

# 炭疽病：微生物学的一个老问题带来了新烦恼

宋晓燕\* 张利平<sup>2</sup>

(河北承德民族师范专科学校 承德 067000)<sup>1</sup> (河北大学生命科学学院 保定 071002)<sup>2</sup>

**摘要:**炭疽病是由炭疽芽孢杆菌的芽孢通过皮肤、胃肠道及肺部侵入人体而造成的。芽孢在体内被巨噬细胞吞噬后萌发并繁殖。带有荚膜的炭疽芽孢杆菌进入血液并释放 3 种外毒素。外毒素侵入宿主细胞造成患者代谢紊乱而休克致死。根据国外有关炭疽病的最新报道,对炭疽芽孢杆菌的微生物学及炭疽病的发病机理进行了综述。

**关键词:**炭疽病,炭疽芽孢杆菌,芽孢萌发,外毒素

**中图分类号:**Q93 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2654 (2002) 04-0105-04

最近由于恐怖分子在美国传播可以使人患炭疽病的炭疽芽孢杆菌的芽孢从而造成了美国社会的极度紧张,使炭疽病这个微生物学中的一个古老的问题重新引起了人们的极大关注。炭疽病是由炭疽芽孢杆菌 (*Bacillus anthracis*) 感染所造成的<sup>[1,2]</sup>。炭疽病主要发生于牛及其它草食性哺乳动物,炭疽芽孢杆菌也可以使人感染而发生炭疽病。患者通过直接接触被感染了的动物或存在于空气及土壤中的炭疽芽孢杆菌的芽孢而发病。英文中炭疽病一词,“anthrax”,来源于希腊文,是“炭”的意思,因为由皮肤感染而患炭疽病的患者的感染处的皮肤变成炭黑色。炭疽病对人类的危害由来已久。科学家普遍认为发生在古埃及的第 5 及第 6 次大瘟疫就是炭疽病所致。对于炭疽病的研究曾为细菌学及免疫学的发展做出过突出贡献。现代医学微生物学奠基人,德国微生物学家库克 (Robert Koch) 于 1876 年首次证明患有炭疽病的老鼠的血液中的某种物质可以传播炭疽病,他成功地分离到并证明这种物质为炭疽芽孢杆菌。这是人类历史上首次证明微生物可以作为传染病病源。1881 年,法国微生物学家巴斯德 (Louis Pasteur) 成功地制造出无毒的炭疽芽孢杆菌并用来作为抗炭疽病的疫苗,为现代免疫学的诞生做出了重要贡献。

## 1 细菌形态及分类

炭疽芽孢杆菌学名为 *Bacillus anthracis*, 属芽孢杆菌属 (*Bacillus*), 革兰氏染色阳性, 好氧或兼性厌氧, 产过氧化氢酶。其 DNA G + C 含量为 34mol%。炭疽芽孢杆菌菌体较大, 直径为 0.5 ~ 2.5  $\mu\text{m}$ , 长度为 1.2 ~ 10  $\mu\text{m}$ 。在环境条件不宜生长时形成内生孢子, 也被称为芽孢, 芽孢位于菌体中间。芽孢可以在极热和干燥的条件下存活, 在土壤中可以存活几十年甚至上百年。菌体在琼脂平板上可长成 4 ~ 5 mm 的灰白色菌落<sup>[1,2]</sup>。

因为细菌形态特征的相似性, 炭疽芽孢杆菌通常与腊状芽孢杆菌 (*B. cereus*), 苏云金芽孢杆菌 (*B. thuringiensis*), 及蕈状芽孢杆菌 (*B. mycoides*) 一起被统称为蜡状芽孢杆菌群 (*B. cereus group*)<sup>[3]</sup>。早期常把腊状芽孢杆菌误认为炭疽芽孢杆菌。这种相似性也表现在分子水平上。炭疽芽孢杆菌与腊状芽孢杆菌的 16S rRNA 的序列完全相同,

\* 现在攻读河北大学生命科学学院微生物专业硕士学位

收稿日期: 2001-11-26, 修回日期: 2002-02-19

而它们的 32S rRNA 的序列也只有两处不同,表明它们由共同的祖先进化而来<sup>[3]</sup>,显然这给炭疽芽孢杆菌的菌种鉴定带来一些困难。早期鉴定炭疽芽孢杆菌的方法是将待测菌注射给实验动物,观察其是否能引起炭疽病。现在在实验室条件下即可以十分准确地鉴定炭疽芽孢杆菌。炭疽芽孢杆菌在羊血琼脂培养基上形成白色或灰白色菌落,不溶血,菌体不运动、对青霉素敏感,可以被  $\gamma$  噬菌体溶解。菌落扁平而明显发粘,菌落边缘卷曲。在含 0.7% 的碳酸氢盐的琼脂培养基上及含有 5% ~ 20% 二氧化碳的空氣的条件下,炭疽芽孢杆菌会形成其特有的荚膜<sup>[4]</sup>。这种鉴定手段已被成功应用了几十年。随着分子生物学在细菌分类中的应用,PCR 等分子生物学技术已逐渐被用来检测不同的芽孢杆菌所特有的 DNA 序列,为准确无误的鉴定炭疽芽孢杆菌提供了分子水平的证据<sup>[5]</sup>。

## 2 炭疽病的传播方式及发病过程

根据炭疽芽孢杆菌的芽孢进入体内的途径,人类患炭疽病的类型主要分为皮肤炭疽 (cutaneous anthrax)、胃肠道炭疽 (gastrointestinal anthrax) 及肺炭疽 (pulmonary anthrax) 3 种<sup>[1,2,6,7]</sup>。

皮肤炭疽: 95% 以上的炭疽病都是由皮肤感染的而属于此类。炭疽芽孢杆菌的芽孢通过皮肤表面的创伤而进入皮下,芽孢在此萌发成为杆状细菌。感染处的皮肤在感染后的几天内坏死变黑,因此而被称为炭疽病。此类炭疽病危险性最小,多数患者不经治疗即可自愈,只有少数患者如果治疗不当会造成生命危险。

胃肠道炭疽: 此类炭疽病的发病率极低,多发生在卫生条件较差的非洲及中东地区,绝大多数病例是因为食用了被炭疽芽孢杆菌污染的肉制品而造成的。芽孢借助胃肠的粘膜侵入皮下并萌发,在感染处通常有溃疡发生。

肺炭疽: 由于炭疽芽孢杆菌的芽孢经呼吸道被吸入肺部而致病。对绝大多数肺炭疽患者来说,感染并不发生在肺部,炭疽芽孢杆菌的芽孢在肺泡里被肺泡巨噬细胞吞噬并转移至附近的淋巴结。芽孢在淋巴结萌发为杆菌并迅速繁殖。此类炭疽病的致死率最高,一旦细菌开始大量繁殖使用抗菌素也常常无济于事,患者死亡率可高达 80% 以上。

炭疽病只有通过炭疽芽孢杆菌及其芽孢的直接接触而感染,不会在人与人之间传播。以这 3 种途径进入体内的芽孢均首先被巨噬细胞吞噬并在巨噬细胞内萌发。这些巨噬细胞迁移到附近的淋巴结。炭疽芽孢杆菌在巨噬细胞内繁殖直至细胞裂解并释放出大量含有荚膜的炭疽芽孢杆菌。被荚膜包被的炭疽芽孢杆菌不再被巨噬细胞吞噬而得以在淋巴结内大量繁殖<sup>[7]</sup>。最后大量细菌进入血液并释放外毒素直至患者死亡。肺部对于炭疽芽孢杆菌的萌发及增殖比皮肤和肠道更有利,所以肺炭疽的致死率极高<sup>[1]</sup>。

## 3 炭疽芽孢杆菌致病的分子机理

使炭疽芽孢杆菌对患者有如此高的致死率主要有两个原因。一是菌体表面有一层由多聚-D-谷氨酸组成的荚膜,二是因为炭疽芽孢杆菌释放 3 种外毒素<sup>[8]</sup>。只有生长中的炭疽芽孢杆菌而不是芽孢才表达这些毒素。指导荚膜与外毒素生物合成有关的基因分别分布在炭疽芽孢杆菌内两个很大的质粒上, pX01 (185 kb)<sup>[9]</sup> 和 pX02 (95 kb)<sup>[10]</sup>。控制与多聚-D-谷氨酸的合成有关的 3 个基因, *CapB*, *CapC* 和 *CapA*, 分布在 pX02 上。由

于多聚-D-谷氨酸所带的负电荷使得炭疽芽孢杆菌免于被巨噬细胞吞噬而得以在体内大量繁殖。pXO1 携带着 3 个外毒素的结构基因, 其产物分别为保护抗原 (protective antigen), 致死因子 (lethal factor) 和水肿因子 (edema factor)<sup>[6]</sup>。保护抗原因为被用作疫苗而得名, 分子量为 83 kD, 其三维分子结构已被确定<sup>[11]</sup>。在感染过程中, 单个的保护抗原分子首先通过表面受体结合到细胞表面。这个存在于巨噬细胞表面的保护抗原受体属于一型膜蛋白, 它暴露在细胞表面的部分可以与保护抗原在体外特异性结合<sup>[12]</sup>。结合在细胞表面的保护抗原分子的 N 末端的一个分子量为 20 kD 的片段被一个细胞表面蛋白酶 (furin) 切掉。另外的分子量为 63 kD 的片段仍结合在细胞表面。7 个这种 63 kD 的片段结合在一起形成一个七聚体。七聚体的中心形成一个横穿细胞膜的孔<sup>[11]</sup>。致死因子和水肿因子可以通过这个孔进入细胞。一旦水肿因子通过保护抗原形成的孔进入细胞会使细胞内 cAMP 的浓度升高而造成严重水肿<sup>[13]</sup>。致死因子本身则是一个蛋白水解酶。它通过保护抗原进入细胞后会使细胞的 MAPKK 降解并最终造成细胞裂解<sup>[14]</sup>。

除 3 个外毒素基因外, pXO1 质粒还携带与芽孢萌发有关的基因<sup>[15]</sup>。pXO1 和 pXO2 两个质粒对炭疽芽孢杆菌的毒性是必需的, 缺一不可。早期使用的炭疽芽孢杆菌的疫苗就是缺少两个质粒其中之一的炭疽芽孢杆菌的变种<sup>[1]</sup>。pXO1 及 pXO2 的 G + C 含量均为 33mol%, 与炭疽芽孢杆菌染色体的 G + C 含量 (34mol%) 相似, 而且二者的遗传密码使用率 (codon usage) 也相似, 因此有人认为这两个质粒很可能是在进化过程中来自一个与炭疽芽孢杆菌近源的细菌<sup>[2]</sup>。

#### 4 炭疽芽孢杆菌作为细菌武器

炭疽芽孢杆菌的芽孢非常适合用做细菌武器, 它们可以抵抗高温、干燥的自然环境。芽孢的直径为 2 $\mu$ m, 易于在空气中传播并吸入肺中。另外, 感染早期的患者无明显临床症状。由呼吸道感染的肺炭疽的死亡率高于 80%。所以某些国家企图将其发展成为细菌武器而用于战争, 但到目前为止, 只有日本人于上世纪 40 年代曾在中国东北战场上使用过此类细菌武器, 还没有被用于其他战争中。最近, 恐怖分子通过信件邮寄炭疽芽孢杆菌的芽孢而造成几名美国人死亡。一旦被用于战争, 炭疽芽孢杆菌将会对全人类的生命安全造成极大的危害, 世界各国都应积极做好准备。

#### 5 炭疽病的预防及治疗

目前美国从无毒的、不含 pXO2 质粒的炭疽芽孢杆菌中提取的保护抗原作为免疫原对部分军人进行免疫。现在人们也正在对用遗传工程方法生产的保护抗原进行测试, 希望将来用重组的保护抗原对人体进行免疫。前苏联及现在的俄罗斯用失去毒性的芽孢来免疫人及动物。我国在对炭疽病的研究与防治方面也取得了一定的进展。对于怀疑已经感染了炭疽芽孢杆菌芽孢的人则应服用至少六周的环丙沙星 (ciprofloxacin) 或强力霉素 (doxycycline) 以防止炭疽芽孢杆菌的繁殖。在临床上, 青霉素和强力霉素常被用来治疗炭疽病, 链霉素也常用来做辅助治疗<sup>[1,2]</sup>。

#### 6 结束语

炭疽病, 并不象很多人想象的那样可怕, 我们对炭疽病应该有一个正确的认识。随着世界局势的发展, 恐怖活动可能会有所增加, 全世界对此应该做好充分准备, 对必要的人群进行免疫预防。一旦感染发生, 要及时发现、及时控制、及时治疗。科学

家们现在正在对炭疽芽孢杆菌的基因组进行分析,估计在不久就会有新的进展,这将为研制新的疫苗及新的治疗方法提供更新的科学依据。

### 参考文献

- [1] Dixon T C, Meselson M, Guillemin T, *et al.* New Engl J Med, 1999, **341**: 815 ~ 826.
- [2] Mock M, Fouet A. Annu Rev Microbiol, 2001, **55**: 647 ~ 671.
- [3] Turnbull P C B. J Appl Microbiol, 1999, **2**: 237 ~ 240.
- [4] Parry J M, Turnbull P C B, Gibson J R. Wolfe Medical Atlases, No. 19. London: Wolfe Medical Publications, 1983.
- [5] Keim P, Price L B, Klevytska A M, *et al.* J Bacteriol, 2000, **182**: 2928 ~ 2936.
- [6] Baillie L, Read T D. Curr Opin Microbiol, 2001, **4**: 78 ~ 81.
- [7] Hanna P C, Ireland A W. Trends Microbiol, 1999, **7**: 180 ~ 182.
- [8] Bhatnagar R, Batra. S, Crit Rev Microbiol, 2001, **27**: 167 ~ 200.
- [9] Okinaka R T, Cloud K, Hampton O, *et al.* J Bacteriol, 1999, **181**: 6509 ~ 6515.
- [10] Thorne, C B. Bacillus subtilis and other gram-positive bacteria, ed. Sonenshein A L, Hoch J A, Losick R. Washington DC: ASM, 1993, 113 ~ 124.
- [11] Petosa C, Collier R J, Klimpel K R, *et al.* Nature, 1997, **385**: 833 ~ 838.
- [12] Bradley K A, Mogridge J, Mourez M, *et al.* Nature, 2001, **6860**: 225 ~ 229.
- [13] Tippetts M T, Robertson D L. J Bacteriol, 1988, **170**: 2263 ~ 2266.
- [14] Duesbery N S, Vande Woude G F. J Appl Microbiol, 1999, **87**: 289 ~ 293.
- [15] Guidi - Rontani C, Pereira Y, Ruffie S, *et al.* Mol Microbiol, 1999, **33**: 407 ~ 414.