

# 感染组学 (Infectomics) 与微阵列: 感染病学前沿研究最新进展

黄胜和

南加州大学洛杉矶儿童医院, 南方医科大学

徐铃

南方医科大学

**摘要** 微阵列(microarray)技术是全面深入研究生物学问题, 包括微生物感染, 的有力工具。在感染性疾病的范畴中, 中心问题是如何能精确地、整体性地和综合地深入研究宿主抵抗力和微生物感染力之间的相互作用(感染组学)。DNA、蛋白质和碳水化合物微阵列均能用于感染性疾病的研究、诊断、预后、预防和治疗, 作为全面的工具。

**关键词** 感染; 感染组学; 微阵列; 基因组学; 蛋白质组学 糖组学

## 一. 序言

细菌性、病毒性、真菌性、和寄生虫性病原体 and 这些病原体的产物所引起的感染性疾病迄今仍然是人类死亡和残废的主要原因之一, 每年全球可引起 1700 万以上的新病例[1, 2]。由于微生物的感染, 一些新的因素正成为医学上主要关心的问题。这些包括以前未有记载的新的感染性疾病的连续出现, 旧的病原体的重新出现, 和病原体对抗微生物药物的抗性的发展等。此外, 免疫缺陷病人的数目也越来越多, 他们易受非致病性微生物所引起的机会感染。在 21 世纪更有对生物恐怖主义愈来愈大的关注。然而基因组顺序的获得和微阵列技术的发展却能对解决这些医学上的主要问题提供总体性的、综合性的策略。

## 二、 感染组学中的微阵列

将研究集中在一个个毒力基因、重要的病原体、和宿主的单个或有限数目的防御机制上乃是对人类感染性疾病的传统研究方法。然而, 目前急需的乃是对微生物感染的总体性与综合性研究, 而且要求是快速而精确的。最近提出了一个新的学科, 感染组学(infectomics)”, 其意义是对微生物感染的“组学(omics)”研究[3]。目前最重要的组学研究学科包括基因组学和蛋白质组学(表 1)和糖组学(glycomics)[4]。上述每一个组学研究学科均包括两个主要的方面: 结构研究和功能研究。基因型和表型的组学改变(称为“感染组 infectome”)是由机体的感染所引起, 编码于微生物病原体及其宿主的基因组内。这些改变包括了病原体及其感染的宿主体内复制(基因)、转录(mRNA)、翻译(蛋白质)和翻译后修饰(例如糖化和磷酸化)等水平上的变化; 并据信有特定的形式。最近曾用 DNA 微阵列作为全面监测这些基因型和表型变化的主要的高通量手段[3, 5]。蛋白质和碳水化合物的微阵列作为阐明感染性疾病过程的互补手段有很大的潜力[4, 6]。

表 1 有关微阵列和感染组学的一些网址

内容		网址
<b>宿主和模型生物的基因组</b>		
基因组的测序	人类基因组计划的测叙进展	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/</a>
Trans NIH mouse initiative	小鼠基因组计划	<a href="http://www.nih.gov/science/models/mouse">http://www.nih.gov/science/models/mouse</a>
<b>微生物病原体的基因组</b>		
Magpie 基因组测序计划表	微生物基因组	<a href="http://www-fp.mcs.anl.gov/~gaasterland/genomes.html">http://www-fp.mcs.anl.gov/~gaasterland/genomes.html</a>
病原体基因组 (NIAID)	数据库和研究的来源	<a href="http://www.niaid.nih.gov/dmid/genomes/">http://www.niaid.nih.gov/dmid/genomes/</a>
寄生虫-基因组		<a href="http://www.ebi.ac.uk/parasites/parasite-genome.html">http://www.ebi.ac.uk/parasites/parasite-genome.html</a>
WHO-TDR 寄生虫基因组委员会		C
MSN 研究结果	HIV 数据库	<a href="http://hiv-web.lanl.gov/">http://hiv-web.lanl.gov/</a>
	病毒数据库	<a href="http://life.anu.edu.au">http://life.anu.edu.au</a>
		C
<b>DNA 微阵列和基因组学</b>		
Microarrays.org	AMAD 软件包	<a href="http://www.microarrays.org">http://www.microarrays.org</a>
Lab-on-a-chip.com	微阵列市场	<a href="http://www.lab-on-a-chip.com/home/index.html">http://www.lab-on-a-chip.com/home/index.html</a>
Brown 实验室	微阵列指导	<a href="http://cmgm.stanford.edu/pbrown">http://cmgm.stanford.edu/pbrown</a>
功能基因组学	Cyber-T 软件	<a href="http://www.genomics.uci.edu/software.html">http://www.genomics.uci.edu/software.html</a>
Stanford 微阵列数据库	微阵列数据的储存、追踪、分析和显示	<a href="http://genome-www4.stanford.edu/MicroArray/SMD/">http://genome-www4.stanford.edu/MicroArray/SMD/</a>
EBI 数据库:array express	根据基因表达资料的微阵列的公共数据库	<a href="http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/">http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/</a>
<b>蛋白质微阵列和蛋白质组学</b>		
NoAb Biodiscoveries	微阵列的应用评论, e.g. 人类病原体的微阵列	<a href="http://www.noabdiagnostics.com/ANMicroarrays.htm">http://www.noabdiagnostics.com/ANMicroarrays.htm</a>
NAGAYAMA 蛋白质阵列	超分子, 粒子和蛋白质集合体, 2D 蛋白晶体	<a href="http://www.jst.go.jp/erato/project/nts_P/nts_P.html">http://www.jst.go.jp/erato/project/nts_P/nts_P.html</a>
生物链蛋白质阵列	基因功能分析的产物	<a href="http://www.biochain.com/proteinarray.htm">http://www.biochain.com/proteinarray.htm</a>
Biocompare	蛋白质微阵列仪器	<a href="http://www.biocompare.com/spotlight.asp">http://www.biocompare.com/spotlight.asp</a>
ExPASy:SWISS-2DPAGE	蛋白质组学软件	<a href="http://www.expasy.ch/ch2d/">http://www.expasy.ch/ch2d/</a>
<b>碳水化合物微阵列和糖组学</b>		
凝集素生物传感器阵列	细菌的鉴定和定量	<a href="http://www.science.uwaterloo.ca/~mikkels/lectin.html">http://www.science.uwaterloo.ca/~mikkels/lectin.html</a>
UNH 糖组学		<a href="http://glycome.unh.edu/">http://glycome.unh.edu/</a>
糖论坛/糖科学 Now-3	访问 N. Taniguchi 教授	<a href="http://www.glycoforum.gr.jp/science/now/now3E.html">http://www.glycoforum.gr.jp/science/now/now3E.html</a>
<b>感染性疾病的某些特殊问题</b>		
细菌性和真菌性疾病的区分 (DBMD):	抗微生物抗性	<a href="http://www.cdc.gov/drugresistance/community/">http://www.cdc.gov/drugresistance/community/</a>
抗生素抗性		C18
国家感染性疾病中心	二十一世纪的策略: 新出现的感染性疾病	<a href="http://www.cdc.gov/ncidod/emergplan">http://www.cdc.gov/ncidod/emergplan</a>

### 三. 研究微生物的发病机理

基因组学和蛋白质组学是用来研究微生物的发病机理的两个主要的、全面的方法。在这些新的、高通量的方法中, cDNA 阵列和寡核苷酸阵列由于其方法简单, 而且广博, 以及资料的一致性而著称。在微生物感染中, 这些技术已被用于作为监测微生物及其宿主的感染组

(infectome)的非常有效的方法。应用任何组织样品均能够测出其中几千个基因的表达水平,使我们能够在全面的范围内探索其生物学功能,这在以前是不可能的。例如,对幽门螺杆菌的微阵列研究发现在酸性应激反应时有80个基因的表达明显增高。在酸性应激反应下,监测幽门螺杆菌的反应可能有助于了解胃部疾病的发病机理。类似的微阵列已用来监测和鉴定宿主细胞在体内和体外对各种不同的感染性生物的反应的感染组(表2)。通过应用微阵列来监测感染时微生物和宿主细胞的基因表达的轮廓和感染组,可以提供全面和精确的信息,用以阐明对发病过程的综合性理解。

#### 四、 应用微阵列诊断微生物感染

鉴定微生物病原体的发病机制所用的传统诊断试验取决于能在实验室中获得、处理和分析该种微生物的技术。这类方法的主要缺点在于缺乏对感染因子和宿主反应的全基因组的通盘考虑,以及对某些微生物所必须的宿主环境条件的无知,而这种环境条件是无法在实验室内复制的。人和许多微生物基因组的全部顺序的获得使许多疾病的预防、预后和诊断发生了深刻的变化。基因型和表型感染组均可用来鉴别不同的感染因子或不同的发病机制。根据微生物病原体的基因组特征,用基因型分析法即可提供检出和鉴定微生物病原体的可靠的和精确的信息。DNA微阵列可能是分析微生物病原体的基因型的最好的方法。含有一组来自16SrRNA基因的82个多态性寡核苷酸的基因芯片已用来成功地准确鉴定各种分支杆菌,表明本法在分子诊断学中有重要地位[5]。在取得愈来愈多的微生物基因组DNA微阵列后,即可对微生物病原体进行全面的基因型分析,这对诊断感染组学将是至关重要的。现已有市售的人类和好几种病原体(白色念珠菌、幽门螺杆菌、脑膜炎双球菌、金黄色葡萄球菌、和肺炎双球菌)的DNA芯片可以买到。最近已开发出诊断感染性疾病用的抗原和碳水化合物的微阵列。一个巨大的微生物抗原库,其容量可包括最常见的病原体,能够被固定在一张载玻片上(可多至20000个点)[4]。预计用微阵列对感染组进行全面检测必然要比用传统方法更为有效和特异得多。

#### 五. 鉴定疫苗候选物和抗微生物药物

基因组学和蛋白质组学的最近进展对于解决预防和治疗感染性疾病这个日益复杂的问题提供了巨大的机会,并且扩张了疫苗候选物和抗微生物靶向的范围。根据基因组的全面方法也促进了传统的发展疫苗的方法和抗微生物的直接筛选程序向着更合理的和基于全基因组的策略前进[3]。应用DNA微阵列以发展疫苗的一个极好的例子是根据脑膜炎双球菌与人上皮细胞相互作用时该细菌血清型B(MenB)基因表达的调节的变化[7](图1)。用此法已经在小鼠身上诱导产生出5种有杀菌能力的抗体的候选疫苗。全基因组DNA微阵列分析法亦被用于比较牛型结核分支杆菌的结核疫苗菌株BCG、抗甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和其它病原体的各变异体的基因组(表2)。这些资料提供了有关这些人类病原体的进展的信息,更重要的是,提出了设计更进步的诊断学和抗微生物药物的合理途径。例如,MRSA一直是临床上的一个严重问题。对MRSA菌株

的起源也一直众说纷纭。DNA 微阵列分析证明 MRSA 菌株可通过 mec 元件的侧向传递进入甲氧西林敏感的前体细菌而多次产生。所以, 这个发现无疑解决了一个有关金黄色葡萄球菌的长时间的争论。同时, 某些可能的毒力因子或介导抗生素抗性的蛋白质亦已被鉴定出来。因此, 微生物病原体的微阵列资料的应用必将有助于发现许多可能的候选疫苗和抗微生物的靶标。将来, 如能将全基因组微阵列技术和传统的筛选策略二者的力量和优点结合起来, 必能大大地推进疫苗的发展和药物的发现。

表 2 微阵列在微生物感染中的应用

	病原体	抗生素	组织
<b>DNA 微阵列</b>			
基因型感染组 (突变) 的检测	结核分支杆菌 幽门螺杆菌		
微生物表型感染组的测定	鼠弓形体 脑膜炎双球菌		
微生物药物组 (pharmacomes) 的检测	结核分支杆菌 酿酒酵母 肺炎双球菌	异烟肼 两性霉素 B 和 mystatin 杆菌素样肽	
细胞培养中宿主表型感染组的检测	单核细胞增多性李司忒氏菌 肠炎沙门氏菌 鼠伤寒沙门氏菌 绿脓假单胞菌 沙眼衣原体 百日咳杆菌 新型隐球菌 鼠弓形体 EBV HIV-1 Yersinia enterocolitica 麻疹病毒		人单核细胞 人上皮细胞 小鼠巨噬细胞 人肺癌 A549 细胞系 HeLa 229 细胞系 人支气管上皮细胞 人内皮细胞 人包皮成纤维细胞 人 B 淋巴细胞 人 CD4 淋巴细胞 人上皮细胞 人血单个核细胞
动物模型中宿主表型感染组的检测	肺炎双球菌 幽门螺杆菌 肠炎沙门氏菌		大鼠中耳黏膜 无菌转基因小鼠 小鼠
<b>蛋白质微阵列</b>			
抗原微阵列	鼠弓形体、风疹病毒、CMV、HSV 1 型和 2 型的血清诊断		
<b>碳水化合物微阵列</b>			
微生物多糖微阵列	大肠杆菌 K29 和 K100、肺炎双球菌、流感嗜血杆菌 A 型、肺炎杆菌的血清诊断		

## 六. 全体共生微生物基因组(全微生组) (Microbiome)

全微生组 (Microbiome) 是指共生于人体正常的微生物区系的总体基因组。我们的胃肠道中居住有共计约 500 种不同的细菌的丰富的微生物区系。这些微生物中有些有重要的健康功能。微生物感染的发生、发展决定于宿主-微生物的相互关系的性质。这些关系包括宿主-病原体、宿主-共生菌和病原体-共生菌之间的相互关系。这些相互关系的机能整体性的 (holistic) 平衡对于我们的健康是必要的。然而, 对这种平衡仍然知之甚少。我们很少注意到对宿主的防御系统有益的共生微生物。详细研究在微生物感染时正常微生物区系的作用将是很困难的工作, 并且可能需要同时监察在细菌定居过程中宿主和微生物基因的表达情况。应用 DNA 微阵列来研究幽门螺杆菌分离株的总体基因型显示该菌的 *cag* pathogenicity island (PAI) 和胃中的微生物区系在其定居中起着重要作用。Cag PAI-阴性菌株就不能定居在传统饲养的 Lewis 转基因小鼠胃中 (常带有正常的微生物区系), 而 *cag* PAI-阳性分离株则可定居在 74% 动物的体内 [8]。对于 *Bacteroides thetaiotaomecron* 定居时肠道的转录反应的 DNA 微阵列的分析提示这种共生菌株能调控参与某些重要的肠道功能的基因的表达。这些功能包括营养物质的吸收、黏膜屏障的加强、异种生物 (xenobiotic) 代谢、血管生成作用和生后肠道的成熟。因此, 对全微生组 (microbiome) 的全面研究对于理解微生物感染是很重要的 [3]。

## 七. 微阵列技术与感染组学分析工具的发展

基于微阵列技术日益发展, 所产生的资信如山似海大大地超越由传统研究方法获得的数据。对微阵列资料的数学分析和电子计算机分析正成为现代生物医学科学的一个重要部分, 包括对感染性疾病的研究。已经发展了各种数学技术来模拟基因调节网络, 例如: 线性模型、Bayesian 网络、微分方程和概率性布尔网络等 [9]。迄今为止的大多数微阵列资料的分析都集中在无监控的或有监控的聚类算法的应用上。但是这些方法中没有一种能够获得基因-调节网络的所有的维数 (dimensions) [10]。将微阵列应用在对微生物感染的基因型和表型的研究仍然处在其发展的早期。在将来, 应用微阵列研究微生物感染的困难还包括对微生物毒力决定子 (determinants) 和宿主防御系统的全面分析, 对宿主抵抗力 and 微生物感染力之间的相互作用的模拟, 以及数据库的构建, 以便能分析和处理从基因型和表型的感染组学所得到的大量资信。

## 参考文献

1. Fauci AS. Infectious diseases: consideration for the twenty-first century[J]. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2001, 32(5):675-685.
2. McClane BA, Mietzner TA (eds). *Microbial pathogenesis: A Principles-Orientated Approach*. Fence Creek Publishing. 1999, p1-5.
3. Huang SH, Triche T, Jong AY. Infectomics: genomics and proteomics of microbial infections. *Functional & Integrative Genomics*. 1:331-44, 2002.
4. Wang D, Liu S, Trummer BJ, et al. Carbohydrate microarrays for the recognition of cross-reactive molecular markers of microbes and host cells.

- Nature Biotechnology, 2002, 20(3): 275-281.
5. Cummings CA, Relman DA. Using DNA microarrays to study host-microbe interactions. *Emerging Infectious diseases*. 2000, 6(5):513-525.
  6. Walter G, Bussow K, Lucking A, et al. High throughput protein arrays. prospects for molecular diagnostics. *Trends in Molecular Medicine*. 2002, 8(6): 250-253.
  7. Grifantini R, Bartolini E, Mzzi, et al. Previously unrecognized vaccine candidates against group B meningococcus identified by DNA microarrays. *Nat Biotechnol*. 2002, 20(9):914-921.
  8. Björkholm B, Lundin A, Sillén A, et al. Comparison of Genetic Divergence and Fitness between Two Subclones of *Helicobacter pylori*. *Infect Immun*. 2001 Dec; 69(12): 7832-7838.
  9. Shmulevich I, Dougherty ER, Kim S, Zhang W. Probabilistic Boolean Networks: a rule-based uncertainty model for gene regulatory networks. *Bioinformatics*. 2002 Feb;18(2):261-74.
  10. Baldi P, Brunak S (eds). *Bioinformatics: The Machine Learning Approach*, 2<sup>nd</sup> edition. Cambridge, MA: The MIT Press. 2001, p.299-321