

结核分枝杆菌 W-北京家族菌株研究进展

杨本付 徐飏

近年来许多对结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, M. TB)的研究特别提到“W 菌株”、“北京菌株”、“北京基因型菌株”或“W-北京家族菌株”。这些菌株传播广泛,有时引起大范围的结核病(tuberculosis, TB)爆发,在某些情况下又与多耐药性(multidrug resistance, MDR)有联系,从而引起人们的极大关注。这种遗传上高度保守的 M. TB 菌株家族是包括中国在内的广大地区的优势菌株,是结核病控制工作中值得研究的问题。本文综述该菌株家族的分子特征、传播证据及其分布优势的解析。

1. W-北京家族菌株的分子特征 M. TB 基因组高度保守,但存在与插入序列和/或重复片段相关的多态区域,这是现代 TB 基因分型的基础,应用最广的基因分型工具是插入序列 IS6110,其他分型方法包括间隔寡型(Spoligotype)、可变数目串联重复(VNTR)^[1]、多态富含 GC 的重复序列(PGRS)^[2]等。借助这些分子标志鉴别出一大群遗传上相关的 M. TB 菌株,包括 W4、W14、W82、W148、菌株 210、纽约 W 株、北京菌株等,本文统称为 W-北京家族菌株。

20 世纪 90 年代早期,在纽约发现一株多耐药 M. TB 菌株,命名为 W 株^[3]。该菌株在一些大的机构引起结核病爆发,许多病例因此死亡,此后美国其他地区也陆续发现该菌株^[4,5]。1995 年报道,北京地区大部分 M. TB 菌株 IS6110 RFLP 指纹高度类似,这些北京菌株亦多见于其他人^[6]。90 年代后期,认为纽约的多耐药 W 株属于 M. TB 北京基因型家族^[7-9]。

W 株是通过特定的 IS6110 指纹类型、针对特定插入序列的多重聚合酶链反应(PCR)技术确定的^[4,5]。北京菌株,包括 W 变种,除 IS6110 指纹类似之外,在遗传学上彼此相关的其他分子标志包括:均属于主遗传群^[10],在基因组 dnaA ~ dnaN 位点有一个 IS6110 插入^[7,9],具有相同的特征性间隔寡型(S00034)^[6,11,12]。所有 W-北京家族菌株在染色体 NTF 区均有 1~2 个 IS6110 插入,而纽约 W 菌株及其后代株在该区有两个 IS6110 拷贝。此外,耐异烟肼相关的 katG 基因 315 位密码子的双核苷酸改变(AGC→ACA),亦是纽约 W 株及其后代株所独有的^[13]。

综合目前分子资料显示 W 株或北京基因型菌株是源于共同祖先的后代菌株,具有一定的选择优势,易呈克隆传播,在 M. TB 种系发生中构成一个大分支^[7]。目前共鉴别出 11

株 W 株的后代株,其 IS6110 指纹类型存在细微差别,反映了该克隆随时间而发生缓慢进化。基因型资料阐明了 W-北京家族菌株共同的染色体标志,也可区分不同地区已发生进化的 W-北京家族菌株内部的各种分支。根据截然不同的 PGRS 和 VNTR 类型,认为新泽西州的 68 株 W-北京家族菌株中 43 株为进化树的独特分支,称为 W4^[11]。W-北京家族菌株的遗传标志可归纳于表 1。

表 1 W-北京家族菌株的分子特征

① IS6110 带型类似于 W 菌株(拷贝数 15~26);
② 主遗传群 [I kat G 463CTG(Leu) 和 gyr A 95ACC(Thr)] ^[7,10] ;
③ 间隔寡型为 S00034,只有 35~43 的 9 个间隔 ^[11] ;
④ 在复制起始点(基因组 dnaA ~ dnaN 位点)有 IS6110 A1 插入 ^[7] ;
⑤ 多重 PCR 证明在 NTF 区有 1~2 个 IS6110 插入 ^[7,14] 。
纽约 W 菌株及其后代株特有的分子标志:
① 在 NTF 区有两个 IS6110 插入 ^[14] ;
② 在 katG 基因 315 密码子的双核苷酸改变(AGC→ACA) ^[5] 。

根据上述遗传标志,所有 W-北京家族菌株均可与其他菌株区分开。虽然其他 M. TB 菌株也分成相应的“菌株家族”,但均不如对 W-北京家族菌株的研究充分,也未引起如此广泛的爆发。其他菌株家族,如 Haarlem 家族菌株^[15]、LAM 菌株家族^[16]和实验室菌株 H37^[17],虽然亦根据 IS6110 DNA 指纹进行了分类,但与其 W-北京家族菌株有明显区别,分别属于主遗传群 2 和群 3,且二级分型类型不同。

2. W-北京家族菌株的传播:分子流行病学研究显示 W-北京家族菌株分布于整个亚洲地区^[18],包括北美洲、大洋洲在内的其他地区也有不少报道^[16,19]。北京菌株在中国北京地区最为常见^[6]。在越南、中国香港、印度尼西亚、朝鲜、泰国和中国台湾 W-北京家族菌株也很流行^[6,12,20,21]。近来,细菌遗传学资料表明 W-北京家族菌株在整个前苏联地区广泛传播^[22,23]。W-北京家族菌株各成员已在世界范围内造成大量发病和死亡^[4,24,25]。其流行病学背景是多种多样的,以机构和医院爆发、社区传播为流行特征,敏感菌株和耐药株均能传播。

1990 年 1 月至 1993 年 8 月的 43 个月中,纽约的一些监狱和医院里发生严重多耐药结核病爆发,其分离株对链霉素、异烟肼、利福平、乙胺丁醇,且大多数情况下对卡那霉素耐药^[5,25,26]。对 253 例患者的分离株进行 DNA 指纹研究确定为 IS6110 类型呈 18-带的 W 株克隆传播。1991 年以后,纽约有 500 例患者与 W 株的克隆传播有关,其中 420 例患者分离株耐一线药。该克隆的后代株传播远不仅在纽约,其他十几个州也报道了与之有关的菌株^[4]。

Yang 等^[27]在美国西部三个不相邻地区的全部 1324 株分离株中,将 57 例患者的分离株鉴定为菌株 210,均为敏感菌株。其 IS6110 带型类似 W-北京家族菌株,间隔寡型为 S00034。流行病学资料显示在州内有广泛传播,但高危人群主要为美国人。各州之间没有发现有关联的病例,但分子资料提示历史上曾有州际传播,当地传播是续发的。Barnes 等^[28]在洛杉矶中心部发现 96 例有 43 例成簇,基因分型亦为菌株 210,提示有广泛传播。其中一些病例发生在三个无家可归者避身所里,主要是美国出生的病例。

最近有研究报告了纽约 1992~1999 年的全部病例中 44% 的一个方便样本,鉴别出含 26 个分离株的一个簇,属于 W-北京家族菌株的一个独特群,称为 W14。其中 20 株单耐链霉素,病例的人口学特征非常相似,均为美国出生并有 TB 危险因素。由于该人群年轻、血清艾滋病病毒(HIV)阳性、未发现病例之间有联系,提示既有近期传播又有历史传播^[29]。

来自俄罗斯联邦全境各地的 2100 株 M. TB 分离株的一个方便样本中,45% 的病例分离株为 W-北京家族菌株。其中 W148 菌株流行最广,前苏联全境均有发现,具有独特的 17-带 IS6110 指纹类型。1998~2000 年在西西伯利亚的监狱中,从 190 例 TB 犯人中分离出耐多药的 W148 菌株,且耐药基因分型表明,该菌株是一种原发耐药克隆的传播^[9]。与 90 年代早期纽约的爆发一样,W148 菌株在西伯利亚监狱的传播一定程度上也是由于公共卫生基层组织的解体、缺乏有效的药敏试验和缺少对高度耐药 TB 病例的治疗系统^[30]。

北京菌株最早是 van Soolingen 等^[6]描述的,他们分析了 69 株来自中国北京的 M. TB 分离株,结果 86% 的分离株具有类似的 IS6110 类型(15~20 拷贝)和相同的间隔寡型。这些全部敏感的分离株在该小样本中占优势,提示这些菌株在东亚可能呈地方性分布。后来的一些研究进一步支持这种观点,但北京菌株的频率不一,印度尼西亚为 34%、马来西亚 25%、蒙古 50%、韩国 43%、泰国 44%、越南 53%^[6,12,18,31,32]。这些调查常常是方便抽样,不是系统的人群研究,但代表了远东地区的分子流行病学研究,从而证实了 W-北京家族菌株在亚洲的传播广泛。

3. W-北京家族菌株的优势:鉴于 W-北京家族菌株独特的地区分布、成为优势菌株的能力、呈克隆传播的能力,提示该种系的菌株可适应对人类感染并引起疾病。欧洲、南非、南北美洲的 W-北京家族菌株的流行很可能是 20 世纪人类大量迁移和 TB 经过一定时间而复燃的结果^[9]。亚洲大陆常见的 W-北京家族菌株的成簇和传播,在美国不同地区的美国出生的患者中也能观察到,提示 W-北京家族菌株具有在人群中引起发病的遗传学优势。

W-北京家族菌株的广泛传播可能源于其流行性、渐趋稳定性和尚未发现的基因表达改变。至少有一项体内研究显示与 CDC1551 菌株和另一种临床分离株相比,W-北京家族成员(菌株 210)在巨噬细胞内繁殖更快^[33]。Rad 等^[34]最近研究发现,W-北京基因型菌株在 Rv3908、mutT2 和 ogt 等 3 种公

认的 DNA 突变修复基因上表现出独特的错义突变,这些突变可导致细菌突变频率增加,部分地解释了 W-北京家族菌株快速适应环境的能力。

研究提示,W-北京菌株的广泛传播与卡介苗(BCG)接种之间存在联系^[6]。在印度尼西亚的雅加达^[12] 26% 的北京菌株患者有 BCG 疤痕,其他患者仅为 23%。在越南,虽然北京菌株患者比其他菌株患者有 BCG 疤痕的比例高,但调整年龄因素后联系即不再显著^[20]。对于 W-北京家族菌株在整个亚洲大陆的广泛传播,解释之一是这些菌株对 BCG 疫苗产生了耐受^[20]。但疫苗对菌株的选择并不能解释美国不同地区未接种 BCG 的本土人中该菌株造成的成簇和爆发。在俄罗斯有一组 W-北京家族菌株,其 IS6110 呈明显的遗传多样性,虽然代表性差,但证明这些菌株在该地区存在已久,在 20 年代 BCG 接种之前就有传播。BCG 接种可能促进了 W-北京家族在该地区的传播,但尚需用实验和流行病学调查加以证实^[9]。

另有观点认为,W-北京家族菌株的传播优势源于其对抗药性的敏感性下降。在越南^[20]、德国^[35]和古巴^[36]耐药性与 W-北京家族菌株有联系,在纽约^[5]、爱沙尼亚^[22]以及在俄罗斯监狱^[23]则发生耐多药克隆引起的爆发,但泰国^[32]和印度尼西亚^[12]尚缺乏传播的证据,且与耐药性无关。也有许多爆发的克隆,如 W4 和菌株 210,以及在中国和蒙古呈地方性流行的菌株是完全敏感的。而在中国香港,北京菌株比其他菌株耐异烟肼的可能性反而更小^[37]。最近研究的 W14 只对链霉素耐药,分子资料提示对链霉素的耐药是其在传播过程中获得的,这已得到药敏试验和耐药靶基因测序的证实^[13]。上述广大地区的这些事实提示 W-北京家族菌株可能有比较强的获得耐药性的能力。但来自全球大多数地区的资料有限,许多研究可能存在偏性,目前尚难得出传播范围与耐药性联系的明确结论^[18]。

基因分型研究表明 W-北京家族菌株可以快速适应环境并在社区中传播,对公共卫生构成潜在威胁。但 W-北京家族菌株在人群中传播的可能机制尚未完全阐明。需进一步在更多地区研究该家族菌株的传播性和致病性。在获得耐药性以及与宿主免疫系统相互作用的能力方面,北京菌株比其他基因型是否有选择优势、程度如何需要回答^[18,38]。如果北京菌株是应用抗药药导致的 M. TB 菌株的高水平进化,则 TB 治疗的结果将是严重的。

参 考 文 献

- 1 Frothingham R, Meeker-O'Connell WA. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. *Microbiology*, 1998, 144: 1189-1196.
- 2 Chaves F, Yang Z, Hajj HE, et al. Usefulness of the secondary probe pTBN12 in DNA fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol*, 1996, 34: 1118-1123.
- 3 Hewlett DJ, Franchini D, Horn D, et al. Outbreak of multidrug-resistant tuberculosis at a hospital New York City, 1991. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 1993, 42: 427-433.
- 4 Agerton TB, Valway SE, Blinkhorn RJ, et al. Spread of strain W, a

- highly drug-resistant strain of *Mycobacterium tuberculosis* across the United States. Clin Infect Dis, 1999, 29: 85-92.
- 5 Bifani PJ, Plikaytis BB, Kapur V, et al. Origin and interstate spread of a New York city multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clone family. JAMA, 1996, 275: 452-457.
 - 6 van Soolingen D, Qian L, de Haas PEW, et al. Predominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of East Asia. J Clin Microbiol, 1995, 33: 3234-3238.
 - 7 Kurepina NE, Sreevatsan S, Plikaytis BB, et al. Characterization of the phylogenetic distribution and chromosomal insertion sites of five IS6110 elements in *Mycobacterium tuberculosis* non-random integration in the dnaA-dnaN region. Tubercle Lung Dis, 1998, 79: 31-42.
 - 8 van Soolingen D. Molecular epidemiology of tuberculosis and other mycobacterial infections: main methodologies and achievements. J Intern Med, 2001, 249: 1-26.
 - 9 Bifani PJ, Mathema B, Kurepina NE, et al. Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family strains. Trends in Microbiology, 2002, 10: 45-52.
 - 10 Sreevatsan S, Pan X, Stockbauer KE, et al. Restricted structural gene polymorphism in the *Mycobacterium tuberculosis* complex indicates evolutionarily recent global dissemination. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94: 9869-9874.
 - 11 Bifani PJ, Mathema B, Liu Z, et al. Identification of a W variant outbreak of *Mycobacterium tuberculosis* via population-based molecular epidemiology. JAMA, 1999, 282: 2321-2327.
 - 12 van Crevel R, Nelwan RHH, de Lenne W, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains associated with febrile response to treatment. Emerg Infect Dis, 2001, 7: 880-883.
 - 13 Ramaswamy S, Musser JM. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in *Mycobacterium tuberculosis* 1998 update. Tubercle Lung Dis, 1998, 79: 3-29.
 - 14 Plikaytis BB, Marden JL, Crawford JT, et al. Multiplex PCR assay specific for the multidrug-resistant strain W of *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol, 1994, 32: 1542-1546.
 - 15 Kremer K, van Soolingen D, Frothingham R, et al. Comparison of methods based on different molecular epidemiological markers for typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains: interlaboratory study of discriminatory power and reproducibility. J Clin Microbiol, 1999, 37: 2607-2618.
 - 16 Filliol I, Driscoll JR, van Soolingen D, et al. Global distribution of *Mycobacterium tuberculosis* spoligotypes. Emerg Infect Dis, 2002, 8: 1347-1349.
 - 17 Bifani P, Moghazeh S, Shopsis B, et al. Molecular characterization of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv/Ra variants: distinguishing the mycobacterial laboratory strain. J Clin Microbiol, 2000, 38: 3200-3204.
 - 18 Glynn JR, Whiteley J, Bifani PJ, et al. Worldwide occurrence of Beijing/W strains of *Mycobacterium tuberculosis*: a systematic review. Emerg Infect Dis, 2002, 8: 843-849.
 - 19 Caminero JA, Pena MJ, Campos-Herrero MI, et al. Epidemiological evidence of the spread of a *Mycobacterium tuberculosis* strain of the Beijing genotype on Gran Canaria Island. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 164: 1165-1170.
 - 20 Anh DD, Borgdorff M, Van LN, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype emerging in Vietnam. Emerg Infect Dis, 2000, 6: 302-305.
 - 21 Palittapongpim P, Luangsook P, Tansuphaswadikul S, et al. Restriction fragment length polymorphism study of *Mycobacterium tuberculosis* in Thailand using IS6110 as probe. Int J Tuberc Lung Dis, 1997, 1: 370-376.
 - 22 Marttila HJ, Soini H, Eerola E, et al. A Ser315Thr substitution in katG is predominant in genetically heterogeneous multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates originating from the St. Petersburg area in Russia. Antimicrob Agents Chemother, 1998, 42: 2443-2445.
 - 23 Portaels F, Rigouts L, Bastian I. Addressing multidrug-resistant tuberculosis in penitentiary hospitals and in the general population of the former Soviet Union. Int J Tuberc Lung Dis, 1999, 3: 582-588.
 - 24 van Rie A, Warren RM, Beyers N, et al. Transmission of a multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strain resembling 'strain W' among noninstitutionalized human immunodeficiency virus-seronegative patients. J Infect Dis, 1999, 180: 1608-1615.
 - 25 Frieden TR, Sherman LF, Maw KL, et al. A multi-institutional outbreak of highly drug-resistant tuberculosis: epidemiology and clinical outcomes. JAMA, 1996, 276: 1229-1235.
 - 26 Valway SE, Greifinger RB, Papania M, et al. Multidrug-resistant tuberculosis in the New York State prison system, 1990-1991. J Infect Dis, 1994, 170: 151-156.
 - 27 Yang Z, Barnes PF, Chaves F, et al. Diversity of DNA fingerprints of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in the United States. J Clin Microbiol, 1998, 36: 1003-1007.
 - 28 Barnes PF, Yang Z, Preston-Martin S, et al. Patterns of tuberculosis transmission in central Los Angeles. JAMA, 1997, 278: 1159-1163.
 - 29 Bifani P, Mathema B, Campo M, et al. Molecular identification of streptomycin monoresistant *Mycobacterium tuberculosis* related to multidrug-resistant W strain. Emerg Infect Dis, 2001, 7: 842-848.
 - 30 Kimerling ME. The Russian equation: an evolving paradigm in tuberculosis control. Int J Tuberc Lung Dis, 2000, 4: s160-s167.
 - 31 Dale JW, Nor RM, Ramayah S, et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in Malaysia. J Clin Microbiol, 1999, 37: 1265-1268.
 - 32 Prodinge WM, Bunyaratvej P, Prachaktam R, et al. *Mycobacterium tuberculosis* isolates of Beijing genotype in Thailand. Emerg Infect Dis, 2001, 7: 483-484.
 - 33 Zhang M, Gong J, Yang Z, et al. Enhanced capacity of a widespread strain of *Mycobacterium tuberculosis* to grow in human macrophages. J Infect Dis, 1998, 179: 1213-1217.
 - 34 Rad ME, Bifani P, Martin C, et al. Mutations in putative mutator genes of *Mycobacterium tuberculosis* strains of the W-Beijing family. Emerg Infect Dis, 2003, 9: 838-845.
 - 35 Niemann S, Richter E, Rüsche-Gerdes S, et al. Double infection with a resistant and multidrug-resistant strain of *Mycobacterium tuberculosis*. Emerg Infect Dis, 2000, 6: 548-551.
 - 36 Diaz R, Kremer K, de Haas PE, et al. Molecular epidemiology of tuberculosis in Cuba outside of Havana, July 1994-June 1995: utility of spoligotyping versus IS6110 restriction fragment length polymorphism. Int J Tuberc Lung Dis, 1998, 2: 743-750.
 - 37 Chan MY, Borgdorff M, Yip CW, et al. Seventy percent of the *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Hong Kong represent the Beijing genotype. Epidemiol Infect, 2001, 127: 169-171.
 - 38 Narvskaya O, Otten T, Limeschenko E, et al. Nosocomial outbreak of multidrug-resistant tuberculosis caused by a strain of *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family in St. Petersburg, Russia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2002, 21: 596-602.

(收稿日期 2003-06-05)

(本文编辑:尹廉)