

痢疾杆菌致病的分子机制

管俊昌 综述, 李凤云 审校

[关键词] 痢疾, 杆菌性; 分子生物学; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 516.4 Q73 [文献标识码] A

志贺菌属细菌通称痢疾杆菌, 是一类具有高度传染性和危害严重的革兰阴性肠道致病菌, 临床感染可导致细菌性痢疾(菌痢)。菌痢是世界上, 尤其是发展中国家重要的传染病之一, 全球每年的病例超过 1.6 亿, 并导致 100 万患者死亡, 其中绝大多数为 5 岁以下的儿童^[1]。目前, 关于菌痢的确切发病机制尚未明确, 国外学者研究认为, 痢疾杆菌的感染可能包括以下过程: (1) 痢疾杆菌通过微皱褶细胞进入结肠黏膜; (2) 定植的巨噬细胞吞噬痢疾杆菌后发生凋亡, 释放炎症因子; (3) 痢疾杆菌侵袭邻近的上皮细胞, 在其内增殖、扩散及导致黏膜损伤^[2-4]。因此, Sansonetti 与 Zychlinsky 等提出痢疾杆菌诱导巨噬细胞凋亡与侵袭上皮细胞是其致病过程中两个最显著的特征。本文就痢疾杆菌感染致病的分子机制作一综述。

1 痢疾杆菌与微皱褶细胞 (microfold cell/M 细胞)

Peyer 结 (Peyer's patches/PP) 位于回肠的黏膜淋巴滤泡, 为黏膜相关淋巴系统的构成部分。Peyer 结表面由滤泡相关上皮覆盖, 而 M 细胞即为滤泡相关上皮中的一种特化的上皮细胞。M 细胞是肠道抗原采集的关键细胞, 也是肠道病原体入侵的门户。许多研究^[5,6]指出痢疾杆菌通过 M 细胞跨过上皮屏障进入肠黏膜, 被转位于上皮下的巨噬细胞或至邻近的上皮细胞, 导致局部黏膜炎症或全身感染。Sansonetti 等^[6]发现具黏附性而无侵袭性的痢疾杆菌变异株 BS15 感染后, M 细胞伸展似一大口袋状, 其内含有大量的单核细胞。有研究发现大量的单核细胞可能通过阻断肠细胞与肠腔的联系或促进痢疾杆菌对肠上皮的侵袭来导致黏膜损伤^[7]。

关于痢疾杆菌为何选择性黏附 M 细胞的原因尚不清楚, 可能是由于 M 细胞缺乏其它上皮细胞表面具有的整齐刷状缘和较厚的糖蛋白复合物, 从而使其关键的细胞成分(如特殊的复合物或受体)更易被细菌的黏附素所识别。Wasse 认为 M 细胞通过抗原-受体结合触发机制转位痢疾杆菌, Sansonetti 等^[6]进一步研究认为痢疾杆菌能否导致感染与其黏附性和侵袭性的蛋白有关, 因为既无黏附性又无侵袭性的痢疾杆菌几乎不能感染 M 细胞, 而仅有黏附性的细菌可进入 M 细胞, 但不能进一步导致炎症损伤, 只有两者兼有的细菌才能由 M 细胞转位导致感染。

2 痢疾杆菌与巨噬细胞

痢疾杆菌经 M 细胞转位于滤泡相关上皮, 被定植的巨噬细胞吞入胞内, 其吞噬溶酶体中的溶菌酶并不能杀死痢疾杆菌, 相反痢疾杆菌可溶解吞噬泡逃逸吞噬溶酶体的困扰, 其逃逸主要依赖于痢疾杆菌分泌的侵袭性质粒抗原

(IPa) B₁C 与 D₁ Fernandez-Prada 等^[8]报道痢疾杆菌的 IPaH 7.8 蛋白与其逸出吞噬泡密切相关, 因为福氏痢疾杆菌 2457T 株的无 IPaH 7.8 基因突变株 PWR700 感染巨噬细胞后, 在吞噬泡内培养出高于 2457T 株 2~3 倍的痢疾杆菌, 将 PWR700 重组 IPaH 7.8 基因后发现细胞内有与 2457T 相似的细菌分布, 说明痢疾杆菌的 IPaH 7.8 基因突变株从吞噬泡中比较缓慢地逃逸出来。痢疾杆菌逃逸吞噬泡后, 能够诱导巨噬细胞凋亡, 体内外实验均证实了凋亡的发生^[3,9]。至于其确切的致凋亡机制目前尚不清楚, 许多研究^[10-12]认为, 凋亡是由痢疾杆菌产生的 IPaB₁ 结合并激活 caspase-1 而诱发的, 因 caspase-1 的拮抗剂可阻断痢疾杆菌诱导凋亡的发生。Hilb 等^[12]指出凋亡并不是通过 caspase-2、caspase-3 的途径, 凋亡促进因子 Bcl-2 以及凋亡抑制因子 bcl-2 也不参与该凋亡过程, 甚至连 caspase-1 上游的 caspase-11 也不起调控作用, 因此称此凋亡过程为越过 caspase-1 上游凋亡调控因子、经旁路途径直接激活 caspase-1 而诱发的凋亡。至于下游有何蛋白成分参与该凋亡过程目前尚不清楚。Hilb 等^[13]进一步研究发现三肽蛋白酶 II 也参与了痢疾杆菌诱导的巨噬细胞凋亡过程, 它可促进 caspase-1 的成熟, 三肽蛋白酶 II 的拮抗剂可阻断巨噬细胞凋亡。Hilb 等^[11]发现 LPS 与 IFN- γ 也可阻止痢疾杆菌诱导的巨噬细胞凋亡, 其机制不清, 可能与 LPS 与 IFN- γ 激活巨噬细胞, 增强其杀菌活性有关。

巨噬细胞凋亡的同时, 释放一些炎症因子, 造成黏膜损伤。炎症因子主要有 IL-1 β 与 IL-18^[12], 其产生依赖于 caspase-1 的激活, caspase-1 又称为 IL-1 β 转化酶, 激活后能将前 IL-1 β 与前 IL-18 转化为活性形式 IL-1 β 与 IL-18 后者再激活炎症级联反应, 导致中性粒细胞聚集, 一方面, 中性粒细胞可吞噬并有效的杀伤痢疾杆菌, 有利于感染的局限化及防止深层组织的感染^[14]; 另一方面, 中性粒细胞可由上皮层转移到肠腔, 通过破坏上皮层的完整性来扩大感染范围^[7]。中性粒细胞吞噬细菌后可能发生坏死, 释放一些组织损伤的颗粒蛋白(如嗜苯胺蓝颗粒蛋白), 致上皮屏障破坏而使痢疾杆菌通过上皮基底面进入上皮细胞导致感染^[15]。

痢疾杆菌与巨噬细胞作用的过程相当复杂, 顺序可概括为: (1) 巨噬细胞吞噬痢疾杆菌; (2) 痢疾杆菌逸出吞噬泡; (3) 痢疾杆菌分泌 IPaB₁ 于巨噬细胞胞质中; (4) IPaB₁ 结合并激活 caspase-1; (5) 诱导巨噬细胞凋亡, 释放炎症因子 IL-1 β 。

3 痢疾杆菌与上皮细胞

痢疾杆菌由 M 细胞转位后可直接感染上皮细胞, 由于上皮屏障的存在, 痢疾杆菌不能通过上皮的游离面进入上皮细胞, 但可由上皮的基底面进入^[15]。痢疾杆菌感染上皮细胞主要包括侵入上皮细胞、细胞内的增殖与扩散、上皮细胞之间的传播及杀死细胞等过程。

痢疾杆菌以触发样 (triggering) 机制而非拉链样 (zippering) 机制进入上皮细胞^[14]。痢疾杆菌与上皮细胞接触后激活 II 型分泌系统, 分泌 IPa 蛋白, 然后通过激活一个复

[收稿日期] 2006-07-12

[作者单位] 蚌埠医学院 病原生物学教研室, 安徽省感染与免疫重点实验室, 安徽蚌埠 233030

[作者简介] 管俊昌 (1973-), 男, 博士研究生, 讲师。

杂的信号传导系统而引起细胞骨架重排,以胞饮的方式将细菌吞入胞内。目前关于这个信号传导系统的组成及作用机制尚不清楚。有研究^[16]认为 IPa复合体(主要为 IPaB与 IPaC)与纤维黏连蛋白短暂结合后,IPaB与 IPaC插入上皮细胞膜形成孔洞或转位结构,将 IPa或其它的效应蛋白转位进入胞内,激活胞质内的调控蛋白 Rho家族,其中主要是激活 GTPase(Rho Rac Cdc42)调控因子,使肌动蛋白纤维发生聚合,形成细胞骨架结构侵入灶,即细胞表面凸出物如丝状伪足(filopodia)、板状伪足(lamellipodia)、黏着斑(adherence plaques)或皱折(ruffles)等。另有报道^[17] IPaB可结合胆固醇与鞘脂类脂筏微区中的跨膜受体 CD44分子,而 CD44的胞质尾区可与肌动蛋白相结合的 ERM(ezrin radixin moesin)蛋白家族发生结合,故脂筏介导的 CD44-IPaB相互作用可能参与细胞骨架重排的信号传导过程。

痢疾杆菌感染的一个显著特点是它能够逃逸吞噬泡。痢疾杆菌进入细胞后几分钟就可溶解吞噬泡,其机制可能为 IPaB与 IPaC复合体以 HI依赖的方式溶解吞噬泡^[18]。细菌一旦进入胞质,就可生长繁殖,其生长速度与在体外培养基中相似。

细菌可在细胞内扩散,其机制由 IcsA诱使肌动蛋白彗星尾结构形成的推动作用所致,GTPase不参与该过程^[16]。痢疾杆菌 IcsA(intra cellular spread Ics)基因的表达产物 IcsA蛋白在其表面呈不对称性极性分布,主要存在于与细菌横隔沟(septation furrow)相对的一极,IcsA可使在细菌极的肌动蛋白发生聚合,形成彗星尾结构。IcsA诱使肌动蛋白聚合的机制尚不明了,因为 IcsA并不直接与肌动蛋白相互作用,可能还有其它的蛋白参与该过程,有学者^[4]已在肌动蛋白尾部检测到多种蛋白如辅助肌动蛋白(actinin)、网素(Nestin)、血管活性激活肽(vaso active stimulating peptide VASP)、黏着斑蛋白(vinculin)等。Suzuki等^[19,20]证实了 IcsA的两种配体黏着斑蛋白与 N-WASP(neural wiskott aldrich syndrome protein)它们可能与 IcsA的极性分布及肌动蛋白的聚合有关。

痢疾杆菌不仅能在细胞内运动,还可在细胞间传播^[21]。当细胞内移动的细菌与细胞膜内面接触时,可通过与细胞间的中间连接成分如钙黏蛋白发生作用,诱使肌动蛋白驱动的凸出结构形成,将细菌包于其中,然后被邻近细胞吞噬,这样细菌就被一双层膜的袋状物包裹,关于细菌与中间连接成分如何作用有待进一步研究。细菌一旦被邻近细胞吞噬,可分泌 IcsB蛋白溶解双层膜状物,IcsB突变的痢疾杆菌则不能突破双层膜进入胞质中。如此痢疾杆菌就可以象滚雪球样开始下一个循环感染邻近的细胞,使感染不断的扩大。

总之,痢疾杆菌侵入细胞、细胞内扩散及细胞间的传播,均与其表达的侵袭性蛋白等密切相关,为其致病的分子基础。目前,痢疾杆菌致病的分子机制尚不清楚,有待进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] Sansonetti PJ Microbes and microbial toxins J. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2001 280(3): G319-G323
- [2] Hathaway LJ Griffin GE Sansonetti PJ et al Human monocytes kill Shigella flexneri but then die by apoptosis associated with suppression of proinflammatory cytokine production J. Infect Immun 2002 70(7): 3833-3842
- [3] Zychlinsky A Thirumalai K Arndel J et al In vivo apoptosis in Shigella flexneri infections J. Infect Immun 1996 64(12): 5357-5365
- [4] Sansonetti PJ Tran Van Nhieu G Egile C Rupture of the

- intestinal epithelial barrier and mucosal invasion by Shigella flexneri J. Clin Infect Dis 1999 28(3): 466-475
- [5] Zychlinsky A Perdomo OJ Sansonetti PJ Molecular and cellular mechanisms of tissue invasion by Shigella flexneri J. Ann N Y Acad Sci 1994 730: 197-208
- [6] Sansonetti PJ Arndel J Cantey JR et al Infection of rabbit Peyer's patches by Shigella flexneri Effect of adhesive or invasive bacterial phenotypes on follicle-associated epithelium J. Infect Immun 1996 64(7): 2752-2764
- [7] Perdomo OJ Cavajlon M Huerre M et al Acute inflammation causes epithelial invasion and mucosal destruction in experimental shigellosis J. J Exp Med 1994 180(4): 1307-1319
- [8] Fernandez Prada CM Hoover DL Tall BD et al Shigella flexneri pH 7.8 facilitates escape of virulent bacteria from the endocytic vacuoles of mouse and human macrophages J. Infect Immun 2000 68(6): 3608-3619
- [9] Zychlinsky A Prevost MC Sansonetti PJ Shigella flexneri induces apoptosis in infected macrophages J. Nature 1992 358(6382): 167-169
- [10] Chen Y Smith MR Thirumalai K et al A bacterial invasion induces macrophage apoptosis by binding directly to CE1 J. EMBO J 1996 15(15): 3853-3860
- [11] Hilbi H Chen Y Thirumalai K et al The interleukin 1β-converting enzyme caspase-1 is activated during Shigella flexneri-induced apoptosis in human monocyte-derived macrophages J. Infect Immun 1997 65(12): 5165-5170
- [12] Hilbi H Moss JE Hersh D et al Shigella-induced apoptosis is dependent on caspase-1 which binds to IPaB J. J Biol Chem 1998 273(49): 32895-32900
- [13] Hilbi H Puro RJ Zychlinsky A Tripeptidyl peptidase II promotes maturation of caspase-1 in Shigella flexneri induced macrophage apoptosis J. Infect Immun 2000 68(10): 5502-5508
- [14] Sansonetti PJ Arndel J Huerre M et al Interleukin-8 controls bacterial trans-epithelial translocation at the cost of epithelial destruction in experimental shigellosis J. Infect Immun 1999 67(3): 1471-1480
- [15] Francois M Le Cabec V Dupont MA et al Induction of necrosis in human neutrophils by Shigella flexneri requires type III secretion IPaB and IPaC invasions and actin polymerization J. Infect Immun 2000 68(3): 1289-1296
- [16] Mounier J Laurent V Hall A et al Rho family GTPase control entry of Shigella flexneri into epithelial cells but not intracellular motility J. J Cell Sci 1999 112(P13): 2069-2080
- [17] Lafont F Tran Van Nhieu G Hamada K et al Initial steps of shigella infection depend on the cholesterol/ sphingolipid raft mediated CD44-IPaB interaction J. EMBO J 2002 21(17): 4449-4457
- [18] De GeYer C Vøgt B Benjelloun-Touini Z et al Purification of IPaC a protein involved in entry of Shigella flexneri into epithelial cells and characterization of its interaction with lipid membranes J. FEBS Lett 1997 400(2): 149-154
- [19] Suzuki T Soga S Sasakawa C Functional analysis of shigella ViG domains essential for interaction with vinculin and actin based motility J. J Biol Chem 1996 271(36): 21878-21885
- [20] Suzuki T Miki H Takenawa H et al Neural Wiskott-Aldrich Syndrome Protein is implicated in the actin-based motility of Shigella flexneri J. EMBO J 1998 17(10): 2767-2776
- [21] Sansonetti PJ Mounier J Prevost MC et al Cadherin expression is required for the spread of Shigella flexneri between epithelial cells J. Cell 1994 76(5): 829-839