

志贺菌基因组进化研究进展*

杨 朗 邱少富 李 鹏** 宋宏彬**

(军事医学科学院疾病预防控制中心, 北京 100071)

摘要 志贺菌属(*Shigella*)是引起全球范围内细菌性痢疾的重要病原菌。近年来, 多重耐药型和新血清型志贺菌的不断出现给志贺菌的监测和防控带来了新的挑战。基因组学的快速发展为深入了解志贺菌的进化来源、变异机制及传播规律等提供了极大的帮助, 对控制细菌性痢疾的蔓延具有重要的科学意义。本文首先从遗传来源角度探讨志贺菌与大肠杆菌的进化关系及其可能的分子机制, 随后对福氏、宋内和 1 型痢疾志贺菌的基因组进化进展进行了总结, 详细描述了它们的时空分布特点以及耐药基因变异在进化中所发挥的作用, 以期志贺菌的研究和防控提供参考。

关键词 志贺菌, 基因组, 进化关系, 大肠杆菌

学科分类号 Q11, Q75

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0242

志贺菌属(*Shigella*)是一类具有高度传染性的革兰氏阴性肠道致病菌, 可引起细菌性痢疾, 俗称志贺菌病(*Shigellosis*)。由于洁净饮水不足、卫生条件差、营养不良以及抗生素治疗成本高等因素, 志贺菌病在世界多地流行, 给人类健康造成了极大危害。全世界每年约有 1.647 亿志贺菌感染病例, 死亡人数约达 110 万^[1]。2005~2008 年间, 中国志贺菌病病死率在所有甲乙类传染病监测中位居前四^[2]。

志贺菌根据其生化反应与血清学试验可分为福氏志贺菌、宋内志贺菌、痢疾志贺菌和鲍氏志贺菌。除宋内志贺菌外, 其他三个血清群包含多种血清型, 并且随着新血清型的出现而不断扩充。如福氏志贺菌早期仅报道了 6 种血清型^[3], 而最新研究报告表明其血清型已达 20 种之多^[4]。新血清型不断出现并呈现快速传播趋势, 如福氏志贺菌 1c 最初在孟加拉国出现^[5], 并很快在越南、埃及等地流行^[6-7]。中国也出现了多个新的福氏志贺菌血清型, 如 Xv、2 型变体(2 variant)等, 其中 Xv 已从河南迅速扩散至山西、甘肃、安徽等地^[2], 2 型变体也已由广西传播到上海、新疆、河南^[4]。

福氏志贺菌新血清型的出现可能来源于四糖骨架上特定糖的糖基化或乙酰化修饰^[8]、质粒或噬菌

体携带的基因对 O 抗原的调控^[9]。但新血清型往往具有一些不同的生化特性, 如研究发现, 福氏志贺菌新血清型 4s 可能来源于血清型 Xv, 但却不能够产生吡啶或山梨醇、鼠李糖^[8]; 福氏志贺菌 Yv 与血清型 Y 的生化特性相似, 却呈 MASF IV-1 阳性^[10]; 宋内志贺菌中也出现了呈邻硝基苯- β -D-半乳糖苷(ONPG)阴性的变体^[11]。除此之外, 最令人担忧的是新型志贺菌往往具有多重耐药的特点, 如福氏志贺菌 4s 已经表现出对四环素、氨基西林、氯霉素、萘啶酸和诺氟沙星等多种抗生素的耐药性^[8]。就目前形势而言, 新型志贺菌生化特性的改变给鉴定工作带来了困难, 耐药性的提高也让现有治疗措施收效大减, 给志贺菌的防控带来了新的挑战。

* 国家自然科学基金资助项目(31200942, 81202252)。

** 通讯联系人。Tel: 010-66948475

李 鹏. E-mail: jickenlee@126.com

宋宏彬. E-mail: hongbinsong@263.net

收稿日期: 2016-08-11, 接受日期: 2016-10-20

然而,即使是同一种血清型也可能同时存在多种进化途径,如研究发现中国新血清型 Yv 可能由 3 种血清型 Y、Xv 和 2a 独立进化而来^[10]。其中,外源质粒、移动元件的获得及基因功能缺失等多种因素可能在志贺菌的演变中发挥了关键作用^[12]。因此有必要从基因组层面系统研究志贺菌,尤其是多种新型菌株变异的分子机制,不仅有助于揭示志贺菌的进化过程,同时也能够对志贺菌的系统发育以及跨区域传播研究提供线索,进而为志贺菌的监测、溯源、防控等提供重要指导。本文主要结合当前志贺菌基因组进化的最新研究进展,对志贺菌的遗传来源及其各血清群进化规律进行了综述,并对目前研究存在的问题以及对未来研究方向进行了探讨。

1 志贺菌的进化来源

1.1 志贺菌可能来源于大肠杆菌

对志贺菌来源的探讨主要集中在它与大肠杆菌的进化关系(表 1)。临床上根据生化代谢表型可对两者进行鉴别,如大部分大肠杆菌有动力(鞭毛)、可发酵乳糖和赖氨酸、呈吲哚试验阳性、并且多为非致病菌,而志贺菌则在这些方面与其相反^[13]。但已有研究表明两者在基因组上有着高度的相似性,推测可能起源于同一祖先^[14]。随着全基因组测序的广泛应用,比较基因组学研究进一步提供了更直接的证据。福氏志贺菌(Sf 301)、大肠杆菌 K12(MG 1655)及 O157:H7(EDL 933)的全基因组序列比对结果显示,三者具有约 3.9Mb 的共同序列,表明它们有着紧密的亲缘关系。该研究还发现大肠杆菌 K12 与福氏志贺菌 Sf301 的基因组相似性甚至要大于它与大肠杆菌 O157:H7 的相似性,提示当前对该两属细菌的分类可能存在一些问题^[15]。

进化分析也支持志贺菌来源于大肠杆菌。早期研究多利用分子生物学方法探究志贺菌和大肠杆菌的亲缘关系,包括多位点酶电泳(MLEE)^[16]、MLEE 与 *mdh* 基因序列分析^[17]、rDNA 限制性片段长度多样性(RFLP)^[18]、16S rRNA 和 *gyrB* 基因序列分析^[19]以及微阵列比较基因组杂交^[20]等。这些研究认为两者亲缘关系较近,推测志贺菌可能来源于大肠杆菌。

研究进一步发现,志贺菌的大部分血清型都属

于大肠杆菌 A 和 B1 种群,少数血清型属于其他种群,如 1 型痢疾志贺菌属于大肠杆菌 E 种群^[21]。Pupo 等^[22]进而估算出志贺菌于 3.5~27 万年前分化,晚于大肠杆菌的分化时间(800~2200 万年前),从时间的角度证实了该推断的可能性。另外,有观点认为志贺菌的分化处在旧石器时代,早期人类正在逐步扩张,志贺菌作为一种人类肠道致病菌在该时期从大肠杆菌中分化出来也与环境变化相符合^[23-24]。

在大肠杆菌中,存在一个同样能引起细菌性痢疾的种群,称为侵袭性大肠杆菌(EIEC)。EIEC 是大肠杆菌中与志贺菌相似度最高的亚群,其生化代谢表型与志贺菌近乎相同,两者的相互关系成为解答志贺菌与大肠杆菌亲缘关系的关键。研究表明,EIEC 来源于非致病性大肠杆菌,与志贺菌同属于大肠杆菌的致病变种。多位点序列分型(MLST)分析显示 EIEC 的子分支个数少于志贺菌,提示它的分化时间可能比志贺菌更晚^[25]。研究者提出了关于 EIEC 和志贺菌进化关系的两种猜想:第一,EIEC 是大肠杆菌过渡到志贺菌的一种“中间状态”,之后可能会发展为“真正的”志贺菌;第二,EIEC 是大肠杆菌中一个独立于志贺菌的种群,只是具有与志贺菌相似的特性。

Pettengill 等^[26]利用全基因组进化研究志贺菌、EIEC 和大肠杆菌之间的关系,通过对 169 个志贺菌和 EIEC 菌株测序并构建进化树,发现两者各种血清型存在相互交叉,没有进化先后之分,表明志贺菌和 EIEC 可能是大肠杆菌下的同一个种群。这意味着 EIEC 既不是过渡阶段的产物,也不是与志贺菌并列的种群,作者认为应将志贺菌直接归入大肠杆菌的 EIEC 种群,其血清型也应重新命名。

不过也有研究认为志贺菌并非由大肠杆菌进化而来。国内研究者郝柏林等^[27]提出了一种分析进化关系的新方法 CVTree,该方法通过统计基因组序列中各种碱基短串出现的频率来计算不同物种间的进化距离,无需对序列进行比对。基于该方法,作者认为志贺菌和大肠杆菌可能是肠杆菌科下 2 个并列的属^[28]。不过 CVTree 作为相对较新的研究方法,其可靠性还未经过广泛验证,该结论还有待证实。

Table 1 Exploration of the evolutionary relationship between Shigella and E. coli by different methods

表 1 运用不同方法对志贺菌与大肠杆菌进化关系的研究

研究样本	研究方法	研究结论	参考文献
123 株志贺菌和 1 600 余株大肠杆菌	MLEE	志贺菌与大肠杆菌具有紧密的亲缘关系	[16]
13 株志贺菌和 19 株大肠杆菌	MLEE 与 <i>mdh</i> 基因序列分析	志贺菌与致病性的大肠杆菌具有紧密的亲缘关系, 可能来源于大肠杆菌	[17]
72 株志贺菌、13 株 EIEC 和 72 株大肠杆菌	RFLP	志贺菌与大肠杆菌具有紧密的亲缘关系, 志贺菌与 EIEC 可能来源于大肠杆菌的不同分支	[18]
沙门菌、志贺菌和大肠杆菌共约 200 株	16S rRNA 和 <i>gyrB</i> 基因序列分析	志贺菌与大肠杆菌具有紧密的亲缘关系	[19]
3 株志贺菌和 19 株具有致病性的大肠杆菌	微阵列比较基因组杂交	志贺菌与 EIEC 具有极为紧密的亲缘关系, 位于大肠杆菌的同一分支	[20]
2a 型福氏志贺菌和大肠杆菌	比较基因组学	志贺菌与大肠杆菌具有高度相似性, 可能属于同一个属	[15, 29]
6 株志贺菌和 19 株大肠杆菌	CVTree	志贺菌和大肠杆菌是来源于同一祖先的 2 个不同分支	[28]
46 株志贺菌、32 株 EIEC 和 8 株大肠杆菌	MLST	志贺菌与 EIEC 具有极为紧密的亲缘关系, 位于大肠杆菌的同一分支	[25]
志贺菌和 EIEC 共 169 株	全基因组进化分析	志贺菌和 EIEC 是大肠杆菌下的同一种群	[26]
7 株志贺菌和 29 株大肠杆菌	FFPs	志贺菌可能由大肠杆菌进化而来, 并存在两个独立的进化来源	[30]
6 株志贺菌和 28 株大肠杆菌	基因组共线性片段分析	志贺菌可能由大肠杆菌进化而来, 并存在至少 3 个独立的进化来源	[31]

1.2 志贺菌进化的分子机制

比较基因组学发现 2a 型福氏志贺菌(2457T)与大肠杆菌 K12(MG 1655)全基因组的主要框架基本相同, 但是前者缺失了 356 个大肠杆菌原有基因, 增加了 12 个隐性前噬菌体基因、372 个假基因以及 195 个特有基因^[29]。而对痢疾志贺菌基因组分析发现, 其保留了 2 654 个源于大肠杆菌的开放阅读框(ORF), 但相对缺失了 219 个与分子伴侣、特异性 O 抗原合成等相关的大肠杆菌原有基因, 并通过基因水平转移获得了 II 型分泌系统、铁转运相关因子等基因^[32]。鲍氏志贺菌基因组中也保留了 2 552 个源于大肠杆菌的 ORFs, 缺失了 199 个与外膜蛋白编码、O 抗原合成等相关的大肠杆菌原有基因, 其特有的 ORFs 主要以噬菌体基因和未知功能的 ORFs 为主, 同时存在一些涉及铁离子代谢、运输以及 II 型分泌系统相关基因^[33]。这些结果表明志贺菌与大肠杆菌关系密切, 可能通过基因的水平转移由大肠杆菌进化而来。

从原始的非致病性大肠杆菌进化到志贺菌, 还依赖于侵袭质粒 pINV 的获得, 它决定了志贺菌的致病能力^[34]。进一步研究发现仅获得该质粒并不足以使非致病性大肠杆菌(如 K-12)产生同样的致病性^[35]。除毒力因子的获得外, 志贺菌毒力的进化还依赖于适应性突变, 即缺失部分原有基因或基因水

平转移获得部分外源基因来进行功能调整, 进而改变表型或让毒力因子充分表达以使突变株能够适应新的生存环境^[36]。研究认为, 在非致病性大肠杆菌向志贺菌进化的过程中, 至少发生过 3 次适应性突变, 包括 *ompT* 基因的缺失^[35]、*cadA* 基因的缺失^[37]以及 Curli 位点的失活^[38]。上述 3 个基因在非致病性大肠杆菌中普遍存在, 而在志贺菌中则缺失或失活, 表明致病适应性突变机制在非致病菌向致病菌进化的过程中发挥了关键作用。

2 志贺菌各血清群的基因组进化研究

早期基于 8 个看家基因的进化研究发现志贺菌主要存在 3 个分支 C1、C2 及 C3^[22]。Yang 等^[39]基于 23 个看家基因的分析将 C1 进一步划分为 3 个子分支 SC1、SC2 和 SC3。C1 分支包含痢疾和鲍氏志贺菌的部分血清型以及福氏志贺菌 6 型; SC1 包含 7 种痢疾志贺菌血清型; SC2 包含 6 种鲍氏志贺菌血清型和痢疾志贺菌 5 型; SC3 包含 3 种鲍氏志贺菌血清型以及福氏志贺菌 6 型。C2 分支包含 7 种鲍氏志贺菌血清型和痢疾志贺菌 2 型。C3 分支包含除 6 型以外的所有其他福氏志贺菌血清型。另外, 宋内志贺菌, 痢疾志贺菌 1、8 和 10 型, 以及鲍氏志贺菌 13 型不属于以上任何一个分支。

侵袭质粒 pINV 可根据毒力基因 *ipgD*、*mxIA*

和 *mxiC* 分为 pINVA 和 pINVB 两类^[24]. 该质粒在各分支中的分布也有差异, 如 C1 分支中各血清型都具有 pINVA 质粒, C3 中的血清型都具有 pINVB 质粒, C2 中则是两类各有分布. 另外, 痢疾志贺菌 1 型具有一种混合型质粒, 其 *ipgD* 基因来源于 pINVA 质粒, *mxiA* 和 *mxiC* 基因来源于 pINVB 质粒^[25]. 这些结果表明 pINV 质粒在志贺菌中出现了分化, 促进了 C1 和 C3 分支的形成, 但是该质粒在 C2 及痢疾志贺菌 1 型中的分布并不规律, 意味着志贺菌的分化可能是一个非常复杂的过程.

上述研究发现志贺菌进化分支的划分与其血清群划分并不一致, 提示血清型的划分可能无法反映出真实的进化关系. 然而, 现有研究多基于传统的血清群分类进行基因组进化分析, 本文也按照这种方式分别对福氏、宋内、痢疾和鲍氏 4 个血清群志贺菌的基因组进化研究进展分别加以介绍(图 1).

2.1 福氏志贺菌

在志贺菌的 4 个血清群中, 福氏志贺菌所引发的细菌性痢疾远多于其他血清群, 尤其是在低收入国家^[40]. 近年来报道的新血清型也大多属于该血清群.

利用 MLST 技术, Choi 等^[41]对亚洲 107 株福氏志贺菌的 7 个看家基因进行分析, 发现血清型 1-5、X、Y 属于一个分支, 而血清型 6 则单独成为一个分支. 但 MLST 仅选择部分看家基因, 虽然能够描述各血清型的亲缘关系, 但其分辨率并不高, 难以全面反映菌株基因组的整体变异特征及进化规律.

高通量测序技术的快速发展为在基因组层面深入揭示志贺菌的变异进化规律提供了重要支撑. 借助于全基因组测序, 研究者分析中国序列型 ST91 中福氏志贺菌新血清型 Xv 的进化规律, 发现 Xv 处于 ST91 6 个分支的分支 I 中. Xv 型福氏志贺菌主要存在于 3 个独立进化簇, 表明它存在多个进化来源. 簇 1 菌株主要来源于河南, 簇 2 和簇 3 菌株主要来源于安徽, 显示出区域性流行的特点. 分支 I 约出现于 1993 年, 其中 Xv 约出现于 2000 年, 迅速取代 2a 成为国内最流行的血清型. 该血清型在进化中获得了 SRL 位点、Tn7 等耐药基因, 喹诺酮耐药基因 *gyrA* 发生突变, 并且获得一个携带 *opt* 基因的质粒, 导致耐药性及 O 抗原结构的改变. 耐药增强导致抗生素效用降低, O 抗原改变使宿主原有免疫失效, 这两个因素可能是导致 Xv 在国内快速传播的重要原因^[42]. 常志力等^[43]通过基因

组进化分析, 发现中国福氏志贺菌存在 3 个克隆群, 其中克隆群 II 和 III 是目前主要的流行分支, 但受限于样本量, 不同群是否具有特定的遗传特征还需要进一步探索.

福氏志贺菌多在低收入国家中流行. 但近年来, 研究者发现 3a 型福氏志贺菌在加拿大、英格兰和威尔士等地男男同性恋者(MSM)中的检出比例显著增高^[44-45]. 基于全球 331 株 3a 型福氏志贺菌基因组分析, 发现 3a 包含 3 个分支: 前 2 个分支分别集中于非洲和亚洲, 来源于居住于当地或有当地旅游经历的人群; 第 3 分支主要由其他地区菌株构成, 出现于 1996~1998 年间, 与地理分隔不存在直接联系. 后发现第 3 分支 205 个菌株中有 199 个来源于男性, 样本包含的 41 名 MSM 中出现 40 例该分支菌株的感染, 5 名双性者中出现 1 例, 表明该分支与男性间性行为存在紧密联系, 可能是在男男同性传播过程中产生的一种变体. 它具备 *bla_{OXA-1}*、*catA1*、*aadA1*、*tet(B)* 等多个耐药因子, 其耐药对象甚至包括了阿奇霉素等药物, 可能源于该类药物使用所造成的选择压力^[46].

为进一步全面了解福氏志贺菌传播及进化规律, Baker 等^[47]对全球各地分离的 351 株福氏志贺菌进行测序分析. 发现除 6 型外, 福氏志贺菌约在 14~19 世纪之间分化为 7 个系统演化群(PG). PG1、PG2、PG4 和 PG6 是最古老的分支, 出现于 1341~1659 年间, PG3 和 PG5 出现于 1822~1848 年间. 同一区域的福氏志贺菌组成具有多样性, 存在至少 2 个分支, 但同时某些分支只存在于特定地区, 表明 PG 的划分在一定程度上也受到地理因素的影响. 福氏志贺菌基因结构具有较大的变异性, 部分菌株缺失了 *sit* 基因, 同时 PG1、PG2、PG3 和 PG6 的部分菌株获得了 *fec* 基因, 影响细菌对铁的摄入. PG3 中的 2a 型福氏志贺菌获得 SHI-1、SRL 以及肠菌素基因, 其毒力和耐药性显著提高; PG3 中来源于拉丁美洲的部分菌株还获得编码 Stx1a 的噬菌体, 导致该地区具备 Stx1a 毒性福氏志贺菌的出现. 另外, 福氏志贺菌发生至少 9 次对 SRL 耐药性岛的获得, 随后又可能出现缺失, 体现出耐药基因的波动性. 除血清型 3a 外, 福氏志贺菌耐药株普遍表现出局部区域长期存在的特点, 但不会取代原有菌株, 即耐药菌和非耐药或弱耐药菌在同一区域内世代传递, 这种现象意味着耐药性并非福氏志贺菌传播流行的必要条件.

2.2 宋内志贺菌

低收入国家的志贺菌病大多由福氏志贺菌引起,而在公共卫生等方面有保障的中高收入国家,宋内志贺菌则是主要致病菌。不过流行病学调查发现,近年来宋内志贺菌在低收入国家所引发的病例也越来越多^[48-49],需要引起关注。

比较基因组学发现,类志贺邻单胞菌(*P. shigelloides*) O17 染色体与宋内志贺菌质粒的 O 抗原基因簇近乎相同,推测宋内志贺菌可能通过基因水平转移获得该基因簇,进化分析表明 O 抗原基因大约在 1 万年前出现分化,这意味着宋内志贺菌分化时间不会超过 1 万年^[50]。

近年来,全基因组测序分析进一步揭示了宋内志贺菌的系统演化规律。通过对全球 132 株宋内志贺菌的全基因组分析, Holt 等^[51]发现全球宋内志贺菌分化为 4 个分支,推测它们约起源于 400 年前的欧洲。分支 I、II 分化于 17 世纪早期,分支 III 分化于 19~20 世纪的过渡时期。进化分析表明,分支划分与地理因素存在明显联系,欧洲种群包含所有分支,显示出较大的多样性,亚洲、非洲及美洲种群则以分支 III 为主,表明该分支具有较强的传播能力。分支 III 中还存在一个传播尤为广泛的进化簇,占采集于 1995 年后菌株的 49%,同时覆盖了所有采集区域,传播极为广泛。欧洲以外国家的菌株往往形成紧密的簇,表明其传播发生于同一时期。来自同一国家的多个菌株往往在分支 III 中形成单独的子簇,表明菌株传入当地后还发生了进一步扩散。比较分析发现,分支 III 由于获得 *Tn7* 转位子和 II 型整合子, *gyrA* 基因突变,以及部分菌株获得携带 *tetAR*、*strAB*、*sul2* 基因的质粒 *spA*², 导致耐药性发生变化,能够在抗生素的环境中存活并在宿主间传播,可能是该分支菌株能够快速扩散的原因之一。对越南地区宋内志贺菌的分析进一步证实了上述结果。通过对 263 株越南宋内志贺菌的进化分析,研究者发现宋内志贺菌分支 III 于 1982 年前后进入越南胡志明市,之后向北扩散至庆和(Khanh Hoa)和顺化(Hue)^[52]。它们的菌株多形成独立的进化分支,表明宋内志贺菌出现局部扩散,造成当地痢疾病例的增多。在人口较多的胡志明市,耐药性的积累尤为显著,如 157 株中 *gyrA* 基因发生突变,导致对喹诺酮的耐药性增强。该市在 1994 年后分离的菌株获得一个编码 E5 型大肠杆菌素以及相关免疫蛋白的质粒 *pDPT1*, 2006 年后分离的菌株则获得一个携带超广谱 β 内酰胺酶基因的质粒

pKHSB1, 可能是该市耐头孢菌素菌株迅速增多的原因之一^[53]。另外,庆和种群也发生了 *gyrA* 基因突变及获得了 *pKHSB1* 质粒。基于这些发现,研究者提出宋内志贺菌可以作为“哨兵”,以监测该地区其他革兰氏阴性肠道致病菌可能获得的耐药性。

2.3 痢疾志贺菌

痢疾志贺菌导致的病例往往伴有更严重的症状,其爆发流行对局部地区造成损害往往更大,虽然其检出率远小于上述两个血清群,但仍不容忽视。

基于全基因组测序,研究者对过去 60 年内全球 56 株 1 型痢疾志贺菌进行了进化分析,发现该型志贺菌可分为 4 个进化分支。分支 A 分布于美国的田纳西州;分支 B 分布于中国;分支 C 和 D 分布于多个地区。1 型痢疾志贺菌起源于 20 世纪初,远晚于其他血清型,随后因战争、移民等传播到世界各地,造成了 20 世纪的痢疾流行。该型志贺菌具有迅速获得耐药基因的能力,其分支 C 和 D 至少 5 次获得氯霉素耐药基因、4 次获得四环素耐药基因,表现出对抗生素较强的适应力^[54]。基于近 100 年内全球 330 株 1 型痢疾志贺菌的全基因组数据,最近一项研究进行了更全面的进化分析,发现 1 型痢疾志贺菌包含 4 个分支:分支 I 分布于英格兰;分支 II 主要分布于欧洲;分支 III 分布于多个地区;分支 IV 分布于印度次大陆和非洲。该型志贺菌最早出现于 18 世纪,可能与 1738~1742 年及 1779 年法国的痢疾流行有关。除 M115 以外的 1 型痢疾志贺菌约出现于 19 世纪中期,到 19 世纪末期时已出现分支 III 在各地区的子分支,证实该分支在全球的迅速扩散。在基因组变异方面,分支 IV 曾发生 7 次 *gyrA* 基因突变,4 次获得 SRL 毒力岛,并分化出该分支特有的 SRL-A 和 SRL-B,此外,分支 II 和 III c(分支 III 的子分支)也获得了 SRL 毒力岛,进一步证实了 1 型志贺菌对耐药基因的迅速积累能力^[55]。

2.4 鲍氏志贺菌

鲍氏志贺菌分离于印度次大陆,最初只在该区域流行。之后在去中美洲的旅游者体内发现了它的一种新血清型——鲍氏志贺菌 20 型^[56],提示其分布比预想的更为复杂。

由于分离的菌株数量少,目前尚无关于鲍氏志贺菌的基因组进化分析。不过早期研究发现鲍氏志贺菌 13 型不属于 C1、C2、C3 中的任何一支^[22]。后有比较基因组学研究发现该血清型可能属于阿尔伯特埃希氏杆菌(*Escherichia albertii*)^[57]。

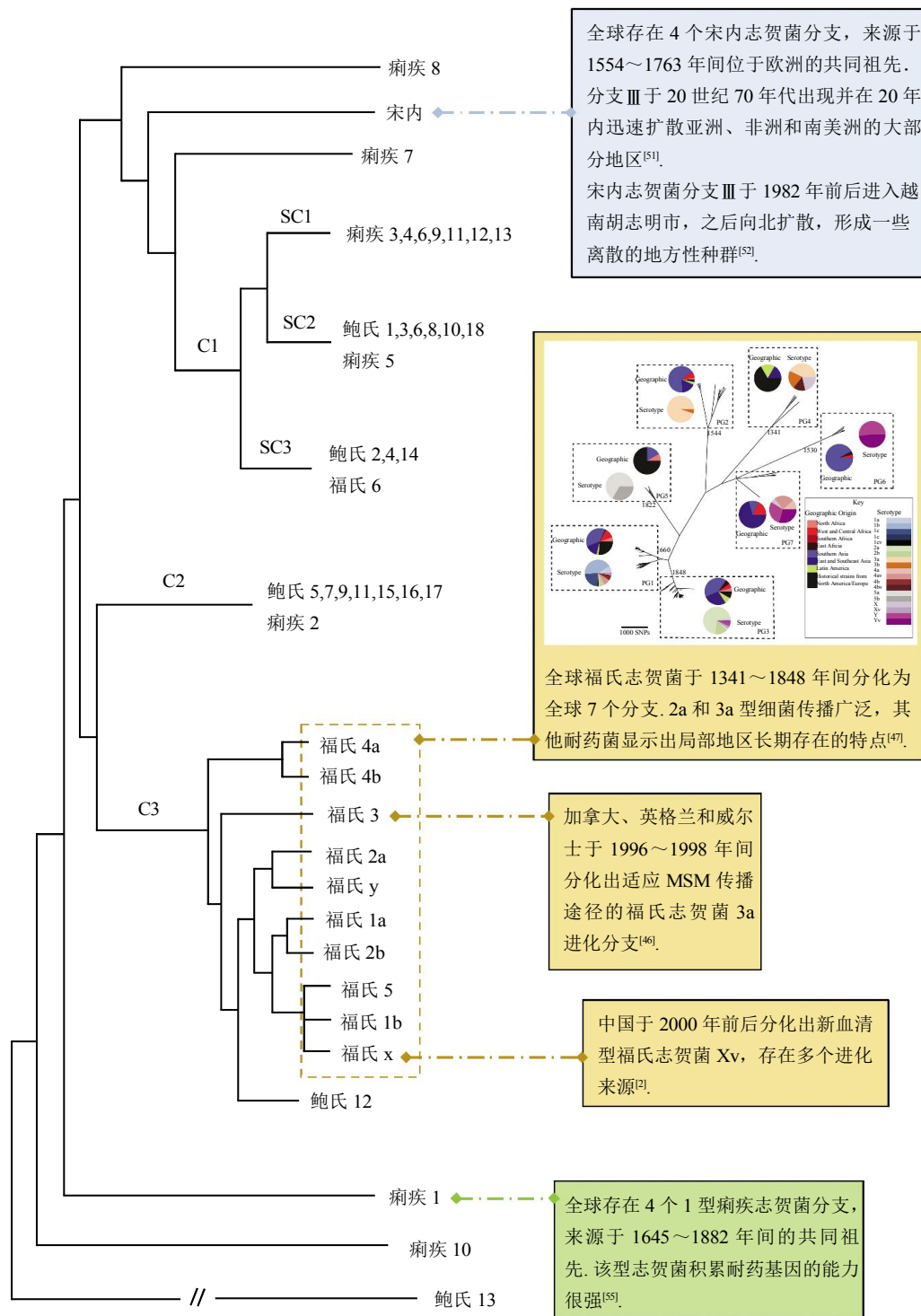


Fig. 1 Schematic diagram of phylogeny of Shigella

图 1 志贺菌系统演化示意图

3 总 结

基因组进化研究揭示出志贺菌许多演化及流行特征，提供了历史进程与地源分布方面的线索，对人类系统地了解志贺菌有极大的帮助，为志贺菌的

检测与防控提供了有力的支持。但在志贺菌的来源问题上，对它与大肠杆菌进化关系的探索仍不充分。虽然新的研究通过全基因组测序的方法发现，志贺菌和 EIEC 可能是大肠杆菌下的同一个种群，但该结论还需要更多数据支撑。

在4个血清群的整体分析上, 研究还存在着一些缺口. 低收入国家的志贺菌病主要由福氏志贺菌引起, 而现在随着经济的发展宋内志贺菌引发的病例越来越多, 这种现象的出现迫切需要研究者对这两个血清群的传播和流行规律进行更深入的研究. 另一方面, 全基因组测序目前只运用于福氏、宋内和痢疾志贺菌的进化研究, 利用该技术对鲍氏志贺菌进行系统演化分析也应当是后续研究的一个重要方向. 研究不应只注重引发病例多的志贺菌血清群, 也应对其他血清群给予关注, 这样既能有助于控制特定血清群在局部地区的传播流行, 又可为疫苗研发提供重要参考.

尽管个别血清型的进化分析已经非常详细, 但目前对于整个志贺菌进化的探索仍有待深入. 新血清型的不断出现迫切需要对其进化来源、基因变异特征以及传播演化规律进行全面系统的研究.

中国幅员辽阔, 各地经济文化差异较大, 不同地区菌株也呈现出复杂的表型差异, 新的血清型也不断被报道. 目前, 国内研究大多关注局部地区的特定血清型, 难以全面了解中国不同地区、不同血清型之间的相互关系. 受限于有限的样本数据, 国外志贺菌的进化研究所涉及的中国菌株较少, 无法真实反映中国菌株与国外菌株的进化关系. 因此有必要通过对国内不同时间、不同地区分离的代表性志贺菌菌株进行高通量测序, 结合基因组学进化分析, 探究国内志贺菌的遗传演化规律, 从而为中国志贺菌的监测、溯源及防控提供详实的数据支撑和坚固的理论指导.

参 考 文 献

- [1] Kotloff K L, Winickoff J P, Ivanoff B, *et al.* Global burden of *Shigella* infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. *Bulletin of the World Health Organization*, 1999, **77**(8): 651-666
- [2] Ye C, Lan R, Xia S, *et al.* Emergence of a new multidrug-resistant serotype X variant in an epidemic clone of *Shigella flexneri*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2010, **48**(2): 419-426
- [3] Lan R, Reeves P R. *Escherichia coli* in disguise: molecular origins of *Shigella*. *Microbes and Infection / Institut Pasteur*, 2002, **4**(11): 1125-1132
- [4] Cui X, Wang J, Yang C, *et al.* Prevalence and antimicrobial resistance of *Shigella flexneri* serotype 2 variant in China. *Frontiers in Microbiology*, 2015, **6**: 435
- [5] Carlin N I, Rahman M, Sack D A, *et al.* Use of monoclonal antibodies to type *Shigella flexneri* in Bangladesh. *Journal of Clinical Microbiology*, 1989, **27**(6): 1163-1166
- [6] Stagg R M, Cam P D, Verma N K. Identification of newly recognized serotype 1c as the most prevalent *Shigella flexneri* serotype in northern rural Vietnam. *Epidemiology and Infection*, 2008, **136**(8): 1134-1140
- [7] El-Gendy A, El-Ghorab N, Lane E M, *et al.* Identification of *Shigella flexneri* subserotype 1c in rural Egypt. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999, **37**(3): 873-874
- [8] Qiu S, Wang Z, Chen C, *et al.* Emergence of a novel *Shigella flexneri* serotype 4s strain that evolved from a serotype X variant in China. *Journal of Clinical Microbiology*, 2011, **49**(3): 1148-1150
- [9] Allison G E, Verma N K. Serotype-converting bacteriophages and O-antigen modification in *Shigella flexneri*. *Trends in Microbiology*, 2000, **8**(1): 17-23
- [10] Sun Q, Lan R, Wang J, *et al.* Identification and characterization of a novel *Shigella flexneri* serotype Yv in China. *PloS One*, 2013, **8**(7): e70238
- [11] Wang J, Qiu S, Xu X, *et al.* Emergence of ONPG-negative *Shigella sonnei* in Shanghai, China. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2015, **83**(4): 338-340
- [12] The H C, Thanh D P, Holt K E, *et al.* The genomic signatures of *Shigella* evolution, adaptation and geographical spread. *Nature Reviews. Microbiology*, 2016, **14**(4): 235-250
- [13] Johnson J R. *Shigella* and *Escherichia coli* at the crossroads: machiavellian masqueraders or taxonomic treachery?. *Journal of Medical Microbiology*, 2000, **49**(7): 583-585
- [14] Peng J, Yang J, Jin Q. The molecular evolutionary history of *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli*. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 2009, **9**(1): 147-152
- [15] Jin Q, Yuan Z, Xu J, *et al.* Genome sequence of *Shigella flexneri* 2a: insights into pathogenicity through comparison with genomes of *Escherichia coli* K12 and O157. *Nucleic Acids Research*, 2002, **30**(20): 4432-4441
- [16] Ochman H, Whittam T S, Causant D A, *et al.* Enzyme polymorphism and genetic population structure in *Escherichia coli* and *Shigella*. *Journal of General Microbiology*, 1983, **129**(9): 2715-2726
- [17] Pupo G M, Karaolis D K, Lan R, *et al.* Evolutionary relationships among pathogenic and nonpathogenic *Escherichia coli* strains inferred from multilocus enzyme electrophoresis and *mdh* sequence studies. *Infection and Immunity*, 1997, **65**(7): 2685-2692
- [18] Rolland K, Lambert-Zechovsky N, Picard B, *et al.* *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* strains are derived from distinct ancestral strains of *E. coli*. *Microbiology (Reading, England)*, 1998, **144** (Pt 9): 2667-2672
- [19] Fukushima M, Kakinuma K, Kawaguchi R. Phylogenetic analysis of *Salmonella*, *Shigella*, and *Escherichia coli* strains on the basis of the *gyrB* gene sequence. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002, **40**(8): 2779-2785
- [20] Fukiya S, Mizoguchi H, Tobe T, *et al.* Extensive genomic diversity in pathogenic *Escherichia coli* and *Shigella* strains revealed by comparative genomic hybridization microarray. *Journal of Bacteriology*, 2004, **186**(12): 3911-3921

- [21] Sahl J W, Morris C R, Emberger J, *et al.* Defining the phylogenomics of *Shigella* species: a pathway to diagnostics. *Journal of Clinical Microbiology*, 2015, **53**(3): 951–960
- [22] Pupo G M, Lan R, Reeves P R. Multiple independent origins of *Shigella* clones of *Escherichia coli* and convergent evolution of many of their characteristics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**(19): 10567–10572.
- [23] Kingombe C I B, Cerqueira-Campos M-L, Farber J M. Molecular strategies for the detection, identification, and differentiation between enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella* spp. *Journal of Food Protection*, 2005, **68**(2): 239–245
- [24] Lan R, Lumb B, Ryan D, *et al.* Molecular evolution of large virulence plasmid in *Shigella* clones and enteroinvasive *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 2001, **69**(10): 6303–6309
- [25] Lan R, Alles M C, Donohoe K, *et al.* Molecular evolutionary relationships of enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella* spp. *Infection and Immunity*, 2004, **72**(9): 5080–5088
- [26] Pettengill E A, Pettengill J B, Binet R. Phylogenetic analyses of *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* for the identification of molecular epidemiological markers: whole-genome comparative analysis does not support distinct genera designation. *Frontiers in Microbiology*, 2015, **6**: 1573
- [27] Qi J, Luo H, Hao B. CVTree: a phylogenetic tree reconstruction tool based on whole genomes. *Nucleic Acids Research*, 2004, **32**(Web Server issue): W45–47
- [28] Zuo G, Xu Z, Hao B. *Shigella* strains are not clones of *Escherichia coli* but sister species in the genus *Escherichia*. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 2013, **11**(1): 61–65
- [29] Wei J, Goldberg M B, Burland V, *et al.* Complete genome sequence and comparative genomics of *Shigella flexneri* serotype 2a strain 2457T. *Infection and Immunity*, 2003, **71**(5): 2775–2786
- [30] Sims G E, Kim S-H. Whole-genome phylogeny of *Escherichia coli/Shigella* group by feature frequency profiles (FFPs). *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(20): 8329–8334
- [31] Zhang Y, Lin K. A phylogenomic analysis of *Escherichia coli* / *Shigella* group: implications of genomic features associated with pathogenicity and ecological adaptation. *BMC Evolutionary Biology*, 2012, **12**: 174
- [32] 宾文, 杨娥, 彭俊平, 等. 痢疾志贺氏菌亚群的比较基因组学研究及进化分析. *中国科学: C 辑*, 2005, **35**(2): 131–137
Bin W, Yang E, Peng J, *et al.* *Science in China. Series C, Life Sciences / Chinese Academy of Sciences*, 2005, **35**(2): 131–137
- [33] 张笑冰, 王璠, 彭俊平, 等. 志贺氏菌属鲍氏 (*S. boydii*) 亚群基因组组成与进化分析. *中国科学: C 辑*, 2005, **35**(4): 359–364
Zhang X, Wang J, Peng J, *et al.* *Science in China. Series C, Life Sciences / Chinese Academy of Sciences*, 2006, **35**(4): 359–364
- [34] Hale T L. Genetic basis of virulence in *Shigella* species. *Microbiological Reviews*, 1991, **55**(2): 206–224
- [35] Nakata N, Tobe T, Fukuda I, *et al.* The absence of a surface protease, OmpT, determines the intercellular spreading ability of *Shigella*: the relationship between the ompT and kcpA loci. *Molecular Microbiology*, 1993, **9**(3): 459–468
- [36] Ochman H, Moran N A. Genes lost and genes found: evolution of bacterial pathogenesis and symbiosis. *Science (New York, N. Y.)*, 2001, **292**(5519): 1096–1099
- [37] Maurelli A T, Fernández R E, Bloch C A, *et al.* “Black holes” and bacterial pathogenicity: a large genomic deletion that enhances the virulence of *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**(7): 3943–3948
- [38] Sakellaris H, Hannink N K, Rajakumar K, *et al.* Curli loci of *Shigella* spp. *Infection and Immunity*, 2000, **68**(6): 3780–3783
- [39] Yang J, Nie H, Chen L, *et al.* Revisiting the molecular evolutionary history of *Shigella* spp. *Journal of Molecular Evolution*, 2007, **64**(1): 71–79
- [40] Kotloff K L, Nataro J P, Blackwelder W C, *et al.* Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *Lancet (London, England)*, 2013, **382**(9888): 209–222
- [41] Choi S Y, Jeon Y-S, Lee J H, *et al.* Multilocus sequence typing analysis of *Shigella flexneri* isolates collected in Asian countries. *Journal of Medical Microbiology*, 2007, **56**(Pt 11): 1460–1466
- [42] Zhang N, Lan R, Sun Q, *et al.* Genomic portrait of the evolution and epidemic spread of a recently emerged multidrug-resistant *Shigella flexneri* clone in China. *Journal of Clinical Microbiology*, 2014, **52**(4): 1119–1126
- [43] 常志力. 我国志贺菌的流行分布与基因组进化[D]. 北京: 北京协和医学院, 2013
Chang Z L. Epidemiological distribution and genome evolution of *Shigella* in China[D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2013
- [44] Borg M L, Modi A, Tostmann A, *et al.* Ongoing outbreak of *Shigella flexneri* serotype 3a in men who have sex with men in England and Wales, data from 2009–2011. *European Communicable Disease Bulletin*, 2012, **17**(13)
- [45] Ratnayake R, Allard R, Pilon P A. Shifting dominance of *Shigella* species in men who have sex with men. *Epidemiology and Infection*, 2012, **140**(11): 2082–2086
- [46] Baker K S, Dallman T J, Ashton P M, *et al.* Intercontinental dissemination of azithromycin-resistant shigellosis through sexual transmission: a cross-sectional study. *The Lancet. Infectious Diseases*, 2015, **15**(8): 913–921
- [47] Connor T R, Barker C R, Baker K S, *et al.* Species-wide whole genome sequencing reveals historical global spread and recent local persistence in *Shigella flexneri*. *eLife*, 2015, **4**: e07335
- [48] Bangtrakulnonth A, Vieira A R, Lo Fo Wong D M A, *et al.* *Shigella* from humans in Thailand during 1993 to 2006: spatial-time trends in species and serotype distribution. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2008, **5**(6): 773–784
- [49] Ud-Din A I M S, Wahid S U H, Latif H A, *et al.* Changing trends in the prevalence of *Shigella* species: emergence of multi-drug resistant *Shigella sonnei* biotype g in Bangladesh. *PloS One*, 2013, **8**(12): e82601
- [50] Shepherd J G, Wang L, Reeves P R. Comparison of O-antigen gene clusters of *Escherichia coli* (*Shigella*) *sonnei* and *Plesiomonas*

- shigelloides* O17: sonnei gained its current plasmid-borne O-antigen genes from *P. shigelloides* in a recent event. *Infection and Immunity*, 2000, **68**(10): 6056–6061
- [51] Holt K E, Baker S, Weill F-X, *et al.* *Shigella sonnei* genome sequencing and phylogenetic analysis indicate recent global dissemination from Europe. *Nature Genetics*, 2012, **44**(9): 1056–1059
- [52] Holt K E, Thieu Nga T V, Thanh D P, *et al.* Tracking the establishment of local endemic populations of an emergent enteric pathogen. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(43): 17522–17527
- [53] Nguyen N T K, Ha V, Tran N V T, *et al.* The sudden dominance of blaCTX-M harbouring plasmids in *Shigella* spp. Circulating in Southern Vietnam. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2010, **4**(6): e702
- [54] Rohmer L, Jacobs M A, Brittnacher M J, *et al.* Genomic analysis of the emergence of 20th century epidemic dysentery. *BMC Genomics*, 2014, **15**: 355
- [55] Njamkepo E, Fawal N, Tran-Dien A, *et al.* Global phylogeography and evolutionary history of *Shigella dysenteriae* type 1. *Nature Microbiology*, 2016, **1**: 16027
- [56] Woodward D L, Clark C G, Caldeira R A, *et al.* Identification and characterization of *Shigella boydii* 20 serovar nov., a new and emerging *Shigella* serotype. *Journal of Medical Microbiology*, 2005, **54**(Pt 8): 741–748
- [57] Hyma K E, Lacher D W, Nelson A M, *et al.* Evolutionary genetics of a new pathogenic *Escherichia* species: *Escherichia albertii* and related *Shigella boydii* strains. *Journal of Bacteriology*, 2005, **187**(2): 619–628

Advances on Genome Evolution of *Shigella**

YANG Lang, QIU Shao-Fu, LI Peng**, SONG Hong-Bin**

(Institute of Disease Prevention and Control, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China)

Abstract *Shigella*, an enteric pathogen, causes widespread bacillary dysentery around the world. Over the past few years, the emergence of resistance to multiple antimicrobials and new serotypes has brought new challenges to the surveillance and prevention of *Shigella*. The rapid development of genomics contributes to a better understanding of origins, mechanisms of variation and spreading principles, and has great scientific significance to control the spread of bacillary dysentery. From the perspective of genetic source, this essay focuses on the evolutionary relationship between *Shigella* and *E. coli*, as well as the possible molecular mechanisms. For the purpose of providing reference for researching and prevention of *Shigella*, the article also outlines the advances on genome evolution of *S. flexneri*, *S. sonnei* and *S. dysenteriae* type 1 with a detailed description of their features on temporal and spatial distribution and of the function of variation in resistance genes during evolution.

Key words *Shigella*, genome, evolutionary relationship, *Escherichia coli*

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0242

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (31200942, 81202252).

**Corresponding author. Tel: 86-10-66948475

LI Peng. E-mail: jiekennlee@126.com

SONG Hong-Bin. E-mail: hongbinsong@263.net

Received: August 11, 2016 Accepted: October 20, 2016