

# 耶尔森菌强毒力岛\*

王斌\*\* 叶冬青

(安徽医科大学流行病学与卫生统计学系 合肥 230032)

**摘要:** 近年来,人们发现了耶尔森菌强毒力岛,并对其结构与功能进行了大量研究。同时,在一些研究中,发现它也广泛存在于其它几种肠道致病菌中。就耶尔森菌毒力岛 HPI 结构与功能及它在其它肠道致病菌分布的研究现状作一综述。

**关键词:** 耶尔森菌, 强毒力岛

**中图分类号:** Q781 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2003) 04-0099-05

## THE *YERSINIA* HIGH-PATHOGENICITY ISLAND

WANG Bin YE Dong-Qing

(Dept of Epidemiology & Biostatistics, Anhui Medical University, Hefei 230032)

**Abstract:** There have been many studies on the structure and function of the high-pathogenicity island since it was first discovered to be located on *Yersinia*. And it was detected to be present in a few different members of the family Enterobacteriaceae that are pathogenic to human. This review describes the *Yersinia* high-pathogenicity island: structure, function and prevalence among pathogenic enterobacteriaceae.

**Key words:** *Yersinia*, The High-pathogenicity island

耶尔森菌强毒力岛 (The *Yersinia* High-pathogenicity island), 简称 HPI, 主要含有与铁摄取有关的毒力基因簇, 编码参与合成及摄取铁载体耶尔森杆菌素 (yersiniabactin) 的铁抑制蛋白 *irp* (iron-repressible protein) 基因及其调控基因, 行使铁摄取功能<sup>[1]</sup>; 它是赋予耶尔森菌致病性和毒力的重要因素, 介导着感染过程。现在已基本搞清楚了它的结构, 对其功能也有了初步的认识。本文对耶尔森菌 HPI 的研究现状作一概述。

## 1 基本特征

HPI 首先在耶尔森菌中发现, 具有毒力岛的基本特征<sup>[2-4]</sup>: (1) 载有耶尔森菌素与毒力相关性的编码基因; (2) 仅存在于强毒株, 如小肠结肠炎耶尔森菌 (*Y. enterocolitica*, 简称为 Yen) 中仅有 1B 生物型才具有完整的 Yen HPI; (3) G+Cmol% 与耶尔森菌染色体有明显差异 (一般高于); (4) 大的染色体片段 (大于 35kb); (5) 为一紧密、明确的遗传学单位, 两端通常为顺向重复序列 DR17; (6) 一侧外缘与 *asn tRNA* 基因相连; (7) 载有“可移动”的基因。但 Yen HPI 具有相对的稳定性, 而现在发现的其它毒力岛则具有不稳定性特点。

## 2 分类

耶尔森菌属至少有 11 个菌种, 其中仅鼠疫耶尔森菌 (*Y. pestis*, Ype)、假结核耶

\* 安徽省教育厅自然科学基金资助项目 (No. 2003KJ217)

\*\* 联系人 Tel: 0551-5161175, E-mail: wbrst@mail.sina.com.cn

收稿日期: 2002-05-11, 修回日期: 2003-02-19

尔森菌 (*Y. pseudotuberculosis*, Yps) 和小肠结肠炎耶尔森菌 (Yen) 与人类致病关系密切。这3种耶尔森菌中都存在强毒力岛。Yps (仅 O: 1 血清型具完整 HPI) 和 Ype 两者的强毒力岛具有高度同源性, 合称 Yps HPI; Yen 仅 1B 生物型具有强毒力岛, 称为 Yen HPI<sup>[5]</sup>。

### 3 结构和功能

两个直接重复序列 DR17 作为位点特异重组的标志, 界定了 HPI 的两端; 其中, 与 *asn tRNA* 相连的一个 DR17 序列, 与 P4 噬菌体的粘附位点 *att* 功能相似。

Yps HPI 的长为 35kb<sup>[3]</sup>, Yen HPI 全序列由 Rakin 于 1999 年 2 月测定并公布, 长为 43,393 bp<sup>[5]</sup>。主要功能是它们编码耶尔森杆菌素或鼠疫杆菌素介导的铁摄取功能。

根据的保守程度和 G+C 含量, 将 HPZ 分为两部分: 功能核心区 (约 30.5kb), 高度保守的 G+C 富含区, G+C 含量约为 57.5%, 携有与耶尔森杆菌素合成、调节和摄取有关的基因簇, Yen HPI 与 Yps HPI 该区序列同源性高达 98%~99%; 可变区, A+T 含量较大, 但 Yen HPI 与 Yps HPI 中该部分有明显不同<sup>[5]</sup> (见图 1)。

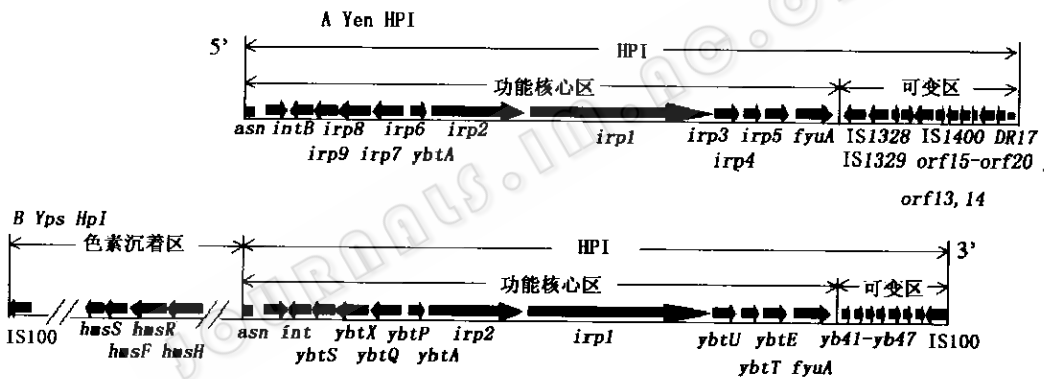


图 1 Yen HPI (A) 与 Yps HPI (B) 结构比较示意图

注: ➡ 代表 ORF 的位置和转录方向

**3.1 功能核心区** 该区位于 HPI 的左端, 跨越 *asn tRNA* (天冬酰胺转运 RNA 基因) 至 *fyuA/psn* 终止密码子, 共含有 13 个基因 (含 *asn* 和 *fyuA*)。按 5'→3' 方向, Yen HPI 该区依次排列为: *asn-intB-irp9-irp8-irp7-irp6-ybtA-irp2-irp1-irp3-irp4-irp5-fyuA*; Yps HPI 该区依次排列为 *asn-int-ybtS-ybtX-ybtQ-ybtP-ybtA-irp2-irp1-ybtU-ybtT-ybtE-psn*。

小肠结肠炎耶尔森菌、鼠疫耶尔森菌和假结核耶尔森菌染色体上各 (Yps 至少) 有 3 个 *asn tRNA* 拷贝, 其中 Yen 1B 型各种血清型的 HPI 均稳定整合到相同的 *asn tRNA*<sup>[5]</sup>, 而 Yps HPI 可插入 3 个 *asn tRNA* 的任意一个<sup>[3]</sup>。

Yen HPI 的 *intB* 是一个灭活的整合酶基因 (位点), 与编码 Yps 的 *int* 基因 (编码 420 氨基酸) 有 98% 的一致性。它和鼠疫杆菌 HPI 中的 *int* 分别与编码 P4 前噬菌体的整合酶基因有 49.7% 和 54.1% 的一致性, 而 Yps 与 Ype 的 *int* 仅有一个碱基差异, 具有与 p4 噬菌体相似的整合酶功能。与 Yps 相比, Yen 的 *intB* 在起始密码子 ATG 下游 415bp 处, 因单个碱基突变由 GAA 变成 TAA, 过早出现终止密码子而被打断, 从而 Yen HPI

较 Yps HPI 稳定。但它仅编码 138 个氨基酸多肽, 也有人认为可能为无功能的假想基因<sup>[3]</sup>。

*irp9-irp8-irp7-irp6-ybtA* 5 个基因组成了约 8,100 bp 的 5' 末端区, *irp9*、*irp8*、*irp7*、*irp6* 长度分别为 1,305bp、1,389bp、1,803bp、1,803bp, 转录方向与 *ybtA* 相反, 且与 Yps HPI 的 *ybtS*、*ybtX*、*ybtQ*、*ybtP* 相对应有 98%~99% 的一致性<sup>[6]</sup>。其中, *ybtP* 和 *ybtQ* 被认为参与耶尔森杆菌素的摄取, *ybtS* 被认为参与耶尔森杆菌素的生物合成。*ybtA*, 960bp, 编码一种 Arac 族的转录调节因子, 是耶尔森杆菌素受体及铁载体合成基因的转录活化子, 对转录起正性调节作用。YbtA 启动子有一 127bp 的肠细菌重复基因间一致序列 (ERIC) 或基因间重复单位 (IRU), 该启动子与控制耶尔森杆菌素合成和摄取基因的启动子中均有一个由颠倒重复和顺向重复组成的回文结构, 为 YbtA 转录调节子的结合位点。*ybtA* 的操纵子中部的 6 个核苷酸 TATACC, 与代表 ERIC 颠倒重复的 7 个核苷酸 TATACCC 相比, 有 6 个相同, 提示该序列是 ERIC 整合的识别位点, ERIC 很可能通过该位点特异性整合到靶位点。同时, 反过来, ERIC 修饰着 *ybtA* 操纵子的二级结构, 从而调节耶尔森杆菌素的活性。

*irp2-irp1-irp3-irp4-irp5-fyuA* 基因簇简称为 *fyuA-irp2* 基因簇, 被认为是参与由铁载体耶尔森杆菌素介导的铁摄取功能的主要基因成分, 分别与 Yps HPI 的 *irp2*、*irp1*、*ybtU*、*ybtT*、*ybtE*、*psn* 基因相对应。其中, *irp1*、*irp2* 和 *fyuA* (*psn*) 的功能研究相对较为清楚。*irp2*, 编码分子量为 190kD 的 HMWP2; *irp1*, 9,486bp, 编码一个含 3,161 个氨基酸, 分子量为 384.6kD 的 HMWP1。HMWP (高分子量铁调节蛋白) 被认为对铁载体耶尔森杆菌素合成有重要作用, 并参与耶尔森杆菌素阳性表型的表达, 即在含铁指示剂铬苯胺醇 CAS (Chrom azurol S) 平板上生长的菌落周围可见一清晰的橘红色环, 为 CAS 阳性。HMWP2 可能也参与非核糖体蛋白的合成<sup>[1]</sup>。*irp1* 的后 6,486 bp 序列与 *irp2* 极其相似, 氨基酸序列分析表明它们含有 3 个高度保守的基序 (motif), 这些基序的存在可能是 HMWP1 和 HMWP2 发生交叉免疫的主要原因。*irp2* 与 *irp1* 间隔 87bp, 其间有一能形成茎环结构的 29bp 回文序列, 起始于 *irp2* 终止密码子后 23 个碱基处, 缺乏多聚 (T) 尾, 因此它不可能是转录终止子。但 *irp1* 基因的上游未发现启动子-操作子结构, 但第一个 ATG 密码子上游 6bp 处有一 GGA 序列, 可能是一微弱的核糖体结合位点。*irp3*, 1,098 bp, 编码含 365 个氨基酸, 分子量为 40.7kD 的多肽, 与 *irp2* 和 *irp1* 相反的转录方向, 且与鼠疫耶尔森菌 HPI 的 *ybtU* 有 97.8% 的同源性, 但功能尚不清楚<sup>[3]</sup>。*irp4*、*irp5* 分别为 804bp、1,578bp, *irp4* 紧邻于 *irp3* 的下游, 和 *irp5* 相隔 3 个碱基, 它们与 *irp2* 转录方向相同, 且与 Yps HPI 的 *ybtT*、*ybtE* 有 97.3% 和 98.3% 的同源性, 一般认为它们可能与耶尔森杆菌素的合成有关, 但其确切功能尚需进一步研究证实。

从 *ybtS* 至 *psn* 的 11 个基因与耶尔森杆菌素合成摄取有关, 其中, *ybtS*、*ybtT*、*ybtE* 参与耶尔森杆菌素合成, *ybtQ*、*ybtP* 与结核杆菌的 ABC 转运子分别有 32.5% 和 35.7% 的同源性, 认为它们可能与耶尔森杆菌素的摄取有关。

*irp2*、*irp1*、*irp3*、*irp4* 和 *irp5* 这 5 个基因的 G+C 含量都约为 60mol%, 高于耶尔森菌的染色体的 47~50mol%; 构成了铁抑制蛋白基因簇, 或耶尔森杆菌素合成基因簇, 也有人称之为 *irp* 操纵子。

*fyuA* (ferric yersiniabactin uptake) / *psn* 基因编码产物是一个具有双重受体功能分子量为 73.7kD 的铁抑制外膜蛋白, 它既是鼠疫杆菌素的受体, 又是耶尔森杆菌素的受

体。在小肠结肠炎耶尔森菌中,它被称作含铁耶尔森菌素吸收毒力基因<sup>[7]</sup>。通过氨基酸序列分析,发现它与其他铁调节 TonB 依赖的外膜蛋白受体具有同源性,推测其可能属于枸橼酸亚族或代表一个新的 TonB 依赖受体的亚族。

**3.2 可变区** Yen HPI 可变区<sup>[5]</sup>位于 HPI 右侧,从 *fyuA* 下游至右端的 DR17,共包含 13 个 ORF 框,按 5' → 3' 方向,依次为: IS1328-IS1329-ORF13-ORF14-IS1400-ORF15-ORF16-ORF17-ORF18-ORF19-ORF20。其中, IS1328、IS1329、ORF13、IS1400 为插入序列。IS1328 含 *trp1328* 基因 (1,005bp),编码 IS1328 转座酶; IS1329 含 *trp1329B* (749bp)、*trp1329A* (330bp) 两个基因,分别编码 IS1329 转座酶 B 和 A; ORF13 (498bp),编码 IS1222 样转座酶; ORF14 (1377bp) 编码 ORF14 蛋白; IS1400 包括 *trp1400B* (884bp)、*trp1400A* (291bp),分别编码 IS1400 转座酶 B 和 A。这些转座酶可能是引起岛不精确删除的重要成分。ORF16 (590bp)、ORF17 (155bp)、ORF19 (152 bp) 编码的蛋白质与大肠杆菌的 Yjk 和 Yjl 部分相似, ORF20 编码的蛋白质与枯草芽孢杆菌的 ComE 的组成蛋白相似。尚未发现与 ORF15 和 ORF18 结构相似的已知基因。目前,关于可变区基因功能的研究仅限于从与之具有同源性或相似性的已知功能基因或蛋白质的推测,确切功能仍处于未知状态。

Yps HPI 可变区<sup>[4]</sup>,由右侧部分的 (*yp41* 至 *yp47*) 7 个编码序列组成 (对鼠疫杆菌 HPI 来说它们是功能未知的基因), *yp47* 在 3' 端被 HPI 右端的 IS100 所打断;按 5' → 3' 方向依次排列为 *yp41-yp42-yp43-yp44-yp45-yp46-yp47-IS100*<sup>[5]</sup>。其中, *yp43* 和 *yp46* 编码的蛋白与噬菌体蛋白有关, *yp43* 与噬菌体 P4 的 ORF88 编码的假想的 DNA 结合蛋白相似, *yp46* 基因与噬菌体 P2 编码的可能参与 DNA 结合的蛋白相似, *yp46* 含有的两个 *cys-x-x-cys* 基序与噬菌体 P2 的 ORF82 高度保守地存在于相同位置,这可能是 HPI 完整的从噬菌体水平转移获得的另一证据,然而,类似的蛋白在 Yen HPI 和大肠杆菌 HPI 中不存在。另外,尚未发现与 *yp41*、*yp42*、*yp44*、*yp45* 同源的已知基因,其功能尚不清楚。鼠疫杆菌和假结核 HPI 左端具有基本相一致的 IS100 单元,但鼠疫耶尔森菌 HPI 右端的 IS100 拷贝在假结核耶尔森菌中不存在。一般认为,插入序列 IS100 与同源重组有关。

#### 4 *hms* 位点

Fetherston 等<sup>[8]</sup>认为 Yps HPI (鼠疫杆菌与部分假结核耶尔森菌)还包括 *asn* 左端-被称作色素沉着区 (pigmentation) 部分,长约 68kb,含有与毒力有关的主要成分色素沉着位点 (*hms*),长约 7.6kb, G + C 含量 46.9mol%,与染色体 DNA 的 G + C 含量相当,由 *hmsS*、*hmsF*、*hmsR*、*hmsH* 4 个基因组成。该位点有储存血红素功能:在刚果红琼脂培养基上生长的菌落具有富集血红素能力,呈现红色素沉着表型,决定色素沉着表型的存在;此外,还具有增强虫媒跳蚤传播鼠疫杆菌的能力。该位点除具有 *hmsS*、*hmsF*、*hmsR*、*hmsH* 操纵子外,还存在 44 个 ORF,但目前对它们的功能几乎一无所知。

该部分仅存在于鼠疫杆菌和部分假结核耶尔森菌,它和 HPI 呈高度保守和稳定的连接状态,可能是它们适应自身生存条件的结果。但在小肠结肠炎耶尔森菌和大部分假结核耶尔森菌中缺失或高度退化<sup>[9]</sup>,而且具有色素沉着区的假结核耶尔森菌中仅有极小一部分具有色素沉着表型,这可能是 *hms* 位点突变或其他参与该表型表达的位点突变所致。由于小肠结肠炎耶尔森菌未发现色素沉着区,所以推测该区可能还编码对

鼠疫杆菌和假结核耶尔森菌具有重要作用的其他功能。

## 5 在其它肠道致病菌中的分布

耶尔森菌 HPI 广泛散布于肠道致病菌中。Schubert 等<sup>[10]</sup> 1998 年发现 93% 的肠凝集性大肠杆菌 (enteropathogenic aggregative *E. coli*, EAEC)、27% 的肠侵袭性大肠杆菌 (enteroinvasive *E. coli*, EIEC)、5% 肠致病性大肠杆菌 (enteropathogenic *E. coli*, EPEC) 和肠产毒性大肠杆菌 (enterotoxigenic *E. coli*, ETEC) 具有 *irp2-fyuA* 基因簇。Karch 等<sup>[11]</sup> 发现产志贺毒素大肠杆菌 (shiga toxin-producing *Escherichia coli*, STEC) 非 O157 的其它血清型, 包括近来在德国和其它欧洲国家中流行的 O26: H11/ H<sup>-</sup>, 也存在 HPI; Bach 等<sup>[12]</sup> 对 67 株细菌包括 18 个属 67 个种进行研究, 发现 5 株克雷伯杆菌 (阳性率竟为 45.4%)、3 株大肠杆菌和 1 株枸橼酸菌存在耶尔森菌 HPI。他们的研究结果还表明, 阳性菌株的 HPI 核心功能区域的基因序列与耶尔森菌中近乎一致, 且 G+Cmol% 接近; 阳性株中, HPI 同样也是与 *asn* tRNA 位点直接相连, 而 *asn* tRNA 与具有噬菌体功能相似的 *int* 基因相连, 绝大多数菌株中, 这个 *int* 开放阅读框是完整的 (仅发现 STEC O26 血清型的菌株存在 *int* 基因缺失)。大肠杆菌存在 IS100 插入序列, 但 STEC、枸橼酸菌和克雷伯杆菌中却无。

这些肠道细菌中 HPI 具有耶尔森菌 HPI 功能, 编码鼠疫菌素和耶氏杆菌素双受体功能 FyuA 蛋白以及特殊摄铁系统; 但耶氏杆菌素 FyuA 受体仅在一部分 HPI 阳性菌株中表达, 而且大多数 FyuA-HMWP 阳性株对鼠疫菌素并不敏感。这可能是大肠杆菌中 *fyuA* 基因的部分缺失或点突变以及其它原因, 如转译后, FyuA 蛋白的修饰作用所致, 也可能是由于耶氏杆菌素摄铁系统并不是拥有强毒力岛 HPI 最重要的优势。HPI 缺失会单独影响 *fyuA* 基因表达, 但关于 *fyuA* 基因表达不同的原因仍不明确, 这也是 HPI 要重点研究的内容之一。

## 参 考 文 献

- [1] Carniel E, Guilvout I, Prentice M. J Bacteriol, 1996, 178 (23): 6743 ~ 6751.
- [2] Hackeer J, Blum-Oehler I, Muhlkorfer G, et al. Mol Microbiol, 1997, 23 (6): 1089 ~ 1097.
- [3] Buchrieser C, Brosch R, Guiyoule A, et al. Mol Microbiol, 1998, 30 (5): 965 ~ 978.
- [4] Buchrieser C, Rusniok C, Frangeul L, et al. Infect Immun, 1999, 67 (9): 4851 ~ 4861.
- [5] Rakin A, Noelling C, Schubert S, et al. Infect Immun, 1999, 67 (10): 5265 ~ 5274.
- [6] Fetherston J D, Bertolino V J, Perry R D. Mol Microbiol, 1999, 32 (2): 289 ~ 299
- [7] Brem D, Pelludat C, Rakin A, et al. Microbiology, 2001, 147 (5): 1115 ~ 1127.
- [8] Fetherston J D, Perry R D. Mol Microbiol, 1994, 13 (4): 697 ~ 708.
- [9] Buchrieser C, Prentice M, Carniel E. J Bacteriol, 1998, 180 (9): 2321 ~ 2329.
- [10] Schubert S, Rakin A, Karch H, et al. Infect Immun, 1998, 66 (2): 480 ~ 485.
- [11] Karch H, Schubert S, Zhang D, et al. Infect Immun, 1999, 67 (11): 5994 ~ 6001.
- [12] Bach S, Almeida A, Carniel E. Format-PDF (220K), 2000, 183 (2): 289 ~ 294.
- [13] 叶长芸, 徐建国. 疾病监测, 2000, 15 (2): 48 ~ 49.
- [14] 姜桂香, 张守平, 董雪, 等. 疾病监测, 2000, 15 (2): 50 ~ 52.
- [15] 张冬梅, 洪倩, 俞守义. 疾病控制杂志, 2002, 6 (2): 130 ~ 132.