

of diet in renal disease formula underestimates glomerular filtration rate in obese type 2 diabetic individuals with chronic kidney disease [J]. *Diabetologia* ,2011 ,54: 1304 – 1307

16 Afghahi H ,Cederholm J ,Eliasson B , *et al.* Risk factors for the development of albuminuria and renal impairment in type 2 diabetes: the Swedish National Diabetes Register (NDR) [J]. *Nephrol Dial Transplant* ,2011 26: 1236 – 1243

17 Dwyer J ,Parving H ,Hunsicker L , *et al.* Renal dysfunction in the presence of normoalbuminuria in type 2 diabetes: results from the DE-MAND study [J]. *Cardiorenal Med* ,2012 2: 1 – 10

18 Penno G ,Solini A ,Bonora E , *et al.* Clinical significance of non albuminuric renal impairment in type 2 diabetes [J]. *J Hypertens* , 2011 29: 1802 – 1809

19 De Boer I ,Rue T ,Hall Y , *et al.* Temporal trends in the prevalence of diabetic kidney disease in the United States [J]. *JAMA* , 2011 , 305: 2532 – 2539

20 Vupputuri S ,G. A. Nichols ,H. Lau *et al.* Risk of progression of nephropathy in a population – based sample with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Research and Clinical Practice* ,2011: 246 – 252

21 ADVANCE Collaborative Group. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes [J]. *N Engl J Med* , 2008 358: 2560 – 2572

22 Ismail – Beigi F ,Craven T ,Banerji M , *et al.* Effect of intensive treatment of hyperglycaemia on microvascular outcomes in type 2 diabetes: an analysis of the ACCORD randomized trial [J]. *Lancet* , 2010 376: 419 – 430

23 American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes – 2010 [J]. *Diabetes Care* 2010 33(Suppl. 1) : 11 – 61

(收稿日期: 2014 – 08 – 25)
(修回日期: 2014 – 09 – 05)

创伤弧菌流行病学调查及致病机制研究现状

武 静 刘晓斐 胡成进

摘 要 创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*)是一种栖息于海洋环境、致病性极强的嗜盐性细菌。近年来该菌引起感染的病例逐年增加。该病起病急、病情进展快、病死率高,促使人们对创伤弧菌的致病机制进行了深入的研究。目前认为,创伤弧菌致病因子主要包括胞外溶细胞素、金属蛋白酶、荚膜多糖、铁超载等,并且有些致病因子受共同毒力因子的调控,协同发挥作用。现将近年来有关创伤弧菌流行病学调查及致病机制研究现状做一综述。

关键词 创伤弧菌 流行病学 致病机制

中图分类号 R378 文献标识码 A DOI 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.03.048

创伤弧菌广泛分布于海水中,是一种嗜盐革兰阴性弧菌,该菌主要通过伤口接触海水造成感染,也可经口感染。本病具有发病急、病情重、病死率高等特点,50%的患者在发病后48h内死于多器官衰竭^[1]。2006年美国《Emerging Infectious Diseases》杂志将创伤弧菌列入最危险的细菌之列。目前认为该菌可以产生多种致病因子,如胞外溶细胞素、金属蛋白酶、荚膜多糖、铁超载等。有些致病因子受共同毒力因子的调控,协同发挥作用。

一、流行病学调查

美国FDA的一项报告指出,1992~2007年间美国共报道459例创伤弧菌感染病例,病死率为51.6%^[2];2006年,日本106例创伤弧菌感染者中病

死率为67%^[3]。韩国对2001~2010年创伤弧菌感染状况进行了回顾性定量分析发现,588例感染患者中有285例死亡(病死率达48.5%);男性感染率显著高于女性(男性病例占86.1%,女性病例仅占13.9%),且年龄>40岁的病例占95.1%;6~11月份为高发季节(季节发生率为99.6%);感染病例在沿海村庄达到69.9%,在城市仅为30.1%^[4]。有研究结果显示,随着海水温度升高创伤弧菌的生长率增加,从而解释了感染多发于温暖季节的现象^[5]。因此,研究者进一步推测,全球变暖可能导致弧菌感染的频率增加及地理范围的扩展。此外,研究者还发现雌激素能够降低创伤弧菌的脂多糖的致病性,因此,创伤弧菌感染有明显的性别差异^[6]。

创伤弧菌感染主要引起胃肠炎、脓毒症以及皮肤和软组织感染。其中,脓毒症发生率较高,且病死率常>50%^[7]。提高生存率,应做到早期诊断,早期联合抗菌药物治疗,尽早外科手术切开减压引流,彻底清除坏死组织,肌肉坏死严重时尽早行截肢治疗^[8]。

基金项目: 全军十二五重点基金资助项目(BWS12J014)

作者单位: 121001 锦州 辽宁医学院(武静); 250031 中国人民解放军济南军区总医院实验诊断科(刘晓斐、胡成进)

通讯作者: 胡成进, 电子信箱: 405045650@qq.com

由于创伤弧菌感染后病死率高,如果该病患者在72h内未进行相应处理,病死率便会增加到100%^[9]。因此,只有深入研究创伤弧菌感染后的临床及流行病学特征,才能更及时、准确地做出诊断。

二、致病因子研究

1. 溶细胞素: 创伤弧菌溶细胞素是唯一分泌至细胞外并具有种特异性的外毒素,其最典型的功能为溶血和细胞毒活性,诱导细胞凋亡坏死,导致组织和器官损伤。在肠道感染时,创伤弧菌溶细胞素能够促进细菌快速生长并导致内皮组织损伤。王永明等^[10]通过生物信息学方法发现溶细胞素中存在蓖麻毒素B链的功能膜序。溶细胞素中的蓖麻毒素B链通过与细胞膜表面结合,逐步进入到胞质中。蓖麻毒素是一种蛋白质合成抑制剂,能抑制蛋白质合成,引起细胞凋亡或坏死,还能诱导产生细胞因子,引起脂质过氧化作用。

2. 金属蛋白酶: 在创伤弧菌感染过程中,金属蛋白酶也发挥着重要作用。一方面能够增加血管通透性引起水肿,导致皮肤损伤、组织坏死;另一方面在细菌的黏附、侵袭和增殖方面也起着重要作用。最近有研究报道,金属蛋白酶具有凝血酶原活性及纤溶活性而且可以参与感染过程中的铁吸收^[11]。创伤弧菌通过调控金属蛋白酶的表达量来适应各种环境变化。金属蛋白酶的表达量在细胞水平受cAMP受体蛋白、协调毒力因子表达的基因(SmcR)和RpoS基因的调控^[12];在胞外水平受IV型前导肽酶介导的II型分泌系统的调控。

3. 荚膜多糖: 荚膜多糖是创伤弧菌细胞外基质的主要成分,存在于70%的菌株中,可以限制生物膜生长,从而决定生物膜大小^[12,13]。生物膜有利于细菌抵抗宿主的侵袭,最近有关生物膜快速形成导致急性感染的报道逐渐增多^[14]。荚膜多糖的另一个主要功能是抗补体作用,避免替代途径的激活。最近有研究报道,荚膜多糖还能够诱导人肠上皮细胞炎性细胞因子IL-8的产生^[15]。

4. 铁超载: 铁是一些代谢途径的辅助因子,在创伤弧菌感染过程中起着重要的作用。在小鼠模型研究中发现,注射铁剂后能够显著降低创伤弧菌菌株的半数致死量,表明了铁超载能够增加创伤弧菌的致病性^[16]。创伤弧菌具有多种铁吸收系统,受VuuA、IutA和HupA3种受体的调控,并通过铁吸收调节蛋白基因(Fur)对这些受体的表达进行负调控^[16]。

三、毒力调控

1. 群体感应: 群体感应是细菌细胞外的信号传递过程,被认为是细菌的“语言”,该传递过程涉及了信号分子密度依赖性识别,可以调控基因表达。研究表明,除了铁,群体感应也能够间接调控SmcR的表达^[17]。因此可以通过评估SmcR突变株毒力大小评价群体感应系统在创伤弧菌致病性中的作用。结果发现,SmcR突变株的毒力与定植力相比野生株均减弱,而且小鼠空肠组织的病理损伤程度也减弱,因此,SmcR在创伤弧菌感染中发挥了重要作用,故群体感应在创伤弧菌的致病性方面也发挥着举足轻重的作用^[18]。

2. 共同毒力调节: 另一种在毒力和机制方面被广泛研究的共同调控子是cAMP-cAMP受体蛋白(CRP)系统。CRP是一种在代谢物阻遏方面发挥作用的共同调控子。创伤弧菌的多种致病因子如溶细胞素、金属蛋白酶等都受cAMP-cAMP受体蛋白系统的调控。除了cAMP-cAMP受体蛋白系统,另一种转录调控子AphB也已经被认识到。AphB主要调控与营养吸收和代谢有关的基因,从而通过控制生长和环境适应来间接作用于毒力因子^[11]。

3. HlyU: HlyU是一种主要的调控子,在创伤弧菌的致病性上起着重要的作用。有报道称HlyU通过结合在基因RtxA1的上游启动子上来正向调节RtxA1的表达。RtxA1在侵袭的早期阶段能够促进感染传播入血,而且能够导致小肠绒毛中断、上皮坏死和炎症^[11]。

四、展望

近年来,随着气候变暖和海上作业活动的增加,创伤弧菌感染病例逐年增加,越来越引起人们重视。由于创伤弧菌致死率极高,因此对该病的预防和治疗十分重要。对有皮肤伤口的患者不要接触海水,对高危因素(肝硬化、血液病等)的患者要告诫不生食海鲜,对有生食海鲜并有胃肠炎、败血症的患者,临床医生要高度警惕感染发生的可能性。然而,为及时、准确地对感染病例做出诊断,流行病学特征还需进一步完善,致病机制也需要进一步阐明。

目前,本课题组已经研制了创伤弧菌检测试剂盒,正在做进一步验证。另外,课题组以创伤弧菌感染小鼠模型为基础,从炎症机制及免疫机制方面对创伤弧菌致病机制进行了深入探讨。在炎症方面,笔者观察了小鼠感染创伤弧菌后各组织脏器的病理改变,检测了血液学及生化指标,并利用小鼠炎性因子抗体

芯片对创伤弧菌感染后小鼠血清及肝脏匀浆液进行了炎性因子检测,发现了几种重要的炎性因子,并对主要炎性因子的功能进行了探讨;在免疫机制方面,利用流式细胞仪检测了小鼠感染创伤弧菌后 Th 细胞亚群的变化,发现了一定的动态变化规律,并用抗体阻断的方法对其功能进行了初步验证。期望更多的同行能够关注创伤弧菌的致病机制研究,为创伤弧菌的诊断、治疗和预防提供新的理论依据。

参考文献

- 1 Stamm LV. Role of TLR4 in the host response to *Vibrio vulnificus*, an emerging pathogen [J]. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2010, 58(3): 336 - 343
- 2 Jones MK, Oliver JD. *Vibrio vulnificus*: disease and pathogenesis [J]. *Infection and Immunity* 2009, 77(5): 1723 - 1733
- 3 Inoue Y, Ono T, Matsui T, *et al.* Epidemiological survey of *Vibrio vulnificus* infection in Japan between 1999 and 2003 [J]. *The Journal of Dermatology*, 2008, 35(3): 129 - 139
- 4 Lee SH, Chung BH, Lee WC. Retrospective analysis of epidemiological aspects of *Vibrio vulnificus* infections in Korea in 2001 - 2010 [J]. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 2013, 66(4): 331 - 333
- 5 DaSilva L, Parveen S, DePaola A, *et al.* Development and validation of a predictive model for the growth of *Vibrio vulnificus* in postharvest shellstock oysters [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(6): 1675 - 1681
- 6 Oliver JD. *Vibrio vulnificus*: death on the half shell. A personal journey with the pathogen and its ecology [J]. *Microbial Ecology*, 2013, 65(4): 793 - 799
- 7 Horseman MA, Surani S. A comprehensive review of *Vibrio vulnificus*: an important cause of severe sepsis and skin and soft - tissue infection [J]. *Int J Infect Dis*, 2011, 15(3): e157 - 166
- 8 Matsuoka Y, Nakayama Y, Yamada T, *et al.* Accurate diagnosis and treatment of *Vibrio vulnificus* infection: a retrospective study of 12 cases [J]. *Braz J Infect Dis*, 2013, 17(1): 7 - 12
- 9 Anderson M, Knudson M, Frieberg E, *et al.* Fatal *Vibrio vulnificus* sepsis in vertically acquired hepatitis C [J]. *Journal of Pediatric*

gastroenterology and Nutrition, 2013, 56(5): e32 - 33

- 10 王永明, 谢金楼. 创伤弧菌溶细胞素蓖麻毒素 B 活性模序的预测、克隆表达和功能鉴定 [J]. *中华微生物和免疫学杂志*, 2013, 33(5): 367 - 368
- 11 Yun JH, Kim H, Park JE, *et al.* Solution structure and dynamics of C - terminal regulatory domain of *Vibrio vulnificus* extracellular metalloprotease [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2013, 430(2): 541 - 546
- 12 Natividad - Bonifacio I, Fernandez FJ, Quinones - Ramirez EI, *et al.* Presence of virulence markers in environmental *Vibrio vulnificus* strains [J]. *Journal of Applied Microbiology* 2013, 114(5): 1539 - 1546
- 13 Lee KJ, Kim JA, Hwang W, *et al.* Role of capsular polysaccharide (CPS) in biofilm formation and regulation of CPS production by quorum - sensing in *Vibrio vulnificus* [J]. *Molecular Microbiology* 2013, 90(4): 841 - 857
- 14 Canton R, Ruiz - Garbajosa P, Chaves RL, *et al.* A potential role for daptomycin in enterococcal infections: what is the evidence? [J]. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2010, 65(6): 1126 - 1136
- 15 Lee BC, Kim MS, Choi SH, *et al.* Involvement of capsular polysaccharide via a TLR2/NF - kappaB pathway in *Vibrio vulnificus* - induced IL - 8 secretion of human intestinal epithelial cells [J]. *International Journal of Molecular Medicine* 2010, 25(4): 581 - 591
- 16 Datta S, Crosa JH. Identification and characterization of a novel outer membrane protein receptor required for heme utilization in *Vibrio vulnificus* [J]. *Biometals*, 2012, 25(2): 275 - 283
- 17 Kim IH, Wen Y, Son JS, *et al.* The fur - iron complex modulates expression of the quorum - sensing master regulator, SmcR, to control expression of virulence factors in *Vibrio vulnificus* [J]. *Infection and Immunity*, 2013, 81(8): 2888 - 2898
- 18 Kim SM, Park JH, Lee HS, *et al.* LuxR homologue SmcR is essential for *Vibrio vulnificus* pathogenesis and biofilm detachment, and its expression is induced by host cells [J]. *Infection and Immunity*, 2013, 81(10): 3721 - 3730

(收稿日期: 2014 - 08 - 19)

(修回日期: 2014 - 09 - 22)

(上接第 114 页)

- 15 Lerner - Ellis JP, Tirone JC, Pawelek PD, *et al.* Identification of the gene responsible for methylmalonic aciduria and homocystinuria, cblC type [J]. *Nat Genet* 2006, 38(1): 93 - 100
- 16 Kim J, Gherasim C, Baneoe R. Decyanation of vitamin B12 by a trafficking chaperone [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(38): 14551 - 14554
- 17 顾学范. 苯丙酮尿症防治现状及进展 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2000, 15: 297 - 299
- 18 Kwok SC, Ledley FD, DiLella AG, *et al.* Nucleotide sequence of a full

- length complementary DNA clone and amino acid sequence of human phenylalanine hydroxylase [J]. *Biochemistry*, 1985, 24(3): 556 - 561

- 19 瞿宇晋, 宋昉, 金煜炜, 等. 北京地区苯丙酮尿症基因突变构成及基因型与表型相关分析 [J]. *中华儿科杂志*, 2009, 46(2): 115 - 119
- 20 韩连书, 王斐, 胡宇, 等. 河北地区 55 例苯丙酮尿症患者苯丙氨酸羟化酶基因突变的检测与分析 [J]. *中华医学杂志*, 2011, 91(42): 2971 - 2976

(收稿日期: 2014 - 07 - 14)

(修回日期: 2014 - 09 - 22)