

百日咳发病机制及合并感染机制研究进展

聂 渝, 郑改焕

重庆医科大学附属儿童医院, 重庆

收稿日期: 2022年5月29日; 录用日期: 2022年6月21日; 发布日期: 2022年6月30日

摘 要

近年来百日咳发病有复燃趋势, 儿童尤其是婴幼儿患百日咳后, 一方面导致剧烈痉挛性咳嗽, 同时患儿易合并其他病原体感染, 造成病程迁延不愈, 对健康造成很大危害, 严重者甚至导致患儿死亡。百日咳发病机制以及患儿患百日咳后容易合并其他病原感染的确切原因尚未完全明确。本文就百日咳发病机制研究进展及百日咳患儿合并其他感染可能机制相关研究文献进行综述。

关键词

百日咳, 鲍特杆菌, 毒力, 机制, 进展

Research Progress on the Pathogenesis of Pertussis and Its Co-Infection

Yu Nie, Gaihuan Zheng

Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

Received: May 29th, 2022; accepted: Jun. 21st, 2022; published: Jun. 30th, 2022

Abstract

In recent years, the incidence of pertussis has a resurgence trend. Whooping cough in children, especially infants, causes severe spasmodic cough, at the same time, children are easy to be infected by other pathogens, resulting in prolonged course of disease, even lead to death of children in serious cases. Whooping cough pathogenesis and children with pertussis after the merger easily the exact cause of infection with other pathogens is not yet fully clear. The research on the pathogenesis of pertussis and the infection after suffering from pertussis is gradually increasing. How-

ever, there is still a lack of summary review reports, this paper summarizes the review.

Keywords

Pertussis, *Bordetella pertussis*, Virulence, Mechanism, Progress

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

百日咳(Pertussis)是由百日咳鲍特杆菌(*Bordetella pertussis*)感染引起的以阵发性痉挛性咳嗽, 以及咳嗽终末伴有鸡鸣样吸气性回声为特点的呼吸道传染病[1]。百日咳在 1600 多年前就被人类所认知, 历史上对儿童健康曾造成严重危害, 20 世纪初, 百日咳在婴儿中病死率高达 10%。尽管由于 1940 年代引进了百日咳疫苗和 1970 年代疫苗的改进, 感染人数大幅减少, 但过去十余年间, 百日咳在世界范围内大规模重现, 主要累及婴儿和青少年, 仍然是婴儿和 5 岁以下儿童发病和死亡的主要原因, 婴儿的感染源通常是青少年或成年家庭成员, 百日咳感染导致的死亡多数发生在婴儿中, 该年龄组易并发严重的并发症, 有文献报道新生儿严重感染时, 可高达 3% 的死亡风险, 百日咳杆菌感染与婴儿猝死综合征可能存在关系, 因其咳嗽微弱, 无法及时准确识别, 常由于呼吸暂停发现; 严重的肺动脉高压及高白细胞计数也是死亡的常见原因。随着近年来全球“百日咳复燃”, 对百日咳发病机制及患百日咳后合并感染的相关研究有逐渐增多, 但尚缺乏总结性综述报道, 本文就此进行总结综述。

2. 百日咳鲍特杆菌致病毒力因子

百日咳鲍特杆菌主要的致病毒力因子为细菌内毒素。由于百日咳鲍特杆菌的几种毒力因子的协调相互作用, 其中包括百日咳毒素(Pertussis toxin, PT), 腺苷酸环化酶毒素(Adenylate Cyclase Toxin, AC), 皮坏死毒素(Dermonecrotic toxin, DNT)和气管细胞毒素(Tracheal cytotoxin, TCT)等毒素。影响百日咳双歧杆菌毒力的其他因素包括表面结构, 例如丝状血凝素(Filamentous hemagglutinin, FHA)、纤丝(Filaments, FIM)、百日咳杆菌粘附素(Pertussis Bacillus adhesion, PRN)、III 型分泌系统和脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)以及代谢蛋白(例如 BrkA、BapC 和 BatB)。在百日咳鲍特杆菌中, bvgAS 基因积极控制几种毒力因子的表达, 包括 PT, AC, DNT, FHA, TcfA, pertactin, FIM, BrkA, BipA, BcfA 和 Vag8。百日咳鲍特杆菌的 BvgAS 双组分信号转导系统在百日咳致病性中起关键作用[2]。

2.1. 百日咳毒素(Pertussis Toxin, PT)

与其他细菌蛋白质毒素相似, 是一种高度进化的蛋白质, 是一种典型的 A-B 细菌蛋白毒素, 因为它由酶活性 A 组分和结合 B 组分组成。然而, 与许多 A-B 毒素的简单单体结构不同, PT 是多聚体的, 由催化活性的 S1 亚基和五个亚基(亚基 S2, S3 和 S5 各一个拷贝以及亚基 S4 的两个拷贝)组成, 组成 B 寡聚物, 它是毒素的受体结合组分[3]。PT 虽然很重要, 但百日咳感染中也不是必需的, 其异质三聚体 G 蛋白的 ADP 核糖基化影响许多细胞类型的信号转导(破坏功能)。由此产生的生物学效应包括诱导淋巴细胞增多作用, 改变胰岛素分泌, 增强对组胺和其他介质的敏感性。动物模型中的和其他观察表明 PT 通过

抑制早期炎症和抑制炎症细胞的杀微生物作用来帮助建立感染,除了在感染高峰期有助于炎症病理学外,PT在人类感染期间是否产生这些影响尚不清楚。

2.2. 腺苷酸环化酶毒素(Adenylate Cyclase Toxin, ACT)

ACT是一种关键的毒力因子,在小鼠感染中具有保护活性,通过与 α 结合来靶向吞噬细胞M β 2整合素补体受体3(CR3,也称为CD11b/CD18),ACT含有两个不同的功能模块:C端结构域,介导与靶细胞的结合并在质膜中形成阳离子选择性孔;N端结构域可将ATP转化为环AMP(cAMP)[4]。最近有研究表明,ACT具有阻断巨噬细胞的吞噬作用,此外,这种毒素还抑制T细胞的活化以及趋化性。由ACT介导的这些免疫调节活性的组合使其成为促进百日咳双歧杆菌感染的强大毒力因子。

2.3. 气管细胞毒素(Tracheal Cytotoxin, TCT)

气管细胞毒素(TCT)是肽聚糖的二糖-四肽单体,在细胞壁重塑的过程中产生。尽管大多数革兰氏阴性菌可以回收它,但百日咳杆菌中回收效率低下,并向细胞外环境释放大量TCT。TCT是唯一已知的不受BvgAS调控的百日咳杆菌毒力因子[5],尽管有人认为TCT介导的细胞病理学有助于解释百日咳的特征性咳嗽,但仍缺乏相关的动物模型[6]。故其在百日咳的发病机制中作用尚不清楚。

2.4. 皮肤坏死毒素(Dermonecrotic Toxin, DNT)

该蛋白具有较弱的序列同源性,有证据表明DNT的产生受到BvgAS的积极调节。DNT的细胞靶尚不清楚[7],可能在感染期间在细菌细胞质内起作用,也可能是通过促进细菌在特定宿主体内存活,暂时没有公认的作用。

2.5. III型分泌

Bordetella spp. Bsc III型分泌系统(T3SS)在支气管败血杆菌中得到了最广泛的研究[7],并在*in vitro*的多种细胞类型中诱导非caspase依赖性坏死死亡,观察结果表明Bsc T3SS具有促进下呼吸道持久性的免疫调节作用,但这种现象的机制基础仍有待明确。

2.6. 丝状血凝素(Filamentous Hemagglutinin, FHA)

是百日咳双歧杆菌的重要粘附因子,百日咳杆菌作为预蛋白(FHAB)合成,被加工成成熟的FHA分子。FHA似乎也可抑制气道炎症。由于FHA是无细胞百日咳疫苗的组成部分,因此这种免疫调节活性可能是疫苗功效的问题。

2.7. 博德特氏菌病原体产生的纤维(Filaments, FIM)

同样被认为是粘附因素,FIM 2和FIM 3以及次要粘附素亚基FIM D的突变显著降低了细菌对这些细胞的粘附性,并且添加纯化的膜亚基竞争性地抑制了细菌粘附[8]。与FHA类似,纤毛可能参与粘附和/或抑制对感染的初始炎症反应,可能有助于百日咳杆菌持续的存在,也具有免疫调节性。

2.8. 百日咳杆菌粘附素(Pertussis Bacillus Adhesin, PRN)

PRN是经典的外膜蛋白自转运蛋白家族的成员,有助于百日咳杆菌粘附纤毛呼吸道上皮,研究表明PRN参与介导对中性粒细胞介导的清除的抵抗,表明免疫调节具有类似于腺苷酸环化酶毒素的作用[9]。

2.9. 其他表面蛋白

由额外的BvgAS激活基因编码的许多蛋白质,能够在表面定位或分泌,包括已知的或未知的蛋白质,

它们在发病机制中的作用尚不清楚, 可能包括介导依从性、血清耐药性、规避抗体介导的清除率和其他表面蛋白的蛋白水解处理[10]。

3. 百日咳鲍特杆菌致病过程

由细菌通过 FHA 和纤维粘附到气管上皮和肺是一个重要的主要步骤。一旦发生粘附, 百日咳鲍特杆菌细胞在局部繁殖, 抵抗宿主防御机制(例如, 粘膜纤毛清除率, 抗菌肽和炎性细胞), 并对上呼吸道和下呼吸道造成局部损伤并伴有全身表现[11]。症状的严重程度取决于几个因素, 包括患者的年龄、免疫反应的强度和全身细菌传播的程度。在疾病严重的婴儿中, 细菌从上呼吸道下降到下呼吸道, 产生坏死性支气管炎, 弥漫性肺泡损伤, 肺泡内出血, 纤维性水肿, 富含巨噬细胞的肺泡浸润, 淋巴管扩张, 嗜中性支气管肺炎和纤维蛋白血栓。在更严重的情况下, 这些病理事件可导致肺动脉高压, 呼吸衰竭, 甚至死亡。肺动脉高压通过诱导淋巴细胞增多(高白细胞增多症)作为 PT 的间接作用发展, 其中总白细胞计数可超过 1×10^5 细胞/ mm^3 , 这些超高的白细胞计数在肺脉管系统中产生淋巴细胞聚集, 导致肺血管阻力增加。在患有百日咳的婴儿中, 淋巴系统也会受到影响。死后活检显示胸腺皮质萎缩, 淋巴结淋巴耗竭和脾脏骨髓耗竭[12]。

4. 百日咳患儿合并感染的机制及研究进展

在过去的 20 几年研究, 仍有很多未知的关于百日咳的发病机制。例如, 患儿患百日咳后容易合并其他病原体感染确切机制尚未明确。一些研究人员认为, 与单一病原体相比, 合并感染的患者的 NPA 中 IP-10 水平较高, 合并感染组的 MIP-1 α 水平显著上调。趋化因子是百日咳杆菌感染儿童 NPA 样本中不受管制的主要细胞因子类型。它们主要由上皮细胞分泌, 其关键作用是中性粒细胞的募集。此外, 有研究表明, 百日咳的确诊可能与整体鼻咽微生物群组成的变化无关, 而与百日咳杆菌的出现以及有益细菌的丰富度减少有关。与单次感染相关的微生物群相比, 合并感染相关微生物群中鼻咽微生物丰富度明显降低[13]; 也有学者表明, 百日咳症状可能与博德特氏菌的存在没有直接关系, 而是与丰富多样的鼻咽微生物群以及更高的病毒合并感染率有关[14]。Youyi Zhang 等表示使用抗生素治疗导致的微生物群生态失调, 进一步导致早期百日咳双歧杆菌感染的易感性增加[15]。对百日咳双歧杆菌发病机制的进一步研究, 可能对于新型抗菌剂, 干扰新发现的毒力机制提供基础。

黄辉等人研究发现合并副流感病毒 III 感染的百日咳病例, 均为低龄小婴儿, 且临床症状较单纯百日咳患者更重, 百日咳与 PIV III 感染发病月份有所重叠, RSV 感染发病以冬季为主, PIVIII 则以夏季为主, 与百日咳高发季节有重叠, 可能也是发生混合感染的原因之一[16], 在临床严重程度方面, A. Frassanito 等人研究表示单独患有百日咳鲍特杆菌感染的婴儿和合并感染的婴儿在临床疾病严重程度(以临床严重程度评分和住院天数衡量)方面未见明显差异。Nuolivirta 等人同时也发现, 在临床表现、住院天数和入院前母乳喂养方面, 单独感染呼吸道病毒与存在合并感染百日咳的患者相比没有差异。在人类模型中, Schiavoni 等人证明, 减弱的百日咳双歧杆菌通过促进 Th1/Th17 反应来限制由 RSV 感染引起的人类树突状细胞的免疫功能。由减毒细菌或共生微生物引起的自限性呼吸道感染, 可能能够减少由婴儿呼吸道病毒感染引起的潜在致命性疾病[17]。

儿童及婴幼儿患百日咳的治疗包括对症治疗, 和针对病原体治疗, 以及针对合并感染的治疗。大环内酯类药物仍然是首选的抗百日咳鲍特杆菌药物, 可快速从鼻咽中清除微生物, 可显著缩短个体传染期, 从而减少向接触者的传播。但在减轻患儿痉咳症状上效果有限。百日咳合并其他病原体感染常常被忽视, 从而造成诊断不足和治疗延误。提高对百日咳鲍特杆菌致病机制的认知, 及重视对百日咳合并感染的处理, 对百日咳患儿的治疗具有重要的临床意义。

参考文献

- [1] Mattoo, S. and Cherry, J.D. (2005) Molecular Pathogenesis, Epidemiology, and Clinical Manifestations of Respiratory Infections due to *Bordetella pertussis* and Other *Bordetella* Subspecies. *Clinical Microbiology Reviews*, **18**, 326-382. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.2.326-382.2005>
- [2] Knapp, O. and Benz, R. (2020) Membrane Activity and Channel Formation of the Adenylate Cyclase Toxin (CyaA) of *Bordetella pertussis* in Lipid Bilayer Membranes. *Toxins (Basel)*, **12**, 169. <https://doi.org/10.3390/toxins12030169>
- [3] 黄辉, 邓莉, 肖飞, 等. 儿童百日咳发病特点及诊断中联合呼吸道病毒检测的临床意义分析[J]. 中华儿科杂志, 2017, 55(8): 580-585. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2017.08.007>
- [4] Frassanito, A., Nenna, R., Nicolai, A., Pierangeli, A., Tozzi, A.E., Stefanelli, P., et al. (2017) Infants Hospitalized for *Bordetella pertussis* Infection Commonly Have Respiratory Viral Co-Infections. *BMC Infectious Diseases*, **17**, Article No. 492.
- [5] Pandolfi, E., Panera, N., Alisi, A., et al. (2021) Cytokine Expression Patterns in Hospitalized Children with *Bordetella pertussis*, Rhinovirus or Co-Infection. *Scientific Reports*, **11**, Article No. 10948. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89538-0>
- [6] Rocafort, M., Henares, D., Brotons, P., et al. (2021) Exploring the Nasopharyngeal Microbiota Composition in Infants with Whooping Cough: A Test-Negative Case-Control Study. *PLOS ONE*, **16**, e0259318. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0259318>
- [7] van den Brink, G., Wishaupt, J.O., Douma, J.C., et al. (2014) *Bordetella pertussis*: An Underreported Pathogen in Pediatric Respiratory Infections, a Prospective Cohort Study. *BMC Infectious Diseases*, **14**, Article No. 526. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-526>
- [8] Nuolivirta, K., Koponen, P., He, Q., Halkosalo, A., Korppi, M., Vesikari, T., et al. (2010) *Bordetella pertussis* Infection Is Common in Unvaccinated Infants Admitted for Bronchiolitis. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, **29**, 1013-1015. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e3181f537c6>
- [9] Schiavoni, I., Fedele, G., Quattrini, A., Bianco, M., Schnoeller, C., Openshaw, P.J., et al. (2014) Live Attenuated *B. pertussis* BPZE1 Rescues the Immune Functions of Respiratory Syncytial Virus Infected Human Dendritic Cells by Promoting Th1/Th17 Responses. *PLOS ONE*, **9**, e100166. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100166>
- [10] Ferronato, A.E., Gilio, A.E. and Vieira, S.E. (2013) Respiratory Viral Infections in Infants with Clinically Suspected Pertussis. *Jornal de Pediatria*, **89**, 549-553. <https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2013.05.004>
- [11] Halperin, S.A., Bortolussi, R., Langley, J.M., Miller, B. and Eastwood, B.J. (1997) Seven Days of Erythromycin Estolate Is as Effective as Fourteen Days for the Treatment of *Bordetella pertussis* Infections. *Pediatrics*, **100**, 65-71. <https://doi.org/10.1542/peds.100.1.65>
- [12] 郭文婧, 邹映雪. 百日咳毒素的研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2020, 47(5): 312-316. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2020.05.004>
- [13] Locht, C. and Antoine, R. (2021) The History of Pertussis Toxin. *Toxins (Basel)*, **13**, 623. <https://doi.org/10.3390/toxins13090623>
- [14] Burns, D.L. (2021) Secretion of Pertussis Toxin from *Bordetella pertussis*. *Toxins (Basel)*, **13**, 574. <https://doi.org/10.3390/toxins13080574>
- [15] Knuutila, A., Barkoff, A.M., Mertsola, J., Osicka, R., Sebo, P. and He, Q. (2021) Simultaneous Determination of Antibodies to Pertussis Toxin and Adenylate Cyclase Toxin Improves Serological Diagnosis of Pertussis. *Diagnostics (Basel)*, **11**, 180. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11020180>
- [16] Holubova, J., Juhasz, A., Masin, J., Stanek, O., Jurnecka, D., Osickova, A., Sebo, P. and Osicka, R. (2021) Selective Enhancement of the Cell-Permeabilizing Activity of Adenylate Cyclase Toxin Does Not Increase Virulence of *Bordetella pertussis*. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, 11655. <https://doi.org/10.3390/ijms222111655>
- [17] Melvin, J.A., Scheller, E.V., Miller, J.F. and Cotter, P.A. (2014) *Bordetella pertussis* Pathogenesis: Current and Future Challenges. *Nature Reviews Microbiology*, **12**, 274-288. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3235>