

金黄色葡萄球菌壁磷壁酸致病与免疫的分子机制研究进展

张仁玲^{1,2,3,4,5}, 钟丹^{1,2,3,4,5}, 姚浩^{1,2,3,4,5}, 殷月兰^{1,2,3,4,5}, 焦新安^{*1,2,3,4,5}

1 教育部农业和农产品国际合作联合实验室, 江苏 扬州 225009

2 农业农村部农产品质量安全生物性危害因子(动物源)控制重点实验室, 江苏 扬州 225009

3 江苏省动物重要疫病和人兽共患病防控协同创新中心, 江苏 扬州 225009

4 江苏省人兽共患病重点实验室, 江苏 扬州 225009

5 扬州大学, 江苏 扬州 225009

张仁玲, 钟丹, 姚浩, 殷月兰, 焦新安. 金黄色葡萄球菌壁磷壁酸致病与免疫的分子机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(7): 3159-3169.

ZHANG Renling, ZHONG Dan, YAO Hao, YIN Yuelan, JIAO Xin'an. Role of *Staphylococcus aureus* wall teichoic acids in pathogenicity and host immune response[J]. Microbiology China, 2023, 50(7): 3159-3169.

摘要: 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)壁磷壁酸(wall teichoic acids, WTAs)是多元醇经由磷酸二酯键共价连接组成的细胞壁表面阴离子糖类聚合物, 参与调节细胞壁的稳态并介导细菌毒力。金黄色葡萄球菌 WTAs 与宿主细胞表面特定的受体结合, 可诱导天然免疫和获得性免疫应答。此外, 金黄色葡萄球菌 WTAs 还参与调控毒力基因的表达, 有助于细菌的定殖感染, 在基因工程靶标治疗和噬菌体药物治疗方面具有广泛的应用前景。本文对金黄色葡萄球菌 WTAs 的合成进行了概述, 综述了 WTAs 对宿主免疫应答的调控作用, 以及在细菌对宿主侵袭与定殖中的致病机制, 并归纳 WTAs 的耐药分子机制和作为药物治疗靶标的研究现状。这些研究为揭示 WTAs 的致病与免疫分子机制提供研究思路, 为预防和治疗金黄色葡萄球菌的感染提供新的策略。

关键词: 壁磷壁酸; 金黄色葡萄球菌; 糖基化修饰; 免疫细胞; 免疫调节; 药物靶标

资助项目: 江苏省农业科技自主创新基金[CX(21)1004]; 国家自然科学基金(32161133025); 江苏高校优势学科建设工程项目

This work was supported by the Jiangsu Provincial Agricultural Science and Technology Independent Innovation Funds [CX(21)1004], the National Natural Science Foundation of China (32161133025), and the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions.

*Corresponding author. E-mail: jiao@yzu.edu.cn

Received: 2022-10-11; Accepted: 2022-12-09; Published online: 2023-01-12

Role of *Staphylococcus aureus* wall teichoic acids in pathogenicity and host immune response

ZHANG Renling^{1,2,3,4,5}, ZHONG Dan^{1,2,3,4,5}, YAO Hao^{1,2,3,4,5}, YIN Yuelan^{1,2,3,4,5}, JIAO Xin'an^{*1,2,3,4,5}

1 Joint International Research Laboratory of Agriculture and Agri-product Safety, Ministry of Education, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

2 Key Laboratory of Prevention and Control of Biological Hazard Factors (Animal Origin) for Agrifood Safety and Quality, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

3 Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

4 Jiangsu Key Laboratory of Zoonosis, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

5 Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu, China

Abstract: *Staphylococcus aureus* wall teichoic acids (WTAs) are the anionic glycopolymers containing phosphodiester-linked polyol units and contribute to the cell wall homeostasis, virulence, and pathogenicity of *S. aureus* after glycosylation. As the key targets of receptor binding sites and crucial antigenic epitopes in the host, *S. aureus* WTAs induce not only the secretion of pro-inflammatory cytokines in the innate immune system but also specific antibody response in the adaptive immune system. Furthermore, the WTAs promote *S. aureus* colonization by regulating the expression of virulence genes, thus demonstrating a great prospect as the targets in genetic engineering and phage therapy. We overview the biosynthesis of *S. aureus* WTAs, elaborate on the WTA-induced immunomodulation of host, and introduce the roles of WTAs in the invasion and colonization of *S. aureus*. Further, we summarize the mechanisms of the drug resistance of *S. aureus* WTAs and the research progress in the application of *S. aureus* WTAs as the targets in the development of novel therapies. This review aims to provide reference for deciphering the molecular mechanism of the pathogenicity of *S. aureus* WTAs and the corresponding host responses, as well as the development of preventative and therapeutic approaches against *S. aureus*-mediated diseases.

Keywords: wall teichoic acid; *Staphylococcus aureus*; glycosylation; immune cell; immunomodulation; drug target

细菌细胞壁是细菌存活的重要屏障,保护细菌免受外界环境刺激,并影响细菌的毒力和耐药性。革兰阳性菌的细胞壁由肽聚糖(peptidoglycan, PGN)、磷壁酸(teichoic acid)和细胞壁锚定蛋白(cell wall-associated surface proteins)组成^[1]。其中,磷壁酸作为重要的细胞壁表面阴离子糖类聚合物和关键的毒力因子存在于金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特菌、肺炎链球菌和枯草芽孢杆菌等革兰阳性菌中。磷壁酸包括壁磷壁酸(wall

teichoic acids, WTAs)和脂磷壁酸(lipoteichoic acids, LTAs)。WTAs一般通过共价键锚定在肽聚糖上,而LTAs则通过糖脂锚定至脂膜的糖脂类末端。WTAs参与金黄色葡萄球菌多种生理过程,在该菌细胞分裂、表面理化特性、耐药性及调控宿主免疫应答方面发挥重要作用。

近年来,金黄色葡萄球菌 WTAs 与宿主间的相互作用机制被不断发现并完善,WTAs 成为研究金黄色葡萄球菌宿主免疫调控机制和药物

治疗的重要靶标。本文从金黄色葡萄球菌 WTAs 的结构、糖基化修饰、免疫分子调节和靶向性药物治疗等方面进行阐述, 以期为金黄色葡萄球菌细胞壁表面成分的揭示和相关疾病预防提供参考。

1 金黄色葡萄球菌 WTAs 的结构与糖基化修饰

WTAs 是细胞壁表面的阴离子糖类聚合物, 通过核糖醇或甘油残基与磷酸二酯键共价结合到肽聚糖层, 并向外延伸。WTAs 主链的重复单元一般包括由 *tar* 基因编码的核糖醇磷酸(ribitol-phosphate, RboP)和由 *tag* 基因编码的甘油磷酸(glycerol-phosphate, GroP)构成。金黄色葡萄球菌 WTAs 一般由 RboP 组成线性骨架结构, 继而通过糖基化修饰来增加 WTAs 的结构多样性。金黄色葡萄球菌 WTAs 生物合成直接发生在生物膜上, 在 WTAs 合成酶 TarO 的催化下将 UDP-GlcNAc 的 N-乙酰葡萄糖胺(N-acetylglucosamine, GlcNAc)-1-磷酸转移到十一碳烯基-磷酸脂质载体; WTAs 通过激活 TarA、TarB、TarD 和 TarF 等 WTAs 合成酶来生成其连接单元所需成分, 并在 GlcNAc 的 C-4 羟基加入 N-乙酰甘露糖胺(N-Acetyl-D-mannosamine, ManNAc)和 2 个 GroP 分子来锚定结构; WTAs 连接单元装配完成后, TarJ 酶催化合成 20–40 个核糖醇磷酸重复单元, 并在胞氨酸(cytidine monophosphate, CMP)与 WTAs 聚合酶 TarL 共同作用下组装完成 WTAs 的主链结构^[2]。随后, WTAs 在细胞内启动自身的糖基化修饰, 并在 TarGH ABC 转运蛋白的作用下, 从细胞内运输至细胞表面, 连接到肽聚糖 N-乙酰胞壁酸(N-acetylmuramic acid, MurNAc)的 C-6 原子上。组装完成的 WTAs 具有较强负电荷, 在 D-丙氨酸修饰下中和了部分细胞表面的负电荷, 提高了

对阳离子抗菌肽等胞外抗菌物质的耐药性, 并促进生物膜的形成。值得注意的是, 在环境条件胁迫下, WTAs 的主链结构和主链修饰也会发生适应性改变^[3]。此外, 金黄色葡萄球菌 ST395 由 GroP 组成其 WTAs 主链结构^[4]。

WTAs 的糖基化修饰有助于提高金黄色葡萄球菌对阳离子抗菌肽和抗生素的抵抗力, 从而维持金黄色葡萄球菌细胞稳态, 并影响宿主的免疫应答。目前已知, 参与激活金黄色葡萄球菌 RboP-WTA 糖基化修饰的糖基转移酶有 3 种: TarS、TarM 和 TarP。其中, 糖基转移酶 TarS 和 TarM 较为常见, 催化以 β 构型连接在 RboP 羟基的 N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)修饰。TarS 作为主要糖基转移酶催化 C-4 位的 β -1,4-GlcNAc^[5-6]; TarM 则催化 C-4 位的 α -1,4-GlcNAc^[7]。与上述两种常见糖基转移酶不同, TarP 仅存在于 TarM 缺陷的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(HA-MRSA) CC5 和 CC398 中, 并催化 C-3 位的 β -1,3-GlcNAc^[7]。研究显示, TarP 的特殊催化位点使其成为野生株的优势表达抗原, 并以此逃避宿主免疫防御^[7-8]。此外, 糖基转移酶 TagN 催化激活金黄色葡萄球菌 ST395 的 GroP-WTA 糖基化修饰^[4], 催化 C-2 位的 α -1,2-GalNAc^[4,9]。然而最新发现的金黄色葡萄球菌 ST630 菌株则同时含有糖基转移酶编码基因 *tarM* 和 *tagN*^[10]。因此, 尽管金黄色葡萄球菌的 WTAs 糖基转移酶参与催化不同 WTAs 分子的多个序列 GlcNAc 连接^[6,11], 但不同糖基转移酶及其编码基因间是否存在协同作用机制仍有待阐明。

通过分析同种革兰阳性病原菌中的 WTAs 糖基化修饰, 我们发现高致病性菌株往往具有其特异的糖基化修饰^[12]。然而, 不同种革兰阳性菌如金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特菌和枯草芽孢杆菌等 WTAs 糖基化修饰的缺失均影响了细菌的毒力^[12-13], 揭示了 WTAs 在细菌毒力

调控和致病分子机制中的重要作用。WTAs 的复杂糖基化修饰不仅在金黄色葡萄球菌感染的新疫苗研发和治疗中发挥重要作用,也对革兰阳性菌致病能力的多维度解析提供新的方向。

2 金黄色葡萄球菌 WTAs 的致病及免疫调控机制

WTAs 由于其适应性调节结构、多样性和聚阴离子性质等特性,不仅能够维持金黄色葡萄球菌形态,参与调节细胞壁稳态等生命活动,还在该条件致病菌的定殖、感染和致病过程中发挥重要作用。WTAs 还通过与宿主免疫细胞相关受体的结合,介导由受体激活的上、下游效应,并调控机体免疫反应。

2.1 金黄色葡萄球菌 WTAs 的致病作用

金黄色葡萄球菌是一种重要的条件致病菌,可定殖于人和动物的皮肤、鼻腔和消化道等器官,其中鼻腔是 WTAs 参与金黄色葡萄球菌定殖的主要场所。研究表明,位于 WTAs 骨架的 N-乙酰葡萄糖胺是金黄色葡萄球菌黏附于人鼻上皮细胞的必要条件^[5]。同时,WTAs 也被证实通过与内鼻腔中的 F 型清道夫受体(scavenger receptor class F, member 1, SREC-I)相互作用,促进金黄色葡萄球菌在鼻腔中的大量定殖^[13]。当 WTAs 与 SREC-I 的相互作用被阻断后,金黄色葡萄球菌的鼻腔贮存量 and 定殖能力下降^[13-14];而 WTAs 缺陷型细菌在啮齿动物的鼻腔和胃肠道黏附上皮组织的定殖能力大大减弱,甚至直接失去在鼻腔的定殖能力^[13,15]。研究显示,WTAs 合成酶基因 *tarO/tagO* 在导管诱导的心内膜炎和小鼠眼内炎模型中参与细菌毒力和相关基因表达的上调^[16]。而且 WTAs 合成机制中的焦磷酸酶 LcpB 也参与金黄色葡萄球菌的毒力调节^[17],但表现为 *lcpB* 基因对毒力相关基因表达的下调。

相似地,独特的半乳糖基化修饰 WTAs 也是单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, Lm) XYSN 中超强毒力表型的必要条件;WTAs 作为李斯特菌 XYSN 的重要菌体抗原,在半乳糖基化修饰后能够促进 ActA、Ami 和 InlA 等重要毒力因子在细菌表面的定位和结合;而且 XYSN 独有的 WTAs 半乳糖修饰不仅能够显著增强其在宿主的定殖水平,还促进了细菌对宿主的侵袭致病能力^[12]。但由于金黄色葡萄球菌定殖的调控因素较多且调控方式相对复杂,具体的作用机制仍有待进一步揭示。

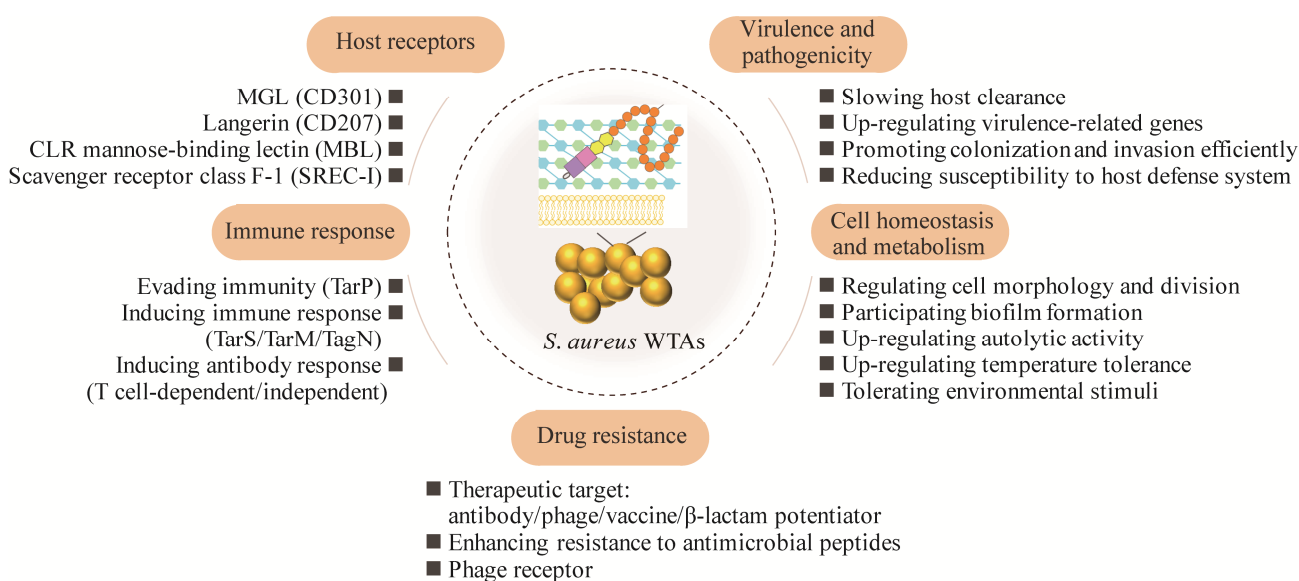
研究证明金黄色葡萄球菌 WTAs 参与病原体和宿主间的多种相互作用,在病原体诱导免疫反应及炎症等方面具有一定影响。金黄色葡萄球菌 WTAs 的重要作用主要归纳为以下方面^[18-21]:调节宿主免疫应答^[7,22-23]、调节细胞稳态和代谢^[17,24]、参与宿主相关受体互作^[20]、调控细菌毒力和致病^[17]和调控细菌耐药等方面(图 1)。

2.2 金黄色葡萄球菌 WTAs 对宿主天然免疫的调节作用

金黄色葡萄球菌 WTAs 在免疫稳态和细胞免疫应答方面具有重要作用^[25-26](图 2)。天然免疫作为宿主免疫防御的第一道防线,在抵抗细菌感染过程中起到关键作用。巨噬细胞、树突状细胞、淋巴细胞等参与宿主的天然免疫,并能够在抗原递呈细胞(antigen-presenting cells, APCs)的特定亚群表面表达,发挥重要作用。同时,WTAs 与巨噬细胞半乳糖型凝集素受体(macrophage galactose-type lectin, MGL) (CD301)及 C 型凝集素受体 langerin (CD207)等受体的相互作用也影响了 APCs 的激活^[25-26]。

2.2.1 朗格汉斯细胞

朗格汉斯细胞(Langerhans cell, LCs)是一种具有树突状细胞样功能、高度特化的巨噬细胞亚群,是表皮内重要的专职抗原递呈细胞^[26]。LCs

图 1 金黄色葡萄球菌壁磷壁酸的作用^[7,17-24]Figure 1 The functions of *Staphylococcus aureus* WTAs^[7,17-24].

表面的特征性受体为 II 型跨膜 C 型凝集素受体 Langerin (即 CD207), 其可特异性识别硫酸化和甘露糖基化聚糖和 β -葡聚糖^[26-27], 由该受体激活的下游效应仍待阐释。最近有研究报道, CD207 与金黄色葡萄球菌的 3 种主要 WTAs 糖型 β -1,3-GlcNAc、 β -1,4-GlcNAc 和 α -1,4-GlcNAc 均产生不同程度的相互作用, CD207 与 β -1,4-GlcNAc 修饰的 WTAs 结合, 从而诱导了 IL-17 的产生, 使得小鼠的皮肤炎症反应增强^[26]。同时, β -1,3-GlcNAc 也可与 CD207 相互作用, 促进炎症因子 IL-8 和 TNF- α 的产生^[8]。而 α -1,4-GlcNAc 与 β -1,4-GlcNAc 同时修饰 WTAs 时, 减弱了 CD207 与 β -1,4-GlcNAc WTAs 的结合, 并抑制 LCs 细胞因子的产生^[26]。因此, LCs 通过 CD207 感知由 β -GlcNAc 修饰的 WTAs, 进而诱发局部免疫反应, 在抵抗金黄色葡萄球菌皮肤侵袭中发挥着重要作用。然而 β -1,4-GlcNAc 修饰的 WTAs 不能被小鼠或牛的 CD207 识别^[26,28], 提示 CD207 与 WTAs 在不同物种间的相互作用存在差异。因此, LCs 诱导金黄色葡萄球菌产生

免疫应答与免疫耐受的机理和相应的免疫应答效力仍有待阐明, LCs 对金黄色葡萄球菌病的易感性机制也需要更深入的探索。

2.2.2 鼻腔上皮细胞

鼻腔定殖是金黄色葡萄球菌侵袭宿主并引发宿主疾病的途径之一^[13], WTAs 作为重要黏附素在鼻腔定殖中发挥关键作用。鼻腔上皮细胞是一种非专职抗原递呈细胞, WTAs 通过与鼻腔上皮细胞的清道夫受体(SREC-I)的直接特异性结合, 促进金黄色葡萄球菌的鼻腔定殖。Baur 等^[13]的研究证明, 当 SREC-I 抗体阻断 WTAs 介导的金黄色葡萄球菌黏附时, 棉鼠模型中的金黄色葡萄球菌早期鼻腔定殖明显减少。WTAs 是一种存在正负电荷间距的电中性两性离子物质, 带负电荷的磷酸二酯和带正电荷的 D-丙氨酸酯修饰赋予了 WTAs 重复单元的两性离子电荷。WTAs 的两性离子性质是与 SREC-I 相互作用的重要因素。已有研究显示, WTAs 上特定的正负电荷间距提供了 WTAs 与 SREC-I 相互作用的必需场所^[13], 有利于金黄色葡萄球菌的定殖感染。

2.2.3 树突状细胞

WTAs 除了与鼻腔上皮细胞等非专职抗原递呈细胞进行免疫相互作用外,也参与朗格汉斯细胞和树突状细胞(dendritic cells, DCs)等专职抗原递呈细胞的免疫应答。金黄色葡萄球菌 ST395 WTAs 独特的 GroP-GalNAc 修饰使其能够逃逸与 LCs 特征性受体 CD207 的相互作用^[25]。相反地,该特异性糖基化修饰能够与巨噬细胞半乳糖型凝集素受体 MGL 发生特异性结合,该受体由人源巨噬细胞、DCs 和人外周血单核细胞来

源的树突状细胞(monocyte dendritic cells, moDCs)表达^[26]。研究表明 GroP-WTA 可以激活 moDCs 并诱导 IL-6 和 IL-12 的产生^[25],提示了 WTAs 的促炎作用。这说明 WTAs 的 GalNAc 修饰不仅通过结合 MGL 来参与金黄色葡萄球菌 ST395 入侵宿主后的早期免疫逃逸,并且介导了宿主对金黄色葡萄球菌 ST395 的早期免疫调控。免疫识别受体对 WTAs 主链结构的特异性检测有利于对病原菌的靶向识别,从而为靶向 WTAs 特异性结构疫苗的制备提供新的方向。

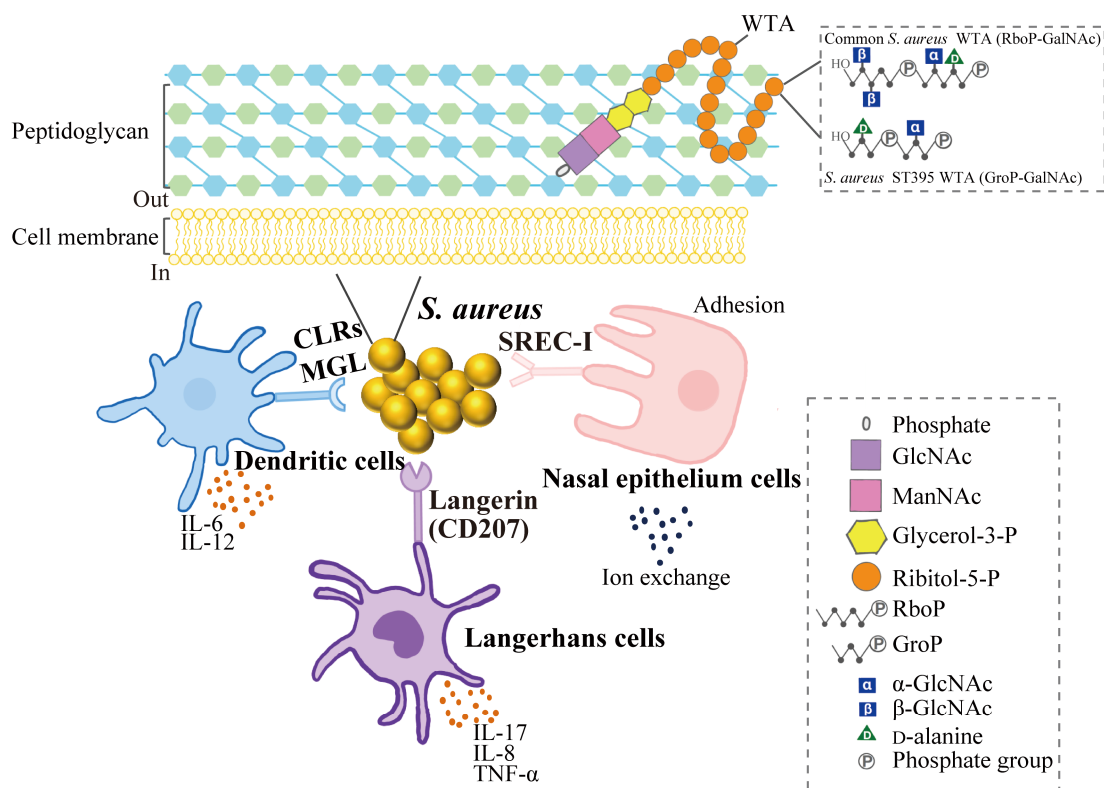


图2 金黄色葡萄球菌壁磷壁酸参与宿主免疫细胞调节示意图^[11-11,25-28]

RboP-WTAs 的糖基化修饰包括连接在主链 3'或 4'端的 β -GlcNAc 或 α -GlcNAc 修饰,以及 D-丙氨酸修饰。此外,本图概述了 WTAs 与不同免疫细胞及其受体的免疫调节作用

Figure 2 Schematic representation of the *Staphylococcus aureus* wall teichoic acids (WTAs) involved in the host immunity^[1-11, 25-28]. Glycosylation of the ribitol backbone occurs at carbon position 3' or 4' with β -GlcNAc or α -GlcNAc, and the ribitol backbone was also modified by D-alanine residues. In addition, overviewing WTAs interacting with the receptors of variant immune cells modulate inflammatory immune responses. GlcNAc: N-acetylglucosamine; ManNAc: N-acetylmannosamine; RboP: Ribitol-phosphate; GroP: Glycerol-phosphate; DCs: Dendritic cells; CLR/MGL: Macrophage galactose-type lectins of C-type lectin receptor family.

2.3 金黄色葡萄球菌 WTAs 对宿主获得性免疫的调节作用

获得性免疫系统是机体防御病原体和疾病侵袭的第 2 道防线, 主要分为体液免疫和细胞免疫。金黄色葡萄球菌 WTAs 一般作为抗原表位参与调节宿主体液免疫, 诱导特异性抗体的产生。

研究显示, 抗 WTAs 抗体通过诱导补体系统的激活和中性粒细胞的吞噬作用来抵抗金黄色葡萄球菌的感染, 但这种补体激活则需要存在于人血清中的甘露糖凝集素(mannose-binding lectin, MBL)和抗体来介导^[29]。由于缺少 GlcNAc 转移酶的遗传信息, 直到 2013 年, 金黄色葡萄球菌 WTAs 的 GlcNAc 残基才被证实作为血清中 IgG 和 MBL 的抗原表位参与诱导特异性抗体的产生; MBL 可以识别金黄色葡萄球菌 WTAs 的 α -或 β -GlcNAc 残基, 增强中性粒细胞的吞噬能力^[30]。IgG 则主要与 MBL 竞争性识别金黄色葡萄球菌 WTAs 的 β -GlcNAc 残基并诱导吞噬细胞的产生^[30-31]。健康个体血清中针对金黄色葡萄球菌 WTAs 的抗体大多数与 β -1,4-GlcNAc 反应, 其次是 β -1,3-GlcNAc, 只有少量抗体与 α -1,4-GlcNAc 反应^[22,30]。产生这种差异的原因仍有待进一步研究。随着 WTAs 化学合成的发展, 针对不同 WTAs 结构和 GlcNAc 修饰的特异性抗体识别也有利于深入认识 WTAs 与抗体之间的互作关系。WTAs 中不同构型的 GlcNAc 修饰对抗体特异性的产生, 主要由 WTAs 骨架中的磷酸二酯和抗体的外周碱性残基之间的相互作用引发^[32-33]。然而以上研究均基于不含 D-丙氨酸残基的 WTAs 表位, 而且 D-丙氨酸残基的不稳定性使得很难探究其在抗体介导的表位识别中的作用。最近, D-丙氨酰载体蛋白连接酶 DltA 晶体结构的解析, 对在分子水平揭示 D-丙氨酸催化中心的细节具有重要意义^[34]。但这种

相互作用在原子水平上的发生过程仍有待进一步的实验发现。

研究显示, 金黄色葡萄球菌 WTAs 参与诱导 T 细胞依赖性和非 T 细胞依赖性的特异性抗体反应, 并由 APC 提呈给 T 细胞; 基于 WTAs 的两性离子性质, 金黄色葡萄球菌 WTAs 能够与 MHC-II 分子结合, 特异性激活并诱导 CD4+T 细胞的增殖; 纯化后的 WTAs 通过皮下注射后, 能够在体外激活 CD4+T 细胞, 诱导并调节小鼠皮肤感染模型形成皮肤脓肿^[35]。由于皮肤和软组织感染是常见的金黄色葡萄球菌感染类型, 了解对 T 细胞依赖的宿主脓肿形成过程, 有助于开发对抗金黄色葡萄球菌的皮肤和软组织感染的新策略。而人体血液中的 WTAs 记忆 T 细胞的发现, 则进一步证明了 WTAs 与诱导特异性 T 细胞的活化相关^[36]。但 WTAs 提呈至 T 细胞的具体机制仍有待进一步阐明。

3 金黄色葡萄球菌 WTAs 的耐药分子机制

WTAs 作为 β -内酰胺增强剂参与抗生素靶向性治疗, 在细菌对抗生素的耐药中发挥重要作用。抑制 WTAs 合成后, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌对 β -内酰胺的敏感性恢复^[37]。但 β -内酰胺介导的细胞壁压力所引发的 WTAs 的过表达, 也导致了抗生素的空间位阻^[38], 表明 β -内酰胺类耐药表型可能由 WTAs 直接介导。

尽管持续开发新型抗生素是目前治疗细菌感染的主要方法, 但抗生素靶标仍存在高细胞毒性^[37]、低宿主活性^[39]、低特异性^[40]和广泛抗生素耐药性等不足。为此, 抗毒力靶标的概念被提出, 而且经评估后具有降低选择压力、扩大靶标谱系和保存宿主微生物组等优势。抗毒力靶标通过靶向性突变目的菌株, 使其失去毒力因子来获得抗药性。毒力靶向型药物的研发将抗菌策略从

靶向细菌生存必需因子转变为靶向细菌的致病因子,为开发新型抗毒力分子药物提供重要支持。研究显示,新型抑制剂化合物 1835F03 和其二代类似物鞣鞣,可以通过抑制 WTAs 合成过程中 TarABC 转运蛋白的跨膜成分 TarG 来阻断 WTA 聚合物的跨膜运输和表达,从而优化抗菌靶向^[41]。表明金黄色葡萄球菌 WTAs 生物合成通路上的关键酶是潜在的重要抗毒力靶标,而且利用上述药物靶标来筛选出的新型抗菌分子对金黄色葡萄球菌感染的治疗具有重要意义。除了基于功能筛选和结构指导的 WTAs 抑制剂,也可以通过基因工程的方法利用基因编辑工具改变特定基因的耐药性,以开发分子抗毒力靶标药物。在 CRISPR-dCas9 在被靶向性锚定至 WTAs 合成酶基因 *tarO*、*tarG* 和 *tarH* 后,当金黄色葡萄球菌处于进行新陈代谢过程的细胞环境中时对溶葡萄球菌酶敏感^[42]。表明基因工程靶标疗法在治疗病因复杂性疾病或严重的细菌感染等方面具有一定可行性。

由于大部分抗生素靶标主要靶向 WTAs 的合成过程,所以选择靶向糖基转移酶或差向异构酶^[43]等下游因子对提高 WTAs 作为分子药物靶标的优势也具有重要意义。血清型 4 h 李斯特菌 WTAs 半乳糖基修饰相关基因缺失后,导致对抗菌肽 LL-37 和 CRAMP 的敏感性降低^[12],但 WTAs 下游因子高特异性抑制剂的相关研究仍处于相对初始阶段^[44]。由于感染金黄色葡萄球菌的噬菌体能够与 WTAs 主链的重复单元结构 GroP 和 RboP 特异性结合,噬菌体在金黄色葡萄球菌新型分子药物靶标中具有广泛的应用前景。缺乏糖基化修饰的枯草芽孢杆菌和糖基转移酶修饰位点改变的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌^[7]对噬菌体具有一定抗性。因此,WTAs 的特异性糖基化修饰能够作为较好的噬菌体药物靶标治疗金黄色葡萄球菌感染^[45],其中肌尾噬菌体最

有前景^[46-47]。同时,RboP-WTAs 在表皮葡萄球菌中的存在,帮助表皮葡萄球菌通过吞噬噬菌体与金黄色葡萄球菌交换 DNA,为甲氧西林耐药性、毒力和定殖因子的种间交换增加了新的可能性^[48]。表明靶向 WTAs 的噬菌体在作为高特异性抗菌剂外,也可以成为潜在的抗毒剂。

4 展望

WTAs 是金黄色葡萄球菌细胞壁的重要组成部分,参与宿主的免疫应答作用和分子调节机制。金黄色葡萄球菌 WTAs 不仅能够促进细菌在宿主体内的定殖感染,在药物治疗方面也具有重要作用。尽管目前金黄色葡萄球菌 WTAs 的合成过程与催化机理已逐步揭示,但其生物结构的动态改变、生物合成的结构异质化及与细胞间的作用通路仍亟待解析。然而,系统生物学技术的发展有助于确定 WTAs 在宿主体内的互作位点,也促进了对金黄色葡萄球菌 WTAs 与宿主免疫机制的相关探究。同时,WTAs 在枯草芽孢杆菌、单核细胞增生李斯特菌和肺炎链球菌等革兰阳性细菌中存在相似的互作方式,有助于深入研究金黄色葡萄球菌在宿主的定殖和感染途径,为预防金黄色葡萄球菌感染和相关疾病的治疗提供新方法。由于 WTAs 的靶向性药物治疗如噬菌体治疗和基因工程治疗的效果有限,也可以通过特定的 WTA 聚合物分子模拟 WTAs 发生过程的特异性变化,更好地了解 WTAs 与病原菌及宿主的相互作用,从而为治疗和预防相关疾病提供新的依据。

REFERENCES

- [1] SUMRALL ET, SCHEFER CRE, RISMONDO J, SCHNEIDER SR, BOULOS S, GRÜNDLING A, LOESSNER MJ, SHEN Y. Galactosylated wall teichoic acid, but not lipoteichoic acid, retains InlB on the surface of serovar 4b *Listeria monocytogenes*[J]. Molecular

- Microbiology, 2020, 113(3): 638-649.
- [2] WEIDENMAIER C, LEE JC. Structure and function of surface polysaccharides of *Staphylococcus aureus*[J]. Current Topics in Microbiology and Immunology, 2017, 409: 57-93.
- [3] MINNIG K, LAZAREVIC V, SOLDI B, MAUËL C. Analysis of teichoic acid biosynthesis regulation reveals that the extracytoplasmic function sigma factor σ^M is induced by phosphate depletion in *Bacillus subtilis* W23[J]. Microbiology (Reading, England), 2005, 151(Pt 9): 3041-3049.
- [4] WINSTEL V, SANCHEZ-CARBALLO P, HOLST O, XIA GQ, PESCHEL A. Biosynthesis of the unique wall teichoic acid of *Staphylococcus aureus* lineage ST395[J]. mBio, 2014, 5(2): e00869.
- [5] WINSTEL V, KÜHNER P, SALOMON F, LARSEN J, SKOV R, HOFFMANN W, PESCHEL A, WEIDENMAIER C. Wall teichoic acid glycosylation governs *Staphylococcus aureus* nasal colonization[J]. mBio, 2015, 6(4): e00632.
- [6] SOBHANIFAR S, WORRALL LJ, KING DT, WASNEY GA, BAUMANN L, GALE RT, NOSELLA M, BROWN ED, WITHERS SG, STRYNADKA NCJ. Structure and mechanism of *Staphylococcus aureus* TarS, the wall teichoic acid β -glycosyltransferase involved in methicillin resistance[J]. PLoS Pathogens, 2016, 12(12): e1006067.
- [7] GERLACH D, GUO YL, de CASTRO C, KIM SH, SCHLATTERER K, XU FF, PEREIRA C, SEEBERGER PH, ALI S, CODÉE J, SIRISARN W, SCHULTE B, WOLZ C, LARSEN J, MOLINARO A, LEE BL, XIA GQ, STEHLE T, PESCHEL A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* alters cell wall glycosylation to evade immunity[J]. Nature, 2018, 563(7733): 705-709.
- [8] HENDRIKS A, van DALEN R, ALI S, GERLACH D, van der MAREL GA, FUCHSBERGER FF, AERTS PC, de HAAS CJC, PESCHEL A, RADEMACHER C, van STRIJP JAG, CODÉE JDC, van SORGE NM. Impact of glycan linkage to *Staphylococcus aureus* wall teichoic acid on langerin recognition and langerhans cell activation[J]. ACS Infectious Diseases, 2021, 7(3): 624-635.
- [9] WINSTEL V, LIANG CG, SANCHEZ-CARBALLO P, STEGLICH M, MUNAR M, BRÖKER BM, PENADÉS JR, NÜBEL U, HOLST O, DANDEKAR T, PESCHEL A, XIA GQ. Wall teichoic acid structure governs horizontal gene transfer between major bacterial pathogens[J]. Nature Communications, 2013, 4: 2345.
- [10] XIONG MY, CHEN LJ, ZHAO J, XIAO X, ZHOU JY, FANG F, LI XW, PAN YB, LI YR. Genomic analysis of the unusual *Staphylococcus aureus* ST630 isolates harboring WTA glycosyltransferase genes *tarM* and *tagN*[J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(1): e0150121.
- [11] YAKOVLEV L, WALVOORT MTC. Processivity in bacterial glycosyltransferases[J]. ACS Chemical Biology, 2020, 15(1): 3-16.
- [12] YIN YL, YAO H, DOIJAD S, KONG SW, SHEN Y, CAI XX, TAN WJ, WANG YT, FENG YW, LING ZT, WANG GL, HU YC, LIAN K, SUN XY, LIU YL, WANG CB, JIAO KH, LIU GP, SONG RL, CHEN X, et al. A hybrid sub-lineage of *Listeria monocytogenes* comprising hypervirulent isolates[J]. Nature Communications, 2019, 10: 4283.
- [13] BAUR S, RAUTENBERG M, FAULSTICH M, GRAU T, SEVERIN Y, UNGER C, HOFFMANN WH, RUDEL T, AUTENRIETH IB, WEIDENMAIER C. A nasal epithelial receptor for *Staphylococcus aureus* WTA governs adhesion to epithelial cells and modulates nasal colonization[J]. PLoS Pathogens, 2014, 10(5): e1004089.
- [14] SCHADE J, WEIDENMAIER C. Cell wall glycopolymers of Firmicutes and their role as nonprotein adhesins[J]. FEBS Letters, 2016, 590(21): 3758-3771.
- [15] MISAWA Y, KELLEY KA, WANG XG, WANG LH, PARK WB, BIRTEL J, SASLOWSKY D, LEE JC. *Staphylococcus aureus* colonization of the mouse gastrointestinal tract is modulated by wall teichoic acid, capsule, and surface proteins[J]. PLoS Pathogens, 2015, 11(7): e1005061.
- [16] SUZUKI T, CAMPBELL J, SWOBODA JG, WALKER S, GILMORE MS. Role of wall teichoic acids in *Staphylococcus aureus* endophthalmitis[J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2011, 52(6): 3187-3192.
- [17] PAN T, GUAN J, LI YJ, SUN BL. LcpB is a pyrophosphatase responsible for wall teichoic acid synthesis and virulence in *Staphylococcus aureus* clinical isolate ST59[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 788500.
- [18] van der ES D, HOGENDORF WFJ, OVERKLEEF HS, van der MAREL GA, CODÉE JDC. Teichoic acids: synthesis and applications[J]. Chemical Society Reviews, 2017, 46(5): 1464-1482.
- [19] KEINHÖRSTER D, GEORGE SE, WEIDENMAIER C, WOLZ C. Function and regulation of *Staphylococcus aureus* wall teichoic acids and capsular polysaccharides[J]. International Journal of Medical

- Microbiology: IJMM, 2019, 309(6): 151333.
- [20] van DALEN R, PESCHEL A, van SORGE NM. Wall teichoic acid in *Staphylococcus aureus* host interaction[J]. Trends in Microbiology, 2020, 28(12): 985-998.
- [21] WU X, HAN J, GONG GL, KOFFAS MAG, ZHA J. Wall teichoic acids: physiology and applications[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2021, 45(4): fuaa064.
- [22] van DALEN R, MOLENDIJK MM, ALI S, van KESSEL KPM, AERTS P, van STRIJP JAG, de HAAS CJC, CODÉE J, van SORGE NM. Do not discard *Staphylococcus aureus* WTA as a vaccine antigen[J]. Nature, 2019, 572(7767): E1-E2.
- [23] GERLACH D, GUO YL, STEHLE T, PESCHEL A. Reply to: do not discard *Staphylococcus aureus* WTA as a vaccine antigen[J]. Nature, 2019, 572(7767): E3-E4.
- [24] RAJAGOPAL M, WALKER S. Envelope structures of gram-positive bacteria[J]. Current Topics in Microbiology and Immunology, 2017, 404: 1-44.
- [25] MNICH ME, van DALEN R, GERLACH D, HENDRIKS A, XIA GQ, PESCHEL A, van STRIJP JAG, van SORGE NM. The C-type lectin receptor MGL senses N-acetylgalactosamine on the unique *Staphylococcus aureus* ST395 wall teichoic acid[J]. Cellular Microbiology, 2019, 21(10): e13072.
- [26] van DALEN R, de la CRUZ DIAZ JS, RUMPRET M, FUCHSBERGER FF, van TEIJLINGEN NH, HANSKE J, RADEMACHER C, GEIJTENBEEK TBH, van STRIJP JAG, WEIDENMAIER C, PESCHEL A, KAPLAN DH, van SORGE NM. Langerhans cells sense *Staphylococcus aureus* wall teichoic acid through langerin to induce inflammatory responses[J]. mBio, 2019, 10(3): e00330-e00319.
- [27] NG WC, LONDRIGAN SL, NASR N, CUNNINGHAM AL, TURVILLE S, BROOKS AG, READING PC. The C-type lectin langerin functions as a receptor for attachment and infectious entry of influenza A virus[J]. Journal of Virology, 2015, 90(1): 206-221.
- [28] JÉGOUZO SAF, NELSON C, HARDWICK T, WONG STA, LAU NKK, NEOH GKE, CASTELLANOS-RUEDA R, HUANG ZY, MIGNOT B, HIRDARAMANI A, HOWITT A, FREWIN K, SHEN Z, FOX RJ, WONG R, ANDO M, EMONY L, ZHU H, HOLDER A, WERLING D, et al. Mammalian lectin arrays for screening host-microbe interactions[J]. Journal of Biological Chemistry, 2020, 295(14): 4541-4555.
- [29] KUROKAWA K. The staphylococcal surface-glycopolymer wall teichoic acid (WTA) is crucial for complement activation and immunological defense against *Staphylococcus aureus* infection[J]. Immunobiology, 2016, 221(10): 1091-1101.
- [30] KUROKAWA K, JUNG DJ, AN JH, FUCHS K, JEON YJ, KIM NH, LI XH, TATEISHI K, PARK JA, XIA GQ, MATSUSHITA M, TAKAHASHI K, PARK HJ, PESCHEL A, LEE BL. Glycoepitopes of staphylococcal wall teichoic acid govern complement-mediated opsonophagocytosis via human serum antibody and mannose-binding lectin[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2013, 288(43): 30956-30968.
- [31] LEE JH, KIM NH, WINSTEL V, KUROKAWA K, LARSEN J, AN JH, KHAN A, SEONG MY, LEE MJ, ANDERSEN PS, PESCHEL A, LEE BL. Surface glycopolymers are crucial for *in vitro* anti-wall teichoic acid IgG-mediated complement activation and opsonophagocytosis of *Staphylococcus aureus*[J]. Infection and Immunity, 2015, 83(11): 4247-4255.
- [32] FONG R, KAJIHARA K, CHEN M, HOTZEL I, MARIATHASAN S, HAZENBOS WLW, LUPARDUS PJ. Structural investigation of human *S. aureus*-targeting antibodies that bind wall teichoic acid[J]. mAbs, 2018, 10(7): 979-991.
- [33] LEHAR SM, PILLOW T, XU M, STABEN L, KAJIHARA KK, VANDLEN R, DEPALATIS L, RAAB H, HAZENBOS WL, HIROSHI MORISAKI J, KIM J, PARK S, DARWISH M, LEE BC, HERNANDEZ H, LOYET KM, LUPARDUS P, FONG R, YAN DH, CHALOUNI C, et al. Novel antibody-antibiotic conjugate eliminates intracellular *S. aureus*[J]. Nature, 2015, 527(7578): 323-328.
- [34] LEE IG, SONG CM, YANG S, JEON H, PARK J, YOON HJ, IM H, KANG SM, EUN HJ, LEE BJ. Structural and functional analysis of the D-alanyl carrier protein ligase DltA from *Staphylococcus aureus* Mu50[J]. Acta Crystallographica Section D, 2022, 78(4): 424-434.
- [35] WEIDENMAIER C, McLOUGHLIN RM, LEE JC. The zwitterionic cell wall teichoic acid of *Staphylococcus aureus* provokes skin abscesses in mice by a novel CD4+ T-cell-dependent mechanism[J]. PLoS One, 2010, 5(10): e13227.
- [36] KOLATA JB, KÜHBANDNER I, LINK C, NORMANN N, VU CH, STEIL L, WEIDENMAIER C, BRÖKER BM. The fall of a dogma? Unexpected high T-cell memory response to *Staphylococcus aureus* in humans[J]. The Journal of Infectious Diseases, 2015, 212(5): 830-838.
- [37] CAMPBELL J, SINGH AK, SANTA MARIA JP Jr,

- KIM Y, BROWN S, SWOBODA JG, MYLONAKIS E, WILKINSON BJ, WALKER S. Synthetic lethal compound combinations reveal a fundamental connection between wall teichoic acid and peptidoglycan biosyntheses in *Staphylococcus aureus*[J]. ACS Chemical Biology, 2011, 6(1): 106-116.
- [38] BERTSCHE U, YANG SJ, KUEHNER D, WANNER S, MISHRA NN, ROTH T, NEGA M, SCHNEIDER A, MAYER C, GRAU T, BAYER AS, WEIDENMAIER C. Increased cell wall teichoic acid production and D-alanylation are common phenotypes among daptomycin-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clinical isolates[J]. PLoS One, 2013, 8(6): e67398.
- [39] WEIDENMAIER C, KOKAI-KUN JF, KRISTIAN SA, CHANTURIYA T, KALBACHER H, GROSS M, NICHOLSON G, NEUMEISTER B, MOND JJ, PESCHEL A. Role of teichoic acids in *Staphylococcus aureus* nasal colonization, a major risk factor in nosocomial infections[J]. Nature Medicine, 2004, 10(3): 243-245.
- [40] MAY JJ, FINKING R, WIEGESHOFF F, WEBER TT, BANDUR N, KOERT U, MARAHIEL MA. Inhibition of the D-alanine: D-alanyl carrier protein ligase from *Bacillus subtilis* increases the bacterium's susceptibility to antibiotics that target the cell wall[J]. The FEBS Journal, 2005, 272(12): 2993-3003.
- [41] LEE K, CAMPBELL J, SWOBODA JG, CUNY GD, WALKER S. Development of improved inhibitors of wall teichoic acid biosynthesis with potent activity against *Staphylococcus aureus*[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2010, 20(5): 1767-1770.
- [42] WU X, ZHA J, KOFFAS MAG, DORDICK JS. Reducing *Staphylococcus aureus* resistance to lysostaphin using CRISPR-dCas9[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2019, 116(12): 3149-3159.
- [43] HORT M, BERTSCHE U, NOZINOVIC S, DIETRICH A, SCHRÖTTER AS, MILDENBERGER L, AXTMANN K, BERSCHIED A, BIERBAUM G. The role of β -glycosylated wall teichoic acids in the reduction of vancomycin susceptibility in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*[J]. Microbiology Spectrum, 2021, 9(2): e0052821.
- [44] KUENEMANN MA, SPEARS PA, ORNDORFF PE, FOURCHES D. In silico predicted glucose-1-phosphate uridylyltransferase (GalU) inhibitors block a key pathway required for *Listeria* virulence[J]. Molecular Informatics, 2018, 37(6/7): 1800004.
- [45] ORNDORFF PE. Use of bacteriophage to target bacterial surface structures required for virulence: a systematic search for antibiotic alternatives[J]. Current Genetics, 2016, 62(4): 753-757.
- [46] LEHMAN SM, MEARNES G, RANKIN D, COLE RA, SMREKAR F, BRANSTON SD, MORALES S. Design and preclinical development of a phage product for the treatment of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* infections[J]. Viruses, 2019, 11(1): 88.
- [47] AZAM AH, TANJI Y. Peculiarities of *Staphylococcus aureus* phages and their possible application in phage therapy[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(11): 4279-4289.
- [48] DU X, LARSEN J, LI M, WALTER A, SLAVETINSKY C, BOTH A, SANCHEZ CARBALLO PM, STEGGER M, LEHMANN E, LIU Y, LIU JL, SLAVETINSKY J, DUDA KA, KRISMER B, HEILBRONNER S, WEIDENMAIER C, MAYER C, ROHDE H, WINSTEL V, PESCHEL A. *Staphylococcus epidermidis* clones express *Staphylococcus aureus*-type wall teichoic acid to shift from a commensal to pathogen lifestyle[J]. Nature Microbiology, 2021, 6(6): 757-768.