

中国鼠疫自然疫源地分型研究

IV. 鼠疫耶尔森菌生物型生物学特征的探讨

方喜业 周冬生 崔玉军 李艳君 刘起勇 李贵昌 许磊 杨瑞馥

【导读】鼠疫菌生物型是鼠疫菌起源进化遗传性状最稳定的生物学标准,是鼠疫起源进化普系的“活化石”,也是该菌起源进化最具代表性的模式。依据其对甘油和阿拉伯糖的酵解和还原硝酸盐的能力,鼠疫菌可分为 4 种生物型,即古典型(甘油酵解阳性,阿拉伯糖酵解阳性,硝酸盐还原阳性)、中世纪型(甘油酵解阳性,阿拉伯糖酵解阳性,硝酸盐还原阴性)、东方型(甘油酵解阴性,阿拉伯糖酵解阳性,硝酸盐还原阳性)和田鼠型(甘油酵解阳性,阿拉伯糖酵解阴性,硝酸盐还原阴性)。前三种生物型与人类历史 3 次鼠疫大流行相对应,最后一种生物型对人 不致病,但能造成田鼠鼠疫并在其自然疫源地内流行。目前中国鼠疫自然疫源地有 4 种鼠疫菌生物型。

【关键词】鼠疫耶尔森菌;生化表型;鼠疫菌生物型

Eco-geographic landscapes of natural plague foci in China IV. Characterization of biovars of *Yersinia pestis*, China FANG Xi-ye¹, ZHOU Dong-sheng², CUI Yu-jun³, LI Yan-jun², LIU Qi-yong³, LI Gui-chang³, XU Lei⁴, YANG Rui-fu². 1 Institute of Laboratory Animal Sciences of Chinese Academy of Medical Sciences, Compared Medical Research Center of Peking Union Medical College, Beijing 100021, China; 2 National Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Sciences; 3 Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, State Key Laboratory for Infectious Diseases Prevention and Control; 4 Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences

Corresponding authors: FANG Xi-ye, Email: xiye Fang@hotmail.com; YANG Rui-fu, Email: yangrf@nic.bmi.ac.cn

This work was supported by a grant from the National Science and Technology Mega Projects of China (No. 2008ZX10004-010).

【Key words】*Yersinia pestis*; Biochemical phenotype; *Yersinia pestis* biovar

我国鼠疫自然疫源地目前划分为 4 种鼠疫菌生物型。对鼠疫菌生物型生物学特征的探讨,可揭示鼠疫菌、鼠疫自然疫源地的起源、进化及其遗传演化规律,为认识中国鼠疫菌生物型、自然疫源地生物学奠定基础。

1. 鼠疫菌生物型:根据鼠疫菌对糖醇代谢的不同及其主要宿主的不同(宿主相关性),鼠疫菌可划分为 4 种生物型^[1,2](表 1)。

表 1 欧亚大陆鼠疫菌生物型生物学特征

生物型	甘油	脱氮	阿糖	主要宿主	小鼠、长爪沙鼠毒力	豚鼠大动物毒力	与旱獭趋同进化
古典生物型	+	+	+	旱獭、黄鼠	+	+	-
中世纪生物型	+	-	+	长爪沙鼠、大沙鼠	+	+	-
东方生物型	-	+	+	黄胸鼠	+	+	-
田鼠生物型(趋同进化)	+	-	-	田鼠、鼠兔	+	-	+

(1)古典生物型:早在公元 5—6 世纪(520—565 年)之前(第一次世界鼠疫大流行前),鼠疫菌就已经与适应高原高寒高旱环境的旱獭(灰旱獭、长尾旱獭、喜马拉雅旱獭、西伯利亚旱獭)共生,自然组成了旱獭鼠疫生物群落,形成旱獭鼠疫自然疫源地,并在旱獭鼠疫疫源地中流行保存维护了古典生物型鼠疫菌的种族延续。据此推断经历了相当漫长的进化过程,从冰河末期至公元 5—6 世纪,约有 1500~20 000 年^[1],有可能时间更长。称谓鼠疫菌

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.06.019

基金项目:国家科技重大专项(2008ZX10004-010)

作者单位:100021 北京,中国医学科学院实验动物研究所北京协和医学院比较医学研究中心(方喜业);中国军事医学科学院微生物流行病研究所(周冬生、崔玉军、李艳君、杨瑞馥);中国疾病预防控制中心传染病预防控制所,传染病预防控制国家重点实验室(刘起勇、李贵昌);中国科学院动物研究所(许磊)

方喜业、周冬生、崔玉军同为第一作者

通信作者:方喜业, Email: xiye Fang@hotmail.com; 杨瑞馥, Email:

yangrf@nic.bmi.ac.cn

起源后的第一阶段——漫长进化期。

(2) 中世纪生物型: 约在 12—13 世纪, 即第二次世界鼠疫大流行之前, 由古典生物型鼠疫菌突变形成了中世纪生物型, 并与适应高原温暖干旱荒漠环境的沙鼠共生, 自然组成了沙鼠鼠疫生物群落, 形成以中世纪生物型鼠疫菌为主体的沙鼠鼠疫自然疫源地, 维护了中世纪生物型鼠疫菌和沙鼠鼠疫生物群落的种族延续, 进入鼠疫菌起源演化后的第二阶段——加速进化期。推断从第一阶段到第二阶段中世纪生物型鼠疫菌的进化时间, 经历了约 800 年, 若与古典生物型鼠疫菌进化时间相比, 显然中世纪生物型鼠疫菌加快了进化过程。

(3) 东方生物型: 约在 17—18 世纪, 第三次世界鼠疫大流行(19 世纪末至 20 世纪中叶)之前, 与适应平原温暖湿润居民区农田环境栖息的家鼠共生, 自然组成了家鼠鼠疫生物群落, 形成家鼠鼠疫自然疫源地。维护东方生物型鼠疫菌和以东方生物型鼠疫菌为主体的家鼠鼠疫生物群落的种族延续。推断从第二阶段到 17—18 世纪东方生物型鼠疫菌进化时间经历了约 500 年, 显然东方生物型鼠疫菌更加快了进化的步伐, 进入了鼠疫菌起源后的第三阶段——快速进化期。

(4) 田鼠生物型(趋同进化型): 田鼠生物型鼠疫菌与古典生物型鼠疫菌都是由原始古老的鼠疫菌同步起源、进化, 并与旱獭鼠疫趋同进化为另一分支。其最突出的生物学特征是, 只在局限范围内形成动物鼠疫。在欧亚大陆不同地区形成的以田鼠生物型鼠疫菌为主体的鼠疫自然疫源地, 保存了田鼠生物型鼠疫菌, 维持了田鼠生物型鼠疫菌和田鼠、鼠兔鼠疫生物群落的种族延续。而田鼠生物型鼠疫菌虽然也经历了相当漫长的进化过程, 但在几万年的进化中迄今几乎没有明显变化, 并相当顽强固守在局限的以田鼠生物型鼠疫菌为主体的鼠疫自然疫源地。此阶段称为趋同进化期。

2. 中国鼠疫自然疫源地鼠疫菌生物型的分布:

(1) 古典生物型鼠疫菌主要分布在 A 天山森林草原灰旱獭长尾黄鼠疫源地型; B 帕米尔高原南天山高寒草原长尾旱獭灰旱獭疫源地型; C 青藏高原高寒草甸草原高寒草原喜马拉雅旱獭疫源地型的 C1、C2、C3 和 C5 疫源地亚型; D 蒙古高原典型草原西伯利亚旱獭达乌尔黄鼠疫源地型; E 察哈尔丘陵松辽平原典型草原达乌尔黄鼠疫源地型; K 滇西南横断山三江并流纵谷玉龙绒鼠高山姬鼠疫源地型。

(2) 中世纪生物型鼠疫菌主要分布在 G 蒙古高

原荒漠草原爪沙鼠疫源地型; H 准噶尔盆地荒漠大沙鼠疫源地型; C 青藏高原高寒草甸草原高寒草原喜马拉雅旱獭疫源地型的 C4 疫源地亚型; F 甘宁黄土高原荒漠草原阿拉善黄鼠疫源地型。

(3) 东方生物型鼠疫菌主要分布在 L 滇闽粤川平原居民区农田黄胸鼠疫源地型。

(4) 田鼠生物型鼠疫菌主要分布在 I 青藏高原高寒草甸草原青海田鼠疫源地型、J 蒙古高原荒漠草原布氏田鼠疫源地型。

中国鼠疫自然疫源地鼠疫菌生物型最突出的特征是遗传性状稳定, 疫源地区系分布界限明显, 规律有序(表 2、图 1)。

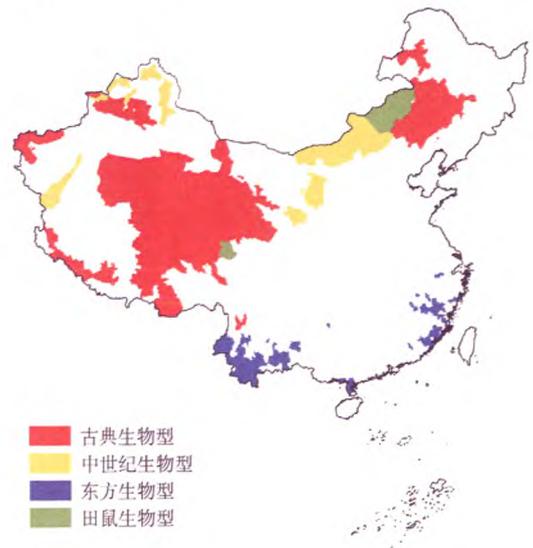


图 1 中国鼠疫自然疫源地鼠疫菌生物型分布

3. 中国鼠疫菌生物型的起源与演化^[3-5]: 鼠疫菌生物型生物学是了解鼠疫菌生物型起源、进化及遗传生物学特征的核心问题。从中国、前苏联及中亚地区获得的代表性鼠疫菌进行 CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) 分析表明, 鼠疫菌可能起源于中亚地区^[6]。以往惯用地区或国家描述疫源地范围实在太广, 很难具体明确疫源地确切地点, 更难明确鼠疫自然疫源地鼠疫菌的具体起源地点和疫源地形态结构特征。

(1) 古典生物型鼠疫菌: 如前所述, 原始古老的鼠疫菌在高原低温干旱环境下突变进化形成最早的“古典生物型鼠疫菌”, 继后在进化中逐渐形成以古典生物型鼠疫菌为主体的当今世界旱獭鼠疫自然疫源地。这便是鼠疫菌在旱獭鼠疫自然疫源地起源进化至第一阶段过程——漫长进化期。鼠疫菌在旱獭

表 2 中国鼠疫自然疫源地鼠疫菌生物型分布

疫源地 型代码	鼠疫自然疫源地型 (I 级、型)	鼠疫自然疫源地亚型 (II 级、亚型)	鼠疫菌		生物型	
			型	株数	符合率(%)	分布地区
A	天山森林草原灰旱獭长尾黄鼠疫源地型	A1 西段森林草原灰旱獭长尾黄鼠温泉 1a 型疫源地亚型	古典	44	100	新疆
		A2 中段森林草原灰旱獭长尾黄鼠精河 3 型疫源地亚型	古典	44	100	新疆
		A3 东段森林草原灰旱獭长尾黄鼠玛纳斯 2a 型疫源地亚型	古典	44	100	新疆
B	帕米尔高原南天山高寒草原长尾旱獭灰旱獭疫源地型	B1 帕米尔高原(南天山)高寒草原长尾旱獭灰旱獭乌恰 4a 型疫源地亚型	古典	13	100	新疆
C	青藏高原高寒草甸草原高寒草原喜马拉雅旱獭疫源地型	C1 巴颜喀拉山高寒草甸草原喜马拉雅旱獭扎多 5 型疫源地亚型	古典	111	100	青海
		C2 念唐古拉山高寒草甸草原喜马拉雅旱獭那曲 6 型疫源地亚型	古典	111	100	西藏
		C3 祁连山高寒草甸草原喜马拉雅旱獭祁连 8 型疫源地亚型	古典	111	100	青海、甘肃
		C4 中昆仑山高寒草原喜马拉雅旱獭和田 11 型疫源地亚型	中世纪	12	100	新疆
		C5 冈底斯山唐古拉山高寒草原喜马拉雅旱獭仲巴 10 型疫源地亚型	古典	12	100	西藏
D	蒙古高原典型草原西伯利亚旱獭达乌尔黄鼠疫源地型	D1 呼伦贝尔典型草原西伯利亚旱獭达乌尔黄鼠满洲里 10' 型疫源地亚型	古典		100	内蒙古
E	察哈尔丘陵松辽平原典型草原达乌尔黄鼠疫源地型	E1 察哈尔丘陵(松辽平原)典型草原达乌尔黄鼠通辽 10' 型疫源地亚型	古典	31	100	内蒙古、吉林、辽宁、黑龙江
F	甘宁黄土高原荒漠草原阿拉善黄鼠疫源地型	F1 甘宁黄土高原半荒漠草原阿拉善黄鼠海原 13 型疫源地亚型	中世纪	14	100	宁夏、甘肃
G	蒙古高原荒漠草原长爪沙鼠疫源地型	G1 鄂尔多斯荒漠草原长爪沙鼠二连 11' 型疫源地亚型	中世纪	40	100	内蒙古
H	准噶尔盆地荒漠大沙鼠疫源地型	H1 阿拉山口荒漠大沙鼠阿拉山口 15 型疫源地亚型	中世纪	18	100	新疆
I	青藏高原高寒草甸草原青海田鼠疫源地型	I1 石渠高寒草甸草原青海田鼠石渠 14' 型疫源地亚型	田鼠	31	100	青海、四川
J	蒙古高原荒漠草原布氏田鼠疫源地型	J1 锡林郭勒荒漠草原布氏田鼠阿巴嘎 14' 型疫源地亚型	田鼠	9	100	内蒙古
K	滇西南横断山三江并流纵谷玉龙绒鼠高山姬鼠疫源地型	K1 横断山三江并流纵谷剑川玉龙绒鼠高山姬鼠剑川 7 型疫源地亚型	古典	14	100	云南
		K2 横断山三江并流纵谷丽江玉龙绒鼠高山姬鼠(基因组型待定)疫源地亚型	古典	14	100	云南
L	滇闽粤川平原居民区农田黄胸鼠疫源地型	L1 滇闽粤川平原(居民区农田)黄胸鼠弥渡 9 型疫源地亚型	东方	46	100	云南、广东、福建、贵州

鼠疫自然疫源地维持了旱獭鼠疫自然疫源性,维护了古典生物型鼠疫菌和旱獭鼠疫生物群落的种族延续;旱獭鼠疫自然疫源地不仅成为古典生物型鼠疫菌的发源地且是旱獭鼠疫惟一生存环境,亦是世界所有鼠疫自然疫源地的发源地。古典生物型鼠疫菌是鼠疫菌谱系中最古老、最活跃、最具有生命力的鼠疫菌型。现在的鼠疫菌基因组型绝大部分起源于古典生物型鼠疫菌,如中世纪生物型、东方生物型鼠疫菌,不仅起源于古典生物型鼠疫菌,而且至今仍保留着古典生物型鼠疫菌的遗传印迹。

(2)中世纪生物型鼠疫菌:是由古典生物型鼠疫菌突变进化形成。中世纪生物型鼠疫菌最早出现在喜马拉雅旱獭鼠疫自然疫源地和继后出现在阿拉善

黄鼠鼠疫自然疫源地,但主要保存在长爪沙鼠、大沙鼠等沙鼠鼠疫自然疫源地。这两种情况恰恰说明,中世纪生物型鼠疫菌与不同鼠疫宿主相结合,体现了鼠疫菌与自然地理环境的适应性。在中昆仑山高寒草原喜马拉雅旱獭和田鼠型疫源地亚型出现并保留了以中世纪生物型鼠疫菌为主体的疫源地,表明中世纪生物型鼠疫菌早已起源于旱獭疫源地,证明中世纪型鼠疫菌是起源于古典生物型鼠疫菌。继后也在阿拉善黄鼠鼠疫自然疫源地出现并保存了中世纪生物型鼠疫菌,但后者并非是由古典生物型鼠疫菌直接突变而形成,而是由于地理隔绝受到鼠疫生态地理环境限制,由长爪沙鼠疫源地中世纪生物型鼠疫菌演变而来。中世纪生物型鼠疫菌是古典生物

型鼠疫菌加快遗传进化成为对环境适应性的典型代表。当今世界所有相对独立的沙鼠鼠疫自然疫源地都是鼠疫菌对环境适应性的领域扩张结果。

(3) 东方生物型鼠疫菌: 根据中国鼠疫自然疫源地分型研究表明, 东方生物型鼠疫菌起源于中国云南横断山三江并流景观区(另文论述)。东方生物型鼠疫菌借助人活动(海陆贸易、战争、宗教活动等)从欧亚大陆原发性鼠疫自然疫源地侵入美洲、非洲及大洋洲, 形成当今世界鼠疫自然疫源地分布格局, 成功进行了前所未有的疫源地领域扩张, 并形成了以东方生物型鼠疫菌为主的次生性鼠疫自然疫源地。东方生物型鼠疫菌不仅是次生性鼠疫自然疫源地的制造者, 还是次生性鼠疫自然疫源地鼠疫菌的祖先。未来广大次生性鼠疫自然疫源地, 将以东方生物型鼠疫菌为主体, 成为区别于欧亚大陆原发性鼠疫自然疫源地独特的新生次生性鼠疫自然疫源地。该疫源地特有的生物学规律, 将会逐渐凸显。

(4) 田鼠生物型鼠疫菌: 这是与前三种生物型鼠疫菌完全不同的另一分支^[3], 虽然东方生物型鼠疫菌、古典生物型鼠疫菌都是由原始古老鼠疫菌同步进化而来, 但以田鼠生物型鼠疫菌为主体形成的田鼠鼠疫和鼠兔鼠疫自然疫源地, 不论其主要宿主种类多么不同, 疫源地相距多么遥远, 它们的生物学特征却完全相似: ①田鼠生物型鼠疫菌对长爪沙鼠、小鼠毒力强, 对大型动物毒力弱, 对人不致病; ②不同类型的动物鼠疫几乎无例外的与不同种类旱獭趋同进化; ③只在有限动物鼠疫生物群落循环, 维持鼠疫自然疫源性, 维护相应动物鼠疫生物群落的种族延续; ④不同田鼠不同鼠兔形成的疫源地, 虽然与旱獭鼠疫疫源地分布在相同的生态地理景观中, 并造成动物鼠疫流行, 但动物鼠疫流行的趋向却是单向的, 即旱獭鼠疫可在田鼠疫源地流行, 而田鼠鼠疫、鼠兔鼠疫却不能在旱獭疫源地流行。

显然自然界生物进化并非是同一种进化模式, 而是受环境多态性、生物多样性等诸多因素影响, 从而形成多形态进化模式。鼠疫菌在进化过程中对非生物环境领域扩张的同时, 不仅适应鼠疫宿主、媒介的外环境, 而且增强了对宿主、媒介内环境的适应能力, 并在机体内生存繁殖改变毒力和免疫效应。既能在常温动物(家鼠、沙鼠、田鼠等)体内生存, 又能在异温动物(旱獭、黄鼠)和变温昆虫(蚤)体内生存。鼠疫菌已成为对多态生存环境具有广泛适应性的生物种群^[7-11]。

鼠疫菌不仅扩大了对生态地理环境的适应性,

从高原高寒高旱环境扩大到高原高温高旱, 进而扩大到平原高温高湿环境, 从我国自然地势第一台阶地域扩大到第二、三台阶地域, 且不断增强了对生物环境的适应性。最初古典生物型鼠疫菌只流行在旱獭鼠疫自然疫源地, 鼠疫宿主、媒介只有几十种, 如今古典生物型鼠疫菌已演变出中世纪生物型鼠疫菌和东方生物型鼠疫菌, 从旱獭疫源地扩张到沙鼠疫源地、家鼠疫源地, 其鼠疫宿主、媒介已扩大至200多种。

参 考 文 献

- [1] Achtman M, Zurth K, Morell G, et al. *Yersinia pestis*, the cause of plague is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(24): 14043-14048.
- [2] Motin VL, Georgescu AM, Elliott JM, et al. Genetic variability of *Yersinia pestis* isolates as predicted by PCR-based IS100 genotyping and analysis of structural genes encoding-3-phosphate dehydrogenase (gfpD). J Bacteriol, 2002, 184(4): 1019-1027.
- [3] Parkhill J, Wren BW, Thomson NR, et al. Genome sequence of *Yersinia pestis*, the causative agent of plague. Nature, 2001, 413: 523-530.
- [4] Deng W, Burland V, Plunkett G, et al. Genome sequence of *Yersinia pestis* KIM. J Bacteriol, 2002, 184: 4601-4613
- [5] Zhou D, Han Y, Song Y, et al. Comparative and evolutionary genomics of *Yersinia pestis*. Microbes Infect, 2004, 6(13): 1226-1234.
- [6] Cui Y, Li Y, Gorge O, et al. Insight into microevolution of *Yersinia pestis* by clustered regularly interspaced short palindromic repeats. PLoS One, 2008, 3(7): e2652.
- [7] Zhou DS, Han YP, Song YJ, et al. Molecular mechanism of biovar conversion of *Yersinia pestis* and the proposition of a new biovar: *Microtus*. Med J China PLA, 2004, 29(3): 211-215. (in Chinese)
周冬生, 韩延平, 宋亚军, 等. 鼠疫耶尔森菌生物型变异遗传基础的研究和新生物型——田鼠型的提出. 解放军医学杂志, 2004, 29(3): 211-215
- [8] Liu ZC, Hai R, Li FZ, et al. Discovery and analysis of *Microtus fuscus* plague foci of the Qinghai-Xizang plateau. Chin J Control Endemic Dis, 2001, 16(6): 1-6. (in Chinese)
刘振才, 海荣, 李富忠, 等. 青藏高原青海田鼠鼠疫自然疫源地的发现与研究. 中国地方病防治杂志, 2001, 16(6): 1-6.
- [9] Fan ZY, Luo YH, Li F, et al. Human experiments of Xilin Gol plateau biovar *Yersinia pestis* infection. Chin J Control Endemic Dis, 1994, 9(6): 22-24. (in Chinese)
樊振亚, 罗运新, 李凤, 等. 鼠疫耶尔森菌锡林郭勒高原型对人致病性试验. 中国地方病防治杂志, 1994, 9(6): 22-24.
- [10] Dias JM, Than ME, Humm A, et al. Crystal structure of the first dissimilatory nitrate reductase at 1.9 Å solved by MAD methods. Structure Fold Des, 1999, 7(1): 65-79.
- [11] Sheppard D, Engelsberg E. Positive control in the L-arabinose gene-enzyme complex of *Escherichia coli* B/r exhibited with stable merodiploids. Cold Spring Harbor Symp Quant Biol, 1966, 31: 345-347.

(收稿日期: 2012-03-29)

(本文编辑: 张林东)