

沙眼衣原体对宿主细胞抑癌基因 p53 影响的研究进展

任杰 综述, 刘原君, 刘全忠 审校

(天津医科大学总医院皮肤性病科, 天津 300052)

关键词 沙眼衣原体; 抑癌基因; p53; 代谢; 凋亡; 抑制

中图分类号 R730

文献标志码 A

沙眼衣原体(*chlamydia trachomatis*)是专性细胞内寄生的病原体,其具有双相性生长周期,包括宿主细胞外具有感染性的原体(elementary bodies, EB)以及宿主细胞内有代谢活性的网状体(reticulate bodies, RB)。EB 代谢迟钝,可通过附着细胞继而引起感染;RB 生长代谢活跃,依赖宿主的营养供给,包括:核苷酸、氨基酸、脂类以及糖类。衣原体感染细胞后,通过多条途径使宿主细胞产生凋亡抑制,以利于其顺利完成宿主细胞内生长和复制周期。沙眼衣原体感染细胞后,可以促使宿主细胞内的 p53 蛋白在感染早期发生降解,进而抑制宿主细胞凋亡,并解除了 p53 蛋白对磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway, PPP)的抑制。p53 蛋白对于细胞完整性的维持起着无可替代的作用,它可以对整个基因组的稳定性进行调节并对 DNA 损伤做出应答。p53 蛋白的一个重要功能是诱发细胞凋亡和衰老,若细胞发生不可逆的损伤, p53 就会激活相关信号通路,以达到诱导细胞凋亡的目的。沙眼衣原体与肿瘤细胞不同,需要从宿主细胞中获得能量和养分以满足其生长周期的需求。p53 还可以调节细胞代谢,沙眼衣原体通过降低 p53 蛋白的稳定性,使磷酸戊糖代谢途径活性增高,从而为其自身生长提供足够原料^[1]。在人体的大多数肿瘤细胞中, p53 蛋白是没有活性的或因错义突变而丧失了肿瘤抑制功能。正常细胞中 p53 蛋白发挥着无可替代的抑癌作用,沙眼衣原体的生长依赖 p53 蛋白的降解,说明沙眼衣原体感染可能是潜在的致癌因素。本文主要从抑制凋亡和影响代谢两个方面来讨论沙眼衣原体如何与 p53 相互作用、影响宿主细胞生理活动,从而为其自身生长创造一个合适的环境。

1 影响宿主细胞代谢

p53 可以调节细胞代谢^[2],宿主细胞的代谢活动

对沙眼衣原体的生长有着重要意义。正常健康细胞主要依靠线粒体有氧化糖类分子获得能量。沙眼衣原体感染宿主细胞后,可引起宿主细胞产生类似肿瘤细胞中的 Warburg 效应,即像肿瘤细胞一样主要通过葡萄糖无氧酵解为自身供能。沙眼衣原体在宿主细胞内完成生长周期需要消耗大量的 NADPH,这些 NADPH 都是由 PPP 产生^[3],并且同样需要宿主细胞 PPP 产生的核苷酸前体^[4]。因此类似肿瘤细胞环境中的糖酵解和磷酸戊糖途径非常有利于沙眼衣原体的生长^[5]。p53 是肿瘤细胞中糖酵解和磷酸戊糖途径的重要抑制蛋白,抑制 p53 对 Warburg 效应有促进作用。

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)是磷酸戊糖途径的第一个限速酶,抑制 G6PD 可以抑制 PPP。研究发现,宿主细胞内的 G6PD 被抑制后,衣原体就会因为缺乏生长繁殖必要的原料而出现持续无法复制的状态;而过表达 G6PD 可以很有效的弥补 p53 持续稳定表达或加入依托泊苷引起的衣原体生长抑制,这些结果进一步证明 PPP 在衣原体完成正常生长周期这一过程中发挥着重要作用。与自由生长的细菌不同,专性细胞内寄生的细菌依赖宿主细胞的代谢,以获得生长所需要的原料,所以 Siegl 等^[6]推测沙眼衣原体感染降解宿主 p53 蛋白的首要目的并不是为了抑制宿主细胞的凋亡,而是为了解除 p53 对 PPP 的抑制从而为其自身提供更多生存所需的原料。

2 抑制宿主细胞凋亡及相关信号通路

抑制宿主细胞凋亡对沙眼衣原体的生存和复制很重要,被认为是一种重要的免疫逃逸机制,以完成其专性细胞内生长周期。衣原体通过抑制诸多凋亡途径来确保其在宿主细胞内的存活,它可以改变宿主细胞凋亡相关蛋白的位置以及直接干扰宿主细胞凋亡信号。沙眼衣原体感染细胞后,可以与宿主细胞膜上的酪氨酸激酶受体(receptor tyrosine kinases, RTK) EPHA2 (Eph receptor A2)^[6]和 EGFR

基金项目 国家自然科学基金资助项目(31370211)

作者简介 任杰(1987-),女,博士在读,研究方向:皮肤性病科学;通信作者:刘全忠, E-mail: liuquanzhong@medmail.com.cn。

(epidermal growth factor receptor)^[7]结合,激活宿主细胞内 PI3K-AKT 通路,随后泛素连接酶 MDM2 (murine double minute 2) 磷酸化并且被激活,最终导致 p53 蛋白降解。目前认为 PI3K-AKT 通路和沙眼衣原体感染抑制凋亡密切相关,该通路可以调节 MCL1(myeloid cell leukemia-1)蛋白的稳定,并且募集抗凋亡蛋白 BAD (BCL2 associated agonist of cell death)^[8-9]。

EphA2 是跨膜酪氨酸激酶受体,属于酪氨酸激酶受体超家族成员之一。研究发现,EphA2 是介导沙眼衣原体黏附并侵入宿主细胞的关键因素^[6],并且在沙眼衣原体对宿主细胞凋亡抑制的诱导中起到重要作用。沙眼衣原体的感染可以上调 EphA2 的表达,感染激发 ERK 信号通路是 EphA2 上调和激活的必要途径。表达上调的 EphA2 并没有定位至细胞膜表面,而是募集到沙眼衣原体包涵体膜,在包涵体膜 EphA2 与磷酸化的 PI3K 相互作用,激活 PI3K 通路。研究发现,卵巢癌患者若过表达 EphA2 通常预示着临床预后较差并且生存期较短^[10]。

EGFR 是细胞表面重要的酪氨酸激酶受体,在细胞的生长、增殖和迁移中起到重要作用。宿主细胞 EGFR 的表达和磷酸化对沙眼衣原体的生长有着重要意义。沙眼衣原体可以促进 EGFR 的磷酸化,从而也促进了 EGFR 下游蛋白 AKT 等的磷酸化。EGFR 与肌动蛋白共定位在包涵体外周,可能在这里发挥着聚集骨架建立所需信号蛋白的作用^[11]。沙眼衣原体还可以影响 EGFR 蛋白在细胞内的定位,沙眼衣原体感染 EGFR 敲低的宿主细胞后,包涵体在宿主细胞内的生长受阻,形成体积较小、不成熟的包涵体,并且沙眼衣原体引起的宿主细胞内钙转移以及肌动蛋白在包涵体周围的聚集也被抑制。

沙眼衣原体黏附宿主细胞并使宿主细胞膜表面的 EphA2 与 EGFR 蛋白磷酸化,磷酸化的 EphA2 与 EGFR 蛋白激活 PI3K-AKT 通路,活化的 AKT 使 MDM2 蛋白磷酸化,随后磷酸化的 MDM2 绑定并泛素化 p53,泛素化的 p53 蛋白迁移至胞质被蛋白酶体降解^[12]。抑制 p53-MDM2 的相互作用,可以有效影响沙眼衣原体在宿主胞内包涵体的形成,并且可以干扰沙眼衣原体的抗凋亡作用^[13]。对 p53 的持续抑制可能是沙眼衣原体抑制宿主细胞发生凋亡的重要机制,沙眼衣原体借此机制可以持续存在于受感染的宿主细胞中抑制凋亡,以延长受感染细胞的寿命。研究发现,沙眼衣原体同时感染 p53 野生型细胞与 p53-/-细胞,发现前者感染程度更严重,这说明 p53 蛋白是沙眼衣原体与宿主细胞相互作用

的一个关键靶点。在感染早期使用抗肿瘤药物依托泊苷和 Nutlin-3 稳定 p53,可以抑制包涵体的形成,故影响沙眼衣原体生长周期和后代的生成,从而降低了其感染性^[1]。

沙眼衣原体激活 PI3K-AKT 通路后,还可通过 Mcl-1 和 BAD 等多种因子诱导细胞产生凋亡抑制。沙眼衣原体感染引起依赖 MEK 通路的 Mcl-1 mRNA 的上调以及依赖 PI3K 通路的 Mcl-1 蛋白的稳定化^[8]。Mcl-1 蛋白对与髓细胞的分化、淋巴细胞的生存和稳态有极其重要的作用^[14-15]。沙眼衣原体感染细胞后对各种凋亡刺激的凋亡抑制机制中 Mcl-1 蛋白的上调和稳定化起着重要作用。

宿主细胞对凋亡刺激的敏感与沙眼衣原体感染的阶段有关。在感染的初期,宿主细胞对凋亡刺激是足够敏感的,但是在随后的 16~24 h 时,由于宿主凋亡抑制蛋白家族 IAPs (inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)和 Mcl-1 的激活,产生了凋亡抑制。但是在鼠类的细胞中没有发现相关的对 IAPs 和 Mcl-1 的依赖^[16]。差别产生的原因除了种属和细胞类型的不同之外,可能也与感染阶段和包涵体大小有关。有研究表明,Mcl-1 可以调节线粒体外膜的通透性,不稳定的 Mcl-1 可以导致线粒体释放细胞色素 C^[17]。因此,沙眼衣原体的急性或持续性感染中,上调或稳定 Mcl-1 蛋白可以降低宿主细胞线粒体外膜的通透性,从而产生某种程度的凋亡抑制。

在正常细胞中,BAD 蛋白可与线粒体外膜结合,引起细胞色素 C 的释放,从而引发细胞凋亡。沙眼衣原体感染的细胞中 PI3K-AKT 通路被激活,使 BAD 磷酸化,磷酸化的 BAD 蛋白可与胞质中的 14-3-3 蛋白结合。正常细胞中 14-3-3 蛋白存在于胞质中,但在衣原体感染的宿主细胞中 14-3-3 蛋白与沙眼衣原体胞质分泌的 IncG 结合并定位在包涵体膜上,因此磷酸化的 BAD 蛋白也被募集于包涵体膜无法与线粒体结合,从而使宿主细胞产生凋亡抑制^[9]。

3 结语

p53 是重要的肿瘤抑制基因,几乎全部卵巢癌病例 p53 都是功能缺失的,因此推测沙眼衣原体对 p53 蛋白的降解可能会在女性生殖道肿瘤的发生发展中起到重要作用。感染人乳头瘤病毒(HPV)的女性不一定会发展为宫颈浸润癌 (invasive cervical cancer, ICC)^[18],这说明环境影响和基因因素的共同作用才会决定癌症细胞最终的转化。有研究报道,肺炎衣原体或许与肺癌有关联^[19]。沙眼衣原体是人最常见的性传播病原体,所以最有可能是癌症发生和发展的协同因子。一些大规模的队列研究发现,

沙眼衣原体的感染要比其他危险因素增高 ICC 发展的风险^[20-22],因此推测沙眼衣原体可能会参与 HPV 感染的女性鳞状细胞 ICC 的发生和发展过程,但也有一项研究的结果是相反的^[23]。

对宿主细胞 p53 通路的干扰是很多病原菌阻碍宿主细胞对感染引起的细胞毒性的保护性应答,并且可以达到控制细胞代谢的目的。目前,已经有研究表明志贺氏菌、幽门螺杆菌、奈瑟氏菌感染可引起宿主细胞 p53 蛋白的降解;其中幽门螺杆菌、奈瑟氏菌可以导致 DNA 双链损坏(DSB)并激活p53,最后导致宿主细胞死亡^[24]。Chumduri^[25]证明沙眼衣原体在感染的后期也可引起 DSB,降解 p53 蛋白可能是很多病原体避免由感染引起基因毒性的主要途径。另外,与肿瘤细胞不同的是这些胞内病原体需要从宿主细胞获得足够的能量和养分以顺利完成生长周期。弗氏志贺菌与沙眼衣原体相似,通过调节宿主细胞的代谢,以获得充足的营养。P53 蛋白参与磷酸戊糖代谢途径,推测其有可能是病原体生长所依赖的重要宿主蛋白。沙眼衣原体的生长依赖 HDM2-p53 这一通路,说明沙眼衣原体可能有潜在的致癌作用,沙眼衣原体感染引起的 p53 降解可能与女性生殖道肿瘤的发生和发展有关。

沙眼衣原体对宿主细胞有毒性作用但同时又依赖宿主细胞的代谢。p53 通路的研究可以使我们进一步认识沙眼衣原体的致病机制,对疾病的预防及治疗也有重要意义。

参考文献:

- [1] Siegl C, Prusty B K, Karunakaran K, et al. Tumor suppressor p53 alters host cell metabolism to limit Chlamydia trachomatis infection [J]. Cell Rep, 2014,9(3):918
- [2] Vousden K H, Ryan K M. p53 and metabolism[J]. Nat Rev Cancer, 2009,9(10):691
- [3] Prusty B K, Böhme L, Bergmann B, et al. Imbalanced oxidative stress causes chlamydial persistence during non-productive human herpes virus co-infection[J]. PLoS One, 2012,7(10):e47427
- [4] Tipples G, McClarty G. The obligate intracellular bacterium Chlamydia trachomatis is auxotrophic for three of the four ribonucleoside triphosphates[J]. Mol Microbiol, 1993,8(6):1105
- [5] Eisenreich W, Heesemann J, Rudel T, et al. Metabolic host responses to infection by intracellular bacterial pathogens[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2013,3:24
- [6] Subbarayal P, Karunakaran K, Winkler A C, et al. EphrinA2 receptor (EphA2) is an invasion and intracellular signaling receptor for Chlamydia trachomatis[J]. PLoS Pathog, 2015,11(4):e1004846
- [7] Nagata N, Akiyama J, Marusawa H, et al. Enhanced expression of activation-induced cytidine deaminase in human gastric mucosa infected by Helicobacter pylori and its decrease following eradication[J]. J Gastroenterol, 2014,49(3):427
- [8] Rajalingam K, Sharma M, Lohmann C, et al. Mcl-1 is a key regulator of apoptosis resistance in Chlamydia trachomatis-infected cells[J]. PLoS One, 2008,3(9):e3102
- [9] Verbeke P, Welter-Stahl L, Ying S, et al. Recruitment of BAD by the chlamydia trachomatis vacuole correlates with host-cell survival [J]. PLoS Pathog, 2006,2(5):e45
- [10] Lin Y G, Han L Y, Kamat A A, et al. EphA2 overexpression is associated with angiogenesis in ovarian cancer[J]. Cancer, 2007,109(2):332
- [11] Patel A L, Chen X, Wood S T, et al. Activation of epidermal growth factor receptor is required for Chlamydia trachomatis development [J]. BMC Microbiol, 2014,14:277
- [12] Wade M, Li Y C, Wahl G M. MDM2, MDMX and p53 in oncogenesis and cancer therapy[J]. Nat Rev Cancer, 2013,13(2):83
- [13] González E, Rother M, Kerr M C, et al. Chlamydia infection depends on a functional MDM2-p53 axis[J]. Nat Commun, 2014,5:5201
- [14] Opferman J T, Letai A, Beard C, et al. Development and maintenance of B and T lymphocytes requires antiapoptotic MCL-1 [J]. Nature, 2003,426(6967):671
- [15] Opferman J T, Iwasaki H, Ong C C, et al. Obligate role of anti-apoptotic MCL-1 in the survival of hematopoietic stem cells [J]. Science, 2005,307(5712):1101
- [16] Ying S, Christian J G, Paschen S A, et al. Chlamydia trachomatis can protect host cells against apoptosis in the absence of cellular Inhibitor of Apoptosis Proteins and Mcl-1[J]. Microbes Infect, 2008, 10(1):97
- [17] Maurer U, Charvet C, Wagman A S, et al. Glycogen synthase kinase-3 regulates mitochondrial outer membrane permeabilization and apoptosis by destabilization of MCL-1[J]. Mol Cell, 2006,21(6):749
- [18] Stanley M. Pathology and epidemiology of HPV infection in females[J]. Gynecol Oncol, 2010,117(2, 1):S5
- [19] Chaturvedi A K, Gaydos C A, Agreda P, et al. Chlamydia pneumoniae infection and risk for lung cancer[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010,19(6):1498
- [20] Smith J S, Bosetti C, Muñoz N, et al. Chlamydia trachomatis and invasive cervical cancer: a pooled analysis of the IARC multicentric case-control study[J]. Int J Cancer, 2004,111(3):431
- [21] Smith J S, Muñoz N, Herrero R, et al. Evidence for chlamydia trachomatis as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines[J]. J Infect Dis, 2002,185(3):324
- [22] Koskela P, Anttila T, Bjørge T, et al. Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer[J]. Int J Cancer, 2000, 85(1):35
- [23] Safaeian M, Quint K, Schiffman M, et al. Chlamydia trachomatis and risk of prevalent and incident cervical premalignancy in a population-based cohort[J]. J Natl Cancer Inst, 2010,102(23):1794
- [24] Siegl C, Rudel T. Modulation of p53 during bacterial infections[J]. Nat Rev Microbiol, 2015,13(12):741
- [25] Chumduri C, Gurumurthy R K, Zadora P K, et al. Chlamydia infection promotes host DNA damage and proliferation but impairs the DNA damage response[J]. Cell Host Microbe, 2013,13(6):746

(2016-04-24 收稿)