

# 肠道病原性大肠杆菌 和宿主细胞间的相互作用

李正平 杨倩\*

(1. 南京农业大学 农业部动物生理生化重点开放实验室, 江苏 南京 210095)

**摘要:**肠道病原性大肠杆菌(EPEC)属于胞外菌,主要通过粘附在肠上皮细胞上引起宿主的发病。EPEC形成基座、产生粘附和脱落(A/E)损伤的细菌因子、导致宿主信号转导改变的途径及其发病机制的遗传基础都已经得到广泛的研究。对近年来关于EPEC和宿主细胞间的相互作用的研究进展进行总结,并着重论述EPEC对于肠上皮细胞紧密连接的影响。

**关键词:**肠道病原性大肠杆菌;肠上皮细胞;紧密连接;肠上皮细胞屏障

中图分类号:S852 文献标识码:A 文章编号:1000-2286(2010)01-0141-03

## The Interaction between Enteropathogenic *Escherichia coli* and Host Cells

LI Zheng-ping, YANG Qian\*

(Key Laboratory of Animal Physiology and Biochemistry, Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) is an extracellular bacteria, primarily through adhere to host intestinal epithelial cells caused pathogenesis. EPEC can produce pedestals, and the bacterial factors involved in attaching and effacing (A/E) lesion formation, modulates several signal transduction pathways within the host cells and the genetic basis of EPEC pathogenesis have been widely studied. This review describes the recent studies of enteropathogenic (EPEC) interact with host cells, and intensively discusses the influence of EPEC to tight junctions between cells.

**Key words:** EPEC; intestinal epithelial cells; tight junctions; intestinal epithelial cells barrier

肠道病原性大肠杆菌(EPEC)是引起发展中国家儿童水样腹泻的一个重要原因,目前已对人类的健康构成了一个重大的危害。EPEC虽然是胞外菌,但是可以和肠上皮细胞紧密粘附,产生特征性的粘附和脱落(A/E)损伤<sup>[1]</sup>,然后影响到上皮细胞的吸收。在体外EPEC也可以粘附宿主上皮细胞导致细胞异常<sup>[2]</sup>,包括细胞凋亡和与紧密连接损失有关的黏膜屏障的破坏。然而,一项最近的报告提出EPEC很少在老鼠肠内定植,与致病性相比,EPEC和宿主之间更像是共生的关系<sup>[3]</sup>。

人和动物主要通过呼吸道、消化道和生殖道与外界接触。这些黏膜表面都覆盖着一层高度极化的上皮细胞,其游离面位于腔面,直接与外界环境相接触;基底面与富含肠相关淋巴样组织的固有层相接;侧面与毗邻的细胞接壤。这层上皮细胞构成了机体与外界的第一道屏障。相邻上皮细胞连接起来的紧密连接可以封闭细胞间隙,阻止管腔物质的自由进出,是上皮细胞选择性通透作用的物质基础。紧密连接也可以用来评价黏膜屏障的功能。跨肠上皮渗透的主要途径是细胞旁通路,而紧密连接是细胞旁通

收稿日期:2009-11-27 修回日期:2009-01-05

基金项目:国家自然科学基金(30871858)、教育部博士点基金(B200606)和江苏省支撑计划(BE200830155)资助

作者简介:李正平(1986-),女,硕士生,主要从事动物免疫和分子免疫学研究,E-mail:lizp1986@163.com; \* 通讯

作者:杨倩 教授,博导,E-mail:zxbyq@njau.edu.cn。

路的重要组成部分。缺失紧密连接屏障将会引起多种疾病,例如 Crohn's 病<sup>[4]</sup>和溃疡性结肠炎<sup>[5]</sup>。

## 1 EPEC 与肠上皮细胞的粘附

### 1.1 肠上皮细胞屏障

肠黏膜屏障是由肠黏膜上皮细胞、肠黏液层、肠黏膜免疫系统、肠道正常微生物群等环节组成的复杂的防御系统,在阻止病原微生物入侵方面有非常重要的作用。肠黏膜上皮细胞层则是机体与内外环境之间的第一道屏障。它是将宿主的结缔组织和外界环境隔离开的物理屏障。阻挡细胞旁路运输的细胞紧密连接和富含肌动蛋白的微绒毛相结合在上皮细胞的顶部可以抵挡外界微生物附着和入侵。作为一个选择性通透屏障,上皮细胞允许营养物质、电解质和水的通过,而对肠内的毒素和抗原则保持着一种有效的抵抗。为了适应对各种微生物的粘附、识别各种物质、保护上皮,肠上皮细胞另外形成了一些相关结构,例如由杯状细胞分泌的大量糖基化的富含黏蛋白的黏液形成的一层细胞衣(即多糖包被)。据报道<sup>[6]</sup>,肠上皮细胞产生的因子还可以作用于抗原提呈细胞和淋巴细胞来调节肠内免疫的动态平衡。肠黏膜屏障的损坏将导致各种炎症疾病和自身免疫病的发生。

### 1.2 EPEC 的粘附与损伤

病原菌与宿主上皮细胞的黏附是病原菌定植的重要阶段,且粘附是 EPEC 发挥致病性所需要的。EPEC 粘附在肠上皮细胞表面的微绒毛上,诱导特异性的组织病理学改变。EPEC 利用分泌的毒力因子在宿主细胞膜上先形成 III 型分泌系统(T3SS)(一个镶嵌在宿主细胞膜上的针状蛋白质结构,能将细菌分泌的其它毒力因子直接输送到宿主细胞内)<sup>[7]</sup>,然后将特异性毒力因子注入宿主细胞内,瞬即产生 A/E 损伤。A/E<sup>[8]</sup>是由细菌的毒力岛编码的 III 型分泌系统注入宿主细胞的毒力因子诱导的。EPEC 毒力岛编码的 EspA、EspB、EspD 和 Tir 是形成特有的 A/E 损伤所需的蛋白<sup>[9]</sup>。由 EPEC 染色体 *eaeA* 基因编码的一个 94 kDa 的外膜蛋白 Intimin 与细胞膜上细菌受体 Tir 的胞外部分结合,激活宿主蛋白 N-WASP,形成 Arp2/3 复合物,该复合物可有效诱导微丝的聚合,在细菌入侵的部位形成略凸出于细胞膜表面的基座(pedestals)(细菌赖以栖息的)<sup>[10]</sup>,随后基座周围的上皮微绒毛消失,直接影响到上皮的吸收。关于 Intimin 的作用机制已经取得了广泛的研究,并制得了相关抗体<sup>[11]</sup>或疫苗用于 EPEC 的检测或抵抗。

## 2 EPEC 改变肠上皮细胞内的信号传导途径

EPEC 能够调节宿主细胞内的一些信号转导途径,这也是 EPEC 产生 A/E 损伤的重要机制。EPEC 感染依靠完整的细菌 III 型分泌系统和 EspB 导致宿主细胞内的磷酸肌醇膨胀,引起细胞内的  $Ca^{2+}$  储备的释放<sup>[12]</sup>和一系列信号转导途径的改变。 $Ca^{2+}$  的升高将会激活钙依赖的肌动蛋白的裂解酶,这种酶可专一地分解微绒毛中的肌动蛋白,从而引起细胞骨架的破坏。但 Bain 和 Colleagues<sup>[13]</sup>认为  $Ca^{2+}$  的增加是因为 EPEC 所引起的细胞毒性产生的,而不是因为信号转导途径的改变。Savkovic 等<sup>[14]</sup>报道 EPEC 可以激活 NF- $\kappa$ B 转录因子,导致 IL-8 转录的开始和 PMN(多形核白细胞)的游走。PMN 游走并释放 5'-AMP,其转化为腺苷,并与腺苷受体结合,将导致肠上皮细胞  $Cl^{-}$  的分泌增加,最后引起水样腹泻。EPEC 感染也可以引起蛋白激酶 PKC 的激活,而 PKC 控制着肠上皮细胞的紧密连接结构,它的激活将导致上皮细胞的通透性增加。

## 3 EPEC 对肠上皮细胞紧密连接的影响

### 3.1 紧密连接的组成

紧密连接是肠黏膜屏障的重要组成部分,它可以控制大分子水溶性物质在肠上皮细胞中的自由进出。紧密连接主要由跨膜蛋白和胞质蛋白组成,其中跨膜蛋白包括 Occludin、Claudins、连接粘附分子、Nectin 和 CAR;Zo(zonula occludens proteins)蛋白是重要的胞质蛋白,与紧密连接结构的其他蛋白以及细胞骨架相连,包括 3 个亚型:Zo-1、Zo-2 和 Zo-3。细胞骨架(主要是微丝)也是紧密连接的重要组成部分。相邻细胞间的这些蛋白的相互作用是紧密连接发挥防御功能的基础。

### 3.2 EPEC 和紧密连接的相互作用

紧密连接的各种功能依赖于细胞连接蛋白、细胞骨架蛋白的正常表达和分布以及粘附连接的完整性。庾庆华等<sup>[15]</sup>通过大肠杆菌 K88 感染体外培养的 Caco-2 细胞单层模型和大鼠灌胃实验,发现宿主细胞间的连接变得松散,Occludin、Claudin-1、Zo-1 和 E-cadherin 的分布变得紊乱,表达量下降,提示

紧密连接和粘附连接遭到破坏。Zhang Qiang 等<sup>[1]</sup>发现随着 EPEC 的感染,紧密连接结构受到损伤,紧密连接形态的改变伴随着细胞旁通路的渗透性增加,导致紧密连接屏障功能的损坏。有研究表明,EPEC 感染肠上皮细胞后,促使 Occludin 蛋白磷酸化,同时 Occludin 也从细胞膜转移进入细胞质,肠上皮跨膜电阻抗(TER)也短暂降低。而用庆大霉素处理肠病原性大肠杆菌感染后的上皮细胞,则能逆转 Occludin 蛋白的这种改变<sup>[17]</sup>。最近的研究发现 EPEC 效应蛋白 EspF 是改变肠上皮细胞的紧密连接结构的关键因子<sup>[18]</sup>。关于 EPEC 是怎样调节肠上皮细胞紧密连接的分子机制还有待进一步的研究。

## 4 总 结

病原微生物和宿主细胞相互作用结果导致了传染病的发生。深入研究病原菌与宿主细胞的相互作用机制是彻底解决传染病发生的根本所在。随着微生物学和细胞生物学的融合,通过生物化学和成像技术的发展,联合增加敏锐度和准确度的蛋白组分析,将更加加快获取细胞微生物学新规律知识的步调。关于肠道致病性大肠杆菌和宿主细胞的相互作用关系的见解,尤其是和紧密连接的互作,将会得到更加深入的认识。

### 参考文献:

- [1] Moon H W, Whipp S C, Argenzio R A et al. Attaching and effacing activities of rabbit and human Enteropathogenic *Escherichia coli* in pig and rabbit intestines [J]. *Infect Immun*, 1983, 41:1340 - 1351.
- [2] Philpott D J, McKay D M, Sherman P M et al. Infection of T84 cells with Enteropathogenic *Escherichia coli* alters barrier and transport functions [J]. *Am J Physiol*, 1996, 270:634 - 645.
- [3] Mundy R, Girard F, Fitz Gerald A J et al. Comparison of colonization dynamic and pathology of mice infected with Enteropathogenic *Escherichia coli*, Enterohaemorrhagic *E. coli* and *Citrobacter rodentium* [J]. *FEMS Microbiol Lett* 2006, 265:126 - 132.
- [4] Zeissig S, Büchel N, Günzel D et al. Changes in expression and distribution of claudin - 2, - 5 and - 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease [J]. *Gut* 2007, 56:61 - 72.
- [5] Schmitz H, Barmeyer C, Fromm M et al. Altered tight junction structure contributes to the impaired epithelial barrier function in ulcerative colitis [J]. *Gastroenterology*, 1999, 116:301 - 309.
- [6] David Artis. Epithelial - cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut [J]. *Nature* 2008, 454:412 - 429.
- [7] Galan J E, Wolf - Watz H. Protein delivery into eukaryotic cells by type III secretion machines [J]. *Nature* 2006, 444:567 - 573.
- [8] Shaw R K, Cleary J, Murphy M S et al. Interaction of enteropathogenic *Escherichia coli* with human intestinal mucosa: Role of effector proteins in brush border remodeling and formation of attaching and effacing lesions [J]. *Infect Immun* 2005, 73:1243 - 1251.
- [9] Kenny B, Lai L C, Finlay B B et al. EspA, a protein secreted by Enteropathogenic *Escherichia coli*, is required to induce signals in epithelial cells [J]. *Mol Microbiol*, 1996, 20:313 - 323.
- [10] Gruenheid S. Enteropathogenic *E. coli* Tir binds Nck to initiate actin pedestal formation in host cells [J]. *Nature Cell Biol*, 2001, 3:856 - 859.
- [11] Vandekerchove D G F. Development of a capture ELISA for the detection of antibodies to Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in rabbit flocks using intimin - specific monoclonal antibodies [J]. *Veterinary Microbiology* 2002, 88:351 - 366.
- [12] Dytoc M, Fedorko L, Sherman P M. Signal transduction in human epithelial cells infected with attaching and effacing *Escherichia coli* in vitro [J]. *Gastroenterology*, 1994, 106:1150 - 1161.
- [13] Bain C, Keller R, Collington G et al. Increased levels of intracellular calcium are not required for the formation of attaching and effacing lesions by Enteropathogenic and Enterohemorrhagic *Escherichia coli* [J]. *Infect Immun*, 1998, 66:3900 - 3908.
- [14] Savkovic S, Koutsouris A, Hecht G. Activation of NF -  $\kappa$ B in intestinal epithelial cells by Enteropathogenic *Escherichia coli* [J]. *Am J Physiol*, 1998, 273:1160 - 1167.
- [15] Qinghua Yu, Yang. Diversity of tight junctions (TJs) between gastrointestinal epithelial cells and their function in maintaining the mucosal barrier [J]. *Cell Biology International* 2009.
- [16] Zhang Qiang, Li Qiu - rong. Enteropathogenic *Escherichia coli* changes distribution of occludin and ZO - 1 in tight junction membrane microdomains in vivo [J]. *Microbial Pathogenesis* 2009:1 - 7.
- [17] Ma T Y, Tran D, Hua N et al. Mechanism of extracellular calcium regulation of intestinal epithelial tight junction permeability: Role of cytoskeletal involvement [J]. *Microsc Res Tech* 2000, 51(2):156 - 168.
- [18] McNamara B P, Koutsouris A, O'Connell C B et al. Translocated EspF protein from Enteropathogenic *Escherichia coli* disrupts host intestinal barrier function [J]. *Clin Invest* 2001, 107:621 - 629.