

文章编号:1673-1689(2009)03-0294-07

空肠弯曲菌致病分子机制研究进展

李 烨, 史 锋, 王小元*

(食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122)

摘 要: 空肠弯曲菌(*Campylobacter jejuni*)是人类的食源性病原菌,感染后主要引起急性肠炎,与人类格林-巴利综合症也有密切关系。研究表明,空肠弯曲菌致病性是多种毒力因子共同作用的结果。作者从分子生物学研究水平综述空肠弯曲菌黏附、定植、侵入、产细胞毒素、分子模拟等致病机制。

关键词: 空肠弯曲菌; 黏附; 侵入; 毒素; 分子模拟

中图分类号: R 595.7

文献标识码: A

Molecular Mechanisms on Pathogenesis of *Campylobacter jejuni*

LI Ye, SHI Feng, WANG Xiao-yuan*

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: *Campylobacter jejuni* is a food-borne human enteric pathogen, and also closely relates to Guillain-Barré syndrome. Many researches have showed that the diseases were caused by combination of virulence factors of *Campylobacter jejuni*. In this review, the molecular mechanisms on adhesion, colonization, invasion, toxins production and molecule mimicry of *Campylobacter jejuni* was summarized.

Key words: *Campylobacter jejuni*; adhesion; invasion; toxin; molecule mimicry

目前,食品安全是我国公众关注的焦点问题。由微生物污染造成的食源性疾病一直是我国食品安全中突出的问题之一。空肠弯曲菌(*Campylobacter jejuni*)是全球范围内感染性腹泻常见的病原菌,世界卫生组织(WHO)在1980年将空肠弯曲菌病列为常见的食源性疾病。人类感染*C. jejuni*主要源于被污染的水源、乳制品以及未煮熟的肉类(特别是禽肉)。20世纪90年代以来,*C. jejuni*感染率呈逐年上升的趋势。在欧美等发达国家*C.*

*jejuni*是造成腹泻的主要病原体,有时甚至超过沙门氏菌和志贺氏菌居首位^[1];我国和其它发展中国家患者多集中在儿童,由于监测体系的不完善,确切的感染率难以统计。急性、自限性胃肠炎是*C. jejuni*感染的典型症状,免疫力极低下者会进一步导致心内膜炎、关节炎、骨髓炎、脑炎、败血症等全身性疾病,最严重的并发症是某些血清型*C. jejuni*感染引起的周围神经自身免疫性疾病——格林-巴利综合症(Guillain-Barré syndrome, GBS),GBS是

收稿日期:2008-09-22

基金项目:江南大学食品科学与技术国家重点实验室自由探索资助课题(SKLF-TS-200807)。

作者简介:李烨(1964-),女,江苏淮安人,副教授,主要从事食源性病原微生物研究。Email:liye386@sina.com

*通讯作者:王小元(1965-),男,山西垣曲人,教授,博士生导师,主要从事细胞膜结构和功能的研究。

Email:xiaoyuanwang@hotmail.com

导致儿童发生急性迟缓性瘫痪的重要病因^[2]。

C. jejuni 的高发病率以及相关疾病的危害引起了人们广泛关注,作者就近年来 *C. jejuni* 致病性分子生物学研究进展进行综述。

1 *C. jejuni* 基因组研究和分析

国内外研究表明,*C. jejuni* 主要是通过黏附、定植、侵入、产毒素、分子模拟等机制感染机体导致疾病。自 2000 年首次公布 *C. jejuni* NCTC11168 全基因组序列后^[3],对 *C. jejuni* 分子生物学研究越来越深入。通过结合分子生物学、遗传学、免疫学和病原学的研究和分析,*C. jejuni* 的许多致病基因及其功能已被逐步阐明(见表 1)。

表 1 *C. jejuni* 致病基因
Tab. 1 *C. jejuni* pathogenic genes

毒力因素	相关的致病基因	参考文献
黏附	<i>flaA</i> , <i>peb1A</i> , <i>cadF</i> , <i>peb4</i> , <i>galE</i> , <i>htrA</i> , <i>waaF</i>	12、13、14、16、 18、19、21
定植	<i>cheY</i> , <i>cmeR</i> , <i>racR</i> , <i>flaA</i> , <i>fliA</i> , <i>rpoN</i> , <i>flgK</i>	3、23、13
侵入	<i>flaA</i> , <i>ciaB</i> , <i>pldA</i> , <i>iamA</i> , <i>virB11</i> , <i>flaC</i> , <i>cst</i> II, <i>flgK</i>	12、13、24、25、 26
毒素	<i>cdtA</i> , <i>cdtB</i> , <i>cdtC</i>	31、32
脂多糖	<i>wla</i> 基因簇, <i>waaF</i> , <i>neu</i> 基因 群, <i>cst</i> II	3、31、35、36

C. jejuni 为有鞭毛、微需氧、无芽孢的革兰氏阴性弯曲短杆菌,是弯曲菌属中最主要的能引起人类肠炎的致病菌种。人们主要从表型和基因型两方面对 *C. jejuni* 进行分型,至今应用最广泛的是表型分型法中的血清分型。*C. jejuni* 是抗原和表型多样的细菌,依据抗原耐热性的不同,血清分型有两种,即 Penner 系统^[4]和 Lior 系统^[5],前者是基于 *C. jejuni* 耐热性抗原建立,至少有 60 种以上血清型,后者基于 *C. jejuni* 不耐热抗原建立,已有 56 种血清型。国际上普遍认可这两种血清分型系统,在鉴别 *C. jejuni* 方面得到广泛应用。

人们首次获得其染色体全基因组信息的 *C. jejuni* 菌株是自腹泻患者分离的 NCTC11168 (Penner O:2 血清型)。1998 年 karlyshev 等人^[6]制作了 *Cj* NCTC11168 的物理和基因图谱,2000 年英国 Sanger Center 的研究人员发表了该菌株的全基因组序列^[3],其染色体基因组有以下特点:(1)基因组(G+C)含量为 30.6%,预计有 1654 个 ORFs,

其中有 77.8% 基因可推测其功能;(2)基因组序列中几乎完全缺乏重复序列,无插入序列、噬菌体整合序列和抗生素相关序列。缺少在一般革兰氏阴性致病菌中普遍存在的Ⅲ型分泌系统(type 3 secretion system, T3SS)的同源基因;(3)该基因组中有高度变异的序列存在,这些超变量序列位点集中在 3 个与菌体表面结构合成相关的基因群:脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)或脂寡糖(lipooligo-saccharide, LOS)生物合成基因群、外膜多糖(EP)生物合成基因群和鞭毛修饰基因群,超变量序列的存在,显示了 *C. jejuni* 基因组序列的多样性、致病机制的复杂性以及高度的遗传适应性;(4)基因组中存在参与唾液酸(sialic acid, SA)生物合成的 *neu* 基因群,唾液酸是 *C. jejuni* 表面结构 LPS 的独特成分,是并发 GBS 的分子模拟机制中的关键组分;(5)基因组中存在多对组氨酸蛋白激酶和由应答调控蛋白组成的双组分调控系统基因(*DccRS*、*PhosSR*、*FlgSR*、*RacRS* 等),具有调控 *C. jejuni* 生长、毒力等重要生物学功能。此后人们陆续获得了 *Cj* RM1221、81-176、81116 等菌株的染色体基因组序列,超变量序列在这些菌株中也得到了证实^[7],并以 *Cj* NCTC11168 为参考菌株,开展了许多比较基因组学研究,结果显示致病性不同的菌株基因组信息有明显差异^[8]。

2 *C. jejuni* 黏附和定植分子机制的研究

黏附是指病原菌附着在敏感细胞的表面,是病原菌与宿主发生关系的普遍生物学现象。在黏附的基础上,病原菌才能获得定居、侵入和生存的机会。所以黏附是感染的第一步,与致病性密切相关。黏附的本质是病原菌借助于具有黏附作用的表面结构即黏附素(adhesin)与宿主细胞膜上的糖蛋白受体或细胞外基质成分的结合。*C. jejuni* 是一种典型的肠道感染菌,肠道是该菌感染宿主的首要入侵部位,大量的研究表明,鞭毛、外膜蛋白、脂多糖或脂寡糖、荚膜多糖等在 *C. jejuni* 附着和定植宿主肠道上皮细胞中起重要作用。

2.1 *C. jejuni* 鞭毛致病机理

鞭毛不仅是菌体运动器官,更是主要的毒力因子,在 *C. jejuni* 黏附、定植、侵入肠上皮细胞以及毒力蛋白质分泌外输过程中起重要作用。鞭毛的运动促进 *C. jejuni* 定植和侵入肠道。通常病原菌 T3SS 在病原菌与宿主细胞接触后被激活,分泌多种毒力蛋白参与致病,而 *C. jejuni* 基因组缺少

T3SS 的同源基因,其鞭毛输出装置有 T3SS 功能,能分泌许多毒力蛋白^[9]。鞭毛是 *C. jejuni* 重要的表面抗原,鞭毛蛋白的糖基化作用是鞭毛装配的需要,且糖基的变化也影响其抗原性^[10]。

C. jejuni 鞭毛丝结构基因 *flaA* 和 *flaB* 在染色体上邻近且高度同源,编码产物鞭毛蛋白装配成鞭毛丝。*flaA* 和 *flaB* 的表达是转录水平调控,二者有不同的启动子,分别为 σ_{28} (*flaA*) 和 σ_{54} (*rpoN*)。近年来, Carrillo 等^[11] 研究证实 σ_{28} 和 σ_{54} 也是许多非鞭毛合成基因的启动子,这些基因有的对毒力有促进作用。

Wassenaar 等^[12] 运用同源重组方法构建 *flaA* 或 *flaB* 突变体,实验发现, *flaB* 突变体仍具有运动力,但 *flaA* 突变体无运动力,鞭毛缩短,且不能黏附和侵入宿主肠细胞,这与近年 Konkel 等^[13] 研究结果一致, Konkel 等还借助穿梭载体补充 *flaAflaB* 突变体中 *flaA*, 菌体运动力、鞭毛结构、定植、侵入以及输出分泌毒力蛋白功能都得到恢复,可见鞭毛蛋白基因 *flaA* 在 *C. jejuni* 肠道致病过程中的重要作用。

2.2 致病基因 *peb1A*、*cadF*、*peb4*、*galE*、*htrA* 与 *C. jejuni* 的黏附能力

C. jejuni 附着和定植肠上皮细胞过程中有多种相关基因参与作用或调控,除了 *flaA*, 目前较明确的与 *C. jejuni* 黏附定植相关的致病基因有:表面蛋白基因 *peb1A*、*cadF*、*peb4*, 外膜成分 LPS 或 LOS 合成相关基因 *galE*, 对黏附侵入起间接作用的 *htrA* 等基因以及最有效定植肠道需要的趋化基因 *cheY*、调控基因如 *cmeR*、*racSR* 等。

C. jejuni *peb1A* 基因编码的可溶性蛋白 *Peb1* (28 000) 直接参与了黏附过程,是较早被公认的 *C. jejuni* 主要的黏附素分子。在动物模型中, *Peb1* 的 A 位点加强了 *C. jejuni* 对肠上皮细胞的黏附,并促进了定植,而灭活 *Peb1* 的 A 位点能够显著地削弱 *C. jejuni* 的黏附力^[14]。研究显示, *Peb1* 蛋白还是 *C. jejuni* 营养素 ABC 转运系统的一个主要接合成分^[15], 同时也是重要的侵袭特异性配基,可见 *Peb1* 蛋白在 *C. jejuni* 致病性方面的重要性。

C. jejuni *cadF* 基因编码表达一种 37 000 的外膜蛋白,该蛋白能介导 *C. jejuni* 与宿主肠道细胞外基质成分纤连蛋白 (fibronectin, Fn) 结合,从而促进 *C. jejuni* 附着宿主肠道上皮细胞, Monteville^[16] 等用抗 *cadF* 的抗体处理,可见 *C. jejuni* 与 Fn 的结合下降了 50% 以上。他们进一步深入研究发现,在 *cadF* 介导 *C. jejuni* 感染宿主细胞过程中,黏附

信号转导分子 Paxillin 蛋白的酪氨酸磷酸化增加,故推测 *cadF* 介导 *C. jejuni* 与宿主细胞外 Fn 结合,进而激发了一个包括 Paxillin 蛋白在内的信号传导途径,促进了黏附和侵入。

Krause-Gruszczynska 等^[17] 采用免疫印迹方法分析来自临床及动物源共 58 株 *C. jejuni*, 结果显示 *cadF* 检出率为 100%, 也有研究表明, *PeblA* 基因在不同血清型 *C. jejuni* 中均有表达,提示 *C. jejuni* 的 *peblA* 基因和 *cadF* 基因在其不同血清型间均具有高度保守性,编码产物具有十分稳定而保守的免疫原性,可以作为 *C. jejuni* 的基因水平检测、研制基因工程疫苗、抗体检测试剂盒和抗菌药物良好的靶基因。

Peb4 是近两年发现的 *C. jejuni* 表面黏附宿主细胞的另一结合蛋白, Asakura 等^[18] 研究结果显示, *Peb4* 突变体对 INT407 细胞的黏附力仅是野生型的 1%~2%, 鼠肠道定植力降低; *Peb4* 还显示有脯氨酰异构酶活性,由此推测 *Peb4* 还可能影响其它一些毒力蛋白表达的作用。

galE 是 *C. jejuni* LPS 生物合成基因群的成员,编码 UDP-葡萄糖-4-表位酶 (UDP-glucose 4-epimerase)。Fry 等^[19] 通过构建 *galE* 突变株、互补实验等多方面研究,证明了 *galE* 具有催化葡萄糖和半乳糖之间互变的生物学活性,进而在 LPS 生物合成中起重要作用,同时他们的实验结果也显示, *galE* 突变株 LPS 结构变异 (缺失外核糖链), 对 INT407 细胞的黏附力和侵袭力明显降低,血清敏感性增强,这说明 LPS 是 *C. jejuni* 的毒力因子,对其黏附和侵袭有重要作用。

HtrA 是存在 *C. jejuni* 细胞周质空间中的一种热休克诱导的丝氨酸蛋白酶, 又称 *DegP* 或 *DO* 蛋白酶^[20], 具有分子伴侣和蛋白酶双重功能,在热休克和其它应急条件下,对于降解和清除膜周质中变化或损伤的蛋白质起十分重要作用。Brondsted 等^[21] 在研究中发现 *HtrA* 能间接影响 *C. jejuni* 的黏附和侵入, 研究显示 *Cj* NCTC11168 的 *Cj*1228c 能编码 *HtrA*, *htrA* 突变体与野生型相比,运动力和趋化性无太大差异,但黏附和侵入降低,且电镜观察可见菌体形态变直拉长,仍有鞭毛。此前已有学者研究证明 *C. jejuni* 形态表型会影响对组织细胞的黏附和侵入,故推测 *htrA* 突变体由于改变了形态而导致对人对上皮细胞黏附侵入下降,这是一种间接作用。

2.3 *CheY*、*CmeR* 与 *C. jejuni* 的定植能力

趋化性是细菌对化学物质的浓度产生趋向 (正

趋化)和离避(负趋化)的响应行为,是细菌在特定环境中求得生存的一种适应性反应。趋化性对 *C. jejuni* 在宿主肠道细胞内定植是重要的,*C. jejuni* 细胞表面存在感受不同浓度梯度的化学物质刺激作用的受体,Cj NCTC11168 基因组序列中的 3 个基因(CheY、CheA、CheV)能编码表达趋化蛋白(chemotaxis protein)^[3]。*C. jejuni* cheY 缺失突变体不影响运动性,但缺失化学趋化性能力,与原菌株相比,它不能在小鼠的肠道细胞内定植,也不能引起雪貂感染^[22]。可见 CheY 在 *C. jejuni* 致肠道感染中的重要性。

CmeR 是一种多效调控蛋白,不仅是 *C. jejuni* 与耐药性相关的外排泵 CmeABC 的转录阻遏蛋白,而且能调节多种不同功能基因的表达,Guo 等^[23]用 DNA microarray 比较 Cj NCTC11168 *cmeR* 突变体和野生型,结果有 28 个基因(包括 Cj0561c)表达量成倍增加,这些受 CmeR 阻遏调控的基因主要编码膜转运载体蛋白、四碳二羧酸转运和利用蛋白、荚膜多糖合成酶等。研究结果还显示,*cmeR* 突变体对鸡肠道定植力下降,说明 CmeR 与有效定植有关,进一步深入研究发现,这与表达受 CmeR 严格调控的基因 Cj0561c 密切相关,Cj0561c 启动子区有 CmeR 结合位点,在 CmeR 严格调控下影响 *C. jejuni* 对肠道的最有效定植。

3 *C. jejuni* 的侵入机制研究

病原菌最主要的特征是入侵宿主,并在宿主体内找到适合其生存的小环境。*C. jejuni* 引起人类的肠道感染,可见有肠粘膜充血、水肿和溃疡等病理变化,表明 *C. jejuni* 能侵入肠粘膜上皮细胞。在体外将 *C. jejuni* 与 HeLa 细胞混合培养一段时间后,可观察到 *C. jejuni* 穿透细胞膜进入细胞,侵入是 *C. jejuni* 一种重要的致病机制。

3.1 *C. jejuni* 与侵入相关的毒力基因

C. jejuni 通过宿主肠道细胞膜进入细胞(即内化)的过程,除了需要鞭毛的动力外,还需要多种侵入相关基因编码的毒力蛋白参与,目前已知的主要有:侵入抗原蛋白基因 *CiaB*、磷脂酶活性蛋白基因 *pldA*、侵袭相关 ATP 酶基因 *iamA*、质粒基因 *virB11*、胞外分泌蛋白基因 *FlaC* 等。

许多学者的研究已证明, *CiaB* 是 *C. jejuni* 对组织细胞最大限度入侵所必需侵入抗原蛋白,在菌体与宿主细胞接触后产生并通过鞭毛输出装置分泌。研究还发现, *pldA* 基因编码表达一种具有磷脂酶活性的蛋白质,能破坏宿主肠道细胞膜,促进

侵入^[24]。

iamA 基因是 *C. jejuni* 染色体 DNA 上 1.6 kb 的序列,编码与侵袭相关的 ATP 酶,由于该基因与侵袭能力紧密相关^[25],所以被作为由 *C. jejuni* 介导发生的肠炎的标记基因。

C. jejuni FlaC 蛋白与鞭毛蛋白 *flaA* 和 *flaB* 的 N 端和 C 端高度同源,但 FlaC 是 *C. jejuni* 胞外分泌蛋白。Song 等^[26]发现 *flaC* 突变体有正常的鞭毛和高运动力,但对体外培养细胞 HEP-2 侵袭力只是野生型的 14%,且鞭毛突变体不能分泌 FlaC,可见 FlaC 是经鞭毛输出装置分泌的、与侵入相关的毒力蛋白。

3.2 *C. jejuni* 复杂的侵入分子机制

侵入是感染性疾病发生的关键步骤,是一个复杂的病原菌和宿主细胞相互作用的过程,研究表明,侵入过程中,*C. jejuni* 能够触发一系列信号传导导致宿主细胞骨架重排,使其能穿过细胞屏障,进入细胞进而引发感染,这是一个信号传导和细胞骨架重排的侵入机制。

近年已开展了一些由 *C. jejuni* 触发宿主信号转导过程的研究,该信号转导的基本通路是:*C. jejuni* 分泌的侵袭蛋白配基与宿主细胞膜上受体识别,活化相关受体的蛋白激酶活性,进而触发蛋白磷酸化级联反应,引起宿主细胞骨架重排,导致菌体内化。Hu 等^[27]研究了 Cj81-176 在体外侵入 INT-407 过程的信号转导,用抑制剂非律宾菌素Ⅲ预处理以阻断 INT-407 细胞膜穴样内陷(caveolae)的形成,结果 95% 菌体不能侵入,说明 *C. jejuni* 侵入是细胞膜穴样内陷内吞,而非经典的网格蛋白有被小窝内吞,由于产生的内吞泡不与胞内体及溶酶体融合,所以这种内吞途径的入侵更有利于 *C. jejuni* 安全有效地到达适合的部位。细胞膜穴样内陷结构能参与细胞内吞、细胞信号转导、细胞膜组装等许多生命活动。用蛋白激酶抑制剂(三羟异黄酮或十字孢碱)预处理培养细胞,结果 Cj81-176 的进入被显著抑制;进一步 Western 免疫印迹法分析,发现侵入过程宿主至少有 9 种蛋白质发生酪氨酸磷酸化作用,且存在 G 蛋白、细胞外调节蛋白激酶(ERK)、磷脂酰肌醇 3-激酶(PI 3-kinase)、有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK)的活性,可见 *C. jejuni* 侵入内化的过程触发了宿主细胞的多条信号通路。

与其它肠道病原菌如志贺氏菌和沙门氏菌相比,*C. jejuni* 通过信号转导触发的宿主细胞骨架重排的侵入机制比较复杂,目前主要有 3 种研究观点:(1)严格的微丝(MF)依赖侵入机制;(2)严格的

微管(MT)依赖侵入机制;(3)有微丝依赖和微管依赖、但以微丝依赖为主的侵入机制。

Oelschlaeger 等^[28]通过抑制实验研究证实,Cj81-176 对 INT-407 细胞的侵入是严格的微管依赖,而不受微丝解聚的影响,这完全不同于已经公认的、许多肠道致病菌肌动蛋白细胞骨架重排的侵入机制,进一步对其内吞过程进行了推测:即菌体配体与宿主细胞表面受体的识别,通过信号转导触发宿主细胞微管依赖的细胞骨架重排,并将菌体内吞,形成的菌体内吞泡在动力蛋白的帮助下,沿着微管到达核周区域。几年后,Hu 等^[29]通过免疫荧光显微镜观察给前者的研究结果提供了直接证据。

Biswas 等^[30]研究结果却显示,*C. jejuni* 对 INT-407 细胞的侵入,不仅被微丝抑制剂细胞松弛素 D 明显抑制,而且也被微管抑制剂秋水仙素或诺可唑抑制,故认为 *C. jejuni* 内化进入细胞伴随着肌动蛋白和微管蛋白的聚集和聚合,是一种微丝和微管细胞骨架重排的侵入机制。

上述不同的研究结果,充分体现了 *C. jejuni* 侵入分子机制的复杂性。因为侵入本身是致病菌和宿主细胞间复杂的相互作用,在此过程中,菌体和宿主细胞双方都会发生显著的变化,所以 *C. jejuni* 细胞骨架重排侵入机制的复杂性,可能与菌株以及宿主细胞自身遗传特点也有关系。侵入是一个多阶段、动态的主动过程,多种结构和因子参与了这个过程,并且相关因子间存在着复杂的相互作用,*C. jejuni* 侵入确切的致病分子机制有待于进一步研究。

4 *C. jejuni* 的毒素研究

C. jejuni 毒素按其来源、性质和作用等的不同,可分为外毒素和内毒素两大类。外毒素是其在生长繁殖过程中产生的、对宿主细胞有极强毒性的可溶性分泌蛋白质,在大多数情况下,外毒素简称毒素。内毒素特指菌体外膜中的 LPS 的类脂 A 基团,是 *C. jejuni* 重要的毒力因子。

4.1 *C. jejuni* 的外毒素

C. jejuni 常能够产生一种或多种毒素直接作用机体并引起宿主的病变。研究表明^[31-32],所有 *C. jejuni* 都能产生细胞致死性膨胀毒素(Cytolethal distending toxin, CDT),CDT 有多方面致病性:能直接破坏宿主细胞 DNA;能通过阻止细胞分裂关键调节因子 cdc2 蛋白的去磷酸化等作用,使宿主细胞周期不可逆地阻断在 G2 期而不再进入 M 期,细胞不能增殖分化,致宿主肠道细胞失去调节形态和容

万方数据

量的能力,使细胞进行性扩张,最终破裂死亡;能激发宿主产生细胞因子 IL-8,导致局部炎症的发生。*C. jejuni* CDT 是一个由 3 条肽链组成的毒素蛋白,分别由 3 个排列成簇的基因 *cdtA*、*cdtB*、*cdtC* 编码。*cdtB* 亚基有较高的序列保守性,有核酸酶活性,能切割宿主细胞双链 DNA;*cdtA* 和 *cdtC* 是结合宿主细胞的亚基,二者约有 40% 的序列同源性,同源区域是二亚基相互作用区,而不是结合宿主细胞的部位,预示 CDT 可能对宿主细胞上的受体无严格的特异性,这有助于理解 CDT 广泛而多样的致病性。

4.2 *C. jejuni* 的内毒素

位于菌体外膜的 LPS 是 *C. jejuni* 重要的表面抗原,分子结构由 3 部分组成:(1)类脂 A,锚定于外膜,是 LPS 内毒素部分;(2)核心多糖,包括内核和外核两部分,内核的 KDO 与类脂 A 相连;(3)O 抗原,为多个寡糖单位的重复,连接外核。近年来的遗传学和生物化学研究表明^[33],更多的 *C. jejuni* 只合成缺乏 O 抗原的小相对分子量 LPS,即 LOS。与多数细菌不同,*C. jejuni* 菌株之间核心多糖的结构高度变异。在引起 GBS 的 *C. jejuni* 菌株中,其 LPS 或 LOS 外核有唾液酸即 N-乙酰神经氨酸(N-acetylneuraminic, NANA)的存在,这在其它革兰氏阴性细菌的表面多糖中极少见,是其 GBS 致病机制中神经节苷脂模拟的关键分子。

Cj NCTC11168 基因组序列分析显示^[3]:参与 LPS 生物合成基因群(Cj1119-1152)包括 *wlaB*~*M*、*galE*、*Cj1132c*、*waaC*、*htrB*、*Cj1135*~1140、*neuA1B1C1*、*Cj1144*~1145、*waaV*、*waaF*、*waaD* 和 *Cj1152* 等共 34 个基因。基因功能的研究显示,*waaC*、*waaF* 为参与内核合成的基因,分别编码庚糖基转移酶 I 和庚糖基转移酶 II;*galE* 基因编码 UDP-葡萄糖 4-表位酶(*galE*),参与外核分子中的半乳糖形成;*wla* 基因簇参与 O-抗原多糖的合成及外核合成,但不参与内核合成,其中 *wlaK*、*wlaL* 参与氨基糖的合成,*wlaM*、*wlaF*、*wlaB* 参与糖分子的运输,*wlaC*、*D*、*E*、*G*、*H*、*I* 为糖基转移酶基因^[34]。*C. jejuni* 基因组序列中存在唾液酸合成基因(*neuB1*、*neuB2*、*neuB3*)、唾液酸转移酶基因(*cst-I*、*cst-II*)、半乳糖转移酶基因(*cgtA*、*cgtB*)等,参与 LPS 外核独特成分唾液酸的生物合成和转移。

5 *C. jejuni* 感染并发 GBS 分子机制研究

GBS 是一种感染性周围神经系统自身免疫病,

是急性迟缓性瘫痪重要病因。临床和实验研究已证实,某些血清型 *C. jejuni* (最常见 Penner O:19) 是 GBS 最常见的前驱感染病原体,感染致病与 *C. jejuni* 菌株 LPS/LOS 分子外核的多糖结构特点密切相关。

对于某些血清型 *C. jejuni* 感染后并发 GBS 机理,大量的免疫学、生化和分子生物学以及流行病学证据,使人们更倾向于接受 *C. jejuni* 的脂多糖与人周围神经的神经节苷脂之间的分子模拟机制^[35-36]。分子模拟(molecular mimicry)指宿主细胞成分与病原体抗原决定簇之间存在分子结构的线性或构象同源性,这样的分子模拟就会通过交叉免疫导致自身免疫病,其致病的本质是一种交叉识别。引起 GBS 的 *C. jejuni* 菌株 LPS/LOS 的核心寡糖外核末端区域与人的神经节苷脂 GM1 具有相同的、由半乳糖、乙酰半乳糖以及唾液酸构成的四糖骨架结构,唾液酸分子的存在是这种分子模拟的关键。GM1 是人周围神经上含量最丰富的神经节苷脂,为单唾液酸的糖脂。神经冲动传导、离子转运等都依赖于 GM1 的存在。*C. jejuni* 感染后的 GBS 患者体内可检测到抗神经节苷脂抗体,该抗体能与周围神经上的神经节苷脂产生免疫反应,使周围神经的髓鞘和轴索受损,阻断运动神经传导,导

致 GBS 的并发。分子模拟假说明确了 *C. jejuni* LPS 外核结构、神经节苷脂及其抗体与 GBS 之间存在病因关系,进一步研究其间的详细作用机制,对 GBS 今后的预防和治疗将有重要意义。

6 结 语

迄今为止,人们对 *C. jejuni* 遗传学特性、各种毒力因子及致病性已进行了较为广泛的研究,对各种毒力因子的一些致病基因及功能、致病过程中菌体与宿主相互作用关系等在分子水平上有了初步了解,为食品和环境中的 *C. jejuni* 基因水平检测、临床预防和治疗 *C. jejuni* 感染性疾病以及相关基因工程疫苗的研制等奠定了一定的理论基础。但 *C. jejuni* 基因组分析结果已显示,存在着超变量序列,且主要集中在与毒力密切相关的菌体表面结构合成和修饰相关的基因群。这种基因组序列的多样性充分体现了其高度的遗传适应性和致病机制的复杂性,为我们对其全面深入研究带来一定的难度。进一步探索其毒力基因的功能、关键毒力因子的合成途径及详细致病分子机理、寻找相关疾病毒力菌株的标记性分子特征、筛选出具有免疫保护作用的表面抗原成分等都是今后的有待于深入开展的理论研究工作。

参考文献(References):

- [1] Altekruze S F, Stern N J, Fields P I, et al. *Campylobacter jejuni* an emerging food borne pathogen[J]. *Emerg Infect Dis*, 1999,5:28-35.
- [2] Ryan M M. Guillain-Barre syndrome in childhood[J]. *J Paediatr Child Health*, 2005, 41:237-241.
- [3] Parkhill J, Wren B W, Mungall K, et al. The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable sequences[J]. *Nature*, 2000,403(10):665-668.
- [4] Penner J L, Hennessy J N. Passive hemagglutination technique for serotyping *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* on the basis of soluble heat-stable antigens[J]. *J Clin Microbiol*, 1980, 12(6):732-737.
- [5] Lior H, Woodward D L, Edgar J A, et al. Serotyping of *Campylobacter jejuni* by slide agglutination based on heat-labile antigenic factors[J]. *J Clin Microbiol*, 1982, 15(5):761-768.
- [6] Karlyshev A V, Henderson J, Keltley J M, et al. An improved physical and genetic map of *campylobacter jejuni* NCTC11168(USA580)[J]. *Microbiol*, 1998,144:503-508.
- [7] Wassenaar T M, Wagenaar J A, Rigter A, et al. Homonucleotide stretches in chromosomal DNA of *campylobacter jejuni* display high frequency polymorphism as detected by direct PCR analysis[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2002,212:77-85.
- [8] Hofreuter D, Tsai J, Waster R O, et al. Unique features of a highly pathogenic *Campylobacter jejuni* strain[J]. *Infect Immun*, 2006,8:4694-4707.
- [9] Konkel M E, Klena J D, Rivera-Amill V, et al. Secretion of virulence proteins from *Campylobacter jejuni* is dependent on a functional flagellar export apparatus[J]. *J Bacteriol*, 2004,186:3296-3303.
- [10] Guerry P, Ewing C P, Schirm M, et al. Changes in flagellin glycosylation affect *Campylobacter autoagglutination* and virulence[J]. *Mol Microbiol*, 2006,60:299-311.
- [11] Carrillo C D, Taboada E, Nash J H, et al. Genome-wide expression analyses of *Campylobacter jejuni* reveals coordinate regulation of motility and virulence by *flhA*[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279:20327-20338.
- [12] Wassenaar T M, Bleumink-Pluym N M. Inactivation of *Campylobacter jejuni* flagellin genes by homologous recombina-

- tion demonstrates that *flaA* but not *flaB* is required for invasion[J]. *EMBO J*, 1991,10:2055—2061.
- [13] Konkel M E, Klena J D, Rivera-Amill V, et al. Secretion of virulence proteins from *Campylobacter jejuni* is dependent on a functional flagellar export apparatus[J]. *J Bacteriol*, 2004, 186:3296—3303.
- [14] Pei Z, Burucoa C, Grignon B, et al. Mutation in the *peb1A* locus of *Campylobacter jejuni* reduces interactions with epithelial cells and intestinal colonization of mice[J]. *Infect Immun*, 1998,66(3):938—943.
- [15] Pei Z, Blaser M J. PEB1, the major cell-binding factor of *Campylobacter jejuni*, is a homolog of the binding component in gram-negative nutrient transport systems[J]. *J Biol Chem*, 1993,268(25):8717—8725.
- [16] Monteville M R, Yoon J E, Konkel M E. Maximal adherence and invasion of INT 407 cells by *Campylobacter jejuni* requires the CadF outer-membrane protein and microfilament reorganization[J]. *Microbiol*, 2003, 149:153—165.
- [17] Krause-Gruszczynska M, van Alphen L B, Oyarzabal O A, et al. Expression patterns and role of the CadF protein in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2007, 274(1):9—16.
- [18] Asakura H, Yamasaki M, Yamamoto S, et al. Deletion of *peb4* gene impairs cell adhesion and biofilm formation in *Campylobacter jejuni*[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2007, 275(2):278—285.
- [19] Fry B N, Feng S, Chen Y Y, et al. The *galE* gene of *Campylobacter jejuni* is involved in lipopolysaccharide synthesis and virulence[J]. *Infect Immun*, 2000, 68(5):2594—2601.
- [20] Seol J H, Woo S K, Jung F M, et al. Protease DO is essential for survival of *Escherichia coli* at high temperature: Its identity with *htrA* gene product[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991,176:730—736.
- [21] Brondsted L, Andersen M T, Parker M, et al. The HtrA protease of *Campylobacter jejuni* is required for heat and oxygen tolerance and for optimal interaction with human epithelial cells[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71:3205—3212.
- [22] Yao R, Burr D H, Gueney P, et al. CheY-mediated modulation of *Campylobacter jejuni* virulence[J]. *Mol Microbiol*, 1997,23:1021—1031.
- [23] Guo B Q, Wang Y, Shi F, et al. CmeR functions as a pleiotropic regulator and is required for optimal colonization of *Campylobacter jejuni* in vivo[J]. *J Bacteriol*, 2008, 190:1879—1890.
- [24] Ziprin R L, Young C R, Byrd J A, et al. Role of *Campylobacter jejuni* potential virulence genes in cecal colonization[J]. *Avian Dis*, 2001,45(3):549—557.
- [25] Carvalho C T, Cervantes L E, Jiang X, et al. Molecular Characterization of invasive and noninvasive *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates[J]. *J Clin Microbiol*, 2001,39:1353—1359.
- [26] Song Y C, Jin S, Louie H, et al. FlaC, a protein of *Campylobacter jejuni* TGH9011 (ATCC43431) secreted through the flagellar apparatus, binds epithelial cells and influences cell invasion[J]. *Mol Microbiol*, 2004, 53(2):541—553.
- [27] Hu L, McDaniel J P, Kopecko D J. Signal transduction events involved in human epithelial cell invasion by *Campylobacter jejuni* 81-176[J]. *Microb Pathog*, 2006, 40(3):91—100.
- [28] Oelschlaeger T A, Guerry P, Kopecko D J. Unusual microtubule-dependent endocytosis mechanisms triggered by *Campylobacter jejuni* and *Citrobacter freundii*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90:6884—6888.
- [29] Hu L, Kopecko D J. *Campylobacter jejuni* 81-176 associates with microtubules and dynein during invasion of human intestinal cells[J]. *Infect Immun*, 1999,67(8):4171—4182.
- [30] Biswas D, Itoh K, Sasakawa C. Role of microfilaments and microtubules in the invasion of INT-407 cells by *Campylobacter jejuni*[J]. *Microbiol Immunol*, 2003,47(6):469—473.
- [31] Whitehouse C A, Balbo P B, Pesci E C, et al. *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin causes a G2-phase cell cycle block[J]. *Infect Immun*, 1998,66:1934—1960.
- [32] Lee R B, Hassane D C, Cottle D L. Interactions of *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin subunits *cdtA* and *cdtC* with HeLa cells[J]. *Infect Immun*, 2003, 71(9): 4883—4890.
- [33] Chart H, Frost J A, Oza A, et al. Heat-stable serotyping antigens expressed by strains of *Campylobacter jejuni* are probably capsular and not long-chain lipopolysaccharide[J]. *J Appl Bacteriol*, 1996,81:635—640.
- [34] Fry B N, Korolik V, Brinke J A, et al. The lipopolysaccharide biosynthesis locus of *Campylobacter jejuni* 81116[J]. *Microbiol*, 1998,144(8):2049—2061.
- [35] Yuki N, Taki T, Inagaki F, et al. A bacterium lipopolysaccharide that elicits Guillain-Barré syndrome has a GM1 ganglioside structure[J]. *J Exp Med*, 1993, 178: 1771—1775.
- [36] Aspinall G O, Fujimoto S, McDonald A G, et al. Lipopolysaccharides from *Campylobacter jejuni* associated with Guillain-Barré syndrome patients mimic human gangliosides in structure[J]. *Infect Immun*, 1994,62:2122—2125.

(责任编辑:朱明)