

Pathogenic Mechanism of Bacterial Dysentery Caused by Shigella

Huiping Su Jiangling Wu Qicai Yan

Anqing Medical College, Anqing, Anhui, 246052, China

Abstract

Shigella is an important pathogen of bacterial dysentery, and it is one of the main pathogens that cause bacterial dysentery. The pathogenesis of Shigella is complex, including cellular mechanism and immune mechanism, which are mainly manifested in the inhibition of inflammatory response by Shigella M cell translocation and epithelial cell infection, the phagocytosis of escaping host cells and the induction of macrophage apoptosis. This paper briefly discusses the above aspects.

Keywords

cerebral infarction; patient motor function; rehabilitation care; upper and lower limbs

Fund Project

Provincial Quality Engineering Project of Colleges and Universities in 2018 Provincial Large-scale Online Open Course (MOOC) Demonstration Project of "Physiotherapy of Neurological Diseases" (Project No.: 2017mooc245); High-Level Vocational Major-Major in Rehabilitation Technology (Project No.: 2018ylzy101).

志贺菌引起细菌性痢疾的致病机制

苏会萍 吴江玲 严奇才

安庆医药高等专科学校, 中国·安徽 安庆 246052

摘要

志贺菌是细菌性痢疾的重要病原体,是引起细菌性痢疾主要致病菌之一。其致病机制复杂,主要包括细胞机制和免疫机制两大方面,主要表现为志贺菌 M 细胞转位与上皮细胞感染抑制炎症反应、逃逸宿主细胞的吞噬作用及诱导巨噬细胞凋亡,论文对以上方面进行了简单的论述。

关键词

志贺菌; 细菌性痢疾; 致病机制

基金项目

2018 年度高等学校省级质量工程项目《神经疾病物理治疗》省级大规模在线开放课程 (MOOC) 示范项目 (项目编号: 2017mooc245); 高水平高职专业——康复治疗技术专业 (项目编号: 2018ylzy101)。

1 引言

志贺菌属 (Shigella) 是一类具有高度传染性和严重危害性的革兰氏阴性肠道致病菌,临床感染可以导致痢疾,分 4 个种:痢疾志贺菌 (Shigella dysenteriae)、福氏志贺菌 (Shigella flexneri)、包氏志贺菌 (Shigella boydii) 和宋内氏志贺菌 (Shigella sonnei),其中福氏志贺菌是发展中国家痢疾流行的优势株,除宋内志贺菌外,其余 3 个群又可分多个亚型^[1]。

据 WHO 的统计报告,全球每年细菌性痢疾的发病人数

高达 2 亿,死亡人数达 60 万之多,其中 80% 以上在发展中国家^[2]。在中国,细菌性痢疾的发病率居传染病的前列,每年发病人数达 200 万,对中国的公共卫生与健康造成了巨大威胁。然而,对细菌性痢疾的确切发病机制尚未明确。可能与细菌侵入宿主细胞并在细胞内存活,抵御或抑制炎症作用有关。也可能与播散到邻近细胞对其在感染过程中更换繁殖场所有关;最为重要的是其能够逃逸宿主免疫监视系统识别,进入细胞质,这可能是引起感染的关键因素之一。本文就以上的致病的机制研究进展情况作一简单综述。

2 M 细胞转位和上皮细胞感染

痢疾杆菌导致细菌性痢疾全身感染主要通过 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邻近的上皮细胞。众所周知,M 细胞 (microfold cell) 为 Peyer's 结淋巴滤泡相关上皮中一种特化的上皮细胞,是肠道抗原识别和采集的关键细胞,也是肠道病原体入侵的门户。研究发现具黏附性而无侵袭性的痢疾杆菌变异株 BSI5 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,这些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而导致黏膜损伤。那么,痢疾杆菌能否导致感染与其黏附性及侵袭性的蛋白有关,有进一步研究显示:既无黏附性又无侵袭性的痢疾杆菌几乎不能感染 M 细胞,而仅有黏附性的痢疾细菌可进入 M 细胞,但不能进一步导致炎症损伤,只有两者兼有的痢疾细菌才能由 M 细胞转位导致感染 L2J。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。对于痢疾杆菌侵袭上皮细胞的机制,人们普遍认为是细胞以巨胞饮和吞噬捕捉一些细菌,被称为“触发入侵机制”。当痢疾杆菌与上皮细胞接触时,刺激 III 型分泌系统 (T3SS) 向宿主细胞释放效应子,这些效应子能够调节宿主的各种功能,改变宿主细胞表面结构,逃逸宿主固有免疫机制的监视。痢疾杆菌通过 T3SS 分泌的效应产物^[3],比如 IpaA、IpaB、IpaC、IpgBl、Ip 妒和 VirA,通过刺激肌动蛋白和微管细胞骨架重排,触发宿主细胞摄取细菌。蚬 B 被分泌到细菌表面周围,能够结合透明质酸酶受体 CD44, IpaB. CD44 结合后能够刺激细胞信号系统,促进痢疾杆菌侵入细胞 15j。IpaC 通过一些未知机制与宿主细胞膜整合,能直接使肌动蛋白核化。IpgBl 通过刺激%1 和 Cdc42 而诱导上皮细胞皱^[4-7]。VirA 蛋白是 EspG / VirA 家族的一个成员,由痢疾杆菌释放到侵入部位附近并诱导局部的微管 (MT) 降解,释放微管相关蛋白,通过活化 Rac1 和 fuloA,导致皱膜形成。IpgD 具有磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸酶活性,催化磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸水解成磷脂酰肌醇 5-一磷酸,促进肌动蛋白在细菌的侵入部位聚集。特异结合蛋白 j 刺激局部的肌动蛋白解聚,有助于形成巨胞饮口袋利于捕获痢疾杆菌,从而痢疾杆菌以触发样 (triggering) 机制而非拉链样 (zippering) 机制进入了上皮细胞^[8]。

3 抑制炎症反应

痢疾杆菌感染上皮细胞和巨噬细胞后可诱发强烈的炎症反应。痢疾杆菌在上皮细胞繁殖,释放黏肽 (PGN),由 Nodl 蛋白识别组成胞壁肽的包含 N-乙酰葡萄糖胺-N-乙酰胞壁酸二肽的 DAP,形成活化 NF- κ B 必需的 IKK—RICK 复合物 i9J。这样,痢疾杆菌侵入上皮细胞产生致炎症因子和细胞因子 II, 8、nlp、I 和 TNF- α ,这些细胞因子引起中性粒细胞浸润肠内组织。白细胞移行可以加重感染,在移行时破坏了上皮细胞中的紧密连接,痢疾杆菌因此可以穿过肠上皮细胞 (基) 底外侧的表面。赵冬云等^[9]采用 PCR 技术针对志贺菌的 ipaH、ial、set1、sen 基因进行特异性扩增,所有的菌株的 ipaH 基因均 (+)。最终,活化的中性粒细胞杀死痢疾杆菌,消除感染。研究发现胞内的痢疾杆菌经 13ss 分泌-8 效应子到宿主细胞质中并最终在细胞核内蓄积,细胞质内的 IpaH9-8 可下调 NF- κ B 的活性 iloJ,而核内的 IpaH9-8 抑制趋化因子和细胞因子产物相关的基因表达^[10],从而抑制 r 炎症反应对其的清除作用^[11]。13SS 分泌的效应子蛋白 ospF 具有干预 MAPK 信号通路的功能,ospF 是新发现的磷酸苏氨酸裂解酶家族的第一个成员,能不可逆地去除 MAPK(s 信号途径中 p38 上的磷酸基团,抑制 MAPK 信号通路,特异性阻断组蛋白磷酸化,影响转录因子 NF- κ B 进入它的染色体结合位点,进而降低与免疫相关的基因转录水平,减少趋化因子 II, 8 的产生,进而抑制炎症反应^[12]。ospG 是另外一个 r13ss 分泌的效应子蛋白,能够阻断 NF- κ B 依赖的免疫信号通路,抑制肠道的炎症反应。

4 逃逸宿主细胞的吞噬作用

痢疾杆菌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^[13],其机制可能为 IpaB 与 Ipac 复合体以 pH 依赖的方式溶解吞噬泡^[14]。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。研究显示,胞内痢疾杆菌经 T3SS 分泌的效应子 IcsB 在对抗自体吞噬的识别起到重要作用 013J4。IcsB 由位于痢疾杆菌 220 kb 毒力大质粒 CD 基因上游的瑚基因编码,由 4 个氨基酸组成,相对分子质量 52000。痢疾杆菌非极性突变株能完全侵入细胞并从囊泡中逃逸,但却丧失了宿主细胞内繁殖的能力^[15]。志贺菌含有 2~10 个质粒,这能使得有学者使用质粒图谱对志贺菌进行分型^[16]。在 BHK 细胞内,如占突变株

繁殖并正常移动约 3 h, 在入侵 4 h 后胞内形成空斑。在这一阶段, 础与酸性溶酶体和自噬体共存, 突变体在形态上与野生株相比没有明显不同。实际上, 大约 40% 的细胞内痢疾杆菌脚突变株和 8% 的野生株与 LC3 信号相关, 表明如 B 突变株在感染稍后阶段出现的繁殖缺陷与自体吞噬相关^[17]。这可能是痢疾杆菌逃逸宿主细胞吞噬的机制之一。

另外, 胞内痢疾杆菌 B 突变株附近的 LC3 和 At95 信号偶尔不对称分布, 信号分子聚集在细菌的一端。如 8 突变株上自吞噬信号的不对称分布与痢疾杆菌表面 ViIG 的不对称分布相似, 提示 ViIG 可能是自体吞噬的靶分子。有证据表明, ViIG 除了介导痢疾杆菌依赖于肌动蛋白的运动, 还是自体吞噬的靶标分子, 同时提示 At95 在自吞噬体的基础物质隔离膜的形成中起到关键作用。占利等^[18, 19]对爆发菌痢的宋内志贺菌进行 PFGE 聚类分析, 痢疾杆菌表面相邻的 IcsB 与 VirG 通过相互作用将 VirG 伪装起来, 提示 At95 在自吞噬体的基础物质隔离膜的形成中起到关键作用。痢疾杆菌表面相邻的 IcsB 与 VirG 通过相互作用将 VirG 伪装起来, 是逃逸自吞噬识别的机制。

5 诱导巨噬细胞凋亡

痢疾杆菌与巨噬细胞作用的过程相当复杂, 顺序可概括为: 巨噬细胞吞噬痢疾杆菌; 痢疾杆菌逸出吞噬泡; 痢疾杆菌分泌 IpaB 于巨噬细胞胞质中; IpaB 结合并激活 pase. 1; 诱导巨噬细胞凋亡, 释放炎症因子 IL1p。巨噬细胞吞噬痢疾杆菌后, 痢疾杆菌从巨噬细胞的吞噬泡中缓慢地逃逸出来。痢疾杆菌逃逸吞噬泡后, 能够诱导巨噬细胞凋亡。巨噬细胞死亡通过两条典型的途径完成: 一条途径是由 13Ss 分泌的 IpaB 蛋白活化 cpase-1 (半胱天冬酶 1), 引起炎症反应并释放 IL18L1; 另一条途径由细胞质中的痢疾杆菌的脂质 A 移位引起, 这条途径不依赖于 cpa1 和 T0II 样受体 4 的活化^[20]。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 II, lp 与 II, 其产生依赖于明 spal 的激活, caspase. 1 又称为 IL 厂 lp 转化酶, 激活后能将前 II, lp 与前 IL 广 18 转化为活性形式 II 广 lp 与 IL18^[21]。

6 结语

在各个国家流行的志贺菌^[22-24], 即使同一个国家的不同地区也有明显差异。会有不同的致病机制复杂, 能通过抑制炎

症反应在肠上皮细胞中有效繁殖和播散, 避免了在细胞外和循环免疫细胞下暴露; 同时能利用 T3SS 分泌的效应子调节多种细胞信号途径, 降低宿主的固有免疫活性, 逃逸宿主的免疫杀伤作用, 甚至可诱导巨噬细胞凋亡而逃逸吞噬。痢疾杆菌可能还拥有一些未知的感染和存活策略, 对其新的致病效应和致病分子的进一步研究, 揭示痢疾杆菌和宿主之间错综复杂的相互作用, 将会为对痢疾杆菌的预防和治疗提供基础依据。

参考文献

- [1] Shen, Y., et al., High prevalence of antibiotic resistance and molecular characterization of integrons among *Shigella* isolates in Eastern China. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013. 57(3): p. 1549-51.
- [2] Kotloff, K.L., et al., Global burden of *Shigella* infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. *Bull World Health Organ*, 1999. 77(8): p. 651-66.
- [3] 龚益熊等, 双向 BN/SDS-PAGE 分离鉴定痢疾杆菌福氏 5 型 M90T 株毒力相关膜蛋白复合物. *生物技术通报*, 2011(9): 第 163-166, 180 页.
- [4] Putzke, A.P. and J.H. Rothman, Repression of Wnt signaling by a Fer-type nonreceptor tyrosine kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010. 107(37): p. 16154-9.
- [5] Piganis, R.A., et al., Suppressor of cytokine signaling (SOCS) 1 inhibits type I interferon (IFN) signaling via the interferon alpha receptor (IFNAR1)-associated tyrosine kinase Tyk2. *J Biol Chem*, 2011. 286(39): p. 33811-8.
- [6] Nhieu, G.T., et al., Tyrosine kinase signaling and type III effectors orchestrating *Shigella* invasion. *Curr Opin Microbiol*, 2005. 8(1): p. 16-20.
- [7] Schroeder, G.N. and H. Hilbi, Molecular pathogenesis of *Shigella* spp.: controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. *Clin Microbiol Rev*, 2008. 21(1): p. 134-56.
- [8] Zurawski, D.V., et al., The NleE/OspZ family of effector proteins is required for polymorphonuclear transepithelial migration, a characteristic shared by enteropathogenic *Escherichia coli* and *Shigella flexneri* infections. *Infect Immun*, 2008. 76(1): p. 369-79.
- [9] 赵冬云等, 淮北市志贺菌毒力基因的研究. *中国卫生检验杂志*, 2008. 18(5): 第 792-794 页.

- [10] 王艺婷等, 福氏痢疾杆菌 2b 血清型菌株基因组中 SfiI 和 SfiX 前噬菌体整合位点及排列方式研究. 中华流行病学杂志, 2010. 31(7): 第 800–803 页.
- [11] 刘紫玲与朱翠明, DC-SIGN 受体及其信号通路在病原体感染中的作用. 微生物学免疫学进展, 2011. 39(4): 第 60–63 页.
- [12] Li, H., et al., The phosphothreonine lyase activity of a bacterial type III effector family. Science, 2007. 315(5814): p. 1000–3.
- [13] 任静朝等, 志贺菌主动外排泵 *acrAB-tolC* 及调控基因 *marOR* 突变与耐药的关系. 吉林大学学报 (医学版), 2010. 36(1): 第 45–48 页.
- [14] 纪文静, 徐樾巍与董方, 儿科产超广谱 β 内酰胺酶志贺菌的检测及耐药性分析. 中华儿科杂志, 2010. 48(8): 第 617–620 页.
- [15] 王芳等, 痢疾杆菌 GST-IpaH4.5 载体构建及其在大肠杆菌中的表达. 中国热带医学, 2011. 11(8): 第 911–912, 915 页.
- [16] Rahube, T.O., et al., Characterization and comparative analysis of antibiotic resistance plasmids isolated from a wastewater treatment plant. Front Microbiol, 2014. 5: p. 558.
- [17] Kayath, C.A., et al., Escape of intracellular Shigella from autophagy requires binding to cholesterol through the type III effector, IcsB. Microbes Infect, 2010. 12(12–13): p. 956–66.
- [18] 占利, 浙江省引起暴发的宋内志贺菌的耐药性及分子分型研究 (2006). 中国卫生检验杂志, 2008. 18(4): 第 696–698 页.
- [19] 周晓红等, 一起由宋内志贺菌引起痢疾暴发疫情的检测报告. 中国卫生检验杂志, 2008. 18(12): 第 2777–2778 页.
- [20] 王国富等, 福氏志贺菌 *ipaB* 基因的克隆表达及免疫原性研究. 实用医学杂志, 2012. 28(19): 第 3183–3185 页.
- [21] Schroeder, G.N. and H. Hilbi, Molecular pathogenesis of Shigella spp.: controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. Clin Microbiol Rev, 2008. 21(1): p. 134–56.
- [22] Afrasiabi, S., et al., The frequency of Neisseria gonorrhoeae endocervical infection among female carrier and changing trends of antimicrobial susceptibility patterns in Kashan, Iran. Iran J Microbiol, 2014. 6(3): p. 194–7.
- [23] Mamatha, B., B.R. Pusapati and C. Rituparna, Changing patterns of antimicrobial susceptibility of Shigella serotypes isolated from children with acute diarrhea in Manipal, South India, a 5 year study. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2007. 38(5): p. 863–6.
- [24] Xia, S., et al., Prevalence and characterization of human Shigella infections in Henan Province, China, in 2006. J Clin Microbiol, 2011. 49(1): p. 232–42.