

分子流行病学进展——机遇和挑战

段广才 陈帅印

450001 郑州大学公共卫生学院(段广才、陈帅印); 453003 新乡医学院分子诊断与医学
检验技术 河南省协同创新中心(段广才)

通信作者:段广才, Email:gcduan@zzu.edu.cn

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.08.001

【摘要】 分子流行病学是流行病学的分支,是流行病学和分子生物学的交叉学科。分子流行病学主要通过生物标志的研究,在分子水平阐明疾病的分布、发生、发展规律及其影响因素。随着人类基因组学、精准医学、大数据等领域的快速发展,给分子流行病学提供了新的发展机遇和挑战。

【关键词】 分子流行病学; 流行病学研究

基金项目: 国家科技重大专项(2013ZX10004607)

Opportunity and challenge on molecular epidemiology Duan Guangcai, Chen Shuaiyin
Epidemiology, College of Public Health, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China (Duan GC, Chen SY); Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, China (Duan GC)
Corresponding author: Duan Guangcai, Email: gcduan@zzu.edu.cn

【Abstract】 Molecular epidemiology, a branch of epidemiology, combines the theories and methods, both in epidemiology and molecular biology. Molecular epidemiology mainly focuses on biological markers, describing the distribution, occurrence, development and prognosis of diseases at the molecular level. The completion of Human Genome Project and rapid development of Precision Medicine and Big Data not only offer the new development opportunities but also bring about a higher demand and new challenge for molecular epidemiology.

【Key words】 Molecular epidemiology; Epidemiological research

Fund program: National Science and Technology Major Project of China (2013ZX10004607)

自20世纪70年代以来,人们对生命的认识逐步深入到生物的基础物质核酸和蛋白质水平,生命科学进入“分子”时代,产生大量新兴和交叉学科。流行病学工作者将分子生物学理论和技术应用到人群的疾病防治和健康促进中,形成了一门极具发展前景的新学科分支,即分子流行病学(molecular epidemiology)。分子流行病学是将传统流行病学与分子生物学、分子遗传学、分子免疫学、分子微生物学、基因组学、蛋白组学等交叉融合而形成发展起来的,其代表了流行病学发展的一个重要方向,对流行病学本身的发展和疾病控制工作都产生了重大而深远的影响。

一、分子流行病学历史回顾

1. 分子流行病学产生的背景主要有两方面:一是流行病学自身发展中,亟需一门分支学科来应对传统流行病学不能解决的问题;二是相关学科的理论和方法快速发展,为流行病学分支学科的形成提供了基础条件。

疾病防治的需求。病原微生物的多变性和耐药性增加,给传染病的防治提出新的问题。人口老龄化和生活方式改变带来的恶性肿瘤、心脑血管疾病等慢性非传染性疾病的发病率和死亡率上升。人群易感性差别对疾病的发生、流行和防控效果的影响。医学在分子和基因水平上提出新的发病机制和病因假说。这些问题都需要新的流行病学分支来解决。

分子生物学理论和技术的发展。DNA双螺旋模型、遗传中心法则、核酸转录机制、基因表达调控等理论的提出,使许多生物医学难题得以阐明。伴随理论的发展,分子生物学技术日新月异,如PCR技术、基因和蛋白测序、凝胶电泳技术、基因克隆等技术,使得对核酸和蛋白质等生物大分子检测水平大大提高。近年来兴起的表观遗传学(Epigenetics)以及蛋白质组学等各种“组学”的出现,为从群体上认识遗传、变异等基本生物学现象开辟了新方向。分子微生物学、分子免疫学、分子病理学等交叉学科也为流行病学应用提供新的研究成果。

2. 分子流行病学的发展历程:①国外发展历程:1972年, Kilbourne^[1]在美国传染病学会第10届年会上作了题为“流感的分子流行病学”的报告,首次使用“分子流行病学”术语,相关论文在1973年发表于《传染病学》杂志。1977年,法国学者Higginson对分子流行病学做了初步解释,即应用精细技术进行生物材料的流行病学研究。1982年, Perera和Weinstein提出“癌症分子流行病学”,认为癌症分子流行病学是一种方法,应用先进的实验室技术结合分析流行病学,以生化或分子水平研究肿瘤病因。1993年, Schulte等出版了《分子流行病学——原理和实践》专著,提出了分子流行病学的定义。1996年第14届国际流行病学学术会议上, Saracci提出分子流行病学的狭义定义。随着人类基因组计划的发展,1998年, Khoury和Dorman首次提出人类基因组流行病学的概念。②国内发展历程:20世纪80年代初开始进行分子流行病学研究,仅限于传染病,如对轮状病毒腹泻、大肠埃希菌腹泻等的研究。1992年,段广才与祁国明在《中华流行病学杂志》同年第4期分7章连载,系统地介绍了“分子流行病学研究及其应用”,介绍分子流行病学的产生、定义、研究内容、研究手段及其应用。其主要内容在1994年曾光主编的《现代流行病学方法与应用》中“分子流行病学”一章作了专论^[2-3]。此后,分子流行病学得到了长足的发展,逐渐推广到流行病学的各个领域。1997年,第四届中华流行病学会委员会首次设立分子流行病学学组。随后在1998、2004、2012、2015年召开了四届全国分子流行病学学术会议。分子流行病学已成为我国流行病研究中最活跃的领域之一。

二、分子流行病学的应用

1. 传染病的预防与控制:分子流行病学能够更加准确和快速解决传染病相关病原体的检测和进化变异规律、传染源、传播途径等流行病学问题。

以往病原体的检测分型主要依靠血清学和生化学,但病原性的表型特征存在不稳定性和易变性,而遗传学基因分型稳定可靠。以分子流行病学为基础的基因特征分型,可以作为病原体鉴定和诊断的重要依据。基于16S rRNA和DNA随机多态性扩增(RAPD)的细菌基因分型,或者主要的毒力因子也可作为病原体鉴定的重要依据。例如流感嗜血杆菌的主要毒力因子是b型荚膜,因此b血清型被视为致病菌。在幽门螺杆菌中,其主要致病毒力因子是细胞毒素蛋白CagA,因此CagA阳性菌株致病性较强,易引发胃部病变^[4]。在细菌中发现的规律成簇间隔

短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeat, CRISPR)也可以用于细菌的分型。在细菌进化过程中,CRISPR位点新的间隔序列获取和旧的序列剔除,使得CRISPR位点具有极高的多态性,据此可以对细菌进行快速分型^[5]。

研究病原体进化变异规律,是解决新发传染病或老传染病的新流行重要理论依据,也是分子流行病学研究的重要内容。例如2003年我国暴发的SARS冠状病毒全基因组测序比对,研究冠状病毒在流行过程中变异规律,发现其病毒变异分为三个阶段,每个阶段病毒传染性强弱不同,对冠状病毒分子变异规律有了深刻认识。

分子流行病学的发展引入新的分子生物学技术,为传染源的追踪和确定传播途径提供更为准确的依据和更便捷方法。例如2011年德国等地发生肠出血性大肠埃希菌肠炎暴发,通过运用分子生物学技术,确诊是新型O104:H4大肠埃希菌并追踪到传染源——从埃及进口的葫芦巴豆种子^[6]。我国在高致病性禽流感H7N9病毒的溯源和传播途径的追踪中,利用分子流行病学的方法对比分析最终确定H7和N9的基因来源,认为感染病毒与活禽市场暴露有关,为防控措施提供理论依据^[7-8]。

2. 慢性非传染性疾病研究:随着疾病谱改变,以肿瘤、心脑血管疾病、高血压、糖尿病等慢性非传染性疾病逐步取代传染性疾病,严重威胁人类健康。分子流行病在慢性非传染性疾病的病因探索、发病机制研究、个体易感性、高危人群的确定、早期诊断、个体化治疗及防控措施的制定和效果评价等方面,同样做出了巨大贡献。

分子流行病研究中提出的各阶段的生物标志,可以探讨疾病发生过程中各个因素间内在关系,基于基因和蛋白分子水平的致病机制,为确定暴露和疾病间的因果关系提供更可靠的证据。对暴露标志、效应标志和易感性标志的研究反映了从暴露到疾病发生的整个过程,打开了传统流行病学中的“黑匣子”,为病因学研究和预防措施评价开辟新的途径。

值得一提的是,全基因组关联(GWAS)已成为目前揭示重大复杂性疾病致病基因及其遗传易感性的最主要方法。至2015年,全球发表的GWAS文章已近2000篇,这些研究发现了1万多个与疾病或性状相关的常见变异。近些年,研究对象为中国人,研究性状为肿瘤的GWAS论文已有20余篇^[9]。此外,分子流行病学还可以根据环境危险因素与遗传易感性的相互作用来确定疾病的危险度,进而更准

确的筛选对特定治病因子敏感的易感人群。

三、分子流行病学面临问题与展望

传染病和慢性非传染性疾病的重大公共卫生需求,给分子流行病学提出了新的问题。随着基因组学、后基因组学、蛋白组学、代谢组学和生物信息学等学科的发展和融合,生物标志检测技术、计算机技术、信息技术和统计学方法等不断引入,高通量测序和宏基因组分析、蛋白芯片分析等技术应用,分子流行病学又面临着新的发展机遇。

1. 新发传染病病原体快速、准确、简便的检测:面对新发的传染病,需要利用各种分子生物学技术尽早发现病原体,能够快速的检测,这就需要更高灵敏度和特异度的检测方法。现代分子诊断技术在传染病快速检测中的应用,可以做到传染病的早期发现。例如,在埃博拉疫情防治中,可以根据病毒序列比对,从病毒基因组中筛选出高度保守的序列,设计引物及 TaqMan 探针,进行快速检测。检测的灵敏度高达 2.86×10^7 pfu/L,且与日本脑炎病毒、黄热病毒及登革病毒无交叉反应特异度高^[10]。

2. 病原体耐药和毒力变化的规律:对传染病做出有效的防控措施,就要对其耐药和毒力变化规律进行研究,明确耐药和毒力增强的原因,阐明耐药和毒力相关基因传播的机制。新德里金属 β 内酰胺酶1(New Delhi metallo- β -lactamase I, NDM-1)耐药基因的出现,产生的“超级耐药菌”引起关注。我国25个省市发现 bla_{NDM-1} 阳性菌株,其中广东地区阳性率高达 39.49%^[11]。研究耐药基因的检测靶点和水平转移机制,能够给防治多耐药、高毒力致病菌提供新的方法和理论依据。

3. 慢性非传染性疾病的三级预防和效果评价:在慢性非传染性疾病研究中,分子流行病学可以研究疾病的危险因素从暴露到疾病发生的全过程,为慢性病的三级预防提供理论依据。另外在慢性病预防控制效果评价中,可以将早期生物效应标志作为结局进行测量,会大大缩短效果评价时间。

4. 慢性病的治病机制和易感性研究:为了更好防控慢性非传染性疾病,暴露的测量应更加科学、准确;应测定到更细微效应标志;易感性研究深入到单个核苷酸和氨基酸水平。另外,罕见或低频的单个核苷酸多态性(SNP)、基因组拷贝数变化、插入序列和甲基化等表观遗传学对复杂病因的慢性病提出新的致病理论,而以往的传统流行病学研究往往忽略了这些方面的影响。因此对糖尿病和肿瘤等疾病研究,应在 SNP 和表观遗传学领域进行深入研究。

5. 精准医疗下的分子流行病学:精准医疗(precision medicine)是以个体化医疗为基础、随着基因组测序快速进步以及生物信息与大数据科学的交叉应用而发展起来的新型医学概念与医疗模式。精准医疗的前提是精准诊断和分子水平的病因研究,并结合现代流行病学和预防医学、临床诊断学和治疗学、分子医学,使传统的医疗模式走向整合化。大多数疾病不是单基因改变引起的,是多基因交互作用、基因-环境交互作用所致。因此对环境因素和易感基因交互作用的研究,是慢性非传染性疾病研究的热点,而分子流行病学能够更好阐明基因-基因、基因-环境交互作用。可以筛选出对特定环境危险因素敏感的个体及亚群,为精准医疗提供可靠的前提。在流行病学人群大样本资料研究的基础上,针对不同地区、种族、年龄、性别、环境和职业等进行分类,制定对应的疾病防治策略。

随着医学模式和疾病谱转变,面对肿瘤和心脑血管疾病等病因复杂的病种,应该在循证决策的基础上进行个体化的精准医疗。要求对患者的生物和生理学的信息进行精确的分析,依据循证医学提供的最佳证据,并结合患者自身的意愿、心理和社会特征,形成个体化的治疗方案^[12]。

6. 大数据、大队列等的研究对分子流行病学的影响:疾病发病机制的深入认识和分子病理学发展,疾病分类越来越细,细化的分类标准会限制研究的样本量,因此需要多中心和互联网云数据才能得到令人信服的结果。现代信息化管理系统产生了大数据和云计算等技术,出现样本量超过10万的人群研究,结合分子流行病学方法,能更好的理解疾病发生、发展的生物学机制。但如何对不同研究中心和平台的数据进行整合,将生物的基因数据和环境数据相结合,将是分子流行病学需解决的问题。基于大样本的复杂病因疾病的队列研究,为此类疾病的致病机制和防治策略提供可靠的理论依据^[13-14]。

总之,随着上述问题的解决和相关学科的不断发展,分子流行病学会更加完善,与不同的学科融合,能够更加有效的防控疾病,促进健康。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] Kilbourne ED. The molecular epidemiology of influenza [J]. J Infect Dis, 1973, 127(4): 478-487. DOI: 10.1093/infdis/127.4.478.
- [2] 段广才, 祁国明. 分子流行病学研究及其应用: III. 主要研究手段[J]. 中华流行病学杂志, 1992, 13(6): 380-382.

- Duan GC, Qi GM. Research and application of molecular epidemiology: III. main research methods[J]. Chin J Epidemiol, 1992, 13(6): 380-382.
- [3] 曾光. 现代流行病学方法与应用[M]. 北京:北京医科大学, 中国协和医科大学联合出版社, 1994.
- Zeng G. Methods and applications of modern epidemiological [M]. Beijing: Beijing Medical University, Beijing Medical University and Chinese Union Medical University Joint Publishing House, 1994.
- [4] Chen SY, Duan GC, Zhang RG, et al. Helicobacter pylori cytotoxin-associated gene A protein upregulates α -enolase expression via Src/MEK/ERK pathway: implication for progression of gastric cancer [J]. Int J Oncol, 2014, 45 (2) : 764-770. DOI: 10.3892/ijo.2014.2444.
- [5] 王建, 邱少富, 宋宏彬, 等. CRISPR在细菌分型和进化中的研究进展[J]. 生物技术通讯, 2013, 24(3): 414-417. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0002.2013.03.028.
- Wang J, Qiu SF, Song HB, et al. Progress in CRISPR research on bacteria typing and evolution[J]. Lett Biotechnol, 2013, 24(3): 414-417. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0002.2013.03.028.
- [6] 黄熙, 卢玲玲, 邓小玲, 等. 2011年德国肠出血性大肠杆菌 O104:H4疫情流行病学调查及启示[J]. 中华流行病学杂志, 2012, 33(1): 111-114. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450. 2012. 01.024.
- Huang X, Lu LL, Deng XL, et al. A notice from epidemiological investigation of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany, 2011 [J]. Chin J Epidemiol, 2012, 33(1): 111-114. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.01.024.
- [7] Chen Y, Liang WF, Yang SG, et al. Human infections with the emerging avian influenza A H7N9 virus from wet market poultry: clinical analysis and characterisation of viral genome[J]. Lancet, 2013, 381(9881): 1916-1925. DOI: 10.1016/S0140-6736(13) 60903-4.
- [8] Lam TTY, Wang J, Shen YY, et al. The genesis and source of the H7N9 influenza viruses causing human infections in China [J]. Nature, 2013, 502(7470): 241-244. DOI: 10.1038/nature12515.
- [9] 李娇元, 缪小平, 林东昕. 中国常见肿瘤的全基因组关联研究进展[J]. 自然杂志, 2015, 37(1): 1-7. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9608.2015.01.001.
- Li JY, Miao XP, Lin DX. Advances in genome-wide association studies of cancer in Chinese population [J]. Chin J Nat, 2015, 37 (1): 1-7. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9608.2015.01.001.
- [10] 杨宇, 白琳, 胡孔新, 等. 马尔堡、埃博拉病毒双重荧光定量PCR检测方法的建立[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2012, 26(4): 313-315. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2012. 04.023.
- Yang Y, Bai L, Hu KX, et al. Multiplex real-time PCR method for rapid detection of Marburg virus and Ebola virus [J]. Chin J Exp Clin Virol, 2012, 26(4): 313-315. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2012.04.023.
- [11] 王盛书, 孙金柱, 苏文莉, 等. 我国携带NDM-1基因耐药菌流行现状分析[J]. 军事医学, 2015, 39(11): 825-830. DOI: 10.7644/j.issn.1674-9960.2015.11.004.
- Wang SS, Sun JZ, Su WL, et al. Epidemiological analysis of NDM-1-positive bacteria in China [J]. Mil Med Sci, 2015, 39(11): 825-830. DOI: 10.7644/j.issn.1674-9960.2015.11.004.
- [12] 宋菁, 胡永华. 精准医疗: 分子流行病学的机遇与挑战[J]. 中华流行病学杂志, 2016, 37(4): 587-592. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.04.030.
- Song J, Hu YH. Precision medicine: new opportunities and challenges for molecular epidemiology [J]. Chin J Epidemiol, 2016, 37(4): 587-592. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450. 2016. 04.030.
- [13] 代敏, 白亚娜, 蒲宏全, 等. 队列研究在肿瘤防控中的实际应用[J]. 中华流行病学杂志, 2016, 37(3): 303-305. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.03.001.
- Dai M, Bai YN, Pu HQ, et al. Application of cohort study in cancer prevention and control [J]. Chin J Epidemiol, 2016, 37(3): 303-305. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.03.001.
- [14] 李立明, 吕筠. 大型前瞻性人群队列研究进展[J]. 中华流行病学杂志, 2015, 36(11): 1187-1189. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.11.001.
- Li LM, Lyu J. Large prospective cohort studies: a review and update [J]. Chin J Epidemiol, 2015, 36(11): 1187-1189. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.11.001.

(收稿日期: 2016-03-25)

(本文编辑: 王岚)