

大肠杆菌III型分泌系统 2 毒力岛研究进展

尹磊 祁克宗* 宋祥军 涂健

(安徽农业大学 兽医病理生物学与疫病防控安徽省重点实验室 安徽 合肥 230036)

摘要: 许多革兰氏阴性菌借助 III 型分泌系统黏附在宿主细胞表面, 然后跨越胞膜将特异性蛋白注入宿主细胞内, 破坏宿主细胞内的多种信号通路, 从而有利于细菌的感染及定殖。在肠致病性大肠杆菌(*Enteropathogenic Escherichia coli*, EPEC)中, 除了肠细胞脱落位点(Locus of enterocyte effacement, LEE)毒力岛编码的 III 型分泌系统(Type III secretion system, T3SS)外, 在分析肠出血性大肠杆菌 O157:H7 的基因组序列时发现一个新的 III 型分泌系统, 大肠杆菌 III 型分泌系统 2 (*Escherichia coli* type III secretion system 2, ETT2)毒力岛。研究显示, ETT2 可能在大多数菌株中不具有完整的分泌系统功能, 但是其对于细菌毒力的发挥具有重要作用。因此, 本文简要综述了大肠杆菌 ETT2 的基因特征、ETT2 的分布与流行、ETT2 的功能与机制等方面的主要研究进展。

关键词: 大肠杆菌, III 型分泌系统, III 型分泌系统 2 毒力岛

Type III secretion system 2 pathogenicity islands of *Escherichia coli*

YIN Lei QI Ke-Zong* SONG Xiang-Jun TU Jian

(Anhui Province Key Laboratory of Veterinary Pathobiology and Disease Control, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036, China)

Abstract: Many Gram-negative bacteria adhere to the surface of the host cell by means of the type III secretion system, and then inject the specific protein into the host cell across the membrane, destroying a variety of signal pathways in the host cell, which is beneficial to bacterial infection and colonization. In enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC), in addition to the intestinal cell shedding site (locus of enterocyte effacement, LEE) virulence island encoded type III secretion system (T3SS), in the analysis of intestinal hemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 of the genome sequence found in a new type III secretion system, *E. coli* type III secretion system 2 (*E. coli* type III secretion system 2, ETT2) pathogenicity island. Studies have shown that ETT2 may not have a complete secretion system function in most strains, but it has an important effect on the virulence of bacteria. Therefore, this paper briefly reviews the genetic characteristics of *E. coli* ETT2, the distribution and prevalence of ETT2, the function and mechanism of ETT2 and other aspects of the main research progress.

Keywords: *Escherichia coli*, Type III secretion system, Type III secretion system 2 pathogenicity island

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 31772707)

*Corresponding author: Tel: 86-551-65785310; E-mail: qkz@ahau.edu.cn

Received: June 29, 2017; **Accepted:** October 25, 2017; **Published online** (www.cnki.net): October 25, 2017

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31772707)

*通讯作者: Tel: 86-551-65785310; E-mail: qkz@ahau.edu.cn

收稿日期: 2017-06-29; **接受日期:** 2017-10-25; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2017-10-25

细菌致病作用与毒力岛(Pathogenicity island, PAI)基因编码的效应蛋白(Effector proteins, EP)密切相关, EP 进入上皮细胞使得细菌黏附并促使其长时间定殖从而引起感染致病^[1]。许多革兰氏阴性菌Ⅲ型分泌系统(Type III secretion system, T3SS)是细菌与宿主细胞相互作用的基础, 如沙门氏菌、志贺杆菌利用 T3SS 效应蛋白粘附或入侵宿主细胞^[2-3]; 假结核耶尔森菌和小肠结肠炎耶尔森菌可通过 T3SS 效应蛋白诱导巨噬细胞的凋亡, 进而破坏宿主的先天性免疫防线^[4]; 肠致病性大肠杆菌(EPEC)和肠出血性大肠杆菌(Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, EHEC)的 T3SS 效应蛋白会导致细菌黏附部位处细胞骨架的重排和肌动蛋白聚集形成踏板结构, 被称为黏附及擦拭性损伤(Attaching and effacing lesions, A/E Lesions)^[5]。沙门氏菌作为第一个被发现拥有两套 T3SS 型分泌系统, 分别为由 SPI1 编码的 T3SS1 和由 SPI2 编码的 T3SS2, 其中, T3SS1 与侵袭力相关, T3SS2 与全身性感染相关。SPI1 在肠道沙门菌和邦戈尔沙门菌中均存在, 而 SPI2 仅存在于肠道沙门菌中^[6]。相继地, 研究者在分析 *E. coli* O157:H7、EDL933 和 Sakai 菌株的基因组序列时, 发现了一种新的Ⅲ型分泌系统, 为了区别于众所周知的 ETT1 肠细胞脱落位点 LEE 毒力岛编码的Ⅲ型分泌系统, 将其命名为大肠杆菌Ⅲ型分泌系统 2 (*E. coli* type III secretion system 2, ETT2)毒力岛^[7]。

致病性大肠杆菌具有广泛的宿主谱, 同时其血清型和毒力因子复杂多变, 不仅是严重危害养禽业健康发展的重要病原菌, 而且是人兽共患病的潜在病原体, 其防治仍是当今世界性的难题^[8]。目前, 对于致病性大肠杆菌 ETT1 功能相关的研究报道已有很多, 而对于新发现的 ETT2 的功能以及它在病原菌毒力功能中的作用却知之甚少。本文主要对大肠杆菌 ETT2 的基因特征、ETT2 的流行分布、ETT2 的毒力相关功能等方面的研究进展进行概述。

1 ETT2 的基因特征

ETT1 是一种独立的多成分分泌系统, 由 20 多种

蛋白组成, 30–40 kb 编码, 以毒力岛的形式存在于细菌的质粒或染色体上^[9], T3SS 具有较强的蛋白分泌能力, 其针状结构可直接将分泌蛋白注入宿主细胞内以发挥致病作用; ETT2 作为主要毒力基因簇, 位于细菌染色体上的 tRNA 基因座 *glyU* 附近(图 1), 大小约 29.9 kb, 编码至少 35 个开放性阅读框, 包括 *yqe* (*ecs3703–3706*)、*yge* (*ecs3707–3712*)、*epr* (*ecs3716–3719*)、*etr* (*ecs3720*)、*epa* (*ecs3721–3726*)、*eiv* (*ecs3727–3734*)等, 与鼠伤寒沙门氏菌致病性岛的几个序列类似^[10]; ETT2 序列中 G+C% (36.9%) 相比大肠杆菌染色体中 G+C% (50.8%) 明显要低, 提示 *E. coli* O157:H7 中 ETT2 基因簇可能是以毒力岛突变插入的形式存在于菌株中的^[11]; 尽管 ETT2 毒力岛编码蛋白质各自的效应还没有被证实, 但对于基因库已发表的 ETT2 基因来说, 位于 ETT2 两端的 ECs3703 和 ECs3737 基因, 无论是以整个或突变体形式都存在于 ETT2 毒力岛中, 是检测 ETT2 毒力岛的标志基因。因此, 常用 PCR 扩增 ECs3703 和 ECs3737 基因的方法来检测大肠杆菌中是否存在 ETT2 毒力岛^[12]。Ren 等研究发现在大多数的菌株中, 包括 *E. coli* O157:H7 菌株, ETT2 受到不同程度的突变损耗以至于使它不能够编码功能性分泌系统, 而完整的与 ETT2 有关的基因簇主要存在于 O42 大肠杆菌中, 对于不同致病性的大肠杆菌中 ETT2 来说, 其存在着明显的变异性, 序列比对分析显示, 在所有的 ETT2 的 35 个 ORF 中, Sakai 菌株中包含一些假基因, 而 EAEC O42 没有^[13](图 1)。

2 ETT2 的分布与流行

近年来, 有关畜禽致病性大肠杆菌毒力岛 ETT2 的存在相继得以证实, ETT2 毒力基因簇主要存在于产志贺毒素的致病性大肠杆菌中。Hartleib 通过 PCR 和 DNA 免疫印迹试图发现 ETT2 在 245 株大肠杆菌、25 株沙门氏菌和 10 株其他菌种的分布情况, 结果发现 ETT2 毒力岛主要存在于肠道致病性大肠杆菌中, 而在肠道外致病性大肠杆菌(包括血清型 O2:H7、O6:H12、O18:H7)、无致病性大肠杆

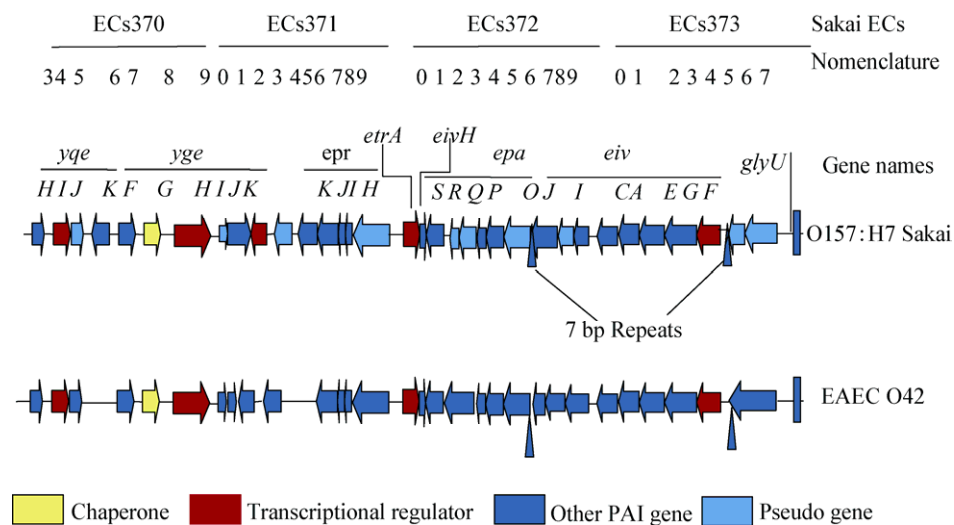


图1 EHEC Sakai 和 EAEC O42 菌株中 ETT2 基因簇结构特征
Figure 1 Structure of ETT2 gene cluster in strain EHEC Sakai and EAEC O42

菌(包括血清型 O5、O74)以及沙门氏菌、耶尔森菌、志贺氏杆菌等没有发现 ETT2 的存在^[14]。德国学者 Prager 等(2004 年)对猪源大肠杆菌 ETT2 毒力岛进行了检测和序列分析,发现 O55:H7 血清型肠致病性大肠杆菌 ETT2 毒力基因簇片段只有完整 ETT2 基因簇的 49%, ETT2 编码的从 ECs3711 到 ECs3731 基因已完全丢失,基因分析显示几乎大多数的肠致病性大肠杆菌 ETT2 完整性都存在不同程度的丢失,大肠杆菌 ETT2 分布和缺失的模式镜像初步揭示了 ETT2 毒力岛的遗传与进化^[15]。Ideses 等通过扣杂杂交技术对禽致病性大肠杆菌(Avian pathogenic *Escherichia coli*, APEC) O78 菌株的研究,证明了 III 型分泌系统 2 (ETT2)不完整基因簇的存在与突变有关,但仍保持 APEC 原有的毒力^[16]。

Cheng 等在断奶仔猪腹泻以及牛乳腺炎奶牛致病性大肠杆菌的研究中发现都有 ETT2 存在。结果表明,32.50%的仔猪腹泻病例存在 ETT2+大肠杆菌感染,而仔猪水肿病例和仔猪腹泻并发水肿病例的感染率分别为 92.11%和 91.67%; ETT2+大肠杆菌感染奶牛乳腺炎的感染率为 38.98%^[12]; Wang 等在中发现 ETT2 基因座主要出现在禽致病性大肠杆菌 O78、O2 以及 O1 三个血清型。其中, O78 血清型的 ETT2 退化,而完整的 ETT2 基因座大多存

在于 O1 及 O2 血清型的菌株中^[17]。

研究表明, APEC 分离株中的 ETT2 存在率与人类所有同种型肠外致病性大肠杆菌(Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*, ExPEC)包括尿道致病性大肠杆菌(Uropathogenic *Escherichia coli*, UPEC)和新生儿脑膜炎大肠杆菌(Neonatal meningitis-associated *Escherichia coli*, NMEC)中的存在率极其相似,其中人腹泻性大肠杆菌为 65%,志贺毒素大肠杆菌(Shiga toxin *Escherichia coli*, STEC)为 100%,仔猪和奶牛的分离物中分别为 85.9%和 47.4%,但 UPEC 菌株中明显较低(3%)^[18]。此外,研究发现,禽致病性大肠杆菌中的 ETT2 与人肠外致病性大肠杆菌中的 ETT2 相比有更多的亚型,但 ETT2 分泌的效应蛋白与致病能力的关系尚不明确^[19]。

3 ETT2 的功能与机制

3.1 T3SS 的结构和组成

III 型分泌系统是一个由多组分蛋白复合体形成的跨膜蛋白孔状通道,是许多病原菌用来分泌毒力蛋白或把这些蛋白直接注入宿主细胞以启动生化信息传导的结构,分泌和转移一些主要的毒力决定因子。该结构通常被称为针状复合物(Needle complex, NC)或 T3SS 注射装置^[20]。它是一个大分

子复合物结构,由跨越细菌内外膜的基体和从细菌外膜开始延伸的针状结构复合物组成,包含多种不同的蛋白。T3SS 注射装置基体部(Basal body)包括横跨细菌内膜(IM)和外膜(OM)的内环(Inner ring)和外环(Out ring)及位于内外膜之间的颈部(Neck)。针状结构(Needle filament)起始于细菌外膜并向外延伸,是注射装置的核心。易位子(Translocon)是由 T3SS 注射装置分泌的蛋白质,该装置针状结构的针尖部位(Needle tip)与易位子接触,T3SS 分泌的效应蛋白通过易位运动到达细菌液泡膜(VM)上,并形成孔隙,进而使效应蛋白进入宿主细胞内来发挥功能^[21]。目前,与 T3SS 注射装置相比,国内外对 ETT2 装置的结构、组成及装配等研究知之甚少,为此我们对 ETT2 的结构和组成进行了相关的预测和假设。

3.2 ETT2 的结构和组成

早期的研究中发现 ETT2 毒力岛有 19 个开放性的阅读框与沙门氏菌血清型的 SPI-1 三型分泌系统高度同源,因而认为 ETT2 的结构和组成可能与 SPI-1 类似^[22],然而,ETT2 和 SPI-1 三型分泌系统之间又有着明显的不同,如 *spaR* 作为沙门氏菌编码 T3SS 注射装置内环的重要蛋白,在 ETT2 毒力岛中却以 *epaR1* 和 *epaR2* 的形式存在;*InvB* 分泌蛋白是分泌装置的组成部分,对 *SopE* 和 *SopE2* 蛋白的分泌也是必需的,生化分析表明 *SopE* 和 *SopE2* 是作为鸟苷酸交换因子交换宿主细胞内的 *RhoGTP* 而发挥作用,*RhoGTP* 酶在促炎因子的表达和真核细胞肌动蛋白细胞骨架的重构等重要的细胞活动中发挥重要作用^[23];*InvH* 虽然不是 T3SS 注射装置的组成部分,但是 *InvH* 能协助 *InvG* 蛋白通过易位运动到达细菌的外膜,然而,在 ETT2 毒力岛中却没有发现 *InvB* 和 *InvH* 的存在^[24]。此外,SPI-1T3SS 注射装置的几个重要基因,如编码内环的 *prgH* 以及编码装置针状结构的针尖部位和易位子 *sipABCD* 等基因在 ETT2 中都不存在^[25]。因此,推测肠出血性大肠杆菌 O157 三型分泌系统 2 毒力岛本身可能不具备编码功能分泌系统的能力。

对于大多数大肠杆菌菌株来说,ETT2 高突变

量导致其退化成一个不完整和非功能的 T3SS 装置,然而,已有研究显示 ETT2 T3SS 不仅能编码分泌蛋白的 T3SS 基因座,而且编码的还是注射装置外环的基因座轨迹^[26]。研究结果显示,*eip* 基因座编码 SPI-1 易位蛋白和 T3SS 相关蛋白,存在于所有 APEC 菌株中,其中包含完整的 ETT2 集群。*eip* 位点可能配合 ETT2 构建活跃的 T3SS 装置,进而使完整的 ETT2 可能会传送不明身份效应物进入宿主细胞以干扰宿主防御,促进细菌感染。为此,研究 ETT2 完整的结构与组成,进而了解其编码分泌功能具有重要意义。

3.3 ETT2 对细菌毒力的调控机制

SPI-1 三型分泌系统注射装置的某些重要基因即使不存在 ETT2 毒力基因簇中或在 ETT2 毒力基因簇中无功能,但是 ETT2 毒力岛在肠致病性大肠杆菌的毒力中发挥着重要作用。*Hartleib* 等发现 T3SS 的 ETT2 毒力岛编码蛋白可影响大肠杆菌分离株功能的合成、毒素和黏附素的分泌或运输等能力^[14];存在于败血症大肠杆菌菌株中的 ETT2 基因组,作用虽然有所退化,但对于败血症的发病机制还是有贡献的。ETT2 败血症有几个提前终止密码子和一个大于 5 kb 片段的缺失,在败血症和新生儿脑膜炎病例中分离的 11 株大肠杆菌中具有保守性^[16]。无效突变体构成编码假定的内膜分泌环的基因移位,这个内膜分泌环的分泌作用具有显著降低毒力的作用。这个结果首次论证了 ETT2 发病机制的重要性;在 EHEC O157:H7 ETT2 基因组中,ECs3720 (*etrA*)和 ECs3734 (*eivF*)这两个基因的突变会导致由 LEE 编码的毒力蛋白大量分泌,增强了其人类肠细胞上的粘附作用,*EtrA* 和 *EivF* 在 LEE 毒力岛的基因转录中发挥重要的负调控作用。与这些观察一致的是,在 EHEC O26:H 菌株中这些调节器的表达导致了在 LEE 诱导作用条件下的蛋白分泌的抑制。这些发现为与 LEE 调控力有关的活动基因成分的影响以及与 T3SS 基因组之间的相互干扰作用提供了鲜活的例子。另外,因为与 LEE 调控有关的调节基因的作用能够普遍经受住其他功能基因组中的

基因衰变, 我们把这种现象称“Cheshire eat effect”。它也有可能表明 ETT2 调节部分的变更能解释在由 LEE 编码的蛋白质的分泌作用下发生的种与种之间的变异^[10]。

Ideses 等研究发现缺失了 ETT2 的菌株攻毒 1 日龄雏鸡, 其毒力远低于原始菌株 *E. coli* 789^[16]; Yao 等对引起脑膜炎的大肠杆菌 K12-EC10 菌株进行了 ETT2 毒力岛敲除以及仅 *eivA* (ECs3732) 基因的敲除, 结果表明与原始菌株 EC10 相比, 突变株对细胞的入侵率下降 50%, 细菌在血管内皮细胞的存活率下降 80%, 表明 ETT2 毒力岛在大肠杆菌 K12 与宿主互作中发挥着重要的致病作用^[27]; Sheikh 等研究了沙门氏菌调节子 *hilA* 同系物 *eilA*, 协同激活与 tRNA 基因座 *selC* 相邻的编码效应蛋白的 *EivF*, 进而影响细菌上皮细胞和生物膜形成, 间接表明 ETT2 在细菌中的毒力作用^[28]。

在动物病原菌中, 肠出血性大肠杆菌和产志贺毒素大肠杆菌 ETT2 毒力岛的阳性菌株中总能检测到 Stx2e 基因的存在^[11]; 此外, 在其他不同 O:H 血清型的致病性大肠杆菌中, ETT2 毒力岛作用的发挥伴随着其他一个或多个毒力岛的存在, 如 LEE、HPI、LPA 毒力岛^[14]。Prager 等通过对 266 例来自人的临床分离株 STEC 研究, 发现许多毒力基因的表达和分泌受到 ETT2 毒力岛的影响。Stx2d, 一种编码由弹性蛋白酶活化的志贺毒素, 通常以自分泌的形式或与 ETT2 结合的情况下表达分泌, 与 LEE 没有任何作用^[29]。

总之, 目前对于 ETT2 毒力岛的相关功能与机制虽有报道, 但仍有许多未知需要探索和研究, 同时, 探讨 ETT2 与宿主细胞的相互作用, 可为宿主靶标的挖掘提供非常重要的线索和实验理论依据。

4 总结与展望

致病性大肠杆菌因其复杂多变的血清型, 给养殖业带来严重的危害, 同时大肠杆菌所携带的毒力基因库可随基因漂移进入食物链, 间接对人类健康造成严重威胁。因此, 加强对我国致病性大肠

杆菌的防控研究, 对养殖业和公共卫生都具有重要意义。

大肠杆菌的毒力因子均受遗传控制。一直作为研究热点的细菌毒力调控系统主要有毒力岛、QS 系统、二元调控系统等。这些系统又分成许多子调控系统, 控制着不同类型毒力基因的表达, 在细菌表现毒力的不同阶段起着调控作用。本实验室在已开展的禽源致病性大肠杆菌 HPI 毒力岛缺失株构建及其致病性研究中发现, HPI 毒力岛在禽源大肠杆菌中广泛分布^[30-31]; 李丽丽在禽源大肠杆菌主要毒力因子的分子流行病学研究中, 首次在国内检出禽致病性大肠杆菌 ETT2+ (检出率为 41.5%), 结果表明, 与 HPI 毒力岛的检出率、F1 菌毛的检出率相差较少, ETT2 在禽源大肠杆菌中广泛流行分布^[32]; 同时, 实验室开展的二元调控系统 *phoP/Q* 对禽致病性大肠杆菌致病性相关研究中发现^[33], *phoP/Q* 可影响群体感应系统和细菌 T3SS 分泌系统相关基因的功能。ETT2 作为大肠杆菌新发现的一种新型毒力岛, 其在大肠杆菌毒力调控网络中扮演何种角色, 与已知的毒力调控系统, 如 HPI 毒力岛、QS 系统、二元调控系统之间存在着何种联系, 这都是我们即将要解决的问题。

目前, 对于 ETT2 毒力岛的功能和机制还知之甚少, 但是, ETT2 毒力岛普遍存在于病原菌 EHEC 和 STEC 中, 对于兽医和人医来说意义重大, 自发现以来一直是国内外学者研究的热点。ETT2 虽然不具备编码完整分泌系统的功能, 但是近年来的研究显示, ExPEC (APEC、NMEC、UPEC) 菌株具有广泛的毒力因子和致病机制, 更重要的是, 占主导地位 APEC 血清型 O1、O2 和 O78 也涉及各种人类疾病, 包括新生脑膜炎和尿路感染, 表明家禽可能是人类 ExPEC (UPEC 和 NMEC) 毒力基因贮存库。细菌通过水平基因转移的一些机制, 可以获得组合移动遗传元素, 成为高度适应的病原体, 如 ETT2 毒力基因簇, 其在大肠杆菌染色体中的突变插入形式以及 C 型异构体中发现的 IS 转座酶, 使 ETT2 能在不同的致病性大肠杆菌中转移; 此外, ETT2

与 LEE 毒力岛的毒力基因之间并未发现有任何的相关性, 其对于细菌的黏附能力和其他毒力基因的表达调节主要依靠自身的相关毒力基因发挥作用, 因此, 及时深入地研究 ETT2 毒力岛, 不仅有利于我们认识复杂的微生物世界, 了解病原微生物出现的机制, 为研究新病原菌及重新抬头的病原微生物提供了新的思路, 也为研制有效的减毒疫苗或基因工程疫苗和治疗药物开辟了新的途径。

参考文献

- [1] Zhao YY, Gorvel JP, Méresse S. Effector proteins support the asymmetric apportioning of *Salmonella* during cytokinesis[J]. *Virulence*, 2016, 7(6): 669-678
- [2] Liu Y, Zhao LY, Yang MJ, et al. Transcriptomic dissection of the horizontally acquired response regulator EsrB reveals its global regulatory roles in the physiological adaptation and activation of T3SS and the cognate effector repertoire in *Edwardsiella piscicida* during infection toward turbot[J]. *Virulence*, 2017. DOI: 10.1080/21505594.2017.1323157 (in Press)
- [3] Deng WY, Marshall NC, Rowland JL, et al. Assembly, structure, function and regulation of type III secretion systems[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, 15(6): 323-337
- [4] Bliska JB, Wang XY, Viboud GI, et al. Modulation of innate immune responses by *Yersinia* type III secretion system translocators and effectors[J]. *Cellular Microbiology*, 2013, 15(10): 1622-1631
- [5] Katsowich N, Elbaz N, Pal RR, et al. Host cell attachment elicits posttranscriptional regulation in infecting enteropathogenic bacteria[J]. *Science*, 2017, 355(6326): 735-739
- [6] Silva-Herzog E, Detweiler CS. *Salmonella enterica* replication in hemophagocytic macrophages requires two type three secretion systems[J]. *Infection and Immunity*, 2010, 78(8): 3369-3377
- [7] Perna NT, Plunkett III G, Burland V, et al. Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7[J]. *Nature*, 2001, 409(6819): 529-533
- [8] Johnson TJ, Wannemuehler Y, Kariyawasam S, et al. Prevalence of avian-pathogenic *Escherichia coli* strain O1 genomic islands among extraintestinal and commensal *E. coli* isolates[J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(11): 2846-2853
- [9] Galán JE, Wolf-Watz H. Protein delivery into eukaryotic cells by type III secretion machines[J]. *Nature*, 2006, 444(7119): 567-573
- [10] Luzader DH, Willsey GG, Wargo MJ, et al. The type three secretion system 2-encoded regulator EtrB modulates enterohemorrhagic *Escherichia coli* virulence gene expression[J]. *Infection and Immunity*, 2016, 84(9): 2555-2565
- [11] Makino S, Tobe T, Asakura H, et al. Distribution of the secondary type III secretion system locus found in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 isolates among Shiga toxin-producing *E. coli* strains[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003, 41(6): 2341-2347
- [12] Cheng DR, Zhu SY, Su ZR, et al. Prevalence and isoforms of the pathogenicity island ETT2 among *Escherichia coli* isolates from colibacillosis in pigs and mastitis in cows[J]. *Current Microbiology*, 2012, 64(1): 43-49
- [13] Ren CP, Chaudhuri RR, Fivian A, et al. The ETT2 gene cluster, encoding a second type III secretion system from *Escherichia coli*, is present in the majority of strains but has undergone widespread mutational attrition[J]. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(11): 3547-3560
- [14] Hartleib S, Prager R, Hedenström I, et al. Prevalence of the new, SPI1-like, pathogenicity island ETT2 among *Escherichia coli*[J]. *International Journal of Medical Microbiology*, 2003, 292(7/8): 487-493
- [15] Prager R, Bauerfeind R, Tietze E, et al. Prevalence and deletion types of the pathogenicity island ETT2 among *Escherichia coli* strains from oedema disease and colibacillosis in pigs[J]. *Veterinary Microbiology*, 2004, 99(3/4): 287-294
- [16] Ideses D, Gophna U, Paitan Y, et al. A degenerate type III secretion system from septicemic *Escherichia coli* contributes to pathogenesis[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(23): 8164-8171
- [17] Wang S, Liu X, Xu X, et al. *Escherichia coli* type III secretion system 2 (ETT2) is widely distributed in avian pathogenic *Escherichia coli* isolates from Eastern China[J]. *Epidemiology & Infection*, 2016, 144(13): 2824-2830
- [18] Osawa K, Shibata M, Nishiyama Y, et al. Identification of the ETT2 locus in human diarrheagenic *Escherichia coli* by multiplex PCR[J]. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2006, 12(3): 157-159
- [19] Ooka T, Ogura Y, Katsura K, et al. Defining the genome features of *Escherichia albertii*, an emerging enteropathogen closely related to *Escherichia coli*[J]. *Genome Biology and Evolution*, 2015, 7(12): 3170-3179
- [20] Diepold A, Armitage JP. Type III secretion systems: the bacterial flagellum and the injectisome[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2015, 370(1679): 20150020
- [21] Gaytán MO, Martínez-Santos VI, Soto E, et al. Type three secretion system in attaching and effacing pathogens[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2016, 6: 129
- [22] Song M, Sukovich DJ, Ciccarelli L, et al. Control of type III protein secretion using a minimal genetic system[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 14737
- [23] Wille T, Blank K, Schmidt C, et al. *Gaussia princeps* luciferase as a reporter for transcriptional activity, protein secretion, and protein-protein interactions in *Salmonella enterica* serovar typhimurium[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(1): 250-257
- [24] Pati NB, Vishwakarma V, Jaiswal S, et al. Deletion of *invH* gene in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium limits the secretion of Sip effector proteins[J]. *Microbes and Infection*, 2013, 15(1): 66-73
- [25] Moest TP, Méresse S. *Salmonella* T3SSs: successful mission of the secret(ion) agents[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2013, 16(1): 38-44
- [26] Brown NF, Finlay B. Potential origins and horizontal transfer of type III secretion systems and effectors[J]. *Mobile Genetic Elements*, 2011, 1(2): 118-121
- [27] Yao YF, Xie Y, Perace D, et al. The type III secretion system is involved in the invasion and intracellular survival of *Escherichia*

- coli* K1 in human brain microvascular endothelial cells[J]. FEMS Microbiology Letters, 2009, 300(1): 18-24
- [28] Sheikh J, Dudley EG, Sui B, et al. EilA, a HilA-like regulator in enteroaggregative *Escherichia coli*[J]. Molecular Microbiology, 2006, 61(2): 338-350
- [29] Prager R, Annemüller S, Tschäpe H. Diversity of virulence patterns among shiga toxin-producing *Escherichia coli* from human clinical cases-need for more detailed diagnostics[J]. International Journal of Medical Microbiology, 2005, 295(1): 29-38
- [30] Tu J, Xue T, Qi KZ, et al. The *irp2* and *fyuA* genes in high pathogenicity islands are involved in the pathogenesis of infections caused by avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC)[J]. Polish Journal of Veterinary Sciences, 2016, 19(1): 21-29
- [31] Ji H, Shao CS, Tu J, et al. Core genes of high-pathogenicity island in avian *Escherichia coli* isolates[J]. Microbiology China, 2013, 40(11): 2022-2029 (in Chinese)
- 冀辉, 邵长胜, 涂健, 等. 禽源大肠杆菌耶尔森氏菌强毒力岛核心基因的检测及其 *irp2* 和 *int* 基因同源性[J]. 微生物学通报, 2013, 40(11): 2022-2029
- [32] Li LL. Molecular epidemiological analysis of major virulence factors of avian *Escherichia coli* and preparation of monoclonal antibodies against avian *E. coli*'s F1 and P pili[D]. Yangzhou: Master's Thesis of Yangzhou University, 2014 (in Chinese)
- 李丽丽. 禽源大肠杆菌主要毒力因子的分子流行病学分析及 F1 与 P 菌毛单克隆抗体的制备[D]. 扬州: 扬州大学硕士学位论文, 2014
- [33] Tu J, Huang BY, Zhang Y, et al. Modulation of virulence genes by the two-component system PhoP-PhoQ in avian pathogenic *Escherichia coli*[J]. Polish Journal of Veterinary Sciences, 2016, 19(1): 31-40

书 讯

CNKI 推出《中国高被引图书年报》

中国知网(CNKI)中国科学文献计量评价研究中心推出了一套《中国高被引图书年报》,该报告基于中国大陆建国以来出版的 422 万余本图书被近 3 年国内期刊、博硕、会议论文的引用频次,分学科、分时段遴选高被引优秀学术图书予以发布。据研制方介绍,他们统计并分析了 2013-2015 年中国学术期刊 813 万余篇、中国博硕士学位论文 101 万余篇、中国重要会议论文 39 万余篇,累计引文达 1 451 万条。根据统计数据,422 万本图书至少被引 1 次的图书达 72 万本。研制方根据中国图书馆分类法,将 72 万本图书划分为 105 个学科,分 1949-2009 年和 2010-2014 年两个时间段,分别遴选被引最高的 TOP 10% 图书,共计选出 70 911 本优秀图书收入《中国高被引图书年报》。统计数据显示,这 7 万本高被引优秀图书虽然只占全部图书的 1.68%,却获得 67.4% 的总被引频次,可见这些图书质量上乘,在同类图书中发挥了更加重要的作用。该报告还首次发布各学科“学科 h 指数”排名前 20 的出版单位的评价指标,对客观评价出版社的社会效益——特别是学术出版物的社会效益具有重要的参考价值。

该报告从图书被引用的角度出发,评价图书的学术影响力,弥补了以销量和借阅等指标无法准确评价学术图书的缺憾,科学、客观地评价了图书、图书作者以及出版单位对各学科发展的贡献。

《中国高被引图书年报》把建国以来出版图书全部纳入评价范围属国内首创,是全面、客观评价图书学术影响力的工具,定量评价图书学术水平,在帮助图书馆建设特色馆藏和提高服务水平、帮助出版管理部门了解我国学术出版物现状、帮助科研机构科研管理、帮助读者购买和阅读图书等方面,均具有较强的参考价值,也为出版社评估出版业绩、决策再版图书、策划学科选题提供有用的信息。

《中国高被引图书年报》由《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司出版。该产品的形式为光盘电子出版物,分为理学、工学、农学、医学、人文科学和社会科学 6 个分卷,随盘赠送图书,欢迎您咨询、订购。咨询电话:010-82710850/82895056 转 8599; E-mail: aspt@cnki.net