

从新病原菌发生的可能机制分析 传染病控制的长期性

徐建国 张晶波 任志鸿 叶长芸

传染性疾病的总变化趋势是①少数传染病将被消灭,②一些过去已经基本上控制了传染病又卷土重来,③陆续发现了一些新的传染性疾病。这样我们将面临着新老传染病的双重威胁。1997 年世界卫生日的主题就是“全球警惕 采取行动——防范新出现的传染病”。新发传染病具有不确定性,不知道会在何时何地发生何种新发传染病,无法作好特异性的准备。在疫情发生初期,临床医生不认识,不知应该采取何种治疗方案;预防医生也茫然,不知应该采取何种预防和控制措施,政府官员得不到专业人员的明确意见,无法及时作出决策,大众群体得不到有效的宣传和教育,心理恐慌,极易造成社会的不稳定^[1]。那么如何从生物学的角度来理解新发传染病的问题呢^[2]? 微生物基因组的研究进展为我们提供了新的思路:新的病原性细菌的出现并非偶然,应是必然的。

近年来对细菌的进化有了新的认识,一方面某些基因的水平转移——“拿来(gain)”,即细菌获得新的特征,以适应新环境;另一方面某些基因和功能的缺失——“扔掉(lose),失去某些对细菌本身可有可无或根本就是多余的基因,使细菌更能够适应新的环境,或者生命力更强。这两种方式在病原菌上均有表现,使细菌获得毒力或致病性增强,同理也可以产生新的病原菌^[3]。近来把细菌基因分为核心基因池(core gene pool)和弹性基因池(flexible gene pool)。核心基因池的基因是细菌染色体的一部分,编码和执行细菌的基本细胞活动功能的蛋白^[4],如转译、代谢和结构。其 G+C% 和密码使用往往相似。可塑性基因池,往往包括转移性因子的特征,譬如不同的 G+C% 和密码使用,往往编码附加功能。这些附加功能不是细菌的生命活动所必需的,但是可赋予细菌在环境中的存活能力。还有一部分“自

私性”基因,仅仅是为了自己的存在和传播,并不赋予细菌细胞任何益处。在大肠埃希菌中属于弹性基因池的基因数目可占基因组基因总数的 18%。

一、“拿来”基因组岛——适者生存

自从在泌尿道致病性大肠埃希菌(UPEC)中发现和定义了毒力岛以来,已有 30 多个毒力岛被广泛地描述和研究,包括 UPEC 和沙门菌的各 5 个毒力岛。新定义的毒力岛就更多了^[5,6]。大肠埃希菌 O157:H7 的染色体序列的解析,命名了 177 个所谓的 O157 特异性的“O”岛^[7]。我国科学家对福氏 2a 志贺菌基因组的分析,也建议了 64 个 S 岛^[8]。典型的毒力岛往往位于细菌染色体的 tRNA 位点附近,与噬菌体整合有关^[5]。因此认为,噬菌体在毒力岛的转移和产生新的病原菌方面发挥着重大作用。

毒力岛编码的基因产物多为分泌性蛋白和细胞表面蛋白,如溶血素、菌毛和血红素结合蛋白;一些毒力岛编码细菌的分泌系统(Ⅲ型分泌系统)信息传导和调节系统^[9]。随着对细菌毒力岛的深入研究,人们发现了许多具有毒力岛结构的遗传元件并不具有毒力岛的毒力性质,产生了基因组岛(genomic island, GI)的概念。根据功能,可把基因组岛分为毒力岛、代谢岛、适应岛(adaptive island)、共生岛(symbiosis island, SYI)、生态岛(ecological island, ECI)、腐生岛(saprophytic island, SAI)等。这些基因组岛可以增强细菌对环境的适应能力,增强了细菌的“体质”。获得了基因组岛的细菌能够在新的环境里更好地生存,也符合达尔文提出“适者生存”的原则^[10]。

毒力岛的水平转移和新的病原菌的发生有关。毒力岛的获得为细菌毒力的进化提供了一种新的方式^[11]。Baumler 等^[12]提出一个学说,认为沙门菌是从大肠埃希菌进化来的,并将沙门菌毒力的进化分为三相:在第一相,大肠埃希菌进化为沙门菌,通过质粒或噬菌体介导的水平转移,获得了 SPII 毒力

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

岛,编码沙门菌对肠道上皮细胞的侵袭力、嗜中性细胞聚集和肠道液体的分泌;在第二相,沙门菌通过点突变等机制进化为 *Salmonella bongori* 和 *Samonella enterica* 两个谱系,*Samonella enterica* 通过水平转移获得了 SPI2 毒力岛,而 *Salmonella bongori* 无此毒力岛,进入第三相后,肠炎沙门菌进一步分化,形成了肠炎沙门菌亚种 I、II、III a、III b、IV、VI、VII,肠炎沙门菌对热血脊椎动物的宿主适应性成为此相的显著特征,而新发现的 SPI3~5 在沙门菌毒力进化中的作用还有待深入研究。

关于侵袭性 A 群链球菌(group A *Streptococcus*, GAS)的研究更进一步说明了毒力岛在病原性细菌进化过程中发挥的作用。自 20 世纪 80 年代以来,欧美及亚洲一些国家相继报道由侵袭性 GAS 感染引起的菌血症、肌炎、坏死性筋膜炎(NF)等病例明显增加,尤其是由于 GAS 能迅速破坏组织、引起 NF 和肌炎,而被称为“食肉菌”。其中一些病人往往伴有中性休克症状,被称为链球菌中毒性休克综合征(strep-TSS)。GAS 含有 M 蛋白,有抗吞噬作用,是重要的致病因子。M 蛋白有 80 多个型,具有重要的分型诊断价值和流行病学分析意义。M1、3、5、6、12 和 18 是主要的流行型,M3 是重型病例的主要致病株。根据研究结果提出的假设认为,在 20 世纪早期,M3 菌株获得了编码链球菌超抗原(SSA)的噬菌体 315.2(T12 样噬菌体)。然后,其原有的编码链球菌肠毒素 a 的基因(streptococcal pyrogenic exotoxin, SpeA)发生了一个单核苷酸的突变,产生了 SpeA3。SpeA3 基因是由噬菌体 315.5 编码的。这个 ssa-SpeA3 基因阳性的菌株,在 80 年代获得了编码链球菌磷脂酶(phospholipase A2, Sla)和致热性外毒素(SpeK)的噬菌体,产生了在 80 年代后期开始广泛分布的所谓的“食肉菌”。GAS 的研究成果充分提示了噬菌体在细菌进化过程中的地位和作用^[13]。

当然,获得了毒力岛,并不一定就获得了毒力或致病性,其基因的表达及功能的发挥还受宿主菌其他基因成分的调控作用,如沙门菌 SPI1 上 6 个侵袭相关基因的表达就受宿主菌染色体上 phoP/phoQ 调控系统的作用,而该调控系统在致病菌及非致病菌中均存在。同时,在细菌进化过程中的某些特殊情况下,细菌为适应新的环境并朝着更为有利的生存方式发展,也可能缺失原有的毒力岛,这在某些致病菌不同菌株中同一毒力岛的缺失(缺失率为 10^{-5} ~ 10^{-4})中得到证实。

二、“扔掉”一些基因——优胜劣汰

细菌获得基因组岛的作用是容易理解的。但是,缺失基因对细菌适应力和致病性的作用则被忽略了。已知大部分共生菌和病原菌都经历了大量的基因缺失。大多数小基因组的胞内寄生菌都属于严格共生菌和病原菌,只有和真核细胞膜密切相关时才能够生存。进化分析指出,这些细菌是从大基因组的祖先生来的^[14]。

对大肠埃希菌的基因组的比较分析发现,在测序菌株、实验室菌株和肠道分离的普通菌株之间,其核苷酸水平有着很大的差异。和测序菌株 MG1655 相比,实验室菌株 W3110 发生了 82 个基因缺失,3 个分离菌株发生了 390 个左右基因缺失,其中一个菌株缺失的核酸可达 1.18 Mb。经高温培养传代后,发现一些大肠埃希菌可在 41℃ 条件下生长,其中部分基因出现了重复,一些基因发生了缺失^[15]。将大肠埃希菌基因组和伤寒沙门菌、肠炎沙门菌、鼠伤寒沙门菌、克雷伯菌比较时发现,尽管它们都属于关系很近的肠道病原菌^[16],沙门菌缺少 1 350 个基因(大肠埃希菌基因组的 30%),沙门菌和克雷伯菌中均缺少 1 165 个基因。

通过缺失原有的一些基因或进行功能的调整,可以适当改变细菌的表型,使突变株在新的环境中能够适应选择压力而生存,谓致病适应性突变(patho-adaptive mutation)。这种突变能够推动条件致病菌在各种宿主环境扩散和生长过程中适应性进化。但是,基因缺失并不单纯是细菌对环境的适应性的反应,而是缺少维持基因的选择能力^[17]。

那么这些缺失可以产生哪些表现型的变化呢?譬如,大肠埃希菌的 ompT 蛋白是胰蛋白酶样的蛋白酶,主要作用位点是 arg-arg 多肽键。研究发现,志贺菌属和肠侵袭性大肠埃希菌均缺失该基因,而在其他致病性大肠菌中都有阳性菌株。将大肠埃希菌 K12 的 ompT 基因导入福氏志贺菌,后者的一些毒力相关蛋白的分泌或表达减少。因此,缺失 ompT 基因对志贺菌属和产毒性大肠杆菌(EIEC)的毒力或致病能力至关重要^[18]。这也是致病菌是从非致病菌进化一个例证。志贺菌属和 EIEC 的一个显著生化特征是没有赖氨酸脱羧酶(LDC),不分解赖氨酸。将 K12 的 cadA 基因导入福氏 2a 野生株,后者能够表达赖氨酸脱羧酶,但是毒力下降了^[19]。铜绿假单胞菌的 mukA 基因缺失也是如此。1999 年有文献报道,在西班牙发生一起非典型性肠炎沙

门菌流行,基因分析发现,该菌株获得了 1 个基因簇,同时缺失了 5 个基因簇。如此看来,对那些重新抬头的传染病,也应考虑基因缺失的问题。

在细菌的进化过程中,点突变、基因重组和基因的水平转移是主要的推动因素。过去认为,点突变是产生病原菌的主要因素,也就是说新的病原菌的产生和进化过程比较缓慢。细菌“拿来”和“扔掉”的机制的发现,使我们认识到,大片段基因的获得和缺失可使细菌基因在短期内发生“质的飞跃”。也就是说,它可以在短时期内产生许多新的突变株,包括新的病原菌。由于噬菌体、质粒这些可移动的遗传“元件”的参与,加速了细菌的进化过程。譬如,细菌可以通过 DNA 的转换、噬菌体传导、质粒介导的结合作用等水平转移的方式,获得外源基因成分,从而具有一些新的特征,如对抗生素的耐药性、产生毒素的能力等。可以通过缺失一部分基因,使细菌更加适应环境的变化。个体对感染性病原易感性的关键是宿主的状态。然而,即使个体的状态是相同的,也只有特定的细菌才对人类致病。一些致病菌可以作为永久的或暂时的共生由人类无症状携带。一种微生物,进入了不是它最适合的环境或宿主体内,如果营养和生理条件基本适合,如果宿主的抗微生物的防御受到抑制,如果感染的菌量是大量的或连续的(例如由于伤口开放),它就能够生长和繁殖。即使是能够在此生活,它所具有各种特殊的毒力因子也面临着对新环境的适应性,很可能是亚适应状态。那么,在这个环境的适应过程中,就可能发生一些基因的突变,使细菌能够达到最适或最佳状态。所以说,致病适应性突变株对新环境的适应性提高了,繁殖增加了,生存率提高了,从而可以向着更具有致病性的方向进化。这些细菌的命运,或是发生感染导致宿主死亡,或是被宿主的防御体系清除。宿主是一个连续的环境,在丰富的代谢过程中,细菌可以缺失一些多余的序列,使其更具有生命力。这个过程普遍存在。一些小基因组微生物的基因组分析显示,一些生物合成途径丢失了,它们还可以从宿主获得氨基酸。

细菌“拿来”和“扔掉”的机制对人类来说有什么意义呢?不难看出,我们将不得不面对新的有害细菌,所以说人类和传染病的斗争任重而道远^[20]。

参 考 文 献

- Wilson ME. Emerging infections and disease emergence. *Emerg Infect Dis*, 1999, 5: 308-309.
- Alleyne GA. Emerging diseases-what now? *Emerg Infect Dis*, 1998, 4: 498-500.
- Young DB, Robertson BD. TB vaccines: global solutions for global problems. *Science*, 1999, 284: 1479-1480.
- Dougan G, Haque A, Pickard D, et al. The *Escherichia coli* gene pool. *Curr Opin Microbiol* 2001, 4: 90-94.
- Hou YM. Transfer RNAs and pathogenicity islands. *Trends Biochem Sci*, 1999, 24: 295-298.
- Hacker J, Kaper JB. Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Annu Rev Microbiol* 2000, 54: 641-679.
- Perna NT, Plunkett G, Burland V, et al. Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Nature* 2001, 409: 529-533.
- Jin Q, Yuan Z, Xu J, et al. Genome sequence of *Shigella flexneri* 2a: insights into pathogenicity through comparison with genomes of *Escherichia coli* K12 and O157. *Nucleic Acids Res* 2002, 30: 4432-4441.
- 徐建国. 毒力岛和细菌毒力的进化. *中华微生物学和免疫学杂志*, 1999, 19: 169-172.
- Hacker J, Camiel E. Ecological fitness, genomic islands and bacterial pathogenicity: a Darwinian view of the evolution of microbes. *EMBO Rep*, 2001, 2: 376-381.
- 徐建国. 大肠杆菌 O157 基因组序列分析的启示. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2002, 22: 237-238.
- Baumler AJ, Tsolis RM, Heffron F. Contribution of fimbrial operons to attachment and invasion of epithelial cell lines by *Salmonella typhimurium*. *Infect Immun*, 1996, 64: 1862-1865.
- Beres SB, Sylva GL, Bapbian KD, et al. Genome sequence of a serotype M3 strain of group A *Streptococcus*: phage-encoded toxins, the high-virulence phenotype, and clone emergence. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99: 10078-10083.
- Charles H, Mouchiroud D, Lobry J, et al. Gene size reduction in the bacterial aphid endosymbiont, *Buchnera*. *Mol Biol Evol*, 1999, 16: 1820-1822.
- Riehle MM, Bennett AF, Long AD. Genetic architecture of thermal adaptation in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 525-530.
- McClelland M, Florea L, Sanderson K, et al. Comparison of the *Escherichia coli* K-12 genome with sampled genomes of a *Klebsiella pneumoniae* and three *Salmonella enterica* serovars, *Typhimurium*, *Typhi* and *Paratyphi*. *Nucleic Acids Res* 2000, 28: 4974-4986.
- Trotha R, Reichl U, Thies FL, et al. Adaptation of a fragment analysis technique to an automated high-throughput multicapillary electrophoresis device for the precise qualitative and quantitative characterization of microbial communities. *Electrophoresis*, 2002, 23: 1070-1079.
- Nakata N, Tobe T, Fukuda I, et al. The absence of a surface protease, *OmpT*, determines the intercellular spreading ability of *Shigella*: the relationship between the *ompT* and *kcpA* loci. *Mol Microbiol*, 1993, 9: 459-468.
- Maurelli AT, Fernandez RE, Bloch CA, et al. "Black holes" and bacterial pathogenicity: a large genomic deletion that enhances the virulence of *Shigella* spp and enteroinvasive *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 3943-3948.
- 徐建国. 新病原性细菌的世界性和来源问题. *疾病控制杂志*, 1997, 1: 5-8.

(收稿日期: 2002-12-02)

(本文编辑: 张林东)