

白纹伊蚊对登革热病毒易感性研究

朱碧青 郑学礼*

【摘要】 白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)是登革热的主要传播媒介之一,分布于世界各地。白纹伊蚊的易感性主要涉及白纹伊蚊和登革病毒之间的相互作用。该文主要从遗传效应和环境因子方面对白纹伊蚊种群遗传、生理遗传、环境因素对虫媒病毒传播的影响及控制易感性的基因等研究进行综述。

【关键词】 白纹伊蚊;登革热病毒;易感性

Research progress on Dengue virus susceptibility in *Aedes albopictus* ZHU Bi-qing, ZHENG Xue-li*.

Department of Parasitology, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

* Corresponding author: ZHENG Xue-li, Email: zhengxueli2001@hotmail.com

Supported by National Natural Science Foundation of China(30872198,3097256)

【Abstract】 *Aedes albopictus* is one of primary vectors of dengue fever worldwide. Current research is discussing how genetic and environmental factors jointly affect susceptibility of *Aedes albopictus* to dengue virus. In this paper it is reviewed as follows: population genetics and physiological genetics of *Aedes albopictus*, environmental factors affecting transmission of arboviruses, gene for dengue virus vector competence in *Aedes albopictus*.

【Key words】 *Aedes albopictus*; Dengue virus; Susceptibility

白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)是登革病毒的主要传播媒介,也是登革病毒的自然宿主^[1]。白纹伊蚊在传播和感染登革病毒的环节中,涉及到白纹伊蚊与登革热病毒的相互作用,如白纹伊蚊和登革热病毒的遗传变异、登革热病毒的致病性毒力以及登革热病毒在白纹伊蚊体内的生存、潜伏等问题。这些问题与虫媒病的流行及其综合防制密切相关,有待进一步阐明。本文就白纹伊蚊易感性的研究进行综述。

1 白纹伊蚊的种群遗传

白纹伊蚊分布较广,在我国国内,南起海南岛,北达沈阳(约北纬 41.8°),西北至宝鸡,西南至西藏自治区均有分布,但以北纬 30.0°以南最为常见^[2]。白纹伊蚊是引起登革热流行的主要媒介,它多孳生于居民点及其周围的人工容器(如缸、罐、盆、废弃轮胎等)和植物容器(如竹筒、树洞等)以及石穴等小型容器的积水中^[2-3]。一些学者应用生化和分子遗传标志物探测伊蚊表型多态性及基因频率变化,

揭示伊蚊种群对登革热病毒易感性所呈现的变化与媒介的表型多态性、基因频率变化存在相关性。用同功酶电泳分析来自世界范围内收集埃及伊蚊种群,鉴定了 8 个遗传种群,包括东西非森林种埃及伊蚊、东非、美国东部、美国-墨西哥西南部、美国中部、加勒比海、亚洲-太平洋、东南部的埃及伊蚊。东西非森林种群与家栖伊蚊呈现明显的遗传差异。西非伊蚊种群是遗传同源种群;美国东南部、美国西南部的伊蚊种群存在遗传差异;加勒比海岛种群也检测出遗传多样性^[2]。

李春晓等^[4]用 20 个随机引物对中国的北京、广州、上海、成都和日本的冲绳、长乐寺等 6 个不同地理株的 12 只白纹伊蚊个体基因组 DNA 进行扩增,通过随机扩增的多态 DNA 技术来研究不同地理株白纹伊蚊的遗传差异。结果显示,有 8 个引物显示清晰的扩增带并呈显著多态性。通过条带计算遗传距离发现:同地理株的不同个体之间遗传距离不同,不同地理株的不同个体之间的遗传距离也不同,成都和上海两个地理株之间的遗传距离最小,长乐寺和其它白纹伊蚊地理株之间的遗传距离最大,提示了不同地理株之间的遗传差异。

白纹伊蚊对登革热病毒的易感性不仅因地理株不同而有所差异,而且不同地理株对不同登革病毒血清型或同型病毒的感染性也存在差异,甚至同

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4122.2012.05.012

基金项目:国家自然科学基金(30872198,30972566)

作者单位:510515 广州,南方医科大学公共卫生与热带医学学院病原生物学系

* 通信作者:郑学礼,Email:zhengxueli2001@hotmail.com

一城市不同孳生地的白纹伊蚊,其感染率也存在显著差异^[5]。蔡燕丽等^[6]应用 PCR-单链构象多态性(single strand conformation polymorphism analysis of polymerase chain reaction products, PCR-SSCP)技术对广州市白纹伊蚊线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I 基因(CO I)序列的特征进行分析,探索同一城市不同环境下白纹伊蚊的遗传变异。结果显示:广州市不同采样点白纹伊蚊经 PCR 扩增后获得 709 bp 的 CO I 基因部分序列,序列分析发现 12 个变异位点,变异率为 1.69%,广州株的白纹伊蚊不同采样点的群体间出现部分分化,提示上述结果可能与城市化发展变化下白纹伊蚊孳生环境的变化有一定关系。

2 白纹伊蚊的生理遗传

登革病毒必须克服白纹伊蚊中肠感染屏障、中肠逃脱屏障、涎腺屏障,最终进入涎腺内腔,在蚊虫正常吸血活动时间,才可能被蚊媒介传播。谢超等^[8]和杨发青等^[9]采用白纹伊蚊感染登革热 2 型病毒发现,该病毒可分布在蚊中肠、唾液腺、神经节、脑组织等部位,说明白纹伊蚊对登革病毒较敏感。白纹伊蚊传播登革病毒涉及到复杂的相互作用,病毒与蚊组织上皮细胞上的受体相互作用,然后侵入细胞,经蚊内复制后才能传播。与登革热病毒相互作用的受体是宿主基因组编码、控制和表达的一组蛋白质,它参与病毒与特定靶细胞的相互作用,使病毒吸附于细胞表面。在病毒受体的介导下,病毒最终进入细胞进行复制并完成侵染过程^[10]。因此,细胞上的病毒受体与病毒的宿主范围和组织嗜性密切相关^[11]。Salas-Benito 等^[12]报道 gp40 和 gp45 糖蛋白分子作为来源于白纹伊蚊幼虫 C6/C36 细胞登革热病毒受体结合位点,其中 gp45 与病毒的 E 蛋白相互作用。Chen 等^[13]发现细菌的脂多糖可以阻断登革病毒感染单核巨噬细胞,预测这种作用可能是因为细菌的脂多糖与细胞上连接结构相连,这些连接结构恰是登革病毒进入细胞的受体。目前又发现一种与树突细胞特异性细胞间黏附分子-3-结合非整合素分子(DC-SIGN)密切相关的 C 型凝集素受体(DC-SIGN-related molecule, DC-SIGN/L-SIGN)^[14]。Tassaneetrithep 等^[15]研究发现 DC-SIGN 和 L-SIGN 可介导登革病毒的感染。大量树突状细胞通过 DC-SIGN 和 L-SIGN 特异性结合登革病毒,并且这些细胞还可以复制病毒,以至于非常微量的病毒就能带来有效感染。Chee 等^[16]用

病毒覆盖蛋白结合实验(virus overly portein binding assay, VOPBA)首次鉴定了一个能够使登革热病毒特异性进入 C6/36 细胞的功能分子,该分子 M_r 为 48 000,并能够特异性结合 DENV-2。通过基质辅助激光吸收/离子飞行时间质谱(MALDI-ToF)和液相色谱质谱/质谱(LC-MS/MS)分析后续产生肽质谱。这种分析肽谱与来自许多种类的微管蛋白相一致。Chee 等提议 M_r 48 000 连接蛋白是微管蛋白或微管蛋白类似蛋白,能特异性连接 C6/36 细胞。登革热病毒与 C6/36 细胞在内化后期阶段或运输病毒颗粒阶段扮演一定角色。Kuadkitkan 等^[17]用易感性白纹伊蚊细胞 C6/36 和不易感性埃及伊蚊细胞 CCL-125 两种蚊细胞系作为研究工具。结果显示:CCL-125 对登革热病毒易感,这与早期报告 CCL-125 对登革热病毒不易感性的结果相反。Kuadkitkan 等采用免疫共沉淀及细胞内定位等方法鉴定一个能够与感染易感性相隔离的一个泛素表达蛋白:抑制素。应用抗体介导抑制感染和 siRNA 介导法分析显示:抑制素和登革 2 型病毒相互作用。抑制素能特异性介导登革热病毒进入蚊虫细胞,却不参与内化日本脑炎病毒进入这些细胞。另外,通过抑制素与登革热 2 型病毒的 E 蛋白共定位于细胞内,分析提示抑制素与登革热 2 型病毒连接可能是一个多功能相互作用,这种相互作用出现在病毒复制周期的不同阶段。笔者课题组对白纹伊蚊幼虫、蛹、雄蚊、雌蚊总蛋白分别经 VOBPA 筛选 M_r 35 000、45 000、67 000 等有价值的登革热病毒连接分子,发现 M_r 35 000 的登革热病毒连接分子分别出现在白纹伊蚊幼虫、蛹及雌蚊,而雄蚊无此分子,提示白纹伊蚊 M_r 35 000 在登革病毒组织向性、病毒与宿主细胞相互作用方面扮演一定的角色^[18]。

3 环境因素对白纹伊蚊易感性的影响

现已证明,蚊虫感染登革病毒除受蚊虫基因和病毒本身的影响外,还有许多因素(如温度、湿度、营养、蚊虫及虫卵个体大小等)影响媒介蚊虫对登革病毒的易感性。温度影响蚊虫易感性表现在许多方面,温度影响成蚊的生存时间、生殖营养、病毒在媒介中的复制、蚊虫的个体大小和蚊虫对宿主的叮刺率^[18]。Villanuevaa 等^[20]用伊蚊吸食感染登革病毒的恒河猴,发现饲养温度越低,蚊感染率越低,登革病毒在蚊虫体内滴度也越低;35 °C 条件下病毒抗原在蚊脑内只要 7 d 便为阳性,而在 26 °C 以下各组至 25 d 脑内病毒检测仍为阴性,受感染的蚊虫在

26 ℃ 以下均不能通过叮咬感染猴, 30 ℃ 以上则均能感染猴。此外, 温度间接影响病毒在哺乳动物体细胞内的繁殖, 温度升高有利于病毒的复制增殖。用扫描电子显微镜法来区分白纹伊蚊及埃及伊蚊蚊卵的表面形态及大小, 结果显示一定大小的虫卵在适宜的环境较易对病毒产生感染性^[20]。

4 鉴定控制白纹伊蚊易感性的基因

埃及伊蚊三个独立等位基因的分隔位点产生 1 个 MIB 或 MEB。这些位点等位基因在每个数量性状基因(QTL)当中独立。这些位点基因作用附加, 微弱位点的其它效应也可能涉及。遗传图谱结果显示, 不同的基因型可能导致如下不同的效应: (1) 中肠细胞上病毒受体密度不同, (2) 影响病毒复制的细胞内抑制因子数量有别。目前, 对于限制虫媒病毒感染和复制的蚊受体或中肠细胞物质的相关研究甚少。一些研究者构想了一个埃及伊蚊基因组, 绘出较大(750 ~ 842 Mbp)和低重组(165 cM, 1.1 ~ 3.4 Mbp/cM, 依赖于染色体位置)基因组, 从而鉴定候选基因。研究显示: 定位于中肠表达的相关基因组位于已鉴定的 MIB 和 MEB 的 QTL 内^[2,22]。William 等^[22]注意到前体胰蛋白酶等位基因位点与登革 2 型病毒中肠易感性呈现很强的遗传上共分离。对于前体胰蛋白酶遗传上共分离的任何其它基因, 也是如此。受血餐诱导转录的前体胰蛋白酶是一个信号传导系统的主要部分, 其大量转录信息位于伊蚊新成虫中肠。其功能可能是通过判定有无充分蛋白以激活后期胰蛋白酶转录, 消化血餐。William 等进行了一系列试验来检验媒介感受性与胰蛋白酶的关系。以 Puerto Rico 蚊和一个高登革病毒敏感实验室株-埃及伊蚊(DS3)作为实验工具, 将这些蚊分为二组。第一组喂登革感染血餐; 第二组喂加入大豆胰蛋白酶抑制剂(STI)的感染血餐。Puerto Rico 株蚊用 STI 处理, 减少登革病毒感染率(DI)达 40%, DS3 株用 STI 处理减少 DI 达 20%。结果显示: 埃及伊蚊的前体胰蛋白酶抑制后, 显著减少登革病毒感染率。这与敲除前体胰蛋白酶基因所显示的结果相似。采用种群基因组研究墨西哥埃及伊蚊野外种群, 检验 MIB 和 MEB 机制涉及前胰蛋白酶基因。登革 2 型病毒感染中肠上皮细胞显微组织研究显示细胞凋亡可能涉及 MIB 和 MEB 的机制^[2,22]。鉴定控制白纹伊蚊易感性的基因研究仍少报告。

5 结语

白纹伊蚊在传播登革病毒中所起的媒介效能, 不但取决于数量、生物学特性和易感性, 而且与登革病毒血清型及基因组序列特征相关。白纹伊蚊对登革病毒易感性是一个复杂的科学问题, 涉及媒介与病毒相互作用、媒介生态等许多科学问题, 有关上述方面的研究, 揭示虫媒病传播的新规律, 为虫媒病防制提供新策略。

参 考 文 献

- [1] 舒莉萍, 左丽, 赵星, 等. 贵州白纹伊蚊对登革病毒易感性的研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2004, 18(3): 35-38.
- [2] 苏寿泐. 蚊//赵尉先. 人体寄生虫学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 1162-1163.
- [3] 郑学礼, 罗雷. 埃及伊蚊对重要黄病毒易感性研究概况(一)[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2010, 17(1): 47-54.
- [4] 周光智, 赵彤言, 李春晓, 等. 用随机扩增多态 DNA(RAPD)技术研究不同地理株埃及伊蚊的分化[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2003, 14(5): 345-347.
- [5] 龚道方, 周红宁. 中国登革热重要媒介白纹伊蚊的研究进展[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2009, 20(6): 607.
- [6] 蔡燕丽, 郑学礼. 广州市不同地域白纹伊蚊细胞色素 C 氧化酶亚基 I 基因多态性 SSCP 分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2012, 28(8): 781-785.
- [7] 张菊仙, 龚正达. 中国蚊类研究概况[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2008, 19(6): 595-599.
- [8] 谢超, 赵彤言, 杨发青, 等. 登革 2 型病毒在白纹伊蚊体内分布的研究[J]. 昆虫学报, 2002, 45(1): 18-23.
- [9] 杨发青, 赵彤言, 谢超, 等. 登革 2 型病毒在经口感染的白纹伊蚊不同个体体内分布的比较研究[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2004, 11(3): 157-160.
- [10] 刘美德, 赵彤言, 董言德, 等. 登革 2 型病毒在 C6/36 细胞上受体蛋白的鉴定[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2003, 10(4): 232-235.
- [11] Mercado-Curiel RF, Black WC, Muñoz-Mde LA. Dengue receptor as possible genetic marker of vector competence in *Aedes aegypti* [J]. BMC Microbiol, 2008, 15(8): 118.
- [12] Salas-Benito JS, Del -Angel RM. Identification of two surface proteins from C6 / 36 cells that bind dengue type 4 virus[J]. J Virol, 1997, 71(10): 7246-7252.
- [13] Chen YC, Wang SY, King CC. Bacterial lipopolysaccharides inhibit dengue virus infection of primary human monocytes / macrophages by blockade of virus entry a CD14-dependent mechanism [J]. J Virol, 1999, 73(4): 2650-2657.
- [14] Klimstra WB, Nangle EM, Smith MS, et al. DC-SIGN and L-SIGN can act as attachment receptors for alphaviruses and distinguish between mosquito cell and mammalian cell-derived viruses [J]. J Virol, 2003, 77(22): 12022-12032.
- [15] Tassaneetrithep B, Burgess TH, Granelli-Piperno A, et al. DC-SIGN(CD209) mediates Dengue virus infection of human dendritic cells[J]. J Exp Med, 2003, 197(7): 823- 829.
- [16] Chee HY, AbuBakar S. Identification of a 48 kDa tubulin or tubulin-like C6/36 mosquito cells protein that binds dengue virus 2 u-

- sing mass spectrometry[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 320(1): 11-17.
- [17] Kuadkitkan A, Wikan N, Smith DR, et al. Identification and characterization of prohibitin as a receptor protein mediating DENV-2 entry into insect cells[J]. JVI, 2010, 406(1): 149-161.
- [18] Salas-Benito J, Reyes-Del Valle J, Salas-Benito M, et al. Evidence that the 45-kD glycoprotein, part of a putative dengue virus receptor complex in the mosquito cell line C6/36, is a heat-shock related protein [J]. Am J Trop Med Hyg, 2007, 77(2): 283-90.
- [19] Jetten TH, Focks DA. Potential changes in the distribution of dengue transmission under climate warming[J]. Am J Trop Med Hyg, 1997, 57(3): 285-297.
- [20] Villanuevaa FR, Beenenb JJ, Butlerc JF, et al. Susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae to *Ascogregarina culicis* and *Ascogregarina taiwanensis* (Apicomplexa: Lecudinidae) from Florida [J]. J Invertebr Pathol, 2003, 84(1): 47-53.
- [21] Suman DS, Shrivastava AR, Pant SC, et al. Differentiation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) with egg surface morphology and morphometrics using scanning electron microscopy [J]. Arthropod Struct Dev, 2011, 40(5): 479-483.
- [22] William C, Black IV, Kristine E. Flavivirus susceptibility in *Aedes aegypti*[J]. Arch Med Res, 2002, 33(4): 379-388.

(收稿日期:2012-05-08)

(本文编辑:王吉鹏,陈勤)

· 消息 ·

关于中华医学会系列杂志投稿网址的声明

为维护广大读者和作者的权益以及中华医学会系列杂志的声誉,防止非法网站假冒我方网站诱导作者投稿,并通过骗取相关费用非法获利,现将中华医学系列杂志稿件管理系统网址公布如下,请广大作者加以甄别。

1. “稿件远程管理系统”网址

中华医学会网站(<http://www.cma.org.cn>)首页的“业务中心”栏目、中华医学会杂志社网站(<http://www.medline.org.cn>)首页的“稿件远程管理系统”以及各中华医学会系列杂志官方网站接受投稿。作者可随时查阅到稿件处理情况。

2. 编辑部信息获取

登录中华医学会杂志社网站(<http://www.medline.org.cn>)首页,在《中华医学会系列杂志一览表》中可查阅系列杂志名称、编辑部地址、联系电话等信息。

3. 费用支付

中华医学会系列杂志视杂志具体情况,按照有关规定,酌情收取稿件处理费和版面费。稿件处理费作者在投稿时支付;版面费为该稿件通过专家审稿并决定刊用后才收取。

欢迎投稿,并与编辑部联系。

特此声明。

中华医学会杂志社

2012 年 5 月