

## 鼠疫耶尔森菌质粒种类、功能及其流行病学意义

丁奕博 王鹏

【关键词】 鼠疫耶尔森菌; 质粒

**Plasmid types, functions of *Yersinia pestis* and their epidemiological significance** Ding Yibo<sup>1</sup>, Wang Peng<sup>2</sup>.

1 School of Public Health, Dali University, Dali 671000, China;

2 Yunnan Provincial Key Laboratory for Zoonosis Control and Prevention, Yunnan Institute for Endemic Disease Control and Prevention

Corresponding author: Wang Peng, Email: wp030801@126.com

This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (No. 81160354), Ministry of Health Fund (No. 201202021) and Applied Basic Research of Yunnan Province (No. 2011FB134).

【Key words】 *Yersinia pestis*; Plasmid

质粒是鼠疫耶尔森菌(鼠疫菌)染色体外的遗传物质,大多数鼠疫菌都带有3个质粒:pMT1(pFra/pYT)、pCD1(pYV)及pPCP1(pPst/pPCY1/pPla/pYP)<sup>[1]</sup>,是鼠疫菌毒力的重要组成部分,在抗吞噬及侵入扩散中扮演重要角色。除上述质粒外,国内外还陆续报道了一些其他质粒,这些质粒对鼠疫菌自身特性及遗传进化具有特殊的意义。本文就鼠疫菌质粒的种类、功能及其流行病学意义进行概述。

1. 鼠疫菌3种常规质粒:pCD1为耶尔森菌属3种致病菌(鼠疫菌、假结核菌及小肠结肠炎菌)所共有的,约为70 kb(45 mDa),功能主要为编码低钙反应刺激元件(LCRS),包括1个专用的多蛋白分泌系统(Ⅲ型分泌系统)和多个控制分泌性毒力蛋白表达的调节基因。质粒pPCP1和pMT1则是在鼠疫菌由假结核耶尔森菌进化而来时,通过基因水平转移获得<sup>[2]</sup>。pMT1质粒约为100 kb(65 mDa),主要编码F1荚膜抗原和磷脂酶D(鼠毒素);其中F1荚膜抗原具有抗吞噬的功能,保护鼠疫菌不受中性粒细胞和单核细胞吞噬,磷脂酶D与鼠疫在传播媒介蚤中菌栓的形成相关<sup>[3]</sup>,在鼠疫菌的传播扩散中起重要作用。pPCP1质粒一般为9.5 kb(6 mDa),主要编码血浆酶原活化因子(Pla)和鼠疫巴氏杆菌素(Pst),其中Pla蛋白在鼠疫菌从感染部位向淋巴结的扩散具有重要的促进作用<sup>[4]</sup>。

### 2. 其他鼠疫菌质粒:

(1)质粒pG8786: 格鲁吉亚高加索鼠疫疫源地菌株

*Yersinia pestis* G8786所携带[137 kb(91 mDa)],该质粒除了含有pMT1质粒的骨架外,还多了4 642 bp和32 617 bp的2个区域,前者与伤寒沙门菌质粒pHCM2高度同源,后者与F质粒的转移基因高度同源;推测该质粒具有一定的转移性,极有可能是pMT1质粒群中的1个古老形式<sup>[5]</sup>。

(2)质粒pIP1202: 1995年分离自马达加斯加1例腺鼠疫患者的鼠疫菌株*Y. pestis* IP275所携带[183 kb(122 mDa)],是1个自身可传播的多重耐药质粒,对包括链霉素、四环素、氯霉素和磺胺类药物等推荐用于鼠疫预防和治疗药物具有耐药性<sup>[6]</sup>。

(3)质粒pJARS35和pJARS36: 1株分离自印度尼西亚的不表达F1抗原的鼠疫菌株*Y. pestis* Java 9所携带[35 kb(23 mDa)]和[36 kb(23 mDa)],这2个质粒含有4型接合转移系统,该系统可能来源于昆虫寄生的一种气单胞菌(*Aeromonas culicicola*)和大肠埃希菌pR6K;该种气单胞菌最初分离自吸血的蚊虫,提示昆虫中胃可能是鼠疫基因组进化中基因水平转移1个合适的环境<sup>[7]</sup>。

(4)质粒pCRY: 在中国分离的布氏田鼠鼠疫菌株中发现的1个新质粒[22 kb(15 mDa)],该质粒编码细菌的4型分泌系统<sup>[8]</sup>。

(5)质粒pYC: 中国南方黄胸鼠疫源地一些鼠疫菌中存在的特殊质粒[6 kb(4 mDa)],序列分析表明<sup>[9]</sup>,pYC质粒含有2个基因区,共有12个ORF结构,其中,ORF1与*Neisseria gonorrhoeae*产生β-内酰胺酶的质粒pFA3的复制起始蛋白相似,ORF10和ORF11与大肠埃希菌染色体DNA的DinJ1和DinJ2高度同源;通过携带该质粒与不携带该质粒菌株的蛋白质分析发现,具有pYC质粒的菌株多出1个伴侣蛋白簇<sup>[10]</sup>。然而,该质粒的真正功能尚不清楚,因而构建该质粒的缺失株,与其自然分离株进行比较研究是进一步研究的方向。

除此之外,还在一些菌株中发现了质粒的嵌合或聚合体形式。在测序的安哥拉鼠疫菌株(*Yersinia pestis* Angola)中,发现了114 570 bp的pMT-pPCP质粒,其是由1个pMT1的骨架与2个pPCP1质粒的拷贝连接而成的,值得注意的是该质粒缺失了*caf*基因簇,从而使该菌株成为一株F1抗原缺失的菌株。此外,美国西部的亚利桑那州、加利福尼亚州、科罗拉多州、新墨西哥州和得克萨斯州的鼠疫菌株中携带1个大小19 kb(12 mDa)的质粒,经实验证实该质粒是9.5 kb(6 mDa)质粒(pPCP1质粒)的二聚体<sup>[11]</sup>。

3. 中国发现的鼠疫菌质粒及其分布情况:除3种常规质粒外,在中国已发现15种大小不同的鼠疫菌质粒(表1),其中绝大多数未进一步研究。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.11.026

基金项目: 国家自然科学基金(81160354); 卫生部行业基金(201202021); 云南省应用基础研究(2011FB134)

作者单位: 671000 大理学院公共卫生学院(丁奕博); 云南省地方病防治所云南省自然疫源性疾病防控技术重点实验室(王鹏)

通信作者: 王鹏, Email: wp030801@126.com

表1 中国鼠疫菌质粒组成地理分布(Mr=10<sup>6</sup>)

| 地区  | 4 | 6 | 7 | 12 | 13 | 23 | 27 | 30 | 36 | 45 | 52 | 56 | 65 | 72 | 75 | 92 | 111 | 129 | 合计 |
|-----|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|----|
| 云南  | + | + |   | +  |    | +  |    |    | +  | +  |    |    | +  |    | +  |    | +   | +   | 10 |
| 新疆  |   | + |   |    |    |    |    |    |    | +  |    | +  | +  | +  | +  | +  |     |     | 7  |
| 青海  |   | + |   |    |    |    |    |    |    | +  | +  |    | +  |    |    | +  |     |     | 5  |
| 广西  | + | + |   |    |    |    |    |    |    | +  |    |    | +  |    |    | +  | +   |     | 6  |
| 宁夏  |   | + |   |    | +  |    |    |    |    | +  |    |    | +  |    |    |    |     |     | 4  |
| 西藏  |   | + | + |    |    | +  | +  | +  |    | +  | +  |    | +  |    |    | +  |     |     | 9  |
| 河北  |   | + |   |    | +  |    |    |    |    | +  |    |    | +  |    |    |    |     |     | 4  |
| 吉林  |   | + |   |    |    |    |    |    |    | +  |    |    | +  |    |    |    |     |     | 3  |
| 内蒙古 |   | + |   |    | +  |    |    |    |    | +  |    |    | +  |    |    |    |     |     | 4  |
| 合计  | 2 | 9 | 1 | 1  | 3  | 2  | 1  | 1  | 1  | 9  | 2  | 1  | 9  | 1  | 2  | 4  | 2   | 1   |    |

从质粒种类上看,云南鼠疫菌存在的质粒种类最多,达到10种<sup>[12-14]</sup>;西藏次之,含有9种质粒类型;新疆鼠疫菌含有7种质粒类型<sup>[15]</sup>;广西鼠疫菌含有6种质粒类型<sup>[16]</sup>;青海鼠疫菌含有5种质粒类型<sup>[17]</sup>;而吉林只有3种常规质粒。

从地理分布上看,除3种常规质粒外,138 kb(92 mDa)质粒在中国分布较为广泛,报道质粒的9个省份中有4个即西藏、新疆、青海及广西有分布;13 mDa质粒在宁夏<sup>[18]</sup>、河北及内蒙古3个省份有分布。6 kb(4 mDa)质粒即pYC质粒是黄胸鼠鼠疫源地(云南、广西及福建等地区)独有的质粒类型。

4. 鼠疫菌质粒的流行病学意义:

(1)鼠疫菌溯源的意义:特定的鼠疫菌质粒图谱有特定的地理分布,可以为鼠疫菌的溯源提供线索。通过时间空间的观察和分子生物学研究,国内外普遍认为质粒在一定时间和有限地区是稳定并且特异的<sup>[12]</sup>,其原因可能是鼠疫菌拥有pMT1质粒,可产生荚膜F1抗原,不易接受外界的质粒进入菌体,因此以质粒为依据,结合鼠疫菌的生化特征,判断鼠疫菌归属的鼠疫源地,可作为鼠疫源地划分的重要指标。董兴齐等<sup>[19]</sup>在研究云南家鼠鼠疫来源时,通过检测家鼠和野鼠的质粒谱,发现其携带的规范化质粒不仅分子质量无差别,而且都有V型质粒图形(多为111 mDa质粒)变异株,提示具有相同的遗传变异性,推测云南家鼠鼠疫可能源于云南野鼠鼠疫。还有研究表明,河北省的鼠疫菌大多携带20 kb(13 mDa)质粒,而该质粒是内蒙古长爪沙鼠疫源地菌株所特有的,因而进一步说明河北的鼠疫源地是内蒙古长爪沙鼠疫源地的一部分<sup>[20]</sup>。

(2)质粒序列信息对鼠疫菌遗传进化的意义:质粒是一种可移动的遗传信息,在菌株的遗传进化中扮演着十分重要的角色。假结核菌在进化过程中正是水平获得了2个质粒(pPCP1和pMT1)才进化为高致病性的鼠疫菌<sup>[2]</sup>。在已测序的鼠疫菌其他质粒中,有的编码抗性,有的编码分泌系统,有的编码接合转移系统,它们都与鼠疫菌的遗传进化息息相关。还有些质粒提供了鼠疫菌基因交换场所的信息,还有些质粒可能是鼠疫菌进化不同时期的状态,对鼠疫菌质粒的深入研究为了解鼠疫菌的遗传进化具有重要意义。更为重要的是,迄今许多鼠疫菌新的质粒并未进行测序,这些质粒信息中包含着更为有价值的鼠疫菌遗传进化信息。

5. 展望:质粒在鼠疫菌进化史中起到了至关重要的作

用,对于未知质粒的研究很可能发现鼠疫菌在遗传进化及特殊毒力来源的新证据,有助于分析鼠疫菌的来源、地区性和种类,更好地实现溯源。目前我国已发现十多种特殊大小的质粒,而这些质粒的序列如何,又有何功能,有待进一步研究探讨。从质粒分布来看,云南省鼠疫菌质粒的种类最为丰富,除对6 kb(4 mDa)质粒即质粒pYC进行了鉴定,还有6种乃至更多没有发现的质粒至今未能深入研究。

参 考 文 献

- [1] Parkhill J, Wren BW, Thomson NR, et al. Genome sequence of *Yersinia pestis*, the causative agent of plague [J]. Nature, 2001, 413(6855):523-527.
- [2] Achtman M, Morelli G, Zhu P, et al. Microevolution and history of the plague bacillus, *Yersinia pestis* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(51):17837-17842.
- [3] Hinnebusch BJ, Rudolph AE, Cherepanov P, et al. Role of *Yersinia murine* toxin in survival of *Yersinia pestis* in the midgut of the flea vector [J]. Science, 2002, 296(5568):733-735.
- [4] Lähteenmäki K, Kukkonen M, Korhonen TK. The Pla surface protease/adhesion of *Yersinia pestis* mediates bacterial invasion into human endothelial cells [J]. FEBS Lett, 2001, 504(1/2):69-72.
- [5] Golubov A, Neubauer H, Nölting C, et al. Structural organization of the pFra virulence-associated plasmid of rhamnose-positive *Yersinia pestis* [J]. Infect Immun, 2004, 72(10):5613-5621.
- [6] Welch TJ, Fricke WF, McDermott PF, et al. Multiple antimicrobial resistance in plague: an emerging public health risk [J]. PLoS One, 2007, 2(3):e309.
- [7] Eppinger M, Radnedge L, Andersen G, et al. Novel plasmids and resistance phenotypes in *Yersinia pestis*: unique plasmid inventory of strain Java 9 mediates high levels of arsenic resistance [J]. PLoS One, 2012, 7(3):e32911.
- [8] Song Y, Tong Z, Wang J, et al. Complete genome sequence of *Yersinia pestis* strain 91001, an isolate avirulent to humans [J]. DNA Res, 2004, 11(3):179-197.
- [9] Dong XQ, Lindler LE, Chu MC. Complete DNA sequence and analysis of an emerging cryptic plasmid isolated from *Yersinia pestis* [J]. Plasmid, 2000, 43(2):144-148.
- [10] Wang P, Zhao F, Guo Y, et al. Preliminary study of the impact of plasmid pYC on proteome of *Yersinia pestis* [J]. Chin J Endemiol, 2011, 30(5):144-147. (in Chinese)  
王鹏,赵飞,郭英,等.鼠疫菌pYC质粒对菌体蛋白质组影响的初步研究[J].中国地方病学杂志,2011,30(5):144-147.
- [11] Chu MC, Dong XQ, Zhou X, et al. A cryptic 19-kilobase plasmid associated with U.S. isolates of *Yersinia pestis*: a dimmer of the

- 9.5-kilobase plasmid [J]. Am J Trop Med Hyg, 1998, 59 (5): 679-686.
- [12] Dong XQ, Ye F, Peng HB, et al. Geographic distribution and feature of *Yersinia pestis* plasmid isolated from Yunnan province [J]. Chin J Epidemiol, 2001, 22(5):344-347. (in Chinese)  
董兴齐, 叶枫, 彭何碧, 等. 云南省鼠疫菌质粒特征及地理分布 [J]. 中华流行病学杂志, 2001, 22(5):344-347.
- [13] Peng HB, Gao ZH, Dong XQ. The plasmid profile of *Yersinia pestis* isolated from Yunnan province in 1995 [J]. J Prev Med Inform, 2002, 18(2):167. (in Chinese)  
彭何碧, 高子厚, 董兴齐. 1995年云南省鼠疫流行区菌株质粒DNA特征 [J]. 预防医学情报杂志, 2002, 18(2):167.
- [14] Zhao MS, He YS, Gong Y, et al. Discovery and identification of 36 Mdal plasmid of *Yersinia pestis* [J]. Bull Dis Contr Prev, 1988, 3(3):131. (in Chinese)  
赵铭山, 何永山, 公允, 等. 鼠疫菌36 Mdal质粒的发现及鉴定 [J]. 地方病通报, 1988, 3(3):131.
- [15] Guo R, Xin YQ, Wang XH, et al. Study on the map of plasmid of *Y. pestis* in the *R. opimus* natural plague foci in Junggar Basin [J]. Chin J Microbiol Immunol, 2009, 29 (4): 291-293. (in Chinese)  
郭荣, 辛有全, 王信惠, 等. 准噶尔盆地大沙鼠鼠疫自然疫源地鼠疫耶尔森菌质粒谱的研究 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2009, 29(4):291-293.
- [16] Lin XQ, Huang DH, Qin SY, et al. Molecule epidemiological study on a plasmid profile obtained from Guangxi *Yersinia pestis* [J]. Chin J Endemiol, 2005, 24(5):482-484. (in Chinese)  
林新勤, 黄德惠, 秦石英, 等. 广西鼠疫耶尔森菌质粒图谱及分子流行病学意义 [J]. 中国地方病学杂志, 2005, 24(5): 482-484.
- [17] Cong XB, Cao SL, Zhang CH, et al. The study on the biological character of *Yersinia pestis* in microtus focus type [J]. Chin J Endemiol, 2002, 21(4):269-272.  
丛显斌, 曹淑兰, 张春华, 等. 青海田鼠型鼠疫菌生物学性状的研究 [J]. 中国地方病学杂志, 2002, 21(4):269-272.
- [18] Wang ZC, Zhao JH, Zhang T, et al. Biological feature of *Yersinia pestis* plasmid in Ningxia [J]. Chin J Endemiol, 2003, 22 (5): 407-409. (in Chinese)  
王自存, 赵建华, 张涛, 等. 宁夏鼠疫菌质粒生物学特征研究 [J]. 中国地方病学杂志, 2003, 22(5):407-409.
- [19] Dong XQ, Peng HB, Ye F, et al. Plasmid DNA types and their molecular epidemiological significance of *Yersinia pestis* in Yunnan province [J]. Bull Dis Contr Prev, 1994, 9(4): 58-63. (in Chinese)  
董兴齐, 彭何碧, 叶枫, 等. 云南省鼠疫疫源地鼠疫菌质粒DNA种类及分子流行病学研究 [J]. 地方病通报, 1994, 9(4):58-63.
- [20] Wang HF, Du GY, Shi XM, et al. Biological characteristics of *Yersinia pestis* in the natural foci in Hebei province [J]. Chin J Vector Biol Contr, 2010, 21(6):638-639. (in Chinese)  
王海峰, 杜国义, 史献明, 等. 河北省鼠疫自然疫源地鼠疫菌生物学特征的研究概述 [J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2010, 21(6):638-639.

(收稿日期:2014-06-19)

(本文编辑:万玉立)

## 读者·作者·编者

### 本刊对统计学方法的要求

统计学符号按GB 3358-1982《统计学名词及符号》的有关规定一律采用斜体排印,常用:①样本的算术平均数用英文小写 $\bar{x}$ (中位数用 $M$ );②标准差用英文小写 $s$ ;③标准误用英文小写 $s_x$ ;④ $t$ 检验用英文小写 $t$ ;⑤ $F$ 检验用英文大写 $F$ ;⑥卡方检验用英文小写 $\chi^2$ ;⑦相关系数用英文小写 $r$ ;⑧自由度用英文小写 $\nu$ ;⑨概率用英文大写 $P$ ( $P$ 值前应给出具体检验值,如 $t$ 值、 $\chi^2$ 值、 $q$ 值等), $P$ 值应给出实际数值,不宜用大于或小于表示,而用等号表示,小数点后保留3位数。

**研究设计:**应告知研究设计的名称和主要方法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性还是横断面调查研究),实验设计(应告知具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等),临床试验设计(应告知属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施等);主要做法应围绕4个基本原则(重复、随机、对照、均衡)概要说明,尤其要告知如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

**资料的表达与描述:**用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料,用 $M(Q_n)$ 表达呈偏态分布的定量资料,用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则;用相对数时,分母不宜小于20,要注意区分百分率与百分比。

**统计学分析方法的选择:**对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料具备的条件和分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 $t$ 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 $\chi^2$ 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型,不应盲目套用直线回归分析;对具有重复实验数据检验回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。

**统计结果的解释和表达:**当 $P < 0.05$ (或 $P < 0.01$ )时,应说对比组之间的差异具有统计学意义,而不应说对比组之间具有显著性(或非常显著性)差异;应写明所用统计分析方法的具体名称(如:成组设计资料的 $t$ 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 $q$ 检验等),统计量的具体值(如: $t = 3.45$ ,  $\chi^2 = 4.68$ ,  $F = 6.79$ 等);在用不等式表示 $P$ 值的情况下,一般情况下选用 $P > 0.05$ 、 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 三种表达方式即可满足需要,无须再细分为 $P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$ 。当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,再给出95%可信区间。