科学通报 2020 年 第 65 卷 第 34 期：3851 ~ 3852
悦读科学
《中国科学》杂志社
SCIENCE CHINA PRESS

预防性抗菌治疗新策略：基于蛋白间相互作用抑制 EPEC 感染

洪婷婷，邱琳，周舒文，崔朋飞，王建浩*，蒋鹏举*

常州大学药学院，常州 213164
* 联系人，E-mail: minuswan@cczu.edu.cn; pengju.jiang@gmail.com

A preventive antibacterial mechanism: Against enteropathogenic *Escherichia coli* by intracellular protein reaction

Tingting Hong, Lin Qiu, Shuwen Zhou, Pengfei Cui, Jianhao Wang* & Pengju Jiang*

School of Pharmaceutical Sciences, Changzhou University, Changzhou 213164, China
* Corresponding authors, E-mail: minuswan@cczu.edu.cn; pengju.jiang@gmail.com

doi: 10.1360/TB-2020-0718

细菌感染对人类生命构成了严重的威胁，1929 年青霉素的发现为人类的抗菌战役提供了强有力的武器[1,2]．随后，科研工作者发现了一系列的抗菌药物．然而，长期大量使用抗生素引发的耐药性问题日益严重，亟需探索基于新型抗菌机制的治疗策略[3~6]．因此，本研究团队与香港中文大学夏江团队和山东大学李永强团队合作提出了通过蛋白之间相互作用而达到抑制相关信号通路传导，最终抑制细菌感染的抗菌新方法，该抗菌机制主要是针对宿主细胞而不是致病菌的预防性抗菌治疗，在 *Proc Natl Acad Sci USA* 上发表了题为“Safeguarding intestine cells against enteropathogenic *Escherichia coli* by intracellular protein reaction, a preventive antibacterial mechanism”的研究论文．

致病性大肠杆菌(enteropathogenic *Escherichia coli*, EPEC)极易引起伴随有发热与呕吐症状的腹泻，现今 EPEC 感染主要是采用抗生素进行治疗，但抗生素的耐药性以及新抗生素的缺乏仍是需要解决的关键问题[7~9]．EPEC 感染的表现为肠黏膜形成特征性的黏附和抹平损伤，其感染主要包括 3 个步骤：首先，细菌吸附于肠道细胞的表面；接着，细菌在细胞内释放 Tir 蛋白；最后，形成肌动蛋白基座，造成损伤，细菌成功感染细胞后引发腹泻[10,11]．EPEC 感染肠道细胞的具体机制为，通过 Tir 蛋白诱导细胞中 Nck 接头蛋白介导的信号传导通路，引起细胞骨架蛋白发生重组，从而造成细胞损伤，引起腹泻等严重的病理变化．

Nck 蛋白包含有 SH2 和 3 个 SH3 结构域，其中第二 SH3 结构域 Nck-SH3.2 能与 WIP 多肽结合[12,13]，对于复合物的形成具有很重要的作用．敲除 Nck-SH3.2 可去除 EPEC 感染时肌动蛋白重组．由于 Nck-SH3.2 介导的蛋白-蛋白相互作用会引发 EPEC 感染，联合研究团队提出可设计相应的多肽序列阻断 Nck-SH3.2 结构域蛋白结合位点，进一步阻断 EPEC 感染通路，防止细胞被 EPEC 感染．

然而，特异性地阻断 Nck-SH3.2 结构域而不影响 SH3 的另两个结构域是充满挑战性的工作，设计高亲和性的 Nck-SH3.2 结构域特异性抑制剂具有较大难度．基于多年在蛋白间相互作用以及多肽抑制剂领域的研究积累，联合研究团队推测，如果可以找到理想的蛋白结合位点，设计一种多肽与接头蛋白 Nck 结合，阻断细胞内信号传导，从而抑制 EPEC 对肠道细胞的黏附和损伤作用，将会成为一种崭新的抗菌策略，能有效地抑制细菌引起的感染，并且使细菌无法产生耐药性．

经过大量的实验筛选，发现 Nck-SH3.2 中的半胱氨酸可以和带有 α-氯乙酰基团的多肽发生共价结合，将有效地抑制细菌蛋白所介导的机体肠道细胞骨架蛋白重组，避免肠道细胞的损伤和肠道的病理变化(图 1)．研究结果表明，所合成的多肽抑制剂 P6 在体外及体内均表现出了强有效的保护作用．一方面，细胞实验证实多肽抑制剂显著抑制了细菌对 Caco-2 细胞的侵染作用；另一方面，小鼠实验进一步验证了多肽抑制剂的体内保护作用．通过提前预防性给药的小鼠，其粪便成固体状，与未感染 EPEC 的小鼠粪便相同，而未给药的小鼠出现了明显的腹泻现象．病理学分析发现，细菌感染导致肠道不同部位出现了炎症反应、细胞凋亡、坏死、细胞增生等病理变化，而多肽抑制剂 P6 预处理下的小鼠，其肠道却没有出现以上变化．以上现象

© 2020《中国科学》杂志社

均说明多肽抑制剂P6可以有效地预防EPEC对小鼠的侵染作用，为进一步的临床试验奠定了坚实的基础.

因此，这一特殊的针对宿主细胞而不是致病菌的预防感染机制为抗菌战役提供了一种全新的策略. 通过蛋白之间的相互作用而达到抑制相关信号通路的传导，最终抑制细菌感染的抗菌新方法对细菌感染的预防和治疗具有重要意义，并且有望为抗生素耐药性问题提供有效的解决方案.

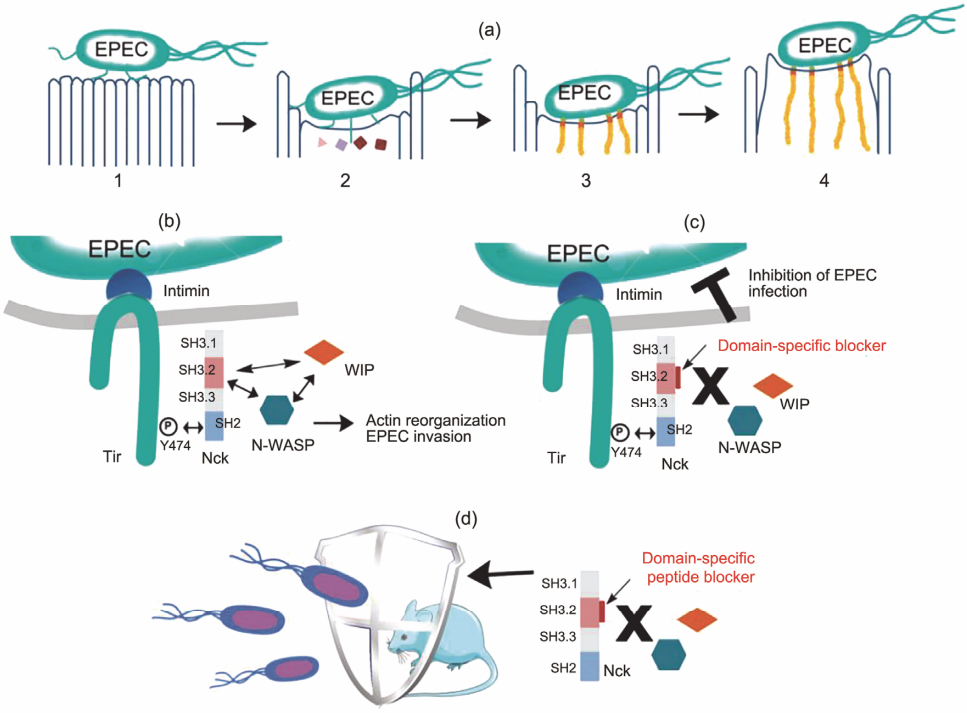

图 1 (网络版彩色)通过特异性阻断 Nck-SH3.2 结构域抑制 EPEC 感染. (a) EPEC 发病机制的四个阶段模型：附着、效应蛋白发送、肌动蛋白重组和基架形成. (b) 从 Tir 到肌动蛋白重组和 EPEC 入侵的 Nck 介导的信号传导的示意图. (c) 抑制 Nck-SH3.2 结构域作为阻止 EPEC 侵入肠细胞的有前途的策略. (d) 通过肠道细胞中 Nck 的位点选择性结构域特异性反应来阻断小鼠腹泻的新的抗菌机制

Figure 1 (Color online) Inhibiting EPEC infection by specific blockage of the Nck-SH3.2 domain (a) The four-stage model of EPEC pathogenesis: Attachment, sending in effector proteins, actin reorganization, and pedestal formation; (b) schematic representation of Nck-mediated signaling from Tir to actin reorganization and EPEC invasion; (c) Inhibition of the Nck-SH3.2 domain as a promising strategy to block EPEC invasion to intestinal cells; (d) A new antibacterial mechanism of blocking mice diarrhea via site-selective domain-specific reaction of Nck in the intestinal cells

推荐阅读文献

1 Fleming A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. Br J Exp Pathol, 1929, 10: 226–236
2 Mohr K I. History of antibiotics research. Curr Top Microbiol Immunol, 2016, 398: 237–272
3 Brown E D, Wright G D. Antibacterial drug discovery in the resistance era. Nature, 2016, 529: 336–343
4 Neu H C. The crisis in antibiotic resistance. Science, 1992, 257: 1064–1073
5 McManus M C. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. Am J Health Syst Pharm, 1997, 54: 1420–1433
6 Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiol Mol Biol Rev, 2010, 74: 417–433
7 Biswas R, Nelson E A, Lewindon P J, et al. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* diarrhea in children in Hong Kong. J Clin Microbiol, 1996, 34: 3233–3234
8 Hoban D J, Bouchillon S K, Hawser S P, et al. Trends in the frequency of multiple drug-resistant Enterobacteriaceae and their susceptibility to ertapenem, imipenem, and other antimicrobial agents: Data from the study for monitoring antimicrobial resistance trends. Diagn Microbiol Infect Dis, 2010, 66: 78–86
9 Oteo J, Pérez-Vázquez M, Campos J. Extended-spectrum β-lactamase producing *Escherichia coli*: Changing epidemiology and clinical impact. Curr Opin Infect Dis, 2010, 23: 320–326
10 Kaper J B, Nataro J P, Mobley H L T. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol, 2004, 2: 123–140
11 Croxen M A, Law R J, Scholz R, et al. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev, 2013, 26: 822–880
12 Gruenheid S, DeVinney R, Bladt F, et al. Enteropathogenic *E. coli* Tir binds Nck to initiate actin pedestal formation in host cells. Nat Cell Biol, 2001, 3: 856–859
13 Donnelly S K, Weisswange I, Zettl M, et al. WIP provides an essential link between Nck and N-WASP during Arp2/3-dependent actin polymerization. Curr Biol, 2013, 23: 999–1006