.

Referenser

1. Warren JR, Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983;1:1273-5.
2. Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric Campylobacter. *Med J Aust* 1985;142:436-9.
3. Enroth H, Engstrand L. Helicobacter pylori – upptäckten som står sig in i det nya millenniet. Både bra och dåliga bakterier i magen? *Läkartidningen* 2000;97:150-3.
4. Kivi M, Johansson AL, Reilly M, Tindberg Y. Helicobacter pylori status in family members as risk factors for infection in children. *Epidemiol Infect* 2005;133:645-52.

5. Ekström AM, Held M, Hansson LE, Engstrand L, Nyrén O. Helicobacter pylori in gastric cancer established by CagA immunoblot as a marker of past infection. *Gastroenterology* 2001;121:784-91.
6. Glocker E, Kist M. Rapid detection of point mutations in the gyrA gene of Helicobacter pylori conferring resistance to ciprofloxacin by a fluorescence resonance energy transfer-based DNA real-time PCR approach. *J Clin Microbiol* 2004;42:2241-6.
7. Storskrubb T, Aro P, Ronkainen J, Vieth M, Stolte M, Wreiber K, et al. A negative Helicobacter pylori serology test is more reliable for exclusion of premalignant gastric conditions than a negative test for current H. pylori infection: a report on histology and H. pylori detection in the general adult population. *Scand J Gastroenterol* 2005;40:302-11.
8. Gisbert JP, Pajares JM. Stool antigen test for the diagnosis of Helicobacter pylori infection: a systematic review. *Helicobacter* 2004;9:347-68.
9. Gisbert JP, Pajares JM. Helicobacter pylori »rescue« therapy after failure of two eradication treatments. *Helicobacter* 2005;10:363-72.
10. Nilsson C, Sillén A, Eriksson L, Strand ML, Enroth H, Normark S, et al. Correlation between cag pathogenicity island composition and Helicobacter pylori-associated gastro-duodenal disease. *Infect Immun* 2003;71:6573-81.
11. Graham DY, Opekun AR, Osato MS, El-Zimaity HM, Lee CK, Yamaoka Y, et al. Challenge model for Helicobacter pylori in human volunteers. *Gut* 2004;53:1235-43.
12. Margulies M, Egholm M, Altman WE, Attiya S, Bader JS, Bemben LA, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* 2005;437:376-80.
13. Mahdavi J, Sonden B, Hurtig M, Olfat FO, Forsberg L, Roche N, et al. Helicobacter pylori SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation. *Science* 2002;297:573-8.
14. Wong BC, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, et al. Helicobacter pylori eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291:187-94.
15. Fischbach W, Goebeler-Kolve ME, Dragosics B, Greiner A, Stolte M. Long term outcome of patients with gastric marginal zone B cell lymphoma of mucosa associated lymphoid tissue (MALT) following exclusive Helicobacter pylori eradication therapy: experience from a large prospective series. *Gut* 2004;53:34-7.
16. Metzger WG, Mansouri E, Kronawitter M, Diescher S, Soerensen M, Hurwitz R, et al. Impact of vector-priming on the immunogenicity of a live recombinant Salmonella enterica serovar typhi Ty21a vaccine expressing urease A and B from Helicobacter pylori in human volunteers. *Vaccine* 2004;22:2273-7.
17. Marshall BJ, editor. Helicobacter pioneers: first hand accounts from the scientists who discovered Helicobacters 1892–1982. Melbourne: Blackwell Science Asia; 2002.

Samuel Hybbinette:

»Det här, lilla friherrinnan, vore något att få ge till talgoxarna«

II Doktor Samuel Hybbinette (1876–1939, professors namn 1936) har fått bidra med en mängd anekdoter till samlingen läkarhistorier och måste ha varit en charmerande, extrovert, fast säkert jobbig kollega. Han var överläkare i kirurgi på Sabbatsbergs sjukhus i Stockholm, tillika sångare – tenor – och han deltog i flera sångarturnéer. Han sjöng även under sina operationer, ofta till de närstående kollegernas förtret.

Hybbinette var en pyknisk herre, förtjust i mat och vin och rättfram i alla lägen. Var middagsvinet hos kollegerna ej till belåtenhet, påtalade han detta generat.

Rubrikens citat fälldes under en poliklinisk operation på Sophiahemmet. Hybbinette skojade med mottagningssköterskan, vilket ej föll den eleganta patienten på läppen. Hon ville att doktorn skulle intressera sig mera för henne!



»Hybbe«, förtjust i mat och vin och rättfram i alla lägen. Notera bockfoten!



»Hybbe« plockade ut ett nacklipom i lokalanestesi och visade sitt intresse med citatet ovan.

Hybbinette är en, av flera (!), kirurger som, när en dam frågade huruvida äret efter en blindtarmsoperation skulle bli vanprydande, tillskrivs repliken »med lite raffinemang i klädsel ska det väl gå att dölja«.

Som en av (ånyo) flera kirurger påtalade han för sjukhusledningen behovet av toaletter invid jourrummen och meddelade att man fortfarande »pinkade i handfatet«.

Han dog – sjungande – under ett sammanträde i SHT-orden, just då sångarna hyllade döda bröders minne!

Stephan Rössner
professor,
Karolinska Universitetssjukhuset
Huddinge