

# 细菌的毒力岛

叶长芸 徐建国

(中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 北京 102206)

**摘要:** 毒力岛是指细菌染色体上一段具有典型结构特征的基因簇, 主要编码与细菌的毒力及代谢等功能相关的产物, 已在致病菌中发现了 30 几个毒力岛。由于毒力岛具有可移动性, 使其在细菌的进化、毒力的获得, 以及新病原的出现中均具有重要的意义。

**关键词:** 细菌, 毒力岛, iRNA

**中图分类号:** Q93      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0253-2654 (2002) 04-0108-05

细菌的致病性是由其毒力因子决定的, 而控制这些毒力因子 (如菌毛、毒素、酶等) 的基因可以是染色体上某些特殊的位点, 也可以是由细菌内的质粒或噬菌体所携带的遗传成分。近年来在医学细菌学领域对细菌致病机制的研究中出现了一个新概念——“毒力岛” (pathogenicity island, PAI)<sup>[1]</sup>。毒力岛的发现及研究为我们了解细菌的致病性和毒力因子提供了有效的途径。

## 1 毒力岛的概念及特征

毒力岛最早是用来描述泌尿道致病性大肠杆菌 (uropathogenic *E. coli*, UPEC) 染色体上两个分子量很大、编码许多毒力相关基因的、不稳定的外源 DNA 片段<sup>[1]</sup>。随着近年来研究的深入, 人们发现在许多病原性细菌中都存在着毒力岛, 我们通常所说的毒力岛具有以下特点<sup>[1]</sup>: 存在于病原菌染色体上, 编码毒力相关基因簇的一个分子量较

收稿日期: 2001-04-25, 修回日期: 2001-10-30

大的 DNA 片段 (20 ~ 100kb 左右); 一些毒力岛两侧具有重复序列 (RS) 和插入元件 (IS); 毒力岛往往位于细菌染色体的 rRNA 位点内或附近, 或者位于与质粒、噬菌体整合有关的位点; 毒力岛 DNA 片段的 G + C 百分比、密码使用与宿主菌染色体具有明显差异; 毒力岛具有不稳定性, 并含有一些潜在的可移动成分, 如 IS 序列、整合酶 (integrase)、转座酶 (transposase), 以及质粒复制起始位点等; 毒力岛编码的基因产物多为分泌性蛋白和细胞表面蛋白, 如溶血素、菌毛、血红素结合因子; 一些毒力岛编码细菌的分泌系统、信息传导系统和调节系统; 一种病原菌可同时具有一个或几个毒力岛; 某些毒力岛可在不同的细菌中存在。

## 2 已发现的毒力岛及其特点

从泌尿道致病性大肠杆菌 UPEC 中第一个毒力岛的发现并命名以来, 已经在各种病原菌中先后发现了 30 几个毒力岛 (见表 1)。这些毒力岛的发现使我们认识到细菌的毒力比我们想象的要复杂。

在大肠杆菌中发现的毒力岛主要有 6 个, 分别称为 PaiI、PaiII、PaiIII、PaiIV、PaiV、PaiVI, 其中在泌尿道致病性大肠杆菌中就有 5 个<sup>[2]</sup>。肠致病性大肠杆菌 (EPEC) 和肠出血性大肠杆菌 (EHEC) 中具有 LEE 毒力岛 (locus of enterocyte effacement) 与对肠道上皮细胞所产生的 AE (attaching and effacing) 损伤有关<sup>[3]</sup>。已经在沙门氏菌中发现了 5 个毒力岛, 分别命名为 SPI1、SPI2、SPI3、SPI4、SPI5<sup>[4]</sup>。耶尔森氏菌的 *Y. pestis* 和 *Y. enterocolitica* 两个进化类群分别具有一个 102kb 和 45kb 的 HPI 毒力岛<sup>[5]</sup>。与慢性胃炎、消化性溃疡及胃癌有着非常密切关系的幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, HP) 具有一个 40kb 的 *Cag* 毒力岛, 具有这个毒力岛的菌株称为 I 类菌株<sup>[6]</sup>。在致病性霍乱弧菌流行株及非流行株中存在一个噬菌体来源的 VPI 毒力岛<sup>[7]</sup>。志贺氏菌中已有 4 个毒力岛被发现, 分别为 She、SHI-2、SHI-3 和 SRL 毒力岛<sup>[8]</sup>。在金黄色葡萄球菌中也发现了一个编码 TSST-1 毒素、超抗原等产物的毒力岛 SaPI<sup>[9]</sup>。

随着近几年毒力岛研究的深入, 其他一些细菌 (如 *C. difficile*、*L. ivanovii*、*D. nodosus*、*S. pneumoniae*、*Pseudomonas*、*Neisseria* 等多种菌) 中也相继发现有毒力岛或结构类似的基因岛 (genomic island) 存在。

## 3 毒力岛的结构特点及功能

在研究毒力岛的结构成分时发现, 它是由一些独特的 DNA 片段构成, 分子量、密码使用、G + C 百分比各有差异。根据毒力岛 G + C 百分比与宿主菌的差异, 可将其分为高 G + C 毒力岛和低 G + C 毒力岛两类。

毒力岛主要含有与细菌毒力有关的一些基因, 如 EPEC 的 LEE 毒力岛上介导 AE 损伤的 *eae* 基因, 沙门氏菌 SPI1 上的 *inv* 等侵袭相关基因, 霍乱弧菌毒力岛上编码霍乱毒素调节因子、毒素噬菌体受体、辅助定居因子的 *toxT*、*tcp*、*acf* 等毒力相关基因, 耶尔森氏菌毒力岛上与血红素储存、铁摄取、鼠疫菌素敏感性有关的 *hms*、*irp*、*fyuA* 等基因。一些毒力岛如 EPEC 的 LEE、沙门氏菌的 SPI1 和 SPI2 等均具有编码 III 型分泌系统的基因, 对致病菌侵袭宿主上皮细胞以及在巨噬细胞内的存活具有重要意义。细菌的毒力岛还编码一些细胞表面蛋白 (如菌毛、环境感受器等) 和外毒素 (如溶血素、TSST-1 等)。

毒力岛还含有一些调控成分, 使其在赋予宿主细菌一些新的毒力特征的同时, 还

表1 部分细菌的毒力岛及其特点

细菌	毒力岛	位置	大小(kb)	G+C%	特点	产物及功能
UPEC(536)	Pai	<i>1 selC</i> - tRNA	70	41/51	具有 16bp 的 DR	编码 $\alpha$ -溶血素 I
	PaiII	<i>leuX</i> - tRNA	190	41/51	具有 18bp 的 DR	编码 $\alpha$ -溶血素 II 和菌毛
UPEC (J96)	PaiIV	<i>pheV</i> - tRNA	170	41/51	具有 IS、R 质粒和 P4 - phage	编码 $\alpha$ -溶血素 I 和菌毛
	PaiV	<i>pheR</i> - tRNA	106	41/51	具有 135bp 的 DR、IS、P4 - phage 和 <i>OmpR</i>	编码 $\alpha$ -溶血素 II, 菌毛和 I 型细胞坏死因子
UPEC (CF1073)	PAI VI	<i>dadX</i> - <i>metV</i> (tRNA)	58	42.9/51	具有 IS600 和转座酶	编码溶血素和菌毛
EPEC	LEE (PAI III)	<i>selC</i> - tRNA	35	39/51	无 IS 及重复序列	编码 III 型分泌系统, 介导 AE 损伤
EPEC	<i>EspC</i>	<i>yagF</i> - <i>ssrA</i>	15	40.5/51	具有 IS	与肠毒素产生有关
<i>E. coli</i>	PAII <sub>A11862</sub>	<i>pheR</i> - tRNA	61	46.4/51	两端具有 DR, 整合酶	编码非菌毛粘附素 <i>afa8</i> , 与腹泻、败血症有关
	PAIII <sub>A11862</sub>	<i>pheV</i> - tRNA				
ETEC	PAI <sub>10407</sub>	<i>selC</i> - tRNA	46	43.7/51	两端有 DR, P <sub>4</sub> - 整合酶	编码粘附素, ABC 转运系统, 和 LT 的最大分泌
STEC	LPA <sub>4971/571</sub>	<i>selC</i> - tRNA	33	47.4/51	具有 int、转座酶、IS、prophage	编码尸胺蛋白酶 <i>EspI</i> , 粘附相关因子, VB <sub>12</sub> 受体 <i>BtuB</i> , <i>AraC</i> 调节子
<i>Salmonella</i>	SPI1	<i>fhI</i> - <i>mutS</i>	40	42/52	部分血清型具有 IS3	编码 III 型分泌系统, 介导沙门氏菌对肠道上皮细胞的侵袭力
	SPI2	<i>val</i> - tRNA	40	45/52	序列在沙门氏菌中保守	编码 III 型分泌系统
	SPI3	<i>selC</i> - tRNA	17kb	47.5/52	-	与巨噬细胞内存活及在镁离子不足条件下存活有关
	SPI4	<i>ssb</i> - <i>soxR</i>	25	-	-	编码 I 型分泌系统, 与巨噬细胞内存活有关
	SPI5	<i>serT</i> - tRNA	15	43.6/52	-	与液体分泌及炎症反应有关
<i>V. cholerae</i>	VPI	<i>ssrA</i>	40	35/48 ~ 50	具有 int 位点	编码霍乱毒素调节因子, 定居因子, 毒素噬菌体受体
<i>Y. pestis</i>	HPI	<i>phoE</i>	102	47/46 ~ 50	具有 IS100	编码血红素和刚果红结合、鼠疫菌素敏感性和铁摄取能力等
<i>Y. enterocolitica</i>	HPI	<i>asrT</i> - tRNA	45	56/46 ~ 50	具有重复序列和 IS600、IS1468	编码与鼠疫菌素敏感性和铁摄取能力有关的蛋白
<i>H. pylori</i>	Cag	<i>gtr</i>	40	35/38 ~ 45	具有 31bp 的 DR, 一侧有 IS605	介导 IL-8 的分泌, 与膜相关蛋白的合成有关
<i>S. flexneri</i>	She	<i>pheV</i> - tRNA	51	49 ~ 53/51	具有 IS2、IS600、 <i>sf104</i> 和 <i>sf.intA</i> 4 个插入序列	编码 IgA 蛋白酶样家族产物, 与肠道致病性有关
	SHI - 2	<i>selC</i> - tRNA	23.8	48.6/51	具有 IS1、IS2、IS3、IS600、IS629 和 CP4 - 整合酶	编码厌氧菌素铁载体和对大肠杆菌 V 的免疫性
<i>S. boydii</i> (O - 1392)	SHI - 3	<i>pheU</i> - tRNA	21	51/51	具有 P <sub>4</sub> - 整合酶和 IS 序列	编码厌氧菌素, 对致病力影响不大
<i>S. flexneri</i> 2a (YSH600)	SRL PAI	<i>serX</i> - tRNA	66.2	49.8/51	具有 22 个 prophage, P <sub>4</sub> - 整合酶、IS91、14bpDR	编码柠檬酸铁转运系统、和氨苄、四环素、氯霉素、链霉素抗性
<i>S. aureus</i>	SaPI <sub>bov</sub>	<i>gmps3'</i>	15.9	-	具有 74bp 的 DR, 整合酶	编码 TSST, SEC 变种, 肠毒素
	SaPI	<i>tyrB</i>	15.2	-	具有 17bp 的 DR, int, atts	编码 TST、超抗原, terminase
<i>P. aeruginosa</i>	PAGI - 1	-	48.9	63.7/66 + 54.9/66	IS, 转座酶, 两个来源	源编码脱氢酶, 调节子, 与在产生反应氧环境生存有关
<i>N. gonorrhoeae</i>	PAI	<i>recA</i> - <i>proA</i> B	60 ~ 70	43/50	-	编码血清抗性, 细胞毒素, 接合分泌系统, DGI 中多见

\* 毒力岛/染色体

调控着其他一些毒力因子的功能。如 UPEC 毒力岛 *PaiII* 上编码 P 相关菌毛的基因 *prf* 与染色体上另外一个编码 S 菌毛的基因 *sfa* 之间存在着交叉调控<sup>[10]</sup>，当 *prf* 基因缺失时，S 菌毛的表达也受到抑制，这是因为 *prf* 基因具有与 *sfaA* 亚单位的调控基因 *sfaB*、*sfaC* 同源的成分 *prfB* 和 *prfL*。有时同一病原菌上两个毒力岛之间也存在着基因间的互相调控。

#### 4 毒力岛与 tRNA 位点的关系

在已知 30 几个毒力岛中共有 17 个在染色体上的 tRNA 位点附近插入，如 *selC*-tRNA 位点有 UPEC 的 PAI1、EPEC 的 LEE、沙门氏菌的 SPI3、志贺氏菌的 SHI-2、ETEC 的 PAI<sub>10407</sub>、STEC 的 LPA 等 6 个毒力岛插入，而同一毒力岛在不同菌株插入的 tRNA 也可有差异。另外，这些 tRNA 位点不仅与毒力岛有关，也是一些噬菌体插入细菌染色体的部位，提示 tRNA 位点的特殊性使其可能成为外源性 DNA 成分插入细菌染色体的热点。

研究证实，外源成分的获得主要与 tRNA 基因的 3' 末端有关，关于 tRNA 基因的 3' 端序列为何与毒力岛 PAI 相关联，目前共有 4 种假设<sup>[11]</sup>：(1) 认为 tRNA 基因与 PAI 相邻，使得它所编码的 tRNA 可以识别仅为 PAI 所携带而为别处少见的密码子；(2) 认为 PAI 相关 tRNA 基因在染色体上往往不止一个拷贝，这种多拷贝性保证了毒力因子可以多次插入；(3) 认为 tRNA 基因保守的二级结构为 PAI 的插入和剪切提供了结构域，使得 PAI 可以水平传播，tRNA 基因 5' 端和 3' 端互补形成的同向重复序列为整合酶的作用和 PAI 的插入创造了条件；(4) 认为 tRNA 基因的作用在于形成一种 RNA-DNA 杂合体，该结构的高稳定性为 DNA 重组提供了可能。

tRNA 位点与毒力岛获得的相关性提示我们，可以从 tRNA 位点入手去寻找未知的毒力岛。

#### 5 毒力岛在细菌毒力进化中的作用

在细菌的进化过程中，点突变、基因重组和基因的水平转移是主要的推动因素。但是，由点突变所导致的进化过程比较缓慢，而大片段基因的获得和缺失则可使细菌基因在短期内发生“量的飞跃”(quantum leap)，从而产生许多新的突变株<sup>[12]</sup>。噬菌体、质粒均参与了这种快速的进化过程。毒力岛在不同细菌中的发现也使我们想到了它在细菌毒力获得中的重要作用。毒力岛常常同时表现出质粒和噬菌体的一些特征，反映了两种不同的染色体外成分的协同插入。一些肠道致病菌株(如致病性沙门氏菌和大肠杆菌)经常有染色体“*mutS*”基因的缺陷，而这一基因与 DNA 的修复密切相关。因此认为，毒力岛的产生及获得可能与致病菌具有较一般菌株高的基因突变率和重组效应有关<sup>[13]</sup>。目前认为，毒力岛可能与新出现的病原菌有关。

毒力岛的获得为细菌毒力的进化提供了一种新的方式。Baumler 等提出了一个学说，认为沙门氏菌是从大肠杆菌进化来的，在其毒力进化的三相中分别获得了 SPI1 和 SPI2，进一步分化成各种和亚种<sup>[14]</sup>。当然，细菌的毒力进化还与宿主细胞的选择性压力有关，不同宿主的免疫器官及其发育是不同的。同时毒力岛进入宿主菌后，其基因的表达和功能的发挥还受宿主菌其他基因成分的调控作用，如沙门氏菌 SPI1 上 6 个侵袭相关基因的表达就受宿主菌染色体上 *phoP/phoQ* 调控系统的作用<sup>[15]</sup>。同时，在进化过程中的某些特殊情况下，细菌为适应新的环境并朝着更为有利的生存方式发展，也可能缺失原有的毒力岛，这在某些致病菌不同菌株中同一毒力岛的缺失(缺失率为  $10^{-5} \sim 10^{-4}$ )中得到证实<sup>[13]</sup>。

## 6 毒力岛研究的前景及其意义

从提出毒力岛的概念以来的短短几年内,人们对毒力岛的特点和功能等有了较为深入的认识。虽然从结构特征上认为毒力岛是外源的,但目前尚未发现其染色体外的存在形式。而且某种细菌特异的毒力岛也可在其他一些细菌中存在。因此,细菌的毒力岛究竟来源于何处,以什么为载体,在不同细菌间进行水平转移的机制如何,仍是分子细菌学值得深入研究的问题。

目前,研究毒力岛的方法较多,用于鉴定细菌未知毒力基因的分子生物学方法主要有笔迹标识法、减法杂交、特征性差异分析、mRNA功能分析、比较基因组作图、接合介导的DNA插入取代标记法、粘粒克隆测序、毒力岛探查法等。随着近年来微生物基因组研究和生物信息技术的迅速发展,为在某些细菌中发现新的可能的毒力岛提供了线索。但是,细菌种类繁多,基因组成复杂而各不相同,要弄清细菌未知的毒力岛还缺乏一个通用易行的有效方法。这就需要我们根据毒力岛本身的一些特点,利用已了解的毒力岛知识和目前先进的分子生物学方法,主动地去寻找尚未发现的毒力岛。

毒力岛的发现使我们在认识细菌的致病性方面更进了一步,但它在病原细菌中的普遍存在,及其结构特点和水平转移可能性的存在,使我们认识到细菌在与人及其他生物进行生存竞争的进化过程中形成的毒力具有很复杂的特点,及时深入的研究毒力岛,不仅有利于我们认识复杂的微生物世界,了解新病原微生物出现的机制,而且也将为人类预防和控制感染性疾病提供可靠的依据。

## 参 考 文 献

- [1] Hacker J, Blum-Oehler G, Muhlendorfer I, *et al.* *Mol Microbiol*, 1997 **23**: 1089 ~ 1097.
- [2] Guyer D M, Kao J S, Mobley H L. *Infect Immun*, 1998, **66** (9): 4411 ~ 4417
- [3] Medanial T K, Javis K G, Donnenberg M S, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**: 1664 ~ 1668.
- [4] Wood M W, Jones M A, Watson P R, *et al.* *Mol Microbiol*, 1998, **29** (3): 883 ~ 891.
- [5] Carniel E, Guivout I, Prentice M. *J Bacteriol*, 1996, **178** (23): 6743 ~ 6751.
- [6] Kopyants N S, Clifton S W, Kersulyte D, *et al.* *Mol Microbiol*, 1998, **28** (1): 37 ~ 53.
- [7] Karaolis D K, Johnson J A, Bailey C C, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95** (6): 3134 ~ 3139.
- [8] Luck S N, Turner S A, Rajakumar K, *et al.* *Infect Immun*, 2001, **69** (10): 6012 ~ 6021.
- [9] Ruzin A, Lindsay J, Novick R P. *Mol Microbiol*, 2001, **41** (2): 365 ~ 377.
- [10] Morschhauser J, Vetter V. *Mol Microbiol*, 1994, **11** (3): 555 ~ 566.
- [11] Hou Y M. *Trends Biochem Sci*, 1999, **24** (8): 295 ~ 298
- [12] Groisman E A, Ochman H. *Cell*, 1996, **87** (11): 791 ~ 794.
- [13] Lee C A. *Infect Agents Dis*, 1996, **5** (1): 1 ~ 7.
- [14] Baurnler A J, Tsolis R M, Ficht T A, *et al.* *Infect Immun*, 1998, **66** (10): 4579 ~ 4587.
- [15] Pegues D A, Hantman M J. *Mol Microbiol*, 1995, **17** (1): 169 ~ 181.