

文章编号:1002-2694(2008)11-1074-03

支原体脂质相关膜蛋白的研究进展*

何 军, 吴移谋

中图分类号:R375 文献标识码:A

支原体(*Mycoplasma*)是一类缺乏细胞壁、呈高度多形性、能通过滤菌器、可在无细胞的培养基中生长繁殖的最小原核细胞型微生物。支原体具有基因组小, G+C 含量低, 呈高度多形性, 生物合成及代谢能力有限等特征。然而在无细胞壁保护的支原体膜表面却存在着大量的支原体脂质相关膜蛋白(lipid-associated membrane proteins, LAMPs), 其可能是介导支原体黏附宿主表面、进而入侵宿主细胞以及导致宿主细胞受损和凋亡的物质基础^[1]。因此对支原体 LAMPs 的致病机制的研究已成为当前研究的重点。

1 支原体 LAMPs 的分子生物学特点

支原体的细胞膜是其与胞外环境相互作用的唯一结构。其细胞膜是由脂质双层和膜蛋白组成, 膜蛋白可分为膜本体蛋白和外周膜蛋白两类。膜本体蛋白不同程度地镶嵌在脂质双层之间, 而外周膜蛋白主要通过次级键结合于细胞膜上。两者称为 LAMPs, 也有文献称之为脂蛋白或 TXLP(因其疏水特征存在于 TX-114 提取相中)^[2]。

支原体 LAMPs 相对于细菌的膜蛋白较为丰富, LAMPs 大量的存在可能与浆膜外周间隙的缺乏有关, 其分布多呈不对称性, 且多半为“内向”的, 而其“横向”运动则受膜内脂类物质物理状态的制约。研究表明 LAMPs 的结构与其它细菌的脂蛋白相似, 其蛋白 N 端含有甘油二脂-半胱氨酸结构, 通过甘油二脂的脂肪酸链而锚定于细胞膜上, 绝大部分支原体中半胱氨酸残基未被酰化, 其 NH₂ 以自由末端的形式存在, 而在细菌脂蛋白中, 该氨基常与长链脂肪酸结合, 这可能是其致病机制不同于细菌脂蛋白的原因之一。然而, 对部分支原体中 N-酰胺键和 O-酯键的比例进行分析发现, 支原体中可能也存在着三酰化的脂蛋白^[3], 但其具体活性仍不十分清楚。大量的研究表明, LAMPs 的生物活性不但与其脂质和蛋白部分有关, 并且与其脂肽的信号肽、脂肪酸链的饱和程度和数量, NH₂ 末端的酰化有关, 同时与其框架结构也存在一定的关系^[4-5]。

编码 LAMPs 的基因在支原体基因组中通常呈连续性排列, 不同的支原体因其基因组的大小不同

其 LAMPs 的数量也不同, 尽管目前已预测很多有关支原体 LAMPs 基因, 但尚不清楚是否所有的基因都能够表达^[6]。

2 支原体 LAMPs 的致病机制

LAMPs 的研究较多的支原体为发酵支原体(*M. fermentans*, Mfe)、肺炎支原体(*M. pneumoniae*, Mp)、穿透支原体(*M. penetrans*, Mpe)、生殖支原体(*M. genitalium*, Mg)等。对支原体 LAMPs 相关的研究吸引国内外的关注, 现研究发现, 支原体 LAMPs 主要通过直接致病作用和免疫损伤等机制参与宿主细胞的损伤和凋亡, 但具体机制仍不十分清楚。

2.1 直接致病作用

2.1.1 黏附损伤与细胞毒作用 一些支原体的 LAMPs 能介导支原体黏附到宿主细胞表面, 称之为黏附蛋白。支原体的黏附蛋白包括黏附素和黏附辅助蛋白。如 Mp P1 蛋白和 Mg Pa140 蛋白均为黏附素, 黏附辅助蛋白分为 HMW1~HMW5 五种。通过黏附辅助蛋白与黏附素共同组成黏附蛋白复合体, 直接与宿主细胞膜上相应的受体结合, 并通过影响黏附蛋白的定位而影响其功能。在支原体的致病过程中, 对宿主细胞的黏附被认为是其入侵和引发感染的前提和关键^[7]。许多支原体依靠黏附相关蛋白黏附到相关细胞表面, 可激发某种信号引起特异性细胞骨架蛋白重排, 穿过胞膜, 在胞质中大量复制, 导致宿主细胞受损与死亡。但这些蛋白与黏附致病的关系尚不清楚, 但与细胞分裂、细胞形态学变化、滑行运动、黏附作用有关^[8]。

支原体对细胞的毒性作用很大程度上取决于其 LAMPs, 目前研究较少。Rawadit 等^[9]报道 Mfe 具有细胞毒性, 可以引起 U937 细胞和 IL-60 细胞死亡。有学者发现, LAMPs 能影响淋巴细胞和单核细胞膜的通透性, 从而诱导这些细胞释放 ATP, 后者能与免疫细胞膜上的 P2 嘌呤受体结合, 从而诱

* 国家自然科学基金课题(30770115)和湖南省自然科学基金课题(B2005-089)资助

通讯作者:吴移谋, Email:yimouwu@sina.com

作者单位:南华大学病原生物学研究所, 衡阳 421001

导细胞凋亡和/或坏死^[10]。动物实验表明注射大量Mfe细胞膜成分可引起类似革兰阴性菌内毒素的症状,包括胸腺退化,血清内溶解β-葡萄糖苷酸酶含量的增加,从而引起宿主死亡,这表明与支原体膜上的LAMPs的毒性作用是分不开的。有学者用低渗解体及反复冻融的方法制备的Mp做气管培养毒性试验时发现,支原体膜可引起典型的气管病理现象,如离体仓鼠气管上皮细胞的纤毛活动停滞等,发现毒性是由其类脂成分产生的,其机制可能是因支原体类脂渗入到上皮细胞内,从而引起类脂分子层的紊乱和离子性代谢产物的外溢^[11]。此外支原体细胞膜成分包括LAMPs也能融合至宿主细胞膜中,引起细胞膜上某些受体识别位点发生变化,从而可能干扰细胞间的信号传递或影响细胞因子的产生等。

2.2 免疫损伤机制

2.2.1 TLRs介导的途径 Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)能够识别特定类型微生物的保守分子成分,即病原体相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs),现已证实,TLRs能识别支原体LAMPs,经IL-1R相关信号分子,激活信号通路,NF-κB活性是前期反应,部分调节靠的是MyD88和FADD;细胞凋亡和坏死作为后续反应,是由p38 MAPKs、MyD88和FADD等信号转导通路直接启动细胞凋亡信号^[12]。Into等^[14]首先报道了TLR2能介导LAMPs使淋巴细胞,单核巨噬细胞发生凋亡,发现其中Caspase-8和Caspase-3起重要的调节作用。人类TLR2受体亮氨酸重复序列中第107,112,115残基与LAMPs的识别有关^[14],TLR1,TLR6作为TLR2的辅助受体也选择性地参与了LAMPs的识别,但LAMPs识别TLRs的具体机制仍不清楚。最近研究表明,Mp中含有两个酰化链的支原体脂蛋白类似于F₀F₁-ATP酶,通过TLR1,TLR2,TLR6激活NF-κB,而三酰化的脂蛋白可能依赖TLR1,TLR2激活,并非依赖于TLR6^[15-16]。最近,Buettner-Beckmann等^[17]也研究发现,在对于TLRs的识别方面,脂蛋白和肽链的整个分子结构可能要比所含的酰链的数量重要得多,并且与人工合成的带有相同氨基酸的肽相比较,发现酰化链的多少可能也是TLRs选择性识别的一个限制性因素。

2.2.2 细胞因子途径 可活化巨噬细胞的脂肽MALP-2常作为LAMPs的代表分子得到广泛研究^[18],它和Mfe的MfGL-II一样能激活人类单核细胞和鼠巨噬细胞释放TNF、IL-1、IL-6、前列腺素(PG)和NO,具有重要的免疫活性作用。大量研究

发现支原体LAMPs能诱导多种细胞产生释放多种前炎性细胞因子如TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-10、IL-12,从而诱导细胞凋亡和坏死。进一步对细胞因子TNF-α的产生机制进行研究,发现LAMPs能激活NF-κB和AP-1^[19],这些转录因子使TNF-α mRNA迅速升高而显著增加TNF-α基因表达,而用地塞米松处理,可抑制这些转录因子的活性,使Mφ分泌的TNF-α显著减少,这些结果表明其诱导作用是通过脂类相关分子完成的。

2.3 其它致病机制 Shimizu等^[20]研究表明,Mfe和Mpe的LAMPs能通过TLRs激活NF-κB,并且通过Toll样受体TLR1,TLR2和TLR6激活HIV的长末端重复序列(LTR),与核内HIV复制和转录相关基因的启动子结合,从而增强HIV的复制,并发现对HIV长末端重复序列的激活依赖NF-κB,但其激活HIV转录的具体机制还不清楚。Shibata等^[21]研究也发现,Mfe与唾液支原体(*M. salivarium*)作为新发现的牙周炎的病原体,其膜脂蛋白可引起牙龈纤维母细胞膜结合型细胞间黏附分子-1(Membrane intercellular adhesive molecule-1, mICAM-1)在转录水平上表达增高,使炎症细胞聚集引起炎症损伤,进一步加强感染部位的炎性反应。此外,不同支原体的LAMPs还对一些类固醇受体存在着抑制或刺激作用,这将与宿主的恶性转化有一定的关系^[21]。

3 展望

随着对支原体的认识,LAMPs在感染和致病过程中的作用已越来越受到关注,但LAMPs具体的致病机制仍不十分清楚,而且支原体的种类繁多,LAMPs构成也各不相同,是否存在一种共同的新机制或新途径值得进一步探讨。国内外学者经过多年的努力已从分子水平探讨了LAMPs的部分结构和功能,这将不但有助于阐明支原体LAMPs的致病机制,并且有可能为建立特异性诊断方法和临床治疗相关疾病提供新的药物奠定了基础;另一方面LAMPs及其衍生物可能成为疫苗的候选抗原,而且研究表明MALP-2具有免疫调节及佐剂的作用^[22-23],因此支原体LAMPs有望为支原体相关疾病的预防提供新的研究方向。

参考文献:

- [1] Fleury B, Bergonier D, Berthelot X, et al. Characterization of P40, a cytadhesin of *Mycoplasma agalactiae*(J). Infect Immun, 2002, 70(10):5612-5621.
- [2] Shibata K, Hasebe A, Into T, et al. The N-terminal lipopeptide of a 44 kD membrane-bound lipoprotein of *Mycoplasma salivarium* is responsible for the expression of intercellular adhesion mole-

- cule-1 on the cell surface of normal human gingival fibroblasts [J]. *Immunol*, 2000, 165(11): 6538-6544.
- [3] Rottem S. Interaction of *Mycoplasmas* with host cells[J]. *Physiol Rev*, 2003, 83(2): 417-432.
- [4] Takeuchi O, Kaufmann A, Grote K, et al. Cutting edge: preferentially the R-stereoisomer of the mycoplasmal lipopeptide macrophage-activating lipopeptide-2 activates immune cells through a Toll-like receptor 2- and MyD88-dependent signaling pathway [J]. *Immunol*, 2000, 164(2): 554 - 557.
- [5] You XX, Zeng YH, Wu YM. Interactions between *Mycoplasma* lipid-associated membrane proteins and the host cells[J]. *Zhejiang Univ Sci B*, 2006, 7(5): 342-350.
- [6] Razin S, Yoge D, Naot Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas[J]. *Microbiol Rev*, 1998, 62(4): 1094-1156.
- [7] Chambaud I, Wroblewski H, Blanchard A. Interactions between mycoplasma lipoproteins and the host immune system [J]. *Trends Microbiol*, 1999, 7(12): 493-499.
- [8] Baseman JB, Lange M, Criscimagna NL, et al. Interplay between mycoplasmas and host target cells[J]. *Microb Pathog*, 1995, 19 (2), 105-116.
- [9] Rawadi G, Roman-Roman S, Castedo M, et al. Effects of *Mycoplasma fermentans* on the myelomonocytic lineage different molecular entities with cytokine-inducing and cytoidal potential [J]. *Immunol*, 1996, 156(2): 670-678.
- [10] Into T, Okada K, Inoue N, et al. Extracellular ATP regulates cell death of lymphocytes and monocytes induced by membrane-bound lipoproteins of *Mycoplasma fermentans* and *Mycoplasma salivarium*[J]. *Microbiol Immunol*, 2002, 46(10), 667-675.
- [11] Kannan TR, Baseman JB. ADP-ribosylating and vacuolating cytoxin of *Mycoplasma pneumoniae* represents unique virulence determinant among bacterial pathogens[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(17): 6724-6729.
- [12] You XX, Wu YM, Zeng YH, et al. *Mycoplasma genitalium*-derived lipid-associated membrane proteins induce activation of MAPKs, NF-kappaB and AP-1 in THP-1 cells[J]. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2008, 52(2): 228-236.
- [13] Into T, Nodasaka Y, Hasobe A, et al. *Mycoplasma lipoproteins* induce toll-like receptor 2 and caspases-mediated cell death in lymphocytes and monocytes[J]. *Microbiol Immunol*, 2002, 46 (4), 265-276.
- [14] Fujita M, Into T, Yasud M, et al. Involvement of leucine residues at position 107, 112, and 115 in a leucine-rich repeat motif of human Toll-like receptor 2 in the recognition of diacylated lipoprotein and lipopeptide and staphylococcus aureus peptidoglycans [J]. *Immunol*, 2003, 171(7): 3675-3683.
- [15] Shimizu T, Kida Y, Kuwano K. A dipalmitoylated lipoprotein from *Mycoplasma pneumoniae* activates NF-kappa B through TLR1, TLR2, and TLR6 [J]. *Immunol*, 2005, 175 (7): 4641-4646.
- [16] Shimizu T, Kida Y, Kuwano K. Triacylated lipoproteins derived from *Mycoplasma pneumoniae* activate nuclear factor- κ B through toll-like receptors 1 and 2[J]. *Immunol*, 2007, 121(4): 473-483.
- [17] Buwitt-Beckmann U, Heine H, Wiesmuller KH, et al. Toll-like receptor 6-independent signaling by diacylated lipopeptides[J]. *Eur Immunol*, 2005, 35(1), 282-289.
- [18] Davis KL, Wise KS. Site-specific proteolysis of the MALP-404 lipoprotein determines the release of a soluble selective lipoprotein-associated motif-containing fragment and alteration of the surface phenotype of *Mycoplasma fermentans* [J]. *Infect Immun*, 2002, 70(3): 1129-1135.
- [19] 曾焱华, 吴移谋, 余敏君, 等. 穿透支原体 LAMPs 诱导 NF- κ B 激活介导小鼠巨噬细胞凋亡[J]. 微生物学报, 2008, 48 (3) 355-361.
- [20] Shimizu T, Kida Y, Kuwano K. Lipid-associated membrane proteins of *Mycoplasma fermentans* and *Mycoplasma penetrans* activate human immunodeficiency virus long-terminal repeats through Toll-like receptors [J]. *Immunology*, 2004, 113 (1): 121-129.
- [21] Iyama K, Zhang S, Lo SC. Effects of mycoplasmal LAMPs on receptor responses to steroid hormones in mammalian cells[J]. *Curr Microbiol*, 2001, 43(3): 163-169.
- [22] Rharbaoui F, Drabner B, Borsutzky S, et al. The *Mycoplasma* derived lipopeptide MALP-2 is a potent mucosal adjuvant[J]. *Eur Immunol*, 2002, 32(10), 2857-2865.
- [23] Romero F, Moreno E, Ruiz-Bravo A, et al. In vivoimmunomodulation by *Mycoplasma fermentans* membrane lipoprotein[J]. *Curr Microbiol*, 2004, 48(3): 237-239.

收稿日期:2008-04-01;修回日期:2008-06-25

支原体脂质相关膜蛋白的研究进展

作者: 何军, 吴移谋
作者单位: 南华大学病原生物学研究所, 衡阳, 421001
刊名: 中国人兽共患病学报 [ISTIC PKU]
英文刊名: CHINESE JOURNAL OF ZOONOSES
年, 卷(期): 2008, 24(11)
被引用次数: 3次

参考文献(23条)

1. Fleury B;Bergonier D;Berthelot X Characterization of P40, a cytadhesin of *Mycoplasma agalactiae* [外文期刊] 2002(10)
2. Shibata K;Hasebe A;Into T The N-terminal lipopeptide of a 44 kD membrane-bound lipoprotein of *Mycoplasma salivarium* is responsible for the expression of intercellular adhesion molecule on the cell surface of normal human gingival fibroblasts 2000(11)
3. Rottem S Interaction of Mycoplasmas with host cells [外文期刊] 2003(02)
4. Takeuchi O;Kaufmann A;Grote K Cutting edge:preferentially the R-stereoisomer of the mycoplasmal lipopeptide macrophage-activating lipopeptide-2 activates immune cells through a Toll-like receptor 2-and MyD88-dependent signaling pathway 2000(02)
5. You XX;Zeng YH;Wu YM Interactions between *Mycoplasma* lipid-associated membrane proteins and the host cells [期刊论文]-*Journal of Zhejiang University Science B* 2006(05)
6. Razin S;Yogev D;Naot Y Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas [外文期刊] 1998(04)
7. Chambaud I;Wróblewski H;Blanchard A Interactions between mycoplasma lipoproteins and the host immune system [外文期刊] 1999(12)
8. Baseman JB;Lange M;Criscimagna NL Interplay between mycoplasmas and host target cells [外文期刊] 1995(02)
9. Rawadi G;Roman Roman S;Castedo M Effects of *Mycoplasma fermentans* on the myelomonocytic lineage different molecular entities with cytokine-inducing and cytoidal potential 1996(02)
10. Into T;Okada K;Inoue N Extracellular ATP regulates cell death of lymphocytes and monocytes induced by membrane bound lipoproteins of *Mycoplasma fermentans* and *Mycoplasma salivarium* 2002(10)
11. Kannan TR;Baseman JB ADP-ribosylating and vacuolating cytotoxin of *Mycoplasma pneumoniae* represents unique virulence determinant among bacterial pathogens [外文期刊] 2006(17)
12. You XX;Wu YM;Zeng YH *Mycoplasma genitalium*-derived lipid associated membrane proteins induce activation of MAPKs, NF-kappaB and AP-1 in THP 1 cells 2008(02)
13. Into T;Nodasaka Y;Hasebe A Mycoplasmal lipoproteins induce toll-like receptor 2 and caspases-mediated cell death in lymphocytes and monocytes 2002(04)
14. Fujita M;Into T;Yasud M Involvement of leucine resides at position 107, 112, and 115 in a leucine-rich repeat motif of human Toll-like receptor 2 in the recognition of diacylated lipoprotein and lipopeptide and *staphylococcus aureus* peptidoglycans 2003(07)
15. Shimizu T;Kida Y;Kuwano K A dipalmitoylated lipoprotein from *Mycoplasma pneumoniae* activates NF-kappa B through TLR1, TLR2, and TLR6 2005(07)

16. Shimizu T;Kida Y;Kuwano K Triacylated lipoproteins derived from *Mycoplasma pneumoniae* activate nuclear factor- κ B through toll-like receptors 1 and 2[外文期刊] 2007(04)
17. Buwitt-Beckmann U;Heine H;Wiesmuller KH Toll-like receptor 6-independent signaling by diacylated lipopeptides[外文期刊] 2005(01)
18. Davis KL;Wise KS Site-specific proteolysis of the MALP-404 lipoprotein determines the release of a soluble selective lipoprotein-associated motif-containing fragment and alteration of the surface phenotype of *Mycoplasma fermentans*[外文期刊] 2002(03)
19. 曾焱华;吴移谋;余敏君 穿透支原体LAMPs诱导NF- κ B激活介导小鼠巨噬细胞凋亡[期刊论文]-微生物学报 2008(03)
20. Shimizu T;Kida Y;Kuwano K Lipid associated membrane proteins of *Mycoplasma fermentans* and *Mycoplasma penetrans* activate human immunodeficiency virus long-terminal repeats through Toll-like receptors[外文期刊] 2004(01)
21. Iyama K;Zhang S;Lo SC Effects of mycoplasmal LAMPs on receptor responses to steroid hormones in mammalian cells[外文期刊] 2001(03)
22. Rharbaoui F;Drabner B;Borsutzky S The *Mycoplasma* derived lipopeptide MALP-2 is a potent mucosal adjuvant[外文期刊] 2002(10)
23. Romero F;Moreno E;Ruiz Bravo A In vivoimmunomodulation by *Mycoplasma fermentans* membrane lipoprotein[外文期刊] 2004(03)

本文读者也读过(10条)

1. 刘劫. 吴移谋 支原体基因组学研究进展[期刊论文]-中国人兽共患病学报2006, 22(11)
2. 曾焱华. 吴移谋. 余敏君. 刘劫. 游晓星. 唐双阳. Yanhua Zeng, Yimou Wu, Minjun Yu, Jie Liu, Xiaoxing You, Shuangyang Tang 穿透支原体LAMPs诱导NF- κ B激活介导小鼠巨噬细胞凋亡[期刊论文]-微生物学报2008, 48(3)
3. 邱宏. 吴移谋. 游晓星. 余敏君. 曾焱华. QIU Hong, WU Yi-mou, YOU Xiao-xing, YU Ming-jun, ZENG Yan-hua 生殖支原体脂质相关膜蛋白激活核因子 κ B诱导人单核细胞表达前炎症细胞因子及凋亡[期刊论文]-微生物学报2007, 47(5)
4. 曾焱华. 吴移谋. 余敏君. 朱翠明. 曾铁兵. 刘安元 穿透支原体脂质相关膜蛋白激活核因子 κ B诱导小鼠巨噬细胞表达诱导性一氧化氮合酶[期刊论文]-中华微生物学和免疫学杂志2004, 24(10)
5. 张萍. 陈智 CD81与HCV关系研究进展[期刊论文]-国外医学(病毒学分册) 2002, 9(4)
6. 王冀粤. 牟敦建. 洛森 血小板表面 α -颗粒膜蛋白检测的研究进展[期刊论文]-中国误诊学杂志2002, 2(8)
7. 黄澍杰. 王蓓. 赵季文. HUANG Shu-jie, WANG Bei, ZHAO Ji-wen ELISA法检测江门地区性病门诊患者生殖支原体抗原[期刊论文]-热带医学杂志2007, 7(3)
8. 周洲. 吴移谋. 刘劫. 陈超群. 杨玲. ZHOU Zhou, WU Yi-mou, LIU Jie, CHEN Chao-qun, YANG Ling 肺炎衣原体ompA基因VD2-VD3区重组蛋白在血清学诊断中的初步应用[期刊论文]-微生物学报2007, 47(3)
9. 郁松林. 康喜亮. 王果平. YU Song-lin, KANG Xi-liang, WANG Guo-ping 温度胁迫下果树膜系统变化及其修复机制研究进展[期刊论文]-石河子大学学报(自然科学版) 2005, 23(4)
10. 梁艳. 胡军 多巴胺转运蛋白研究进展[期刊论文]-中国药物滥用防治杂志2003, 9(1)

引证文献(3条)

1. 左玲. 贝鹏剑. 胡国华 盆炎汤对感染解脲脲原体小鼠生殖细胞凋亡的影响[期刊论文]-世界中医药 2012(5)
2. 孙文静. 李媛. 宋志强. 邹晓辉. 刘洋. 陈维. 周玉梅. 张秀英. 辛九庆 牛支原体免疫相关性蛋白硫锌酰胺脱氢酶的筛

选与鉴定[期刊论文]-中国预防兽医学报 2012(10)

3. 何军.游晓星.曾焱华.伍宁.吴移谋 生殖支原体脂质相关膜蛋白经Toll样受体2激活NF- κ B[期刊论文]-中华微生物学和免疫学杂志 2010(12)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgrsghbz200811022.aspx