评述

军事医学科学院微生物与流行病学研究 60 周年 回顾与前瞻

军事医学科学院

收稿日期: 2011-07-20; 接受日期: 2011-08-26

doi: 10.1360/052011-612

摘要 60 年来, 军事医学科学院的微生物与流行病学始终致力于防生物危害医学相关领域研究, 为我国的新发和再发传染病防控发挥了重要作用. 本文从病原微生物的检验和鉴定、新发传染病的发现与追踪、新发虫媒传染病的确认与流行趋势研究、重要病原微生物致病机理和媒介生物学等方面对军事医学科学院微生物与流行病学研究进行了综述.

关键词
微生物
流行病学
传染病

1951 年 8 月 1 日, 军事医学科学院在上海成立之初, 就成立了细菌学系、寄生虫学系和流行病学系. 1958 年 5 月, 军事医学科学院由上海迁至北京, 在上述 3 个系的基础上正式成立专门从事微生物与流行病学的微生物流行病研究所. 60 年来, 军事医学科学院的微生物与流行病学始终坚持为部队服务的科研方向, 紧紧围绕防生物危害医学和传染病预防控制等科研任务开展研究. 本文从病原微生物的快速鉴定、新发传染病的发现与追踪、重要病原微生物致病机理和媒介生物学等方面对军事医学科学院微生物与流行病学研究进行综述.

1 病原微生物的检验和鉴定

建院初始, 军事医学科学院的微生物学研究主要集中在防生物危害医学相关领域, 围绕病原微生物的检验和鉴定开展了相关研究. 20 世纪 50~60 年代以分离培养、生理生化以及动物实验为主, 70~80 年代以免疫学技术为主; 从 80 年代中期逐步开展了核酸检验为基础的研究工作; 20 世纪 90 年代后, 陆续

开展了结构基因组学、功能基因组学、蛋白质组学、比较转录组学和生物信息学等方面的研究. 同时, 随着新传染病的出现, 军事医学科学院在新病原体的分离、鉴定及流行病学和分子生物学等方面也作出了突出的成绩. 目前不仅对基于分离培养和免疫学的常规检验技术进行了标准化研究, 而且还开展了一系列快速和高通量检测技术的研究, 包括免疫层析技术、生物传感器技术、生物芯片技术和微生物蛋白指纹图谱技术等.

1.1 病原体检验鉴定技术规范化

针对重要致病微生物病原体, 开展了从标本处理、分离培养、免疫学检测、核酸检测和病理学诊断技术的规范化研究. 目前已经建立了一套针对不同标本的规范化的处理方案, 建立了针对重要病原体的规范化分离培养、免疫学检测、核酸检测和病理学诊断技术, 并研制了检测试剂盒; 同时还研制了一些重要毒素的规范化检测技术方法和试剂盒, 部分诊断试剂已获得国家药监局注册文号.

引用格式: 军事医学科学院. 军事医学科学院微生物与流行病学研究 60 周年回顾与前瞻. 中国科学: 生命科学, 2011, 41: 838-844. doi: 10.1360/052011-612

1.2 病原微生物检验鉴定新技术的研究

系统研制了免疫与核酸光纤生物传感器. 成功研制了基于特异基因的多种病原体检测芯片. 建立了免疫胶体金现场快速检测技术平台. 建立了一系列基于核酸的实时 RT-PCR 和 RT-LAMP 检测方法, 分别经过模拟和临床标本的考核. 在建立菌(毒)种库基础上, 开展了微生物蛋白指纹图谱的研究, 已建立产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)、伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)、痢疾志贺菌(*Shigella dysenteriae*)等 10 余种、100 余株病原菌的特征性核糖体蛋白表达谱的指纹图谱库, 该图谱数据库既可对目前保藏菌株的背景进行分析鉴定, 又可用于未知样本中病原微生物的快速鉴定和分类.

2 新发传染病的发现与追踪

当今世界又回到与传染病作斗争的时代, 传染病对人类健康和国家安全的危害日益加剧. 自 20 世纪 80 年代以来, 在世界范围内发现和确认的新传染病已达 40 余种. 面对新传染病的威胁和各种生物危害事件的挑战, 军事医学科学院根据不同类型的新发传染病采取不同的研究策略和技术路线, 相继在中国率先发现和证实了类鼻疽、庚型肝炎、TTV 感染、严重急性呼吸系统综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS)和禽流感等传染病的存在, 并进行了病原学、流行病学、致病机制、预防和控制等系列研究.

2.1 类鼻疽

类鼻疽是热带地区的人兽共患病, 病原为类鼻疽假单胞菌(*Pseudomonas pseudomallei*), 自从侵越法军和美军中出现、流行后引起人们的注意. 1974 年发现从内地运抵海南岛的军马发病后, 通过对人、畜、水和土壤标本进行病原体分离或血清学检测, 首次证实了中国类鼻疽的存在, 初步明确了中国类鼻疽疫源地的分布范围及影响因素, 阐明了本病对人、畜的危害及其对经济发展的影响. 在此基础上制备出特异的类鼻疽毒素, 可用于鉴别类鼻疽感染和马鼻疽感染.

2.2 病毒性肝炎

病毒性肝炎是中国重要传染病之一. 军事医学

科学院为了保障部队健康, 于 20 世纪 70 年代末, 继国外甲型肝炎病毒、乙型肝炎表面抗原被发现之后, 在国内较早开展了肝炎的流行病学与防治研究. 历时 18 年, 先后对甲型肝炎、乙型肝炎、丙型肝炎、戊型肝炎及庚型肝炎等进行了系列研究.

2.3 SARS

2003 年, 在国内率先分离出 SARS 冠状病毒(SARS-CoV), 并进行了系统鉴定和病毒全基因组序列的测定(图 1), 建立一系列核酸和血清检测方法, 在中国医疗和疾控系统内得到推广和应用, 研制的 SARS 灭活疫苗获得国家临床研究批件. 将现场流行病学调查与实验室分子生物学技术相结合, 针对 SARS-CoV 的 5 个多态性变异位点, 研究病毒在不同流行阶段、同一传播链上不同代病人、同一时间段不同流行地区的 SARS-CoV 变异情况, 从不同角度明确了 SARS-CoV 变异与传播、流行的关系. 通过前瞻性血清流行病学研究, 发现某医院感染 SARS 的医务人员感染 4 个月后无论是血清 IgG 抗体还是中和抗体水平都达到最高; 此后, 抗体滴度持续下降, 2 年后部分病人抗体转阴; 3 年后, 血清 IgG 及中和抗体都降到很低的水平(图 2). 通过病例对照研究, 对人

图 1 SARS-CoV 病毒的电镜显微镜图片(50000×)

群 *OAS1* 和 *MxA* 基因多态性与 SARS 易感性进行研究, 发现 *OAS1*, *MxA* 和 *IL-12 RB1* 基因多态性与 SARS-CoV 的易感性显著相关; 通过院内合作, 收集不同传播链 SARS 病人标本, 推翻了 *L-SIGN* 基因多态性与 SARS-CoV 感染有关的假设. 应用描述流行病学、空间流行病学、理论流行病学的方法真实呈现了中国大陆地区 SARS 流行病学特征, 证明了中国 SARS 病例不存在报告过度; 确定了中国大陆 SARS 扩散的空间分布模式.

2.4 禽流感

综合运用微生物学、免疫学、分子生物学方法对分离到人感染 H5N1 禽流感病毒病原体进行了系统鉴定; 对病毒的全基因组序列进行了测定和遗传进化分析, 证实其为一种全新的 H5N1 禽流感病毒, 与东南亚和香港分离的毒株有明显差异. 同时建立了快速、特异的人感染禽流感病毒血清抗体的新型检测方法, 对不同地区、不同暴露水平、不同暴露类型人群开展多方位血清流行病学调查, 获得了中国人感染不同亚型禽流感病毒的本底资料, 发现 H5N1 疫区人群中 H9 和 H7 亚型禽流感病毒在人群中的感染率高于预期, 增加了不同亚型禽流感病毒重组形成感染人新流行株的危险性. 同时, 重点针对中国青海湖地区 H5N1 禽流感暴发流行开展监测, 分离获得了一系列 H5N1 禽流感病毒株, 通过系统发生与进化分析, 提出了候鸟迁徙在传播禽流感过程中的作用, 掌握了中国 H5N1 高致病性禽流感的分布特征和流

行规律. 应用地理信息系统和遥感等现代空间信息技术, 确定了中国大陆 H5N1 禽流感扩散的环境危险因素, 在此基础上应用预测模型, 建立起 H5N1 高致病性禽流感传播风险地图.

2.5 甲型 H1N1 流感

2009 年甲型 H1N1 流行期间, 平行检测确诊了国内首例甲型 H1N1 流感病例, 是国内较早分离获得甲型 H1N1 流感病毒的单位之一, 建立了动物模型和系统配套的快速诊断方法, 完成了达菲等多种候选药物的抗病毒药效学评价. 通过暴发调查和分子流行病学研究, 对甲型 H1N1 流感的流行特征、临床表现和检测标准提出了新的认识; 结合血清流行病学和病毒学研究, 揭示中国老年人群中甲型 H1N1 病毒中和抗体水平低于美国, 提出了季节性流感疫苗免疫对大流行的潜在保护作用. 详细调查了一起甲型 H1N1 流感与季节性 H3N2 流感疫情的同时暴发, 发现了病人的复合感染现象, 揭示了甲型 H1N1 流感的独特流行病学规律, 提出了甲型 H1N1 流感病毒在传播过程中逐步替代季节性流感病毒的观点. 对甲型 H1N1 流感疫苗接种队列进行随访, 发现虽然疫苗不能完全保护接种者, 但可减轻病人的症状, 并可刺激免疫记忆反应, 为中国的甲型 H1N1 流感疫苗的免疫策略提供了重要参考. 掌握了甲型 H1N1 流感的流行特征及传播扩散的时空趋势, 探讨了中国甲型 H1N1 流感传入初期各项防控措施的效果, 建立的传播风险预测模型对中国甲型 H1N1 流感的传播风险进行

图2 SARS 恢复期病人 IgG 及中和抗体随时间变化情况

了预测与计算机模拟, 对人口、交通、气候等因素对甲型 H1N1 流感的扩散作用进行了定量评价。

3 新发虫媒传染病的确认与流行趋势研究

3.1 粒细胞无形体(*Anaplasma phagocytophilum*)

率先在中国启动了新发蜱传无形体病自然疫源地调查, 建立起病原学检测方法, 从媒介蜱种、动物宿主和易感人群 3 个流行环节获得病原体感染的证据, 证实了自然疫源地的存在。最早在亚洲地区确认粒细胞无形体的存在, 在世界上首次报道了全沟硬蜱感染粒细胞无形体; 发现粒细胞无形体多个变异株的存在, 在亚洲首次体外成功分离粒细胞无形体。为中国无形体的病原学、生态学等后续研究的开展打下了基础, 为临床上蜱咬后发热病人的诊治提供了新的思路。

3.2 莱姆病

莱姆病是由伯氏疏螺旋体(*Borrelia burgdorferi*)引起的一种蜱传自然疫源性疾病, 1976 年在美国莱姆地区被发现和描述, 故此命名, 在美国有“第二艾滋病”之称。1986 年, 军事医学科学院在黑龙江海林县进行了系统的流行病学调查, 首次证明中国和亚洲地区存在着莱姆病的自然疫源地。这一发现引起国内外学者的极大兴趣, 并迅速推动了全国莱姆病的调查和防治研究的开展。此后, 应用血清学及病原学检测技术对中国莱姆病的地理分布进行初步调查, 发现莱姆病 5 个新疫源地, 鉴定出伯氏疏螺旋体 3 个新基因型, 发现了莱姆病新的传播媒介蜱种; 在世界上首次报道了全沟硬蜱同时感染伯氏疏螺旋体和粒细胞无形体, 以及多种蜱媒病的复合感染现象。

3.3 肾综合征出血热(hemorrhagic fever with renal syndrome, HFRS)

在分子水平上确定了中国 HFRS 新疫源地中汉坦病毒(Hantavirus, HV)优势流行株的型别和亚型; 掌握了动物宿主及人群感染 HV 的基因变异规律; 首次从大林姬鼠中发现 Amur 型汉坦病毒, 并提出了其与 Soochong 型 HV 同种的新观点。利用地理信息系统、遥感、全球卫星定位系统等空间信息技术的特点和优势, 阐明了中国 HFRS 不同尺度的时空分布和景观结构特征, 发现海拔高度、年降雨量、地表温度、

植被类型等与动物宿主的分布、带病毒指数和人群发病相关。确定了引起 HFRS 发病率升高的地理环境要素, 划定了中国 HFRS 分布的危险区域。通过研究气候变化与 HFRS 发生的关系, 建立风险传播预测模型, 对人间 HFRS 的传播风险进行预测。掌握了北京市的 HFRS 时空分布特征及相关环境危险因素。利用筛选的危险因素, 建立了北京市宿主动物感染 HV 的风险预测模型, 划分出 HV 传播高风险区, 明确了高危险区。掌握了山东 HFRS 疫区(姬鼠型-混合型-家鼠型)的演化规律, 弄清了与 HFRS 季节性变化相关的气象因素。

4 重要病原微生物致病机理及其相关基础研究

重要病原微生物致病机理的研究一直是军事医学科学院的工作重点。重点围绕威胁人类的单股正链 RNA 病毒, 先后成功构建了包括登革病毒、西尼罗病毒、乙脑病毒、基孔肯亚病毒、肠道病毒、冠状病毒等在内的反向遗传学系统, 发现了一系列位于黄病毒基因组非编码区的调控元件, 获得了一系列登革热减毒株和候选疫苗, 利用单克隆抗体技术对登革病毒膜融合机制进行了探讨, 提出一系列抗病毒的新策略, 先后出版了《登革病毒与登革病毒病》等专著。在 HIV-1 的致病机理研究方面, 确定了 HIV-1 种蛋白的细胞内定位, 利用 Fission 酵母系统研究了 HIV-1 *vpr* 和 *vif* 基因与 HIV-1 感染和致病的关系。测定了不同类型 HIV-1 感染者(快速进展和长期不进展)的 APOBEC3G 的表达水平。在病毒性肝炎的致病机理研究方面, 在国内率先测定了肝炎相关新病毒 HGV 的全基因序列; 同时, 在国内首先证实 TTV 病毒在中国人群中的存在, 并及时开展了感染动物模型和致病性的研究。

在鼠疫菌的致病机理研究方面, 利用基因组学、比较基因组学、转录组学等多种技术, 围绕鼠疫菌的进化、传播、致病机制调控开展了一系列的研究工作。研究了模拟鼠疫菌侵入机体后体内压力条件刺激的表达谱, 发现了大量可能与致病相关的基因和重要生理功能相关的基因, 为致病机制的研究提供了大量的靶标(图 3)。其中通过国际合作进行了基于全基因组单核苷酸多态性的系统发育分析, 重建了鼠疫菌的种群结构, 证明人类历史上鼠疫大流行的传播

与古代重要商贸路线(丝绸之路、茶马古道和唐蕃古道等)相关. 在立克次体的致病机理研究方面, 克隆和表达了伯氏柯克斯体等立克次体的主要保护性抗原, 发现伯氏柯克斯体双抗原融合蛋白(Hsp-P1)和恙虫病东方体双抗原融合蛋白(Sta56-47)具有比单一抗原显著增强的免疫原性. 在猪链球菌的致病机理研究方面, 分离获得了多株猪链球菌 2 型菌株, 开展了链球菌 2 型菌株的免疫蛋白质组研究, 鉴定并首次报道了 22 个具有较高免疫原性的猪链球菌细胞壁蛋白, 并进行了保护效果评价, 为研究高效保护疫苗和诊断靶标提供依据, 同时为研究猪链球菌的致病机制提供了线索. 为了研究猪链球菌致病机制和验证蛋白质组学结果, 研制了猪链球菌全基因组 DNA 芯片, 并进行了不同温度和环境胁迫下的转录谱研究, 发现在不同环境胁迫下, 全基因的表达调控情况. 通过

重组表达、纯化获得了肠出血性大肠杆菌 I 型和 II 型志贺样毒素, 通过免疫制备获得了特异的 IgY 抗体, 建立了碘标记毒素和毒素定量检测技术, 测定了毒素在大鼠体内的代谢规律和分布情况. 同时, 分别完成了肠出血性大肠杆菌蛋白疫苗和载体疫苗的分子设计与制备, 其免疫效力在动物模型上得到验证.

5 媒介生物学研究

重要医学昆虫区系和分类是军事医学科学院媒介生物学学科的一个具有特色和优势的基础研究领域. 50 余年来, 结合虫媒病的调查, 在全国范围内采集了数以百万计的医学昆虫标本, 建立了亚洲最大的医学昆虫标本馆. 编研和出版了《中国蚤志》、《中国蚊科志》及《中国麻蝇科志》. 出版了一批分

图 3 基因芯片分析鼠疫苗致病相关基因

在双色荧光拟合图中, 红色点对应基因中突变株中表达下调, 表明相应基因受 Pho P 蛋白的正调控; 绿色点对应基因中突变株中表达下调, 表明相应基因受 Pho P 蛋白的负调控; 黄色点对应基因在两个菌株中表达水平没有变化

类学专著, 包括《中国重要医学动物鉴定手册》、《中国重要医学昆虫分类与鉴别》、《中国按蚊鉴定手册》、《中国伊蚊鉴定手册》、《中国蠓科昆虫》和《全国分省区流行病学和医学动物汇编》等. 在经典分类方法的基础上, 采用分子遗传学和生物化学方法对中国尖音库蚊复合组(*Culex pipiens complex*)、不显库蚊种团(*Culicoides obsoletus group*)、灰黑库蚊种团(*Culicoides pulicaris group*)、方型黄鼠蚤(*Citellophilus tesquorum*)、人蚤(*Pulex irritans*)等进行了较深入的研究, 澄清了一些分类学混乱.

在媒介生物生态习性和监测方面, 紧密围绕对军队威胁大的疾病, 如疟疾、登革热、乙型脑炎等虫媒传染病的主要媒介种类和边、海防地区吸血骚扰的主要类群进行了研究. 从 20 世纪 50 年代起, 军事医学科学院开始了蜱类生态学研究, 对中国分布的蜱媒传染病自然疫源地进行了监测工作. 对全沟硬蜱(*Ixodes persulcatus*)、草原革蜱(*Dermacentor nuttalli*)等 8 种重要媒介蜱类的生态习性进行了全面的观察, 获得了其生态学特征. 从 1978 年开始, 开展了对埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)和白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)的系统研究, 查清了埃及伊蚊和白纹伊蚊在中国的分布范围, 对预防登革热起到重要作用. 通过对中华按蚊越冬方式及其越冬生理生态的研究, 证实中华按蚊(*Anopheles sinensis*)是以滞育(主要是浅滞育)和静止两种生理状态越冬的, 并建立了三带喙库蚊(*Culex tritaeniorhynchus*)幼期实验种群动态模型、幼期单世代自然种群动态模型. 通过从实验生态学研究入手, 建立了具有世界先进水平的离体养殖装置和方法, 获得了印鼠客蚤(*Xenopsylla cheopis*)和方型黄鼠蚤松江亚种(*Citellophilus tesquorum sungaris*)的实验种群动态和嗜血习性的重要参数. 研制了针对媒介生物和动物宿主的采样和监测的具有自主知识产权的监测和防治装备——“媒介生物采样箱”, 于 2002 年完成了第一代媒介生物采样箱的组装, 装备各军区兵种一级卫生防疫队. 2005 年, 完成了第二代媒介生物采样箱的研制, 该装备已列入军队装备, 在国家、军队、口岸系统广泛应用, 并配套完成了多种病媒生物采样监测的国家标准和技术规范.

在媒介生物传播生态学研究方面, 进行了西部开发中自然环境变化对重要虫媒病传播的影响的研究, 分别在云南、贵州、甘肃针对林区开发、天然林保护和退耕还林、水利工程建设中的环境变化对疟

疾、鼠疫、莱姆病的发生深入研究, 应用 3S 技术对环境变化对虫媒传染病的影响原因进行了探讨, 初步发现林区开发、天然林保护和退耕还林、水利工程建设对上述虫媒传染病的媒介蚊、蜱、鼠、蚤的种群发生动态有着明显的影响.

在新发传染病媒介确定和传播特征的研究方面, 针对登革热、西尼罗病毒、西方马脑炎病毒和莱姆病螺旋体的潜在媒介种类进行了研究, 发现致倦库蚊不是中国登革热的传播媒介, 证实了白纹伊蚊滞育卵可以传播登革热病毒. 确定了中国西尼罗病毒和西方马脑炎病毒的潜在传播媒介. 确定了中国北方秦岭以北林区莱姆病的主要媒介为全沟硬蜱, 南方林区的主要传播媒介为中华硬蜱.

在媒介生物的防治研究方面, 基于多年的媒介生物研究和防治的实践, 结合中国的国情, 提出了蚊虫综合防治的概念和策略, 建立了中国主要媒介蚊虫的综合防治理论体系, 提出了中国重要鼠类和蝇类的综合防治理论. 在综合防治研究的基础上, 致力于研究适合大面积、快速灭杀媒介昆虫的杀虫药械.

6 展望

随着科学技术的发展, 微生物检验鉴定技术将由目前以定性检测为主向定量检测发展, 基于基因和蛋白质芯片等高通量检测技术的快速发展, 将极大地推动微生物检测技术的向前发展. 同时, 检验鉴定技术标准化的研究对病原微生物检验至关重要, 需要积极整合多学科的优势资源, 形成科研攻关的合力, 加速检测试剂、方法和规程的统一和标准化. 微生物结构基因组学、功能基因组学、蛋白质组学、比较转录组学、代谢组学、相互作用组学和生物信息学等一系列新学科、新技术的发展为微生物学的丰富和创新奠定了重要学科与技术基础. 因此, 需要尽快将现有的新技术与常规的遗传学、免疫学和生理生化技术有机地结合起来, 面临挑战抓住机遇, 针对重要烈性传染病的病原体开展致病机理的基础研究, 为疫苗和药物设计与筛选研究奠定基础.

流行病学是预防医学的核心学科和军事医学的重要组成部分, 也是公共卫生领域发展最快、最活跃的学科之一. 尤其是在 2003 年的 SARS 和 2004 年的禽流感大暴发之后, 流行病学更凸显其在公共卫生和预防医学领域的主导地位. 今日的流行病学, 不仅在

以预防为目的的医学实践中发挥着越来越重要的作用, 而且在以提高医疗服务水平和促进基础研究发展为目的的生物医学实践中, 得到越来越广泛的应用.

当前全球面临着传染病的威胁, 一些老的传染病死灰复燃, 许多新的传染病不断出现. 在世界上新

发现的 40 多种传染病中, 大部分在中国存在和流行. 在自然和社会环境日益变化、科学技术迅猛发展的今天, 可以预期新的传染病将会不断出现和被发现. 因此, 今后对新传染病的发现和研究仍将是军事医学科学院微生物流行病学研究的重点领域.

撰稿人: 赵晓冬, 张小爱, 刘玮, 秦成峰, 童贻刚, 王慧, 周育森, 赵彤言, 曹务春