文章编号:1000-5404(2012)06-0467-06

论著

2型猪链球菌89K致病岛进化途径分析

胡力文,邹凌云,倪青山,姚新月,朱军民,李 明,胡福泉 (400038 重庆,第三军医大学基础医学部微生物学教研室,重庆市微生物工程实验室)

[摘要] **目的** 分析2型猪链球菌89K致病岛的结构特征,探索其进化历程。**方法** 通过BLAST比对,获取89K致病岛的同源序列,构建其同源序列数据库;分析89K致病岛的碱基组成特征,寻找重组热点区域,并对89K进行分区;对各ORF进行功能预测,划分功能模块;对89K致病岛与其同源序列进行系统发育分析及共线性分析,推测其可能的进化历程。**结果** 89K致病岛可分为4个保守区,4个主要的非保守区及一段Tn916转座子,呈现多个异源序列相嵌合的结构特征。功能分析发现保守区基因主要参与致病岛的横向转移及其在宿主菌基因组中的稳定,保守区的基因呈现出进化上的一致性,且在某些菌株中保守区以连续状态存在。**结论** 保守区在祖先状态时是一个连续整体,不同来源的非保守区经过多次水平转移和重组事件插入到保守区之间,形成了89K致病岛的嵌合结构。

[关键词] 致病岛;生物信息学;系统发育分析;进化途径
[中图法分类号] R372;R378.12;R394.3 [文献标志码] A

Analysis of the evolutionary pathway of *Streptococcus suis* serotype 2 89K pathogenicity island

Hu Liwen, Zou Lingyun, Ni Qingshan, Yao Xinyue, Zhu Junmin, Li Ming, Hu Fuquan (Department of Microbiology, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To analyze the structure of 89K pathogenicity island (89K PAI) of *Streptococcus suis* serotype 2 (*S. suis* 2), and to explore its evolutionary pathway. **Methods** BLAST was performed to obtain *S. suis* 2 89K PAI homologous sequences and to establish the homologous sequence database. The base composition pattern of 89K PAI was analyzed to find recombination hotspots, and 89K PAI was divided into several independent regions. The function prediction of each open reading frame (ORF) was performed to distinguish functional modules. Phylogenetic and co-linearity analysis of 89K PAI and its homologous sequences were performed to speculate the possible evolutionary pathway. **Results** *S. suis* 2 89K PAI was divided into four conserved regions, four main non-conserved regions and a Tn 916 transposon, showing a mosaic structure made up of heterologous sequences. The conserved regions were involved in 89K PAI lateral gene transfer and its maintenance in host bacteria genome. The conserved regions showed a congruent evolutionary pattern and in some bacterial genome the conserved regions were continuous. **Conclusion** The ancestor status of the conserved regions exists as a continuous entirety, and the non-conserved regions from diverse origins are inserted into the conserved regions by multiple lateral gene transfer and recombination, resulting in the mosaic structure of *S. suis* 2 89K PAI.

[**Key words**] pathogenicity island; bioinformatics; phylogenetic analysis; evolutionary pathway

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30971574). Corresponding author: Hu Fuquan, Tel: 86-23-68752240, E-mail: hufuquan2009@yahoo.com

猪链球菌是引起人兽共患病的一类重要致病菌,共有35个血清型,其中2型猪链球菌(*Streptococcus suis* serotype 2, *S. suis* 2)致病性最强。既往2型猪链球菌通常引起人的扁桃体炎、关节炎、败血症、脑膜炎等疾病,多呈散在发病,一般没有流行趋向[1]。但我国1998年在江苏江阴、2005年在四川资阳分别出现了2次2型猪链球菌病大流行,且表现出了罕见的"链球菌中毒性休克综合征"(streptococcal toxic shock syndrome, STSS),该病发病急骤,来势凶险,病死率高[2]。

导致我国江苏、四川大流行的菌株为高致病性强毒株。在对我国新出现的高致病性强毒株(*S. suis* 98HAH33, *S. suis* 05ZYH33)进行比较基因组学分析时鉴定出了"89K致病岛"(一段长约89 kb的基因组序列)。经实验证实,该致病岛与"链球菌中毒性休克综

[基金项目] 国家自然科学基金(30971574)
[通信作者] 胡福泉,电话:(023)68752240,E-mail:hufuquan2009@yahoo.com

合征”的出现相关,且可从基因组中切离、环化并进行水平转移[3-4]。目前,关于89K致病岛的研究主要集中在其基因功能和与致病性相关的研究方面,对于该致病岛的起源与进化历程尚不清楚。本研究旨在通过序列比对、碱基组成计算、系统发育分析、共线性分析等生物信息学分析手段,解析89K致病岛的结构特征,探讨其形成的可能进化历程。

1 材料与方法

1.1 主要软件、设备器材、数据

基因组序列综合分析软件EMBOSS v6.4.0和DNAMAN v5.2.2;序列比对软件CLUSTALX 2.0.12、BLAST v2.2.25;序列比对展示软件ACT v9.0.5(Artmis Comparison Tool);系统发育分析软件MEGA5.0[5];生物信息学高性能并行计算平台(浪潮天梭10 000超级计算机)。所分析序列来自于公共核酸数据库GenBank及蛋白质数据库Uniprot。

1.2 89K致病岛全序列比对及分析

以*S. suis* 05ZYH33全基因组中89K致病岛全序列为检索对象,在GenBank进行BLASTn比对(默认参数),获取其同源序列分布的初级信息。

1.3 建立89K致病岛同源蛋白数据库

分别以89K各ORF(opening reading frame)为检索对象在蛋白质序列数据库Uniprot中进行BLASTp比对(默认参数),下载同源蛋白(选入标准:identity > 30%,E-value $< 1 \times 10^{-5}$),构建同源序列数据库。

1.4 89K致病岛重组热点分析及嵌合结构解析

用EMBOSS v6.4.0软件绘制89K全序列的GC含量分布图(window size = 400 bp),寻找89K致病岛的重组热点区域。综合GC含量及同源蛋白数据库分析,对89K致病岛进行分区,解析其嵌合结构模型。

1.5 各区域功能分析

对89K上每一个ORF,在蛋白质家族数据库Pfam中进行结构域预测,蛋白序列数据库Uniprot进行同源比对分析,综合2种分析对各基因进行功能预测,划分功能模块。

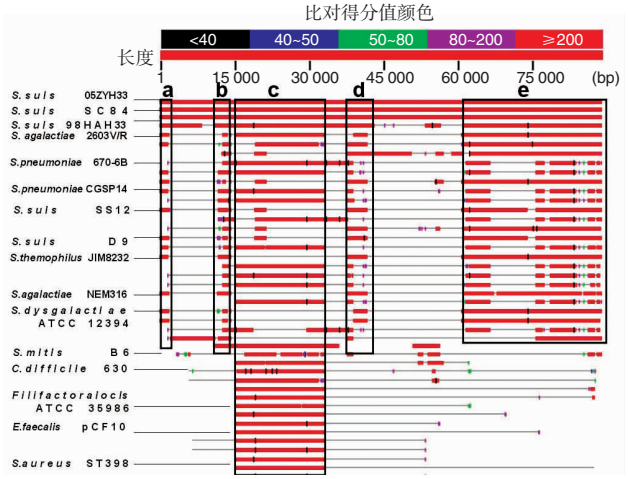
1.6 系统发育及共线性分析

分别选取3个保守基因SSU05_0903、0941、0969,使用MEGA 5.0构建同源蛋白的邻近连接树,蛋白序列的比对使用CLUSTALX 2.0.12进行;选取猪链球菌BM407(GenBank accession:FM252032),无乳链球菌2603V/R(GenBank accession:AE009948),肺炎链球菌CGSP14(GenBank accession:CP001033)中的同源区域与89K进行共线性比较,推测89K致病岛可能的进化历程。共线性分析使用BLAST v2.2.25软件中Bl2seq程序进行比对(mismatch score = -1,match score = 1,E-value = 1.0),比对结果以ACT v9.0.5软件显示。

2 结果

2.1 全序列BLAST比对结果分析

89K致病岛在*S. suis* 05ZYH33全基因组上起止位点为872 967~961 817,全长88 851 bp,经预测其内共80个ORF(SSU05_0903-SSU05_0982)。在GenBank网站上对*S. suis* 05ZYH33中的89K致病岛进行了全序列BLAST搜索,搜索结果如图1所示。图1中的前3条记录分别为我国2次猪链球菌病大流行时,于四川资阳、江苏海安等地分离的菌株,三者均含有完整89K序列,差异由点突变所致,可能起源于同一个亲本细菌。此外从图中还可看出,89K中的同源序列存在于其他多种细菌中,共可以在30余种不同细菌中检出89K的同源片段,图示表明89K全序列是由一个逐步累积、进化的过程形成的。其中a、b、c、d、e 5个区域的同源序列存在于多种不同细菌中,表明这些序列在进化上比较保守,而在这5个区域之外的序列,其同源序列较为少见,可以看作是89K中的非保守区域。



a、b、d、e:保守区Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ;c:Tn916转座子同源序列

图1 89K致病岛全序列主要比对结果

2.2 同源蛋白数据库的构建

全序列比对结果提示了89K致病岛同源序列在不同细菌中的分布特征,但参数的设置限制了更多同源序列的显示。为获得89K致病岛同源序列的详细信息,以*S. suis* 05ZYH33中89K的各ORF作为搜索序列,在蛋白质数据库Uniprot中进行了搜索,获取各ORF同源蛋白,总计3 000余条,覆盖链球菌、粪肠球菌、芽孢杆菌、葡萄球菌、乳酸乳球菌等50余个菌种的200多个菌株,在此基础上构建了89K致病岛同源蛋白数据库。对同源蛋白数据库分析时发现,有4个区域(Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ,图1)可同时(或其中3个)出现于30余个链球菌菌种的全基因组,进一步表明这4个区域在进化上具有一定保守性,我们把这4个区域分别称为保守区(conserved region, CR)。这4个区域在链球菌不同菌种中分布情况见表1。此外,在89K序列中,发现1段长约18 kb的Tn916转座子元件(ORFs:0917~0933,图1),该转座子分布细菌种属极为广泛,远远超出上述4个保守区域的分布范围。4个保守区域及Tn916外,其他区域的同源序列分布范围不一,与89K的相似度较低,被称为非保守区(nonconserved region, NCR)。这些非保守区的同源序列可出现于李斯特菌、芽孢杆菌、霍乱弧菌、葡萄球菌、耶耳森菌、肠球菌、梭状芽孢杆菌等亲缘关系彼此较远的细菌中(表2)。以上结果提示我们,89K致病岛的4个保守区是其骨架序列,它们原本是链球菌属细菌基因组构成序列,而非保守区序列则是通过横向转移事件来源于亲缘关系较远、范围比较广泛的其他细菌。

表 1　4 个保守区域的同源片段分布范围比较

分布菌株	CR Ⅰ 0903～0905	CR Ⅱ 0913～0915	CR Ⅲ 0936～0942	CR Ⅳ 0961～0982
S. suis BM407	+	+	+	+
S. suis JS14	+	+	+	+
S. suis 89/1591	+	+	+	+
S. suis SS12	+	+	+	+
S. suis D9	+	+	+	+
S. suis D12	−	+	+	+
S. pneumoniae 670-6B	−	+	+	+
S. pneumoniae P1031	−	+	+	+
*S. pneumoniae*_DP1322	−	+	+	+
S. pneumoniae ATCC700669	+	+	+	+
S. pneumoniae CGSP14	+	+	+	+
S. pneumoniae G54	−	+	+	+
*S. pneumoniae*_Hungary19A-6	−	+	+	+
S. pneumoniae Pn19	+	+	+	+
S. pneumoniae SpnF21	+	+	+	+
S. pneumoniae 11876	+	+	+	+
S. cristatus ATCC 51100	+	+	+	+
S. agalactiae NEM316	+	+	+	+
S. agalactiae FSL S3-026	+	+	+	+
S. peseudoporcinus SPIN20026	+	+	+	+
S. agalactiae H36B	+	+	+	+
S. agalactiae 18RS21	+	+	+	+
S. agalactiae ATCC13813	−	+	+	+
S. agalactiae 2603V/R	+	+	+	+
S. dysgalactiae NS3396	+	+	+	+
S. dysgalactiae ATCC12394	+	+	+	+
S. dysgalactiae ATCC27957	+	+	+	+
S. sanguinis SK1056	+	+	+	+
S. sanguinis SK408	+	+	+	+
S. thermophilus JIM8232	+	+	+	+
S. pasteurianus ATCC 43144	+	+	+	+
S. vestibularis F0396	+	+	+	+
S. bovis ATCC700338	+	+	+	+
S. porcinus Jelinkova 176	−	+	+	+

+/−：该片段在相应细菌基因组中的有/无，但并非“全有”或“全无”，而是指含有相应片段的大部分序列

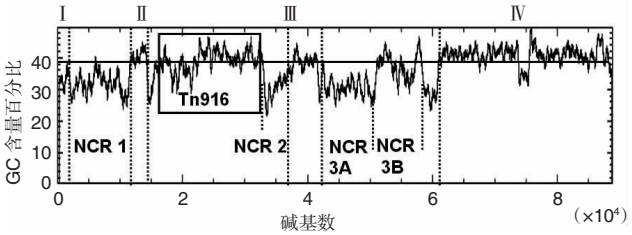
表 2　各非保守区同源序列在不同细菌中的分布

NCR 1 0906～0912	NCR 2 0934,0935	NCR 3	
		3A 0943～0949	3B 0950～0958
S. suis BM407	*Streptococcus*	*B. cereus* ZK/E33L	*S. suis* BM407
S. sanguinis SK36	*Listeria*	*B. cereus* F65185	*E. faecalis* JH1
S. sanguinis SK49	*Bacillus*	*B. cereus* Rock 3-29	*E. faecalis* T2
S. sanguinis SK72	*Vibrio*	*B. cereus* Rock 4-2	*E. faecalis* R712
S. sanguinis SK115	*Lactobacillus*	*B. cereus* 172560W	*E. faecalis* S613
S. sanguinis SK150	*Enterococcus*	*B. thuringinsis* IBL200	*E. faecalis* TX0104
S. sanguinis SK160	*Yersinia*	*C. difficile* NAP07	*E. faecium* D344SRF
S. sanguinis SK255	*Staphylococcus*	*C. perfringens* JGS1721	*E. faecium* TX0645
S. sanguinis SK313	*et al*	*S. equinus et al*	*E. faecium* TC6
E. faecalis TX1341			*E. faecalis* HIP11704
E. faecalis TX2137			*E. faecalis* DAPTO512
E. faecalis TX0470			*et al*
et al			

NCR 3 区跨度较大（约 20 kb），其前半部分与后半部分在细菌中的分布有明显区别；前半部分同源片段主要出现于芽孢杆菌（*Bacillus*）及梭菌（*Clostridium*）中，后半部分主要出现在肠球菌（*Enterococcus*）中，高度提示 NCR 3 区由不同进化来源的序列组成，该区内至少存在 1 次重组事件

2.3　89K 致病岛重组热点分析

上述分析结果显示 89K 致病岛可能是以链球菌基因组序列为基本骨架（保守序列），非保守区（来源于亲缘较远的细菌）通过横向转移事件，插入到保守区域之间而形成的。为判断 89K 序列内部的重组事件，我们对 89K 致病岛进行了全序列 GC 含量分析，结果见图 2。保守区域Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ的 GC 含量维持在 40% 左右（Ⅰ区 GC 含量稍低，但其长度极短，可能系误差所致），这一 GC 含量与链球菌属细菌的平均 GC 含量非常接近。保守区域及 Tn916 之外，其余序列 GC 含量波动范围则较大，尤其 NCR1、NCR2、NCR3A 区明显低于 40%。GC 含量分布图提示 NCR1、NCR2、NCR3 3 段为重组热点区域，这些重组热点区域与表 2 中各非保守区的范围非常吻合。基于同源片段的分布范围不同，及各区域 GC 含量特征，提炼出 89K 的嵌合结构模型（图 3）。



Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ：保守区；NCR：非保守区

图 2　89K 全序列 G＋C 含量分布

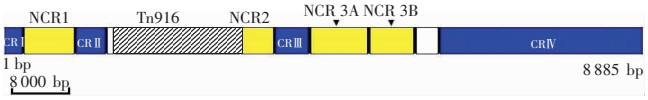


图 3　89K 致病岛嵌合结构模型示意图

2.4　功能分析

为推测 89K 致病岛可能的进化及整合机制，联合 Pfam 和 Uniprot 数据库的分析对 89K 致病岛各区域功能进行了推测（图 4）。

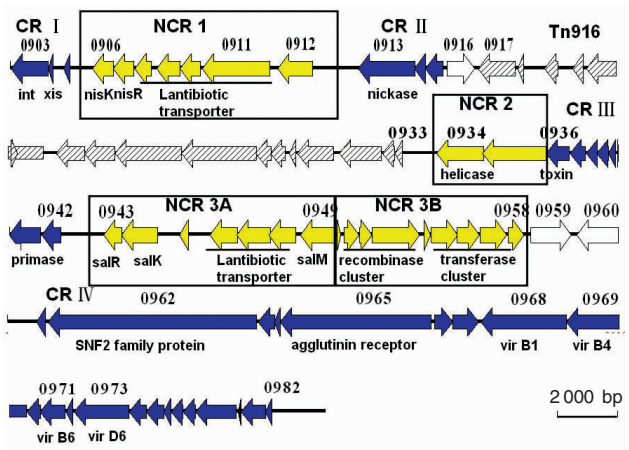
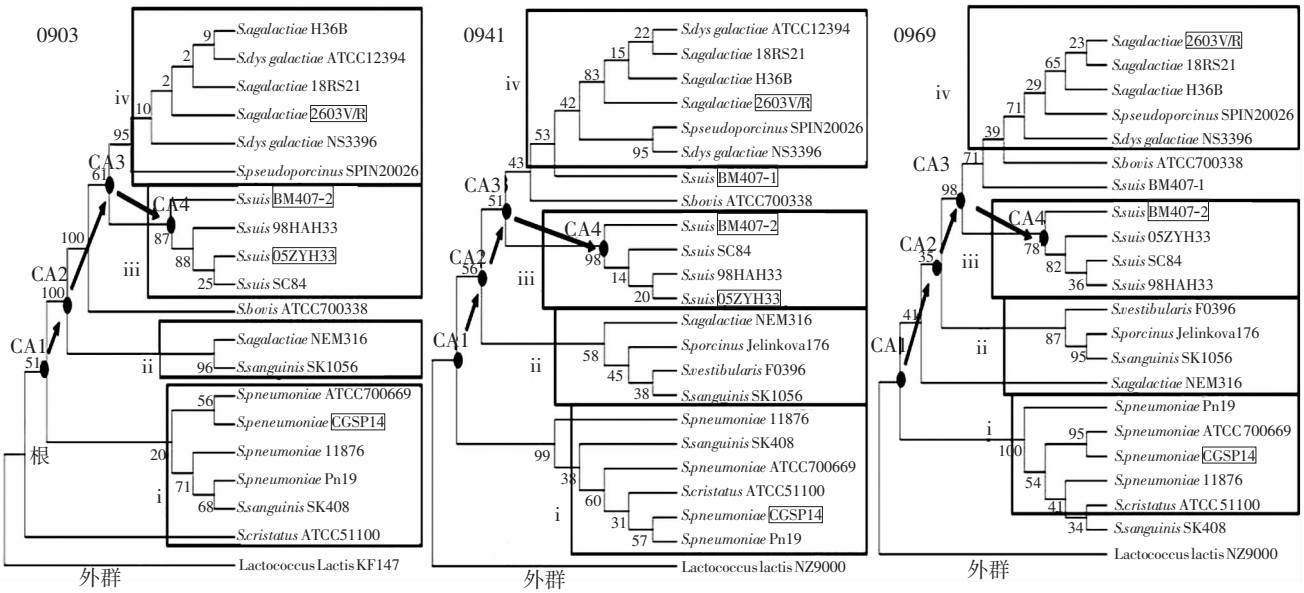


图 4　89K 致病岛结构功能示意图

保守区功能分析：将保守区内的 ORFs 分别进行分析发现，它们主要与 DNA 片段的切离、整合及水平转移相关。如 CR Ⅰ区的 0903 及 0904 2 个 ORF 分别编码整合酶（integrase）及其辅助蛋白（xis）；CR Ⅱ区中的 ORF 0913 编码裂缺酶（nickase），该



参数设置：Bootstrap = 1 000；BM407-1、BM407-2 用以区分保守区在 *S. suis* BM407 中的多处分布

图 5　3 个保守蛋白的系统发育树（邻近连接法构建）

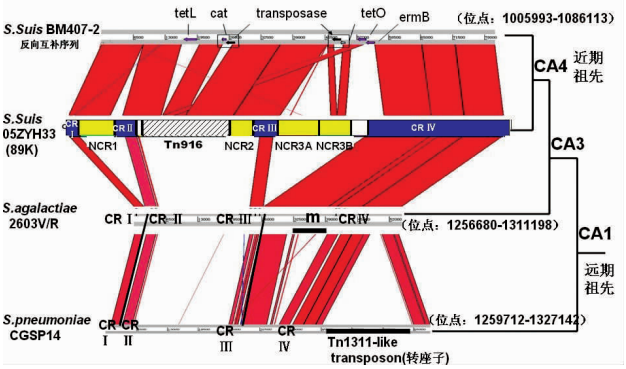
酶可在环状双链 DNA 上切开一裂缺以启动其转移；CR Ⅳ区的 ORF 0968、0969、0971、0973 分别编码Ⅳ型分泌系统的构成蛋白 vir B1、vir B4、vir B6、vir D6。此外，CR Ⅲ区的 0936、0937 可编码毒素-抗毒素系统（toxin-antitoxin）。

非保守区功能分析：NCR 1 区编码与羊毛硫抗菌肽（lantibiotic）合成相关的二元信号转导系统 nisK/nisR（0906、0907）及 lantibiotic 的转运系统（0908 ~ 0911）；NCR 2 区编码解旋酶（helicase，0934）及其辅助蛋白（0935），该区域可参与遗传元件的剪切、转录与复制；NCR 3A 编码二元信号转导系统 salK/salR（0943，0944），羊毛硫抗菌肽（lantibiotic）转运系统（0946 ~ 0948）及修饰酶 salM（0949）；NCR 3B 编码重组酶（recombinase，0951 ~ 0953），基团转移酶（transferase，0955 ~ 0958）。

2.5　系统发育及共线性分析

前面的分析表明，几个保守区在结构特征、进化起源方面都显示出共同性，这里我们从保守Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ区中各提取 1 个基因序列，分别是 ORF 0903（编码重组酶）、0941（编码引物酶）及 0969（编码Ⅳ型分泌系统），三者分别定位于 89K 致病岛的前、中、后部。以这 3 个蛋白的同源序列构建系统发育树（序列间 identity > 50%），以乳酸乳球菌中的同源蛋白作为外群（outgroup），构建有根的邻近连接树（图 5）。系统发育分析提示，89K 上的这 3 个蛋白经历了非常相似的进化途径：即从最古老的共同祖先 CA1（common ancestor）开始，经过 CA1→CA2→CA3→CA4 的路径；进化过程都具有ⅰ、ⅱ、ⅲ、ⅳ 4 个分支；89K 所在的 *S. suis* 05ZYH33 与 *S. suis* BM407 同在分支ⅲ，该分支与分支ⅳ亲缘关系较近（均由最近共同祖先 CA3 分化而来），而与分支ⅰ的关系较远。

为推测 89K 进化过程中的远期事件及近期事件，分别挑选了分支ⅰ的 *S. pneumoniae* CGSP14，分支ⅳ中的 *S. agalactiae* 2603V/R 及分支ⅲ中 *S. suis* BM407 的同源片段（0903、0982 同源基因之间的序列）进行共线性分析（图 6）。分析结果提示出 89K 逐渐整合的过程：*S. agalactiae* 2603V/R 与 *S. pneumoniae* CGSP14 的比较表明，远期祖先 CA1 时，CR Ⅰ和 CR Ⅱ，CR Ⅲ和 CR Ⅳ可能呈连续状态（*S. pneumoniae* CGSP14 的 CR Ⅳ区在后期进化过程中又插入了一段 Tn1311 样独立转座子）；CA1→CA3 进化时，有的菌株依然保留了这种连续状结构特征（如无乳链球菌 *S. agalactiae* 2603V/R），但在 CR Ⅳ区获得了一段长约 6 000 bp 的片段 m；CA3→CA4 进化时，CR Ⅰ和 CR Ⅱ，CR Ⅲ和 CR Ⅳ间开始插入非保守区片段，如 NCR1、NCR3 区；而 *S. suis* 05ZYH33 与 *S. suis* BM407 的比较则提示了近期的整合事件，图中所示 89K 相较于 *S. suis* BM407 新获得了 NCR 3A 区。



红色斜线表示同源区域，反映了片段逐渐整合过程；m：相比于 *S. pneumoniae* CGSP14、*S. agalactiae* 2603V/R 新获得的片段，0965 同源基因（凝集素受体，约 5 000 bp）位于 m 内

图 6　89K 致病岛与同源序列的共线性比较

3　讨论

1998 年及 2005 年，在我国分别出现了 2 次 2 型猪链球菌病大流行，且表现出发病急骤，来势凶险，病死率高的特征。后来的研究表明，导致我国 2 次大流行的菌株出现高致病性变异，最根本的变异是在这 2 次分离到的强毒株中出现了一个“89K 致病岛”[6]。基因组岛是由一些功能相关的基因簇集在一起形成的大

片段序列(10 ~200 kb),可通过基因横向转移方式从外部获得,常呈现出复杂的结构特征[7-8]。本研究通过序列比对、碱基组成计算、系统发育分析、共线性分析等生物信息学分析手段,解析 89K 致病岛的结构特征,探讨 89K 致病岛的可能进化历程。

首先,将 89K 致病岛全序列提交 GenBank 的核苷酸数据库进行 BLASTn 搜索,发现 89K 序列的同源序列已出现在 30 多种不同的细菌中。这表明 89K 序列的形成存在一个逐步累积、进化的自然过程,并非是一个形成已久的完整序列。某些片段出现在很多种细菌中,提示这些片段在进化历程中具有保守性。本结果显示,"89K 序列"存在 4 个"保守区域",中间插入了 3 个"非保守区"及一段 Tn916 转座子,该转座子有其自身独特的转移机制[9],其横向转移十分活跃,可能早已通过水平转移事件成为 89K 的构成序列。

接着,将 89K 序列中的各 ORF 作为搜索序列,在蛋白质数据库 Uniprot 中进行了搜索,获取各 ORF 同源蛋白,建立了 89K 全序列的同源蛋白数据库。分析这些同源蛋白在不同细菌基因组中的分布特征,发现 4 个保守区的序列主要分布在链球菌属细菌中,而非保守区序列分布较为广泛,它们可出现于李斯特菌、芽孢杆菌、霍乱弧菌、葡萄球菌、肠球菌、耶耳森菌、梭状芽孢杆菌等亲缘关系彼此较远的细菌中。这似乎提示 89K 致病岛的 4 个保守区是其骨架序列,它们原本是链球菌属细菌基因组构成序列,而非保守区序列则是通过横向转移事件来源于那些亲缘关系较远的其他细菌。由于不同来源的 DNA 片段,G + C 含量往往不同,该指标常被用于判断基因组中的重组事件[10]。GC 含量分析表明,4 个保守区 GC 含量彼此接近,与链球菌基因组序列的含量接近;而 3 个非保守区序列的 GC 含量则明显远离链球菌基因组序列 GC 含量均线。同样支持非保守区序列是进化过程中插入进来的横向转移序列。

功能分析发现,各个区域包含有不同的功能集团,保守区内的基因功能主要满足 89K 致病岛这个整体在不同细菌之间转移和稳定的需要。例如,研究表明,0903、0904、0913、0968、0969、0971、0973 的编码产物与 89K 致病岛的横向转移相关[11];此外,CR Ⅲ区的 0936、0937 编码产物毒素-抗毒素系统(toxin-antitoxin),可能与基因组岛插入基因组后的稳定机制相关[12]。对非保守区的功能分析发现,NCR 1 区可能与一类常见的羊毛硫抗菌肽 nisin 的合成与分泌有关[13];NCR 2 区可参与遗传元件的剪切、转录与复制;NCR 3A 与一类特殊的羊毛硫抗菌肽 salivaricin 的合成修饰相关[14];NCR 3B 与 DNA 片段的水平转移事件及药物基团修饰相关。基于 89K 致病岛的结构特点及各区域的功能特点,我们推测 89K 极有可能是由一个可水平转移的元件(主要由保守区组成),在移动过程中不断获取外来序列而形成的。

由于几个保守区在结构特征、进化起源方面都显示出共同性。进而,我们从 89K 致病岛的前、中、后各部位(即保守Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ区)各提取 1 个基因序列,构建系统发育树,由细菌进化史可知,乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*)与链球菌属细菌亲缘关系最近,且比链球菌分化更早[15],故挑取乳酸乳球菌中的同源蛋白作为外群(outgroup),构建有根的系统发育树。结果表明这 3 个部位的基因都经历了非常相似的进化途径,进化过程都包含ⅰ、ⅱ、ⅲ、ⅳ 4 个分支,具有类似的进化模式(pattern)。将 89K 序列与系统发育树中揭示的近缘关系菌(*S. suis* BM407-2、*S. agalactiae* 2603V/R)和远缘关系菌(*S. pneumoniae* CGSP14)进行共线性分析,根据分析结果我们推测:89K 致病岛的 4 个保守区是其基本骨架,来自于链球菌属基因组,它们的功能组合可满足基因元件水平转移的需要,这些保守区在进化史的某个阶段以连续状态存在。在进化的历程中,某些菌株的保守区保留了祖先状态时的连续特征,但另一些菌株中,有来自不同菌属的非保守区序列,通过横向转移机制,插入进了连续的保守区之间,构成了新的重组序列。历经多次重组事件后,最终形成了如今在 2 型猪链球菌基因组中所看到的"89K 致病岛"结构,呈现出"保守区-非保守区"的镶嵌结构模型。因此,我们可以认为 89K 致病岛的形成是在祖先状态已有的结构基础上,毒力相关基因分批次累积形成的,这个累积的全过程并非是在 *S. suis* 05ZYH33 中完成,而是经历了在多种链球菌中的进化并最终转移到了 *S. suis* 05ZYH33。89K 所包含的基因的功能分析表明,目前这个结构除了能满足致病性需求外[3],也可满足它们作为一个整体在不同细菌间"切离、转移和整合"的需要。基于 89K 的整合历程分析,我们可以推测,89K 致病岛将会是一个动态变化的序列结构,在进化过程中,可能再度募集新片段或丢失已有的片段,并进行结构和功能的调整,造成宿主菌在致病、耐药等特性上的改变。

参考文献:

[1] Gottschalk M, Segura M, Xu J. Streptococcus suis infections in humans: the Chinese experience and the situation in North America[J]. Anim Health Res Rev, 2007, 8(1): 29 -45.

[2] Tang J, Wang C, Feng Y, *et al*. Streptococcal toxic shock syndrome caused by Streptococcus suis serotype 2[J]. PLoS Med, 2006, 3(5): e151.

[3] Li M, Wang C, Feng Y, *et al*. SalK/SalR, a two-component signal transduction system, is essential for full virulence of highly invasive Streptococcus suis serotype 2[J]. PLoS One, 2008, 3(5): e2080.

[4] Zhao Y, Liu G, Li S, *et al*. Role of a type Ⅳ-like secretion system of

Streptococcus suis 2 in the development of streptococcal toxic shock syndrome[J]. J Infect Dis, 2011, 204(2): 274 - 281.
[5] Tamura K, Peterson D, Peterson N, *et al*. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. Mol Biol Evol, 2011, 28(10): 2731 - 2739.
[6] Chen C, Tang J, Dong W, *et al*. A glimpse of streptococcal toxic shock syndrome from comparative genomics of S[J]. suis 2 Chinese isolates, 2007, 2(3): e315.
[7] Juhas M, van-der-Meer J R, Gaillard M, *et al*. Genomic islands: tools of bacterial horizontal gene transfer and evolution[J]. FEMS Microbiol Rev, 2009, 33(2): 376 - 393.
[8] Morabito S, Tozzoli R, Oswald E, *et al*. A mosaic pathogenicity island made up of the locus of enterocyte effacement and a pathogenicity island of Escherichia coli O157: H7 is frequently present in attaching and effacing E. coli[J]. Infect Immun, 2003, 71(6): 3343 - 3348.
[9] Mullany P, Roberts A P, Wang H. Mechanism of integration and excision in conjugative transposons[J]. Cell Mol Life Sci, 2002, 59(12): 2017 - 2022.
[10] Syvanen M. Horizontal gene transfer: evidence and possible consequences[J]. Annu Rev Genet, 1994, 28: 237 - 261.
[11] Li M, Shen X, Yan J, *et al*. GI-type T4SS-mediated horizontal transfer of the 89K pathogenicity island in epidemic Streptococcus suis serotype 2[J]. Mol Microbiol, 2011, 79(6): 1670 - 1683.
[12] Wozniak R A, Waldor M K. A toxin-antitoxin system promotes the maintenance of an integrative conjugative element[J]. PLoS Genet, 2009, 5(3): e1000439.
[13] Kuipers O P, Beerthuyzen M M, de-Ruyter P G, *et al*. Autoregulation of nisin biosynthesis in Lactococcus lactis by signal transduction[J]. J Biol Chem, 1995, 270(45): 27299 - 27304.
[14] Bierbaum G, Sahl H G. Lantibiotics: mode of action, biosynthesis and bioengineering[J]. Curr Pharm Biotechnol, 2009, 10(1): 2 - 18.
[15] Battistuzzi F U, Feijao A, Hedges S B. A genomic timescale of prokaryote evolution: insights into the origin of methanogenesis, phototrophy, and the colonization of land[J]. BMC Evol Biol, 2004, 4: 44.

（**收稿**:2011-12-08;**修回**:2012-01-11）
（编辑　邓强庭）

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2012)06-0472-01

板栗刺致角膜、前房多发异物伴大泡性角膜病变1例

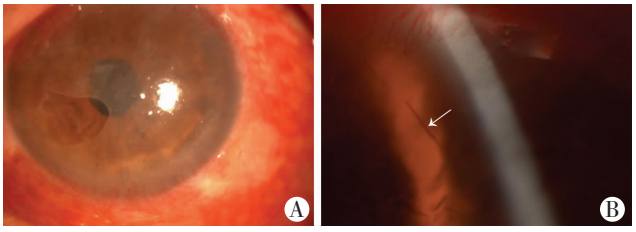
霍　剑,谢汉平,杨于力　（400038 重庆,第三军医大学西南医院全军眼科中心）

[**关键词**] 板栗刺;大泡性角膜病变
[**中图法分类号**] R772.2　[**文献标志码**] B

1 临床资料

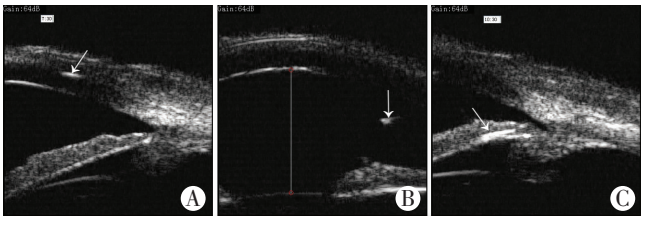
患者,男性,57岁。于2011年9月23日工作时不慎被“板栗刺”刺伤左眼,即感左眼疼痛、视物模糊,到当地县医院就诊,分次剔除部分板栗刺并给予输液治疗4 d(具体治疗不详),自觉症状好转后出院,2011年10月8日患者感左眼红、胀痛加重,再次到当地县医院就诊,建议患者到上级医院进一步治疗。2011年10月10日我院眼科门诊以“左眼角膜、前房异物,左眼大泡性角膜病变”收入院。眼部检查:右眼视力:0.8,矫正无助;左眼视力0.04,矫正无助;眼压:右眼17.1 mmHg(NCT),左眼14.37 mmHg(修氏眼压)。

右眼前、后节检查未见异常。左眼上睑肿胀(++),球结膜混合充血(++),全层角膜雾状混浊、水肿(++),可见多处散在线状异物,部分刺入前房,角膜周边可见新生血管长入,鼻下方可见一4 mm×3 mm大小上皮缺损区,角膜后弹力层皱褶(图1A),前房轴深3CT,Tyn(+),可见数根线状异物横行浮游于前房(图1B),虹膜纹理欠清,瞳孔直径约3 mm,对光反射迟钝,晶状体透明,玻璃体、眼底结构窥不清。眼部B超检查:左眼玻璃体混浊、玻璃体后脱离(posterior vitreous detachment, PVD)。超声生物显微镜(ultrasound biomicroscopy, UBM)检查:左眼前房深度正常,角膜混浊,可见多个强回声,前房内见点状强回声,未见明显声影,部分房角狭窄,全周睫状体未见明显异常回声。提示:角膜异物,前房异物,角膜混浊,部分房角轻度狭窄(图2)。角膜厚度测量:左眼825 μm。角膜内皮细胞计数:左眼无法计数。诊断“左眼角膜、前房异物,左眼大泡性角膜病变”。给予营养角膜、抗炎预防感染、抗真菌等治疗,患者要求出院,嘱患者随访。



A:角膜、前房多处散在线状异物(×16);B:前房线状异物(↑,×40)

图1　板栗刺刺伤患者左眼前节观察



A:角膜基质层异物(↑);B:前房异物(↑);C:虹膜异物(↑)

图2　板栗刺刺伤患者左眼UBM检查提示角膜、前房、虹膜多发异物

[**通信作者**] 谢汉平,电话:(023)68765377,E-mail: xiehanping@yahoo.com.cn

（下转484页）