



## 肠道病原菌 III 型分泌系统效应蛋白调控宿主细胞 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 信号通路的研究进展

朱平<sup>1</sup> 吕均<sup>1</sup> 薛娟<sup>1</sup> 杨瑾<sup>1</sup> 孟昆<sup>1</sup> 李姗<sup>\*1,2,3</sup>

1 十堰市太和医院(湖北医药学院附属医院) 感染与免疫性疾病研究所 湖北 十堰 442000

2 华中农业大学生命科学技术学院 湖北 武汉 430070

3 华中农业大学生物医学中心 湖北 武汉 430070

**摘要:** 病原细菌感染对人类健康构成了严重的威胁, 一类具有 III 型分泌系统(Type III secretion system, T3SS)的肠道致病细菌可以通过 T3SS 将效应蛋白“注射”到宿主细胞中, 模拟和操纵宿主细胞的多种信号转导通路, 包括细胞凋亡、细胞自噬和炎症反应等, 从而有效地逃逸宿主的防御, 增强感染性和致病性。本文综述了肠道病原菌 T3SS 效应蛋白在调控宿主炎症反应中 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 通路的最新研究进展。

**关键词:** III 型分泌系统, 效应蛋白, 炎症反应, NF- $\kappa$ B, MAPK

## Research progress in regulating host NF- $\kappa$ B and MAPK pathways by the type III secretion system (T3SS) effectors of intestinal pathogenic bacteria

ZHU Ping<sup>1</sup> LÜ Jun<sup>1</sup> XUE Juan<sup>1</sup> YANG Jin<sup>1</sup> MENG Kun<sup>1</sup> LI Shan<sup>\*1,2,3</sup>

1 Institute of Infection and Immunity, Taihe Hospital (Hubei University of Medicine), Shiyan, Hubei 442000, China

2 College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China

3 Bio-Medical Center, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China

**Abstract:** Pathogenic bacterial infection poses a serious threat to human health. Intestinal pathogenic bacteria that contain a Type III secretion system (T3SS) can use the T3SS to inject effectors into host cells and manipulate multiple signaling pathways, including apoptosis, autophagy and inflammatory responses pathways, in order to evade host defense system and enhance their infectivity and pathogenicity. Here, we have reviewed the latest research progress in the regulation of host NF- $\kappa$ B and MAPK pathways involved in inflammatory responses by the T3SS effectors of intestinal bacterial pathogens.

**Keywords:** Type III secretion system, Effector, Inflammatory response, NF- $\kappa$ B, MAPK

**Foundation items:** Innovation Team Foundation of Educational Department of Hubei Province (T201713); Youth Foundation of the Department of Science and Technology of Hubei Province (2017CFB379); Program for Precision Medicine of Taihe Hospital of Shiyan City (2016JZ19, 2016JZ22, 2016JZ30)

\*Corresponding author: E-mail: lishan@mail.hzau.edu.cn

**Received:** 19-10-2018; **Accepted:** 26-02-2019; **Published online:** 16-04-2019

**基金项目:** 湖北省教育厅创新团队项目(T201713); 湖北省科技厅青年项目(2017CFB379); 十堰市太和医院精准医学项目(2016JZ19, 2016JZ22, 2016JZ30)

\*通信作者: E-mail: lishan@mail.hzau.edu.cn

**收稿日期:** 2018-10-19; **接受日期:** 2019-02-26; **网络首发日期:** 2019-04-16

病原细菌感染对人类健康构成了严重的威胁,是医学界一直面临的重要课题。一类具有III型分泌系统的肠道致病细菌,如具有YOP系统的耶尔森菌(*Yersinia*)<sup>[1]</sup>、具有Mxi-spa系统的志贺菌(*Shigella*)<sup>[2]</sup>、具有SPI-1和SPI-2系统的沙门菌(*Salmonella*)<sup>[3]</sup>、以及具有LEE和Non-LEE毒力岛编码系统的肠道A/E致病菌等<sup>[4]</sup>,均可以通过T3SS将效应蛋白“注射”到宿主细胞中,模拟和操纵宿主细胞的多种信号转导通路,包括细胞凋亡、细胞自噬和炎症反应等,从而有效地逃逸宿主细胞的防御反应,增强感染性和致病性<sup>[5-6]</sup>。病原菌的感染往往会引起宿主的炎症反应,为了维持在宿主细胞内的生存,病原菌已经进化出精细的途径来破坏宿主的先天性防御。胞外和胞内的模式识别受体(Pattern recognition receptors, PRRs)识别病原体相关分子模式(Pathogen-associated molecular patterns, PAMPs),进而刺激炎症信号级联反应<sup>[7]</sup>。病原菌感染宿主时,宿主会通过一系列的信号转导来激活丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK)以及核转录因子KappaB(Nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)信号通路,从而启动下游抗感染相关基因和炎症因子的转录<sup>[5-6]</sup>。在病原菌与宿主细胞的相互作用过程中,大多数病原菌的效应蛋白都能通过这两条通路来干扰宿主炎症反应。本文就肠致病性大肠杆菌(*Enteropathogenic Escherichia coli*, EPEC)、肠出血性大肠杆菌(*Enterohaemorrhagic E. coli*, EHEC)、鼠类柠檬酸杆菌(*Citrobacter rodentium*)、志贺菌、耶尔森菌和沙门菌的T3SS效应蛋白在调控宿主细胞NF- $\kappa$ B和MAPK信号通路中的作用进行综述。

## 1 T3SS效应蛋白对宿主细胞NF- $\kappa$ B信号通路的影响

NF- $\kappa$ B是真核细胞中重要的转录调节因子,通常以p50-p65异二聚体的形式与其抑制性蛋白I $\kappa$ B(Inhibitor kappaB)结合而呈非活化状态。当细胞受到刺激时,NF- $\kappa$ B的诱导剂通过细胞膜激活胞浆中

的IKK(I $\kappa$ B kinase)使I $\kappa$ B $\alpha$ 发生磷酸化,而磷酸化的I $\kappa$ B被泛素结合酶识别发生快速泛素化,继而迅速被蛋白酶体降解,胞浆中游离的NF- $\kappa$ B被转运至细胞核内,与包括细胞因子和趋化因子在内的靶基因启动子区域NF- $\kappa$ B结合位点相结合,从而启动靶基因转录和表达,进而造成炎症反应。I $\kappa$ B与NF- $\kappa$ B结合可使活化的NF- $\kappa$ B恢复到胞质中的非活性形式,从而抑制其介导的炎症基因转录<sup>[8]</sup>。NF- $\kappa$ B信号通路在宿主抵御病原菌感染的过程中起到了非常重要的作用。宿主细胞利用Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)识别PAMPs,激活NF- $\kappa$ B信号通路,从而启动炎症因子等抗感染基因的转录,拮抗病原菌的感染<sup>[8]</sup>。与此同时,很多病原菌感染宿主时,都会将效应蛋白或者毒素分泌到宿主细胞内来抑制宿主的信号通路,从而利于自身的繁殖和扩散。

EPEC、EHEC和*C. rodentium*属于引起黏附/抹平(Attaching/Effacing)损伤特点的A/E肠道致病菌,它们的T3SS效应蛋白NleE、NleF、NleB、NleC、NleH、Tir、EspL以及EspT可以协同靶向NF- $\kappa$ B信号途径中的不同蛋白。研究发现,A/E致病菌的效应蛋白NleE通过阻断p65转位到细胞核,从而抑制NF- $\kappa$ B激活<sup>[9-11]</sup>。深入研究显示,NleE是一类新的S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosyl-L-methionine, SAM)依赖的甲基转移酶,能够特异性地修饰TAB2/3锌指结构域中一个螯合锌离子的半胱氨酸残基。这一甲基化修饰使得锌指结构域失去锌离子,从而无法结合来自上游的泛素链信号,并最终导致NF- $\kappa$ B信号通路被抑制<sup>[12]</sup>。EPEC感染期间,NleF促进肿瘤坏死因子- $\alpha$ (Tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )刺激引起的NF- $\kappa$ B核转位和IL-8分泌,NleF通过C末端影响IL-8的分泌,但具体机制有待进一步研究<sup>[13]</sup>。NleB也可以阻止NF- $\kappa$ B亚基p65转位到核<sup>[9]</sup>,但与NleE不同的是,A/E致病菌的效应蛋白NleB转移N-乙酰葡萄糖胺(N-acetyl-D-glucosamine, GlcNAc)到TNF受体相关死亡结构域蛋白(TNF receptor-associated death

domain, TRADD)、FAS 相关死亡结构域蛋白 (FAS-associated death domain protein, FADD)和受体相互作用蛋白激酶 1 (Receptor-interacting protein kinase, RIPK1)死亡结构域的精氨酸残基上, 干扰死亡结构域寡聚, 阻止 TNF 死亡受体复合物组装, 抑制 TNF 刺激引起的 NF- $\kappa$ B 激活<sup>[14-16]</sup>, 这种独特的翻译后修饰抑制 NF- $\kappa$ B 介导的下游细胞因子和趋化因子的转录激活。EHEC 和 *C. rodentium* 的 NleB 也可以糖基化修饰 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (Glyceraldehyde-3-phosphate, GAPDH), 从而抑制 TNF 受体相关因子 2 (TNF receptor-associated factor 2, TRAF2)的泛素化激活, 进而抑制 NF- $\kappa$ B 激活, 并且 EHEC 的 NleB1 糖基化修饰 GAPDH 的 R197 和 R200 位点<sup>[16]</sup>。NleC 是一个锌金属蛋白酶, 在 *C. rodentium* 和 EPEC 感染期间, NleC 通过和 p65 的 N 末端 20 个氨基酸相互作用特异性靶向 p65/RelA<sup>[17-18]</sup>, 直接切割 NF- $\kappa$ B 的 p65 亚基, 阻断 NF- $\kappa$ B 激活, 抑制 IL-8 分泌<sup>[19-24]</sup>。A/E 致病菌的效应蛋白 NleH1 和 NleH2 也可以抑制 NF- $\kappa$ B 激活<sup>[25-27]</sup>。NleH1 和 NleH2 结合但不磷酸化核糖体蛋白 S3 (Ribosomal protein S3)。RPS3 是细胞核中 NF- $\kappa$ B 复合物的一部分, 可增强 p65 对 NF- $\kappa$ B 依赖的启动子的结合活性<sup>[28]</sup>。NleH1 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 可以磷酸化 v-Crk 肉瘤病毒 CT10 致癌基因样蛋白(v-Crk sarcoma virus CT10 oncogene-like protein, CRKL), CRKL 和 I $\kappa$ B 激酶  $\beta$  (I $\kappa$ B kinase- $\beta$ , IKK $\beta$ )相互作用导致 NleH1 募集到 IKK $\beta$  复合物<sup>[29]</sup>, 该募集可以抑制 RPS3 和 p65 的核转位, 导致 RPS3 依赖的 NF- $\kappa$ B 激活被抑制<sup>[25,28,30]</sup>。A/E 致病菌的效应蛋白 Tir 通过靶向 TRAF2 来抑制 NF- $\kappa$ B 激活<sup>[31]</sup>, 也可以和宿主细胞酪氨酸磷酸酶 SHP-1 相互作用, 以促进 SHP-1 募集到接头蛋白 TNF 受体相关因子 6 (TNF receptor-associated factor 6, TRAF6)并抑制 TRAF6 的泛素化, 进而抑制炎症因子的产生<sup>[32]</sup>。EspL 是半胱氨酸蛋白酶, 在 EPEC 感染期间, EspL 切割包含同型相互作用基序(Homotypic interaction motifs,

RHIM)的蛋白包括 RIPK1, 而 RIPK1 在 TNF 刺激引起的 NF- $\kappa$ B 激活中发挥作用, 因此 EspL 抑制 NF- $\kappa$ B 激活<sup>[33]</sup>。相反地, 在 EPEC 感染期间, 效应蛋白 EspT 通过激活巨噬细胞中的 NF- $\kappa$ B、ERK1/2 和 JNK 信号通路诱导促炎症因子 COX-2、IL-8 和 IL-1 $\beta$  的表达<sup>[34]</sup>。

越来越多的研究报道了 *Shigella* 影响 NF- $\kappa$ B 通路的 T3SS 效应蛋白, 包括 OspZ、OspG、OspI、OspF、IpgB2、OspB 以及 IpaH。效应蛋白 OspZ 和 OspG 分别是 NleE 和 NleH 的同源物。与 NleE 相似, OspZ 阻断 p65 转位到核<sup>[9]</sup>, 抑制 NF- $\kappa$ B 激活<sup>[9,35]</sup>, 并且通过自身的<sup>49</sup>GITR<sup>52</sup>基序, OspZ 结合并甲基化 TAK1 结合蛋白 3 (TAK1-binding protein 3, TAB3), 抑制 IL-8 产生<sup>[35]</sup>。而 OspG 通过对 E2-E3 泛素化复合物的影响, 抑制泛素依赖的 I $\kappa$ B $\alpha$  蛋白酶体降解和 NF- $\kappa$ B 激活, 抑制炎症反应<sup>[36-37]</sup>, 这与 NleH 相反。OspG 也显示出激酶活性, 具有自磷酸化活性, 这对它的功能是必需的。OspI 选择性脱去泛素结合酶(E2) UBC13 里的谷氨酰胺残基的酰胺基, 以消除它的泛素连接酶活性, 而这对于激活 TRAF6-NF- $\kappa$ B 是必需的<sup>[38]</sup>。OspF 的活性影响表观遗传调节因子的磷酸化状态, 导致染色质上免疫相关基因启动子处的易接近性(Accessibility)降低, 进而降低 NF- $\kappa$ B 结合到启动子上的水平, 从而抑制了宿主免疫应答<sup>[39-40]</sup>。*Shigella* 感染宿主后, 效应蛋白 IpgB2 和 OspB 可以激活 NF- $\kappa$ B, 并且该激活需要鸟苷酸交换因子 H1 (Guanine nucleotide exchange factor-H1, GEF-H1)以 NOD1 和 RhoA 激酶依赖的方式传递信号<sup>[41]</sup>。在 *Shigella* 中发现的 IpaH 晶体结构表明, 它属于新的 E3 泛素连接酶家族, 在抑制先天性免疫应答中发挥作用<sup>[42]</sup>。在上皮细胞中, *Shigella* 的 IpaH0722 通过泛素化 TRAF2 抑制蛋白激酶 C 介导的 NF- $\kappa$ B 激活的抑制, 进而抑制炎症反应<sup>[43]</sup>, *Shigella* 的 IpaH4.5 通过泛素化 NF- $\kappa$ B 的 p65 亚基抑制 NF- $\kappa$ B 的转录活性, 从而下调炎症相关因子的表达<sup>[44]</sup>, IpaH9.8 通过 NEMO/IKK $\gamma$  复合物和

ABIN-1 相互作用, 促进 ABIN-1 依赖的 NEMO 多聚泛素化, 多聚泛素化的 NEMO 经历蛋白酶体依赖的降解, 而 NEMO 对于 NF- $\kappa$ B 激活是必需的, 因此 NF- $\kappa$ B 的激活被抑制<sup>[45]</sup>。由此可见, *Shigella* 的 IpaH 蛋白家族的泛素化酶活性在抑制 NF- $\kappa$ B 激活的过程中发挥了重要作用。

类似地, 小肠结肠炎耶尔森菌 (*Yersinia enterocolitica*) 的效应蛋白 YopE、鼠疫耶尔森菌 (*Y. pestis*) 的 YopP 以及假结核耶尔森菌 (*Y. pseudotuberculosis*) YopJ 均可靶向 NF- $\kappa$ B 通路。*Y. enterocolitica* 的 YopE 抑制 NF- $\kappa$ B 激活, 阻止 IL-8 的产生<sup>[46]</sup>。*Yersinia* 的效应蛋白 YopP 抑制转化生长因子- $\beta$ -激活激酶 (Transforming growth factor- $\beta$ -activated kinase 1, TAK1) 的活性, 而 TAK1 的活性在感染引起的 NF- $\kappa$ B 激活过程中发挥重要作用<sup>[47]</sup>。效应蛋白 YopJ 是一种去泛素化酶, 可以去掉 TRAF2、TRAF6 和 I $\kappa$ B $\alpha$  的泛素基团, 从而抑制 NF- $\kappa$ B 激活<sup>[48]</sup>。YopJ 也可以乙酰化 IKK $\alpha$  和 IKK $\beta$  激活环上的丝氨酸和苏氨酸, 抑制 IKK 复合物的活性, 从而阻止 I $\kappa$ B 的磷酸化, 从而抑制 TNF- $\alpha$  刺激引起的 NF- $\kappa$ B 激活, 抑制炎症信号通路<sup>[49]</sup>。

*Salmonella* 利用众多效应蛋白如 SopB、SipA、SopE、SopE2、AvrA、GogB、SpvD、SspH1、SseL、SseKs 和 PipA 等效应蛋白来抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路。效应蛋白 SopB 通过磷酸化修饰介导 NF- $\kappa$ B 信号通路的激活, 引起宿主细胞的炎症反应<sup>[50]</sup>。效应蛋白 SipA 通过激活核苷酸结合寡聚结构域蛋白 1/2 (Nucleotide-binding oligomerization domain 1/2, NOD1/NOD2) 信号通路激活 NF- $\kappa$ B, 进而引起炎症反应<sup>[51]</sup>。*S. typhimurium* 感染引起的先天性免疫需要 SopE 和 SopE2 激活 Rho 家族 GTP 酶, 进而激活 NF- $\kappa$ B 信号通路<sup>[52]</sup>。SopE 激活 Rac1 和 Cdc42, 引发 Nod1 信号通路和 Rip2 介导的 NF- $\kappa$ B 依赖的炎症反应<sup>[53]</sup>。效应蛋白 AvrA 可使 I $\kappa$ B $\alpha$  和  $\beta$ -catenin 去泛素化, 从而阻止其降解, 导致 NF- $\kappa$ B 信号通路的抑制和  $\beta$ -catenin 通路的活化。抑制 NF- $\kappa$ B 通路下游调控的炎性因子如 IL-6 表达, 可促进

$\beta$ -catenin 通路相关的分子如 c-myc 和 cyclin D1 表达, 而活化的  $\beta$ -catenin 又进一步抑制 NF- $\kappa$ B 通路的活化<sup>[54]</sup>。*S. enterica* serovar Typhimurium 利用细菌效应蛋白 GogB 通过与 Skp1 和 FBXO22 蛋白相互作用, 靶向宿主 SCF E3 泛素连接酶, 干扰 I $\kappa$ B $\alpha$  泛素化来阻止 NF- $\kappa$ B 转位到核, 进而抑制促炎基因的表达<sup>[55]</sup>。效应蛋白 SpvD 可以和宿主 Xpo2 蛋白相互作用来干扰核转运蛋白 KPNA (Karyopherin- $\alpha$ , KPNA or importin- $\alpha$ ) 的核质循环, 而 p65 的核转位需要 KPNA, 因此抑制了 NF- $\kappa$ B 的激活, 最终抑制促炎免疫应答<sup>[56]</sup>。E3 泛素连接酶效应蛋白 SspH1 可以结合并使丝/苏氨酸蛋白激酶 N1 泛素化, 从而抑制 NF- $\kappa$ B 的活性<sup>[31]</sup>。Le Negrate 等的研究表明, 效应蛋白 SseL 具有去泛素化酶活性, 可阻止 I $\kappa$ B $\alpha$  的泛素化降解而抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路<sup>[57]</sup>, 而 Mesquita 等的研究表明 SseL 并没有在下调宿主免疫应答以及参与 NF- $\kappa$ B 通路中发挥作用<sup>[58]</sup>, 可能是两者处理细胞的时间不同、感染的时间不同引起的。SseL 可以结合并去泛素化 RPS3, 进而抑制 RPS3 核转位<sup>[59]</sup>, 而 RPS3 可以通过增加 p65 亚基对靶基因启动子的亲和力而引导 NF- $\kappa$ B 到特定的  $\kappa$ B 位点<sup>[28]</sup>。*S. typhimurium* 的效应蛋白 SseK1、SseK2 和 SseK3 是 EPEC 的 T3SS 效应蛋白 NleB 的同源蛋白<sup>[60]</sup>, 可通过 T3SS 注入到细胞<sup>[61]</sup>。与 NleB 类似<sup>[14-15]</sup>, SseK1 和 SseK3 是 N-乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc) 转移酶, 修饰 TRADD 并抑制 NF- $\kappa$ B 的激活, 而 SseK2 只有在 293ET 细胞中过表达时才能抑制 NF- $\kappa$ B 激活<sup>[61]</sup>, 另一项研究发现 SseK1 糖基化修饰 GAPDH, 而 SseK2 糖基化修饰 FADD<sup>[16]</sup>。最新研究进一步证实了 SseK3 糖基化修饰 TRADD<sup>[62-63]</sup>。*S. typhimurium* 的效应蛋白 PipA、GtgA 和 GogA 组成的蛋白酶家族切割 RelA (p65) 和 RelB NF- $\kappa$ B 转录因子, 从而抑制宿主炎症反应<sup>[64]</sup>。

根据上述分析的肠道病原菌 T3SS 效应蛋白参与并调控 NF- $\kappa$ B 信号通路的最新研究进展并结合参考文献[5-6], 将效应蛋白参与的信号通路总结如图 1 所示。

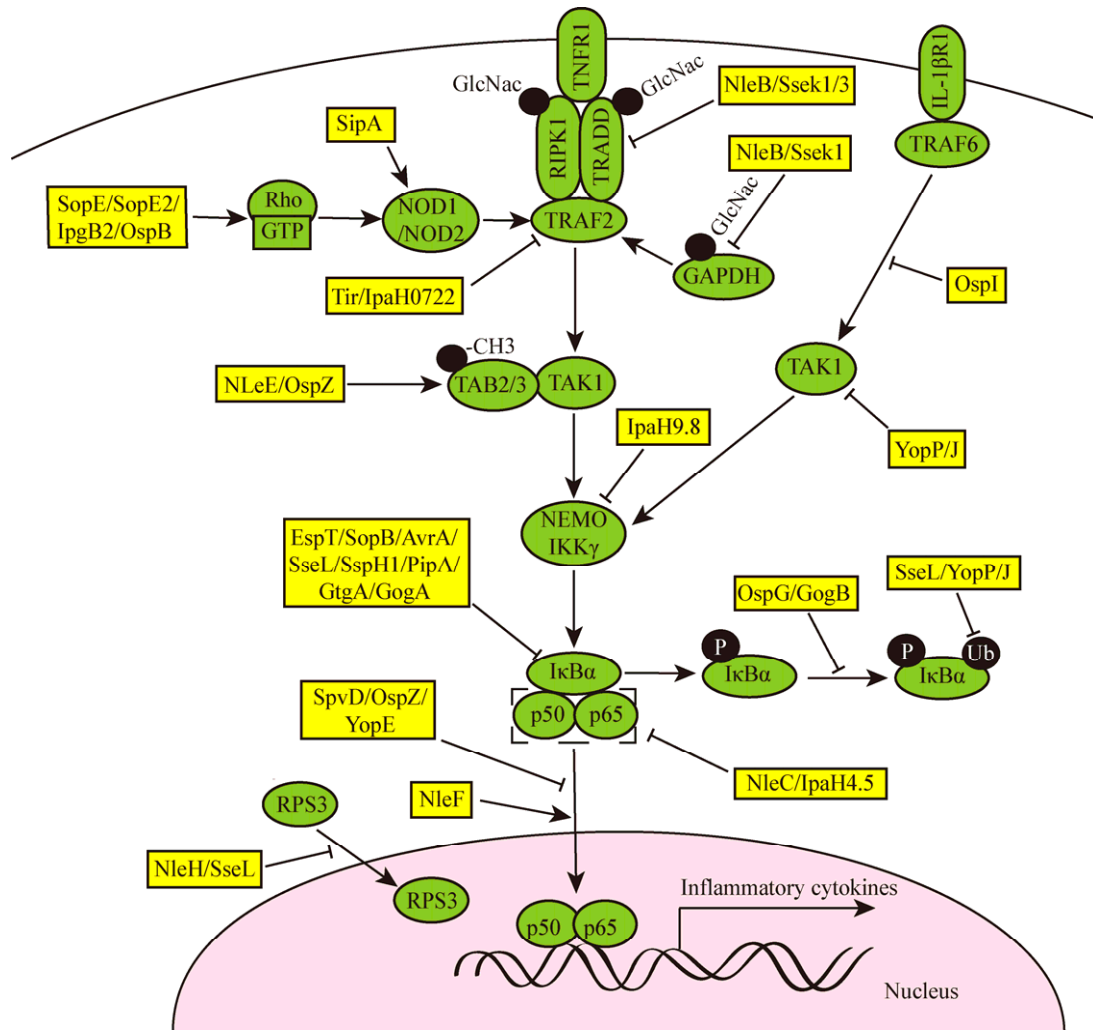


图 1 T3SS 效应蛋白调控宿主细胞 NF-κB 信号通路<sup>[5-6]</sup>

Figure 1 Host NF-κB signaling pathway modulated by T3SS effectors<sup>[5-6]</sup>

注: T3SS 效应蛋白通过靶向 NF-κB 信号通路的不同成分调节 TRAF2/TRAF6-IKK complex-NF-κB 信号通路来应答 TNF-α 和 IL-1β 刺激, 从而影响 NF-κB 核转位, 进而影响炎症因子的表达。黄色方框: 效应蛋白; 绿色椭圆: 靶蛋白; 黑色小圆圈: 修饰。

Notes: T3SS effectors modulate TRAF2/TRAF6-IKK complex-NF-κB pathway by targeting components of the NF-κB signaling cascade in response to TNF-α and IL-1β. Therefore, nuclear translocation of NF-κB was affected, which regulate the expression of inflammatory cytokines. Yellow rectangle: Effectors; Green oval: Target proteins; Small black circle: Modification.

## 2 T3SS 效应蛋白对宿主细胞 MAPK 信号通路的影响

MAPK 是一组能被不同的细胞外刺激激活的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶。MAPK 通路是一种三级激酶模式, 包括 MAPK 激酶激酶(MAP kinase kinase kinase, MKKK)、MAPK 激酶(MAP kinase kinase, MKK)和 MAPK, 这 3 种激酶能依次激活, 共同调节细胞的生长、分化、对环境的应激适应、

炎症反应等多种重要的细胞生理/病理过程。MAPK 包括 p38、JNK 和 ERK, 它们与其他信号通路共同调节炎症基因的表达<sup>[65]</sup>。

EPEC 的效应蛋白 NleD 是一种特异性切割 MAPK 激酶 JNK 和 p38 而非 ERK 的锌依赖的锌金属蛋白酶, 可以阻断 AP-1 转录因子的核转位, 进而下调炎症反应<sup>[19,66]</sup>, 并且 NleD 的 R203 位点对于切割 p38 和抑制 IL-6 产生起关键作用<sup>[66]</sup>。A/E

致病菌的效应蛋白 NleC 可以抑制 p38 磷酸化和 IL-8 分泌, 从而影响炎症反应<sup>[23]</sup>。此外, A/E 致病菌的效应蛋白 Tir 以磷酸化免疫受体酪氨酸相关的抑制基序(Immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs, ITIMs)依赖的方式和宿主细胞包含 SH2 结构域的蛋白酪氨酸磷酸酶 1 (SH2-containing protein tyrosine phosphatase 1, SHP-1)相互作用, 促进 SHP-1 募集到接头蛋白 TRAF6 而抑制 TRAF6 泛素化。Tir 以磷酸化 ITIM 基序依赖的方式抑制 EPEC 感染引起的 TNF 和 IL-6 的表达及 ERK、JNK 和 p38 的激活<sup>[32]</sup>。最新研究发现, 体内外实验中, NleH1 可以抑制 ERK1/2 和 p38 激活, 而体内实验发现 NleH2 可以抑制 p38 激活<sup>[67]</sup>。相反地, *C. rodentium* 和 EPEC 的效应蛋白 EspT 可以通过磷酸化 ERK 和 JNK 而促进 IL-8 和 IL-1 $\beta$  的表达<sup>[34]</sup>。

*Shigella flexneri* 的效应蛋白 IpaH9.8 通过它的泛素连接酶活性靶向酵母的 MAPK Ste7, 促进降解蛋白酶体依赖的 Ste7 来干扰信息素应答信号<sup>[68]</sup>。OspF 具有磷酸苏氨酸裂合酶活性, 可以转位到核, 介导不可逆的脱磷酸化作用而失活 MAPKs, 消除 ERK、JNK 和 p38 激酶的激活<sup>[69]</sup>, 这也抑制了下游组蛋白 H3 在 Ser10 位点的磷酸化作用, 从而导致上皮细胞中的 NF- $\kappa$ B 无法结合位于染色质中 IL-8 的启动子<sup>[39]</sup>。*Shigella flexneri* 的 OspB 介导 ERK1/2 和 p38 激活, 通过激活细胞质磷脂酶 A2 (Cytosolic phospholipase, cPLA2)导致中性粒趋化因子释放的激活, 中性粒细胞募集到感染的地方破坏上皮屏障的稳定, 进而促进 *Shigella* 入侵结肠粘膜<sup>[70]</sup>。

用 *Yersinia* 感染 HeLa 细胞表明, YopE 可以强烈抑制 JNK 和 ERK 激活, 阻止 IL-8 产生, 而 YopT 适度地抑制这些应答<sup>[46]</sup>。YopJ 可以结合 MAPK 激酶家族, 抑制它们的磷酸化和激活<sup>[71]</sup>。

在 AvrA 转基因果蝇和小鼠细胞中, *Salmonella* 的 AvrA 通过乙酰转移酶活性在 MAPK 激酶

MKK4 和 MKK7 水平阻断 JNK 激活, 这与在小鼠肠道中  $\Delta$ avrA 突变株诱导更高水平的 JNK 激活和炎症反应的发现一致<sup>[72]</sup>。随后的进一步研究表明, *S. typhimurium* 感染后激活 ERK 通路, ERK 通路对 AvrA 的磷酸化是必需的, 磷酸化的 AvrA 通过与 MKK7 的相互作用进一步削弱 JNK 途径, 而 p38 或 NF- $\kappa$ B 通路不受影响<sup>[73]</sup>。与 *Shigella* 的 OspF 类似, *Salmonella* 的效应蛋白 SpvC 具有磷酸苏氨酸裂合酶活性, 可以消除 ERK、JNK 和 p38 激酶的激活<sup>[69]</sup>。SpvC 可以激活 ERK 和 JNK, 减少炎症因子的释放<sup>[74-75]</sup>。与此一致, 对 SpvC 最新的动力学研究表明该酶对 MAPK 的活化环(Activation loop)具有特异性<sup>[76]</sup>。

根据上述分析的肠道病原菌 T3SS 效应蛋白参与并调控 MAPK 信号通路的最新研究进展并结合参考文献<sup>[6]</sup>, 将效应蛋白参与的信号通路总结如图 2 所示。

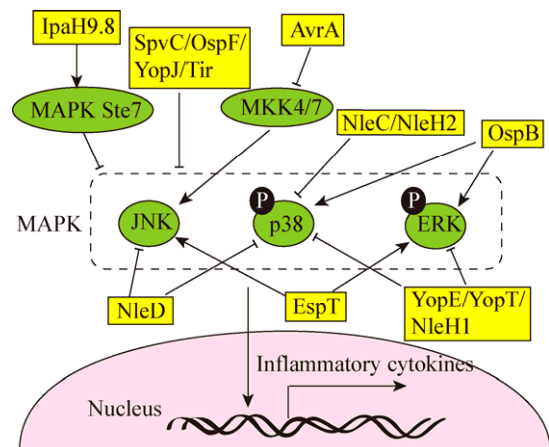


图 2 T3SS 效应蛋白调控宿主细胞 MAPK 信号通路<sup>[6]</sup>  
Figure 2 Host MAPK signaling pathway modulated by T3SS effectors<sup>[6]</sup>

注: T3SS 效应蛋白直接或间接调节 MAPK 的激活, MAPK 包括 JNK、p38 和 ERK, 进而调节炎症因子的表达。黄色方框: 效应蛋白; 绿色椭圆: 靶蛋白; 黑色小圆圈: 修饰。

Notes: T3SS effectors directly or indirectly modulate the activation of MAPK, which include JNK, p38 and ERK. Therefore, the expression of inflammatory cytokines were regulated. Yellow rectangle: Effectors; Green oval: Target proteins; Small black circle: Modification.



### 3 小结与展望

病原菌在与宿主细胞的长期斗争中已进化出多种机制来逃避宿主的监视与防御, 干扰宿主炎症反应, 从而完成入侵并生存增殖的过程。MAPK 和 NF-κB 两条通路都可以将细胞外的信号通过细胞内的激酶级联反应转化为细胞核内相应转录因子的激活, 从而调控下游基因的转录, 对抗病原微生物的感染。鉴于这两条信号通路在抗微生物信号途径中的枢纽作用, 病原菌已经进化出许多机制来影响这些信号通路。不同病原菌的 T3SS 效应蛋白利用相似的途径来抑制炎症反应, 并且同一种病原菌的效应蛋白之间又具有协同作用, 但是不同病原菌的不同效应蛋白又利用了不同的分子机制作用于信号通路的不同节点。本文综述了 T3SS 效应蛋白对宿主细胞炎症反应 MAPK 和 NF-κB 信号通路的影响及相关分子机制的研究进展。研究这些病原体的效应蛋白与宿主反应的关系可以更好地理解它们的致病机理, 从而能够帮助我们找到预防和治疗病原菌感染更基本、更有效的途径。

### REFERENCES

- Cornelis GR, Wolf-Watz H. The *Yersinia* Yop virulon: a bacterial system for subverting eukaryotic cells[J]. *Molecular Microbiology*, 1997, 23(5): 861-867
- Schuch R, Maurelli AT. The mxi-Spa type III secretory pathway of *Shigella flexneri* requires an outer membrane lipoprotein, MxiM, for invasin translocation[J]. *Infection and Immunity*, 1999, 67(4): 1982-1991
- Moest TP, Méresse S. *Salmonella* T3SSs: successful mission of the secret(ion) agents[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2013, 16(1): 38-44
- Wong ARC, Pearson JS, Bright MD, et al. Enteropathogenic and enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: even more subversive elements[J]. *Molecular Microbiology*, 2011, 80(6): 1420-1438
- Raymond B, Young JC, Pallett M, et al. Subversion of trafficking, apoptosis, and innate immunity by type III secretion system effectors[J]. *Trends in Microbiology*, 2013, 21(8): 430-441
- Pinaud L, Sansonetti PJ, Phalipon A. Host cell targeting by enteropathogenic bacteria T3SS effectors[J]. *Trends in Microbiology*, 2018, 26(4): 266-283
- Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation[J]. *Cell*, 2010, 140(6): 805-820
- Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-κB[J]. *Genes & Development*, 2004, 18(18): 2195-2224
- Newton HJ, Pearson JS, Badaea L, et al. The type III effectors NleE and NleB from enteropathogenic *E. coli* and OspZ from *Shigella* block nuclear translocation of NF-κB p65[J]. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(5): e1000898
- Nadler C, Baruch K, Kobi S, et al. The type III secretion effector NleE inhibits NF-κB activation[J]. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(1): e1000743
- Vossenkämper A, Marchès O, Fairclough PD, et al. Inhibition of NF-κB signaling in human dendritic cells by the enteropathogenic *Escherichia coli* effector protein NleE[J]. *The Journal of Immunology*, 2010, 185(7): 4118-4127
- Zhang L, Ding XJ, Cui JX, et al. Cysteine methylation disrupts ubiquitin-chain sensing in NF-κB activation[J]. *Nature*, 2012, 481(7380): 204-208
- Pallett MA, Berger CN, Pearson JS, et al. The type III secretion effector NleF of enteropathogenic *Escherichia coli* activates NF-κB early during infection[J]. *Infection and Immunity*, 2014, 82(11): 4878-4888
- Li S, Zhang L, Yao Q, et al. Pathogen blocks host death receptor signalling by arginine GlcNAcylation of death domains[J]. *Nature*, 2013, 501(7466): 242-246
- Pearson JS, Giogha C, Ong SY, et al. A type III effector antagonizes death receptor signalling during bacterial gut infection[J]. *Nature*, 2013, 501(7466): 247-251
- El Qaidi S, Chen KM, Halim A, et al. NleB/SseK effectors from *Citrobacter rodentium*, *Escherichia coli*, and *Salmonella enterica* display distinct differences in host substrate specificity[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2017, 292(27): 11423-11430
- Hodgson A, Wier EM, Fu K, et al. Metalloprotease NleC suppresses host NF-κB/inflammatory responses by cleaving p65 and interfering with the p65/RPS3 interaction[J]. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(3): e1004705
- Giogha C, Lung TWK, Mühlen S, et al. Substrate recognition by the zinc metalloprotease effector NleC from enteropathogenic *Escherichia coli*[J]. *Cellular Microbiology*, 2015, 17(12): 1766-1778
- Baruch K, Gur-Arie L, Nadler C, et al. Metalloprotease type III effectors that specifically cleave JNK and NF-κB[J]. *The EMBO Journal*, 2011, 30(1): 221-231
- Mühlen S, Ruchaud-Sparagano MH, Kenny B. Proteasome-independent degradation of canonical NFκB complex components by the NleC protein of pathogenic *Escherichia coli*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(7): 5100-5107
- Yen H, Ooka T, Iguchi A, et al. NleC, a type III secretion protease, compromises NF-κB activation by targeting p65/RelA[J]. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(12): e1001231
- Pearson JS, Riedmaier P, Marchès O, et al. A type III effector protease NleC from enteropathogenic *Escherichia coli* targets NF-κB for degradation[J]. *Molecular Microbiology*, 2011, 80(1): 219-230
- Sham HP, Shames SR, Croxen MA, et al. Attaching and effacing bacterial effector NleC suppresses epithelial inflammatory responses by inhibiting NF-κB and p38 mitogen-activated protein kinase activation[J]. *Infection and Immunity*, 2011, 79(9): 3552-3562
- Li WQ, Liu YX, Sheng XL, et al. Structure and mechanism of a type III secretion protease, NleC[J]. *Acta Crystallographica Section D*, 2014, D70: 40-47
- Gao XF, Wan FY, Mateo K, et al. Bacterial effector binding to

- ribosomal protein S3 subverts NF- $\kappa$ B function[J]. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(12): e1000708
- [26] Royan SV, Jones RM, Koutsouris A, et al. Enteropathogenic *E. coli* non-LEE encoded effectors NleH1 and NleH2 attenuate NF- $\kappa$ B activation[J]. *Molecular Microbiology*, 2010, 78(5): 1232-1245
- [27] Grishin AM, Cherney M, Anderson DH, et al. NleH defines a new family of bacterial effector kinases[J]. *Structure*, 2014, 22(2): 250-259
- [28] Wan FY, Anderson DE, Barnitz RA, et al. Ribosomal protein S3: a KH domain subunit in NF- $\kappa$ B complexes that mediates selective gene regulation[J]. *Cell*, 2007, 131(5): 927-939
- [29] Pham TH, Gao XF, Singh G, et al. *Escherichia coli* virulence protein NleH1 interaction with the v-Crk sarcoma virus CT10 oncogene-like protein (CRKL) governs NleH1 inhibition of the ribosomal protein S3 (RPS3)/nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) pathway[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(48): 34567-34574
- [30] Wan FY, Weaver A, Gao XF, et al. IKK $\beta$  phosphorylation regulates RPS3 nuclear translocation and NF- $\kappa$ B function during infection with *Escherichia coli* strain O157:H7[J]. *Nature Immunology*, 2011, 12(4): 335-343
- [31] Ruchaud-Sparagano MH, Mühlen S, Dean P, et al. The enteropathogenic *E. coli* (EPEC) Tir effector inhibits NF- $\kappa$ B activity by targeting TNF $\alpha$  receptor-associated factors[J]. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(12): e1002414
- [32] Yan DP, Wang XY, Luo LJ, et al. Inhibition of TLR signaling by a bacterial protein containing immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs[J]. *Nature Immunology*, 2012, 13(11): 1063-1071
- [33] Pearson JS, Giogha C, Mühlen S, et al. EspL is a bacterial cysteine protease effector that cleaves RHIM proteins to block necroptosis and inflammation[J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2: 16258
- [34] Raymond B, Crepin VF, Collins JW, et al. The WxxxE effector EspT triggers expression of immune mediators in an Erk/JNK and NF- $\kappa$ B-dependent manner[J]. *Cellular Microbiology*, 2011, 13(12): 1881-1893
- [35] Zhang Y, Mühlen S, Oates CV, et al. Identification of a distinct substrate-binding domain in the bacterial cysteine methyltransferase effectors NleE and OspZ[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2016, 291(38): 20149-20162
- [36] Kim DW, Lenzen G, Page AL, et al. The *Shigella flexneri* effector OspG interferes with innate immune responses by targeting ubiquitin-conjugating enzymes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(39): 14046-14051
- [37] Zhou Y, Dong N, Hu LY, et al. The *Shigella* type three secretion system effector OspG directly and specifically binds to host ubiquitin for activation[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57558
- [38] Sanada T, Kim M, Mimuro H, et al. The *Shigella flexneri* effector OspI deamidates UBC13 to dampen the inflammatory response[J]. *Nature*, 2012, 483(7391): 623-626
- [39] Arbibe L, Kim DW, Batsche E, et al. An injected bacterial effector targets chromatin access for transcription factor NF- $\kappa$ B to alter transcription of host genes involved in immune responses[J]. *Nature Immunology*, 2007, 8(1): 47-56
- [40] Harouz H, Rachez C, Meijer BM, et al. *Shigella flexneri* targets the HP1 $\gamma$  subcode through the phosphothreonine lyase OspF[J]. *The EMBO Journal*, 2014, 33(22): 2606-2622
- [41] Fukazawa A, Alonso C, Kurachi K, et al. GEF-H1 mediated control of NOD1 dependent NF- $\kappa$ B activation by *Shigella* effectors[J]. *PLoS Pathogens*, 2008, 4(11): e1000228
- [42] Singer AU, Rohde JR, Lam R, et al. Structure of the *Shigella* T3SS effector IpaH defines a new class of E3 ubiquitin ligases[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2008, 15(12): 1293-1301
- [43] Ashida H, Nakano H, Sasakawa C. *Shigella* IpaH0722 E3 ubiquitin ligase effector targets TRAF2 to inhibit PKC-NF- $\kappa$ B activity in invaded epithelial cells[J]. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(6): e1003409
- [44] Wang F, Jiang Z, Li Y, et al. *Shigella flexneri* T3SS effector IpaH4.5 modulates the host inflammatory response via interaction with NF- $\kappa$ B p65 protein[J]. *Cellular Microbiology*, 2013, 15(3): 474-485
- [45] Ashida H, Kim M, Schmidt-Supprian M, et al. A bacterial E3 ubiquitin ligase IpaH9.8 targets NEMO/IKK $\gamma$  to dampen the host NF- $\kappa$ B-mediated inflammatory response[J]. *Nature Cell Biology*, 2010, 12(1): 66-73
- [46] Viboud GI, Mejía E, Bliska JB. Comparison of YopE and YopT activities in counteracting host signalling responses to *Yersinia pseudotuberculosis* infection[J]. *Cellular Microbiology*, 2006, 8(9): 1504-1515
- [47] Haase R, Richter K, Pfaffinger G, et al. *Yersinia* outer protein P suppresses TGF- $\beta$ -activated kinase-1 activity to impair innate immune signaling in *Yersinia enterocolitica*-infected cells[J]. *The Journal of Immunology*, 2005, 175(12): 8209-8217
- [48] Zhou HL, Monack DM, Kayagaki N, et al. *Yersinia* virulence factor YopJ acts as a deubiquitinase to inhibit NF- $\kappa$ B activation[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2005, 202(10): 1327-1332
- [49] Mittal R, Peak-Chew SY, McMahon HT. Acetylation of MEK2 and I $\kappa$ B kinase (IKK) activation loop residues by YopJ inhibits signaling[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(49): 18574-18579
- [50] Rogers LD, Brown NF, Fang Y, et al. Phosphoproteomic analysis of *Salmonella*-infected cells identifies key kinase regulators and SopB-dependent host phosphorylation events[J]. *Science Signaling*, 2011, 4(191): rs9
- [51] Keestra AM, Winter MG, Klein-Douwel D, et al. A *Salmonella* virulence factor activates the NOD1/NOD2 signaling pathway[J]. *mBio*, 2011, 2(6): e00266-11
- [52] Bruno VM, Hannemann S, Lara-Tejero M, et al. *Salmonella* Typhimurium type III secretion effectors stimulate innate immune responses in cultured epithelial cells[J]. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(8): e1000538
- [53] Keestra AM, Winter MG, Auburger JJ, et al. Manipulation of small Rho GTPases is a pathogen-induced process detected by NOD1[J]. *Nature*, 2013, 496(7444): 233-237
- [54] Ye ZD, Petrof EO, Boone D, et al. *Salmonella* effector AvrA regulation of colonic epithelial cell inflammation by deubiquitination[J]. *The American Journal of Pathology*, 2007, 171(3): 882-892
- [55] Pilar AVC, Reid-Yu SA, Cooper CA, et al. GogB is an anti-inflammatory effector that limits tissue damage during



- Salmonella* infection through interaction with human FBXO22 and Skp1[J]. PLoS Pathogens, 2012, 8(6): e1002773
- [56] Rolhion N, Furniss RCD, Grabe G, et al. Inhibition of nuclear transport of NF- $\kappa$ B p65 by the *Salmonella* type III secretion system effector SpvD[J]. PLoS Pathogens, 2016, 12(5): e1005653
- [57] Le Negrate G, Faustin B, Welsh K, et al. *Salmonella* secreted factor L deubiquitinase of *Salmonella typhimurium* inhibits NF- $\kappa$ B, suppresses I $\kappa$ B $\alpha$  ubiquitination and modulates innate immune responses[J]. The Journal of Immunology, 2008, 180(7): 5045-5056
- [58] Mesquita FS, Holden DW, Rolhion N. Lack of effect of the *Salmonella* deubiquitinase SseL on the NF- $\kappa$ B pathway[J]. PLoS One, 2013, 8(1): e53064
- [59] Wu MM, El Qaidi S, Hardwidge PR. SseL deubiquitinates RPS3 to inhibit its nuclear translocation[J]. Pathogens, 2018, 7(4): 86
- [60] Brown NF, Coombes BK, Bishop JL, et al. *Salmonella* phage ST64B encodes a member of the SseK/NleB effector family[J]. PLoS One, 2011, 6(3): e17824
- [61] Günster RA, Matthews SA, Holden DW, et al. SseK1 and SseK3 type III secretion system effectors inhibit NF- $\kappa$ B signaling and necroptotic cell death in *Salmonella*-infected macrophages[J]. Infection and Immunity, 2017, 85(3): e00010-17
- [62] Esposito D, Günster RA, Martino L, et al. Structural basis for the glycosyltransferase activity of the *Salmonella* effector SseK3[J]. Journal of Biological Chemistry, 2018, 293(14): 5064-5078
- [63] Park JB, Kim YH, Yoo Y, et al. Structural basis for arginine glycosylation of host substrates by bacterial effector proteins[J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 4283
- [64] Sun H, Kamanova J, Lara-Tejero M, et al. A family of *Salmonella* type III secretion effector proteins selectively targets the NF- $\kappa$ B signaling pathway to preserve host homeostasis[J]. PLoS Pathogens, 2016, 12(3): e1005484
- [65] Zhang YL, Dong C. MAP kinases in immune responses[J]. Cellular & Molecular Immunology, 2005, 2(1): 20-27
- [66] Creuzburg K, Giogha C, Wong Fok Lung T, et al. The type III effector NleD from Enteropathogenic *Escherichia coli* differentiates between host substrates p38 and JNK[J]. Infection and Immunity, 2017, 85(2): e00620-16
- [67] Kralicek SE, Nguyen M, Rhee KJ, et al. EPEC NleH1 is significantly more effective in reversing colitis and reducing mortality than NleH2 via differential effects on host signaling pathways[J]. Laboratory Investigation, 2018, 98(4): 477-488
- [68] Rohde JR, Breitkreutz A, Chenal A, et al. Type III secretion effectors of the IpaH family are E3 ubiquitin ligases[J]. Cell Host & Microbe, 2007, 1(1): 77-83
- [69] Li HT, Xu H, Zhou Y, et al. The phosphothreonine lyase activity of a bacterial type III effector family[J]. Science, 2007, 315(5814): 1000-1003
- [70] Ambrosi C, Pompili M, Scribano D, et al. The *Shigella flexneri* OspB effector: an early immunomodulator[J]. International Journal of Medical Microbiology, 2015, 305(1): 75-84
- [71] Orth K, Palmer LE, Bao ZQ, et al. Inhibition of the mitogen-activated protein kinase kinase superfamily by a *Yersinia* effector[J]. Science, 1999, 285(5435): 1920-1923
- [72] Jones RM, Wu HX, Wentworth C, et al. *Salmonella* AvrA coordinates suppression of host immune and apoptotic defenses via JNK pathway blockade[J]. Cell Host & Microbe, 2008, 3(4): 233-244
- [73] Du FY, Galán JE. Selective inhibition of type III secretion activated signaling by the *Salmonella* effector AvrA[J]. PLoS Pathogens, 2009, 5(9): e1000595
- [74] Mazurkiewicz P, Thomas J, Thompson JA, et al. SpvC is a *Salmonella* effector with phosphothreonine lyase activity on host mitogen-activated protein kinases[J]. Molecular Microbiology, 2008, 67(6): 1371-1383
- [75] Haneda T, Ishii Y, Shimizu H, et al. *Salmonella* type III effector SpvC, a phosphothreonine lyase, contributes to reduction in inflammatory response during intestinal phase of infection[J]. Cellular Microbiology, 2012, 14(4): 485-499
- [76] Chambers KA, Abularrage NS, Scheck RA. Selectivity within a family of bacterial phosphothreonine lyases[J]. Biochemistry, 2018, 57(26): 3790-3796