

猪链球菌毒力因子的研究进展

刘纪成 张敏 李建柱 李卫
(信阳高等农业专科学校, 河南 信阳 464000)

中图分类号: S852.6

文献标识码: A

文章编号: 1004-7034(2012)01-0023-03

关键词: 猪链球菌; 毒力因子; 研究进展; 功能

摘要: 猪链球菌病是一种重要的人畜共患病, 给人类和养猪业的健康发展造成极大的危害。猪链球菌的毒力因子包括荚膜多糖(CPS)、溶菌酶释放蛋白(MRP)、胞外因子(EF)、溶血素(SLY)、毒力相关序列(ORF2)、纤连蛋白和血纤蛋白原结合蛋白(FBPS)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、IgG结合蛋白等, 它们与猪链球菌的致病性有着密切的关系。笔者通过总结毒力因子对猪链球菌致病机理的影响, 以期能为猪链球菌病疫苗的研制和治疗提供理论基础。

Research and development on virulence factors of *Streptococcus suis*

LIU Ji - cheng ZHANG Min LI Jian - zhu LI Wei

(Xinyang Agricultural College, Xinyang 464000, China)

Key words: *Streptococcus suis*; virulence factors; research and development; function

Abstract: *Streptococcus suis* disease is an important zoonosis causing enormous harm to both the swine industry and human health. Its virulence factors include capsular polysaccharide (CPS), muramidase - release protein (MRP), extra - cellular factor (EF), sulfolysin (SLY), virulence - associated sequence (ORF2), fibronectin/fibrinogen - binding proteins (FBPS), glutamate dehydrogenase (GDH), IgG - binding proteins and etc. This paper summarizes the effects of these virulence factors on the mechanisms in pathogenesis of *Streptococcus suis*, providing a theoretical basis for the development of vaccines and treatments.

猪链球菌病(*Streptococcus suis*, SS)是一种重要的人畜共患病。近年来, 该病的发病率和死亡率有逐年上升趋势, 给养猪业带来了极大的经济损失。猪链球菌广泛存在于健康猪呼吸道中, 猪群是否发病与猪链球菌数量无直接关系, 而与该菌株的致病力有关。关于猪链球菌致病力与毒力因子的相关性研究较多, 文章仅就猪链球菌主要的毒力因子荚膜多糖(CPS)、溶菌酶释放蛋白(MRP)、胞外因子(EF)、溶血素(SLY)、毒力相关序列(ORF2)、纤连蛋白和血纤蛋白原结合蛋白(FBPS)、谷氨酸脱氢酶(GDH)、IgG结合蛋白作一综述。

1 荚膜多糖

猪链球菌2型的荚膜多糖主要由N-乙酰葡萄糖胺、葡萄糖、半乳糖、唾液酸和鼠李糖构成, 荚膜多糖的主要作用是保护细菌逃避动物免疫系统吞噬细胞的吞噬和消除。M. A. Segura等^[1]研究表明, 猪链球菌2型有荚膜的亲本株不被鼠巨噬细胞吞噬, 而无

荚膜的突变株则很容易被吞噬。H. E. Smith等研究表明, 猪肺尘细胞对无荚膜突变株具有较高的吞噬性, 通过呼吸道人工接种表现无感染性, 但大多数无毒力的菌株也具有荚膜, 且抗荚膜多糖的血清不能完全防疫感染, 表明猪链球菌的荚膜多糖与细菌毒力无关。

2 溶菌酶释放蛋白和胞外因子

溶菌酶释放蛋白又称类M蛋白, 主要由1208个氨基酸组成, 是猪链球菌最重要的毒力因子之一, 含有溶菌酶释放蛋白的菌株能逃避吞噬细胞的吞噬, 进而选择性地在上皮细胞中繁殖^[2]。胞外因子是细胞外蛋白, 仅能从培养物上清液中分离。U. Vecht等^[3]研究了近200株自然感染猪链球菌2型分离株, 发现致病性菌株均含有溶菌酶释放蛋白和胞外蛋白, 而非致病性菌株则缺少这2种毒力因子; 因此, 可以推断溶菌酶释放蛋白和胞外蛋白是非常重要的毒力因子, 而且与猪链球菌的致病性存在紧密关系。有学者应用免疫转印试验发现这2种毒力因子都具有较强的免疫原性, 而且越来越多的不同分子质量的溶菌酶释放蛋白和胞外蛋白, 并且不同国家猪链球菌2型分离株的溶菌酶释放蛋白和胞外蛋白的相对分子质量有所差异, 如美国、澳大利亚、荷兰、西班牙等国家的猪链球菌2型致病株多数为大分子质量的溶菌酶释放蛋白和大分子质量的胞外蛋白, 而北美加拿大的

收稿日期: 2011-02-27; 修回日期: 2011-10-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(30972161)

作者简介: 刘纪成(1977-), 男, 讲师, 硕士, 601758635@qq.com.

通信作者: 李卫(1982-), 男, 讲师, 硕士.

猪链球菌 2 型致病菌株多为小分子质量的溶菌酶释放蛋白或超大分子质量的胞外蛋白。

3 溶血素

猪链球菌溶血素属于硫醇激活的毒素家族,研究发现致病性猪链球菌在侵袭机体和破坏免疫细胞的过程中,溶血素通过对机体的血小板和淋巴细胞的损伤来破坏机体的凝血系统和免疫系统。研究表明,溶血素阳性的猪链球菌可以导致脑膜炎症状,其机理是通过破坏脉络丛神经上皮细胞,从而突破血脑屏障。G. Vanier 等^[4]研究表明,猪链球菌 2 型溶血素的不同浓度对猪脑微血管内皮细胞的损伤作用有所不同,浓度约 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时损伤程度最大,不含溶血素的猪链球菌无细胞毒性作用。M. A. Segers 等^[1]用 PCR 方法检测欧洲猪链球菌分离株溶血素基因,其检出率为 95% (19/20),而北美猪链球菌分离株的检出率只有 7% (2/27)。有人用相同的方法检测了 300 株猪链球菌分离株,检出率为 69.4%;因此,推断猪链球菌溶血素可能是一种保护性抗原。

4 毒力相关序列

H. E. Smith 等通过体内互补法在猪链球菌弱毒株基因文库中引入遗传背景相似的强毒株,人工感染健康仔猪,在中枢神经系统中分离、纯化该菌,成功地发现一段毒力相关序列。李干武等^[5]在我国猪链球菌分离株中检测到毒力相关序列。序列分析结果表明,毒力相关序列符合毒力相关序列基因的结构特点,同时与推测的毒力相关序列基因序列的同源性为 100%,推断毒力相关序列可能是一种新的毒力相关基因。

5 血纤蛋白原(Fgn)结合蛋白和纤连蛋白

研究表明,血纤蛋白原结合蛋白不仅可以吸附到人纤维蛋白原和血纤维蛋白原上,而且对猪具有较强的免疫原性,能够产生特异性抗体;因此,认为血纤维蛋白原结合蛋白可能是一种新的毒力因子。血纤蛋白原是由 α 、 β 和 γ 3 种肽链组成的分子质量约为 340 ku 的糖蛋白,在血栓中以不溶成分存在,在血浆中以可溶性成分存在^[6]。纤连蛋白(Fn)是分子质量约为 440 ku 的二聚体糖蛋白,许多细胞均可分泌产生,主要以纤维状存在于细胞外基质(ECM)中或者以可溶形式存在于血浆和体液中。黏附通常是细菌建立繁殖和感染的先决条件,血纤蛋白原和纤连蛋白与不同的底物结合,具有不同的功能,由此推断纤连蛋白和血纤蛋白原结合蛋白具有多种功能。

6 谷氨酸脱氢酶

为了获得猪链球菌的保护性抗原和诊断性抗原,O. Okwumabua 等^[6]从免疫猪获得的多克隆抗体中筛选出分子质量为 45 ku 的猪链球菌特异性蛋白,同时利用限制性内切酶分析得出这种蛋白存在于基因组内切酶功能区的 1.6 kb 处。序列分析结果表明,这

种蛋白基因序列含有高度保守片段和典型的谷氨酸脱氢酶蛋白 1 型家族的功能区,而且与其他生物中谷氨酸脱氢酶氨基酸序列的相似性非常高;因此,将其列入谷氨酸脱氢酶家族。研究表明,猪链球菌谷氨酸脱氢酶还具有高度的保守性,通过参考谷氨酸脱氢酶基因序列设计了一对特异性引物,对来源于不同地区、不同器官及不同血清型的 306 株猪链球菌进行检测,发现该基因的检出率为 100%。

7 IgG 结合蛋白

研究表明,IgG 结合蛋白的分子质量约为 60 ku,存在于细胞表面。能连接在人源和猪源的 IgG - Fc 片段上,通过亲和层析纯化后的 IgG 结合蛋白,在电镜下观察呈细丝状,乙醇胺和尿素能破坏这种结构。猪免疫血清中的免疫球蛋白,如 IgM、IgG 等在体内均能一定程度地抵御猪链球菌 2 型的攻击,而对动物机体起到一定的保护作用。免疫转印试验结果表明,能被机体免疫血清识别的抗原相对分子质量分别为 44 000、78 000,而相对分子质量更大的 4 种抗原在一定程度上能够逃避免疫血清的攻击^[7]。

8 其他毒力因子

研究发现,细菌的表面成分纤毛和黏着素也和菌株的毒力相关,它们也属于毒力因子。电镜观察发现,猪链球菌不同型的菌体表面都有纤细而富有弹性的绒毛状纤毛,纤毛的长度和密度相同。猪链球菌黏着素是一种能黏附组织的蛋白质,体外试验结果表明,含有黏着素的致病菌株能够黏附到肺组织细胞上,而含有黏着素的非致病性菌株黏附到肺组织上的能力相对较弱,可见纤毛和黏着素与猪链球菌的黏附繁殖及致病性密切相关。根据其黏附特性的不同,黏附素分为 2 个亚型,不同亚型能被不同的物质抑制,一个亚型易被半乳糖所抑制,而另一个亚型则易被半乳糖和 N - 乙酰葡萄糖酐胺所抑制。黏附素属于毒力因子不仅在于它有很强的黏附性,而且在小鼠体内可被诱导出杀菌活性。在比较致病性和无致病性的猪链球菌 2 型菌株中发现了 1 个对白蛋白具有黏附作用的黏附素,当用黏附素阳性的菌株免疫小鼠时,加入白蛋白可增强细菌的毒性。此外,需要说明的是有些无致病性菌株也带有这 2 种黏附蛋白,说明菌株的致病性与其是否带有黏附蛋白没有直接关系,原因在于它抑制了细菌可选择的补救途径而保护菌体不被吞噬,正是这个原因有学者也将唾液酸归为猪链球菌的毒力因子之一^[8]。

9 展望

1949 年,在我国上海首次爆发猪链球菌病,20 世纪 70 年代末猪链球菌病在全国大面积流行,现在已成为规模化养猪场常见的细菌病之一。近年来,猪链球菌病的危害正急剧上升,不仅危害养猪业,而且还可引起人类感染,甚至死亡^[9]。猪链球菌毒力因子能

猪毛滴虫病的研究进展

李文超^{1,2} 李伟志¹ 王泽东¹ 宫鹏涛¹ 李建华¹ 张西臣¹

(1. 吉林大学 畜牧兽医学院, 长春 130062; 2. 安徽科技学院 动物科学学院, 安徽 凤阳 233100)

中图分类号: S852.71

文献标识码: A

文章编号: 1004-7034(2012)01-0025-03

关键词: 猪三毛滴虫; 病原形态; 流行病学; 诊断

摘要: 毛滴虫是猪体内较为常见的原虫, 目前有关猪毛滴虫的报道较少, 其兽医公共卫生学意义尚未确定。文章就猪毛滴虫的分类地位、虫体形态、生活史、致病性、流行病学情况、诊断、防治等方面的内容作一综述, 为猪毛滴虫和毛滴虫病的研究提供参考。

The development of research in swine trichomoniasis

LI Wen - chao^{1,2} , LI Wei - zhi¹ , WANG Ze - dong¹ , GONG Peng - tao¹ , LI Jian - hua¹ , ZHANG Xi - chen¹

(1. College of Animal Science and Veterinary Medicine , Jilin University , Changchun 130062 , China;

2. College of Animal Science , Anhui Science and Technology University , Fengyang 233100 , China)

Key words: *Trichomonas suis* for swine; pathogen morphology; epidemiology; diagnosis

Abstract: *Trichomonas* is a relatively common parasite in pigs. However only few reports refer to swine *Trichomonas* and the veterinary public health significance has not been determined. This paper summarizes recent findings in taxonomic status , morphology , life cycle , pathogenicity , epidemiology , diagnosis , prevention and control of swine *Trichomonas*. It can be used as a reference for the research of swine *Trichomonas* and trichomoniasis.

猪毛滴虫病是由猪毛滴虫寄生于猪的鼻腔、胃、盲肠和结肠等处引起的一种原虫病。目前, 已报道的猪毛滴虫有3种, 即猪三毛滴虫(*T. suis*)、巴特里毛

滴虫(*T. buttreyi*)和圆形毛滴虫(*T. rotirnda*), 其中对猪三毛滴虫的研究较多。由于猪三毛滴虫的形态、体外培养特性以及DNA序列等方面与寄生于牛生殖道的胎儿三毛滴虫(*T. foetus*)非常相似, 不少专家学者认为两者应该是同物异名^[1], 而胎儿三毛滴虫由于可引起牛不孕和流产, 在世界范围内造成养牛业较大的经济损失, 目前已被世界动物卫生组织(OIE)列为B类疾病。近年来, 我国零星报道了毛滴虫引起母猪

收稿日期: 2011-02-25; 修回日期: 2011-10-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(30970322)

作者简介: 李文超(1979-), 男, 博士研究生, liwen303@126.com.

通信作者: 张西臣(1962-), 男, 教授, 博士, xczhang@jlu.edu.cn.

损伤白细胞和血小板、逃避免疫细胞的吞噬, 以对组织的黏附等方式对动物机体进行侵害, 如引发关节炎、脑膜炎、败血症及支气管炎等, 给养殖业造成了严重的经济损失, 人类要控制猪链球菌病的发生, 减少该病的危害, 需要通过对猪链球菌毒力因子的研究, 进而促进疫苗的研制。

参考文献:

- [1] SEGURA M A , CLEROUX P , GOTTSCHAIK M. *Streptococcus suis* and group B *Streptococcus* differ in their interactions with murine macrophages[J]. FEMS Immun Med Microbiol 2008 21(3): 189 - 195.
- [2] 李小军, 张苏华, 刘佩红, 等. 多重聚合酶链反应检测猪链球菌7种主要毒力因子[J]. 微生物与感染 2006 2(1): 30 - 33.
- [3] VECHT U , WISSELINK H J , JELLEMA M L , et al. Identification of two proteins associated with virulence of *Streptococcus suis* type 2 [J]. Infect Immun 1991 59(9): 3156 - 3162.
- [4] VANIER G , SEGURA M , FRIEDL P , et al. Invasion of porcine brain

microvascular endothelial cells by *Streptococcus suis* serotype 2 [J]. Infect Immun 2007 72(3): 1441 - 1449.

- [5] 李干武, 姚火春, 陆承平. 在猪链球菌2型江苏分离株中发现新的orf2毒力相关基因[J]. 农业生物技术学报, 2003, 11(3): 295 - 298.
- [6] OKWUMABUA O , OCONNOR M , SHULL E. A polymerase chain reaction (PCR) assay specific for *Streptococcus suis* based on the gene encoding the glutamate dehydrogenase [J]. FEMS Microbiol Lett , 2003 218(1): 79 - 84.
- [7] SALASIA S , LAMMLER C. Binding properties of *Streptococcus suis* for immunoglobulin G and other plasma proteins [J]. Zentralbl Veterinarmed B 2006 43(8): 497 - 503.
- [8] 赵冉, 孙建和, 陆承平. 猪链球菌国内分离株毒力因子的分布特征[J]. 上海交通大学学报 2006b 24(6): 495 - 498.
- [9] LOPRETO C , LOPARDO H A , BARDI M C , et al. Primary *Streptococcus suis* meningitis: first case in humans described in latin america [J]. Enferm Infect Microbiol Clin 2005 23(2): 110. (006)