



细菌铁离子摄取系统与宿主免疫

刘芳彤 樊浩楠 沈立新 李博*

西北大学生命科学学院 西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室 陕西 西安 710069

摘要: 铁是绝大多数细菌生存所必需的营养物质, 参与了许多重要的生命过程。病原菌为了在宿主体内生长繁殖建立感染, 进化出了多种从宿主体内摄取铁元素的机制。但过量的铁也会通过 Fenton 反应对细胞产生毒性, 所以铁的摄取必须受到严格的调控。宿主为抵抗感染采取多种手段限制病原菌对于自身铁的利用, 同时铁摄取系统也可以作为抗菌治疗的靶点。

关键词: 铁, 铁离子转运, 宿主免疫

Iron acquisition by bacterial and adaptive immune responses

LIU Fang-Tong FAN Hao-Nan SHEN Li-Xin LI Bo*

Key Laboratory of Resources Biology and Biotechnology in Western China, Ministry of Education, College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an, Shaanxi 710069, China

Abstract: Iron is an essential nutrient for the survival of most bacteria and participates in many important life processes. Pathogens have evolved multiple mechanisms to acquire iron from the infected host. However, excess iron will produce cytotoxicity via the Fenton reaction; thus, iron concentration must be strictly regulated. In order to limit infection, the host has evolved a variety of strategies to restrict iron availability to invading microbes. Targeting microbial iron acquisition systems is therefore a promising antibacterial therapy strategy.

Keywords: Iron, Iron transportation, Host immune

绝大多数细菌在生长繁殖过程都需要铁、锰、锌等过渡金属元素^[1]。这些金属元素在金属蛋白的合成、折叠构象的稳定及许多生理生化反应中发挥重要作用^[2]。其中, 铁离子参与了包括电子传递、呼吸作用、DNA 合成、三羧酸循环等诸多重要的生物学过程^[3]。

铁在生理条件下主要以还原型的 Fe²⁺和氧化型

的 Fe³⁺两种形式存在, 还原型与氧化型可以相互转换, 这种性质使它适合于作为一种生物催化剂或电子载体参与生命活动。对于宿主来说, 有效控制细菌对自身铁の利用是抗菌的关键。对于细菌来说, 为满足自身的代谢和繁殖, 必须打破宿主对于铁元素的限制, 获得铁元素。因此, 了解细菌中铁摄取和铁稳态的调节机制及其与免疫的关系对控制细

Foundation items: Key Research and Development Program of Shaanxi Province (2018ZDXM-SF-004); Undergraduate Innovation Program of Northwest University (2018303)

*Corresponding author: Tel: 86-29-88302142; E-mail: libo@nwu.edu.cn

Received: 19-01-2019; Accepted: 02-04-2019; Published online: 22-04-2019

基金项目: 陕西省重点研发计划(2018ZDXM-SF-004); 西北大学校级大学生创新训练计划(2018303)

*通信作者: Tel: 029-88302142; E-mail: libo@nwu.edu.cn

收稿日期: 2019-01-19; 接受日期: 2019-04-02; 网络首发日期: 2019-04-22

菌的感染十分重要。

1 铁在细菌中的重要作用

首先,铁与一些关键机制相关,如细胞呼吸、三羧酸循环、核糖体组装及再循环、抗氧化应激和DNA合成及损伤修复等^[4]。如大肠杆菌(*Escherichia coli*)中的 SoxR 蛋白,在细胞内以二聚体的形式存在,每个单体含有一个[2Fe-2S]中心,是感知氧化胁迫的分子开关,在感受到氧化刺激后可以激活一系列抗氧化基因的表达^[5]。本课题组对铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PAO1)铁离子转运系统的研究表明,铁离子转运复合体 fpvWXYZCDEF 在 PAO1 的抗氧化应激中起重要作用。fpvWXYZCDEF 的失活导致 PAO1 对 H₂O₂ 的敏感性明显增加,同时导致 PAO1 细胞膜结构发生改变^[6]。

其次,铁是许多代谢酶类活性中心所必需的金属元素辅基,包括细胞色素氧化酶、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶^[7]等。末端氧化酶是呼吸链的重要组成部分,大多数末端氧化酶有一个 Fe-Cu 双金属活性位点,能够将氧气还原成水^[8]。

此外,铁与病原菌的毒力、生物膜的形成等密切相关。在肠道沙门氏菌(*Salmonella enterica*)中,铁离子的浓度与其III型分泌系统(T3SS)的表达密切相关,该菌的入侵主要是在 T3SS 的介导下完成^[9]。在类鼻疽伯克氏菌(*Burkholderia pseudomallei*)中,摄取铁主要依赖于 *pvdA* 基因编码的鸟氨酸-N5-加氧酶和 *orbA* 基因编码的外膜受体,*pvdA* 和 *orbA* 基因是类鼻疽伯克氏菌毒力的必需基因^[10]。大肠杆菌中 *fyuA* 基因的表达量与铁离子浓度成正相关^[11],*fyuA* 基因与大肠杆菌生物膜的形成和细菌毒性有关^[12]。在空肠弯曲杆菌(*Campylobacter jejuni*)中,Fe²⁺和 Fe³⁺可以提高生物膜中总活性氧的含量,通过氧化应激刺激其生物膜的形成。同时 Fe²⁺和 Fe³⁺均显著提高空肠弯曲杆菌细胞外多糖的产量^[13]。

尽管铁对于细菌的生长繁殖至关重要,但过量的铁也会产生毒性。在富氧条件下,Fe²⁺主要是通过 Fenton 反应产生毒性。在 Fenton 反应中,Fe²⁺

与过氧化氢反应形成羟基自由基,羟基自由基会无选择性地氧化所有的生物分子,包括 DNA、蛋白质和脂类,引起 DNA 的断裂、蛋白质的失活和细胞质膜的破坏^[14]。因此,细菌对铁离子的摄取必须受到精确严格的调控。

2 细菌中铁的摄取

铁是细菌不可或缺的矿物营养,然而在宿主体内,游离的铁非常少。Fe³⁺与转铁蛋白、乳铁蛋白等特定的蛋白质结合在一起^[15],Fe²⁺则形成血红素,存在于血红蛋白中^[16]。为了满足自身生长繁殖的需求,细菌进化出了以这些物质作为铁源的摄取系统。

2.1 三价铁离子的摄取

细菌可以通过分泌铁载体摄取 Fe³⁺。铁载体是一种 Fe³⁺特异性的螯合剂,对 Fe³⁺具有超强的络合力^[17]。根据铁载体螯合基团的化学性质不同可将其分为异羟肟酸型、邻苯二酚型、羧盐型^[18-19]。铁载体能够与宿主体内的转铁蛋白、乳铁蛋白等铁结合蛋白竞争 Fe³⁺,从而形成可溶性的 Fe³⁺-铁载体复合体,这种复合体可以特异性地与细菌细胞外膜上的铁载体受体蛋白(Outer-membrane receptors, OMRs)相结合,最终被转运至细胞周质中,转运过程通过 TonB 系统提供能量。TonB 系统由内膜蛋白 ExbB、ExbD 和周质蛋白 TonB 组成,ExbB 和 ExbD 蛋白的配合物可以转化细胞质膜的质子动力势能,并通过 TonB 蛋白传递给外膜上的铁载体^[20]。细胞周质中的 Fe³⁺-铁载体复合体与周质结合蛋白(Periplasmic binding proteins, PBPs)相结合,形成 Fe³⁺-铁载体-PBPs 复合物。最后 Fe³⁺-铁载体-PBPs 复合物由 ABC 转运蛋白介导,通过内膜进入胞浆^[21]。进入细胞后,Fe³⁺-铁载体-PBPs 复合物中的 Fe³⁺被铁还原酶还原为 Fe²⁺,Fe²⁺与铁载体的亲和力低,从而被释放^[22]。

ABC 转运蛋白是一类广泛参与多种离子转运的跨膜蛋白^[23]。本课题组研究证明 *fpvCDEF* 和 *fpvWXYZ* (PA2403-PA2406)构成了一个 ABC 转运蛋

白复合物,由两个操纵子 *fpvWXYZCDE* 和 *fpvF* 组成。*fpvWXYZCDEF* 编码的 ABC 转运蛋白复合物对 PAO1 在限铁条件下的生长、抗氧化和毒力作用具有重要影响。突变体 PAO1(Δ *fpvCDEF*)和野生型 PAO1 相比,由于 *fpvWXYZCDE* 的缺失导致其生长缺陷,对 H_2O_2 的敏感性增加,毒性降低^[6]。

除了分泌高亲和力的铁载体竞争 Fe^{3+} 外,一些细菌还进化出直接利用转铁蛋白或乳铁蛋白中 Fe^{3+} 的机制。大多数革兰氏阴性菌都可以通过产生转铁蛋白结合蛋白(TBPs)或乳铁蛋白结合蛋白(LBPs)的方式利用宿主转铁蛋白或乳铁蛋白中的 Fe^{3+} 。细菌分泌的 TBPs 或 LBPs 与宿主的转铁蛋白或乳铁蛋白结合后,通过外膜上的转运蛋白 TBP 或 LBP,将转铁蛋白或乳铁蛋白中的 Fe^{3+} 透过细胞质膜运输到细胞内,整个系统由 TonB 系统提供能量^[24]。如脑膜炎奈瑟菌(*Neisseria meningitidis*)可同时表达利用转铁蛋白和乳铁蛋白的摄取系统,但优先利用转铁蛋白^[24]。

2.2 二价铁离子转运系统

大多数革兰氏阳性菌存在直接吸收血红素而获得铁元素的转运系统^[24]。细菌外膜上的血红素受体可以直接与血红素或血红蛋白结合并将血红素或血红蛋白转运至周质,通过 ABC 转运蛋白转运至胞质降解或利用,整个过程由 TonB 系统提供能量。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)铁依赖性表面决定系统(Iron-regulated surface determinant, Isd)可从血红蛋白中获取 Fe^{2+} ^[25]。如图 1 所示,金黄色葡萄球菌的 Isd 系统由 IsdA、IsdB、IsdC、IsdDEF、IsdG、IsdH 以及 IsdI 组成^[25]。IsdB、IsdH 是主要的血红蛋白受体,IsdA 可以结合游离的血红素或接受来自 IsdB 和 IsdH 的血红素。IsdB、IsdH 与血红蛋白结合后将血红素转移到 IsdC,IsdC 嵌入细胞壁,将血红素转移到膜上的血红素转运复合体 IsdDEF。血红素由 IsdDEF 转运到细胞质中^[26],最后被血红素氧化酶 IsdG、IsdI 分解,获得 Fe^{2+} ^[27-28]。

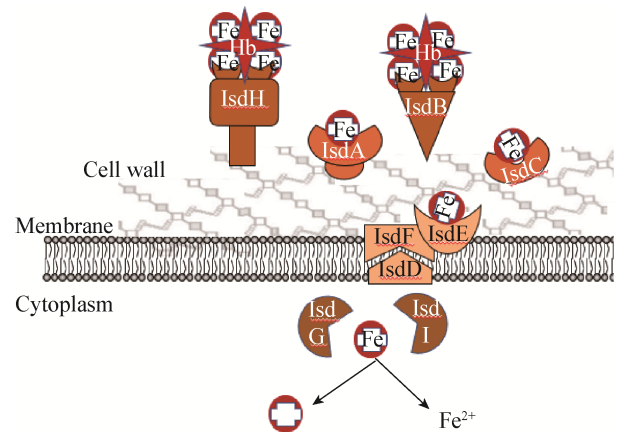


图 1 金黄色葡萄球菌 Isd 系统^[28]

Figure 1 The iron-regulated surface determinant (Isd) in *S. aureus*^[28]

注:在金黄色葡萄球菌中,IsdH 和 IsdB 是 Hb 的主要受体。IsdA 可以接受来自 IsdB 和 IsdH 的血红素,也可以结合游离血红素。血红素转移到 IsdC,IsdC 位于细胞壁,将血红素转移到膜复合体 IsdDEF。IsdDEF 将血红素转运到细胞质中供完整利用,或由 IsdG 和 IsdI 降解。

Note: In *S. aureus*, IsdH and IsdB are the primary Hb receptor. IsdA can accept heme from IsdB and IsdH or bind free heme. Heme is transferred to IsdC, which is embedded in the cell wall and transmits heme to the membrane complex IsdDEF. IsdDEF transports heme to the cytoplasm for utilization intact or for degradation by the heme oxygenases IsdG and IsdI.

除直接的血红素转运系统外,还存在间接的血红素转运系统^[29]。如革兰氏阴性菌中存在的 Hemophore 蛋白介导的血红素转运系统^[30]。Hemophore 首先与血红蛋白相结合并从中分离血红素,然后携带着血红素的 Hemophore 与细菌外膜上的受体结合,使受体构象发生改变,将血红素传递至该受体^[31]。血红素穿过受体蛋白的通道进入周质,最后通过周质结合蛋白和 ABC 转运系统将血红素转移至细胞内被降解利用^[32]。如铜绿假单胞菌等分泌的 HasA 型血红素载体^[33]和流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae*)分泌的 HxuA 型血红素载体^[34],均可从血红素蛋白中摄取血红素。

除此之外,细菌也可以产生分泌的或位于膜上的铁还原酶,将 Fe^{3+} 还原成更容易溶解的 Fe^{2+} 形式,并通过 Feo、Yfe、Efe 等转运系统来摄取 Fe^{2+} ^[35-36]。其中 Feo 转运系统最为重要,大约 80% 的革兰氏阴性菌都存在 Feo 转运系统。Feo 转运系统由 *feo* 操

纵子编码, 由两个可溶性细胞质蛋白 FeoA、FeoC 和一个膜蛋白 FeoB 组成^[37]。FeoA 在不同细菌中有很强的保守性^[38]。鲍氏不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)中由 *AIS-0242* 编码的 FeoA 蛋白参与铁的摄取。在肺炎感染过程中发现 *AIS-0242* 被过表达。*AIS-0242* 基因的失活导致鲍氏不动杆菌对人肺泡上皮细胞的黏附能力下降约 75%, 生物膜形成减少, 氧化应激敏感性增加, 毒性显著降低^[39]。FeoC 只存在于变形杆菌属^[40]。FeoB 是 Feo 系统的主要组成部分, 几乎存在于所有细菌中^[41]。FeoB 是一种内膜蛋白, 由 N 端 G 蛋白样的可溶性结构域与跨膜螺旋域和 C 端跨膜多面体域组成。C 端的跨膜多面体结构域形成可以转运 Fe^{2+} 的孔隙^[42]。 Fe^{2+} 与 FeoB 蛋白的跨膜螺旋域相结合, 同时 FeoA 蛋白与 FeoB 蛋白相互作用, 激活 G 蛋白水解 GTP 释放能量, 并引起 FeoB 蛋白的构象发生改变, FeoB 蛋白构象的改变使其跨膜多面体结构域利用 G 蛋白水解 GTP 释放的能量将 Fe^{2+} 从孔隙转运到细胞内^[42]。在嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)中, FeoA 的 SH3 结构域与 FeoB 的 G 蛋白域之间相互作用, 作为激活因子调控 FeoB 依赖的亚铁吸收活性。SH3 结构域同时也是细菌细胞壁识别和结合以及金属结合的靶向区域^[43]。FeoC 是一种螺旋蛋白, 含有 4 个保守的半胱氨酸残基, 能够与 FeoB 蛋白的 N 端绑定, 防止 FeoB 蛋白被蛋白酶水解^[42]。在肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*) FeoC (KpFeoC) 中半胱氨酸作为配体与 Fe-S 簇结合。KpFeoC 通过 Fe-S 簇与氧或铁的配位来调控 Feo 转运体的功能^[44]。

3 细菌铁摄取系统的调控

细菌的铁稳态对于其生存繁殖至关重要, 所以铁元素摄取必须受到严格的调控。在细菌中铁的摄取主要是由铁摄取调节蛋白(Ferric uptake regulator, Fur)调控^[45]。Fur 蛋白在细菌中广泛存在, 尤其是在革兰氏阴性菌中, Fur 蛋白对于调控铁的摄取和利用起着至关重要的作用^[46]。大肠

杆菌中铁载体合成基因(*D-fep*、*E-fep*、*C-fep*、*G-fep*)及其特异受体(FecA、FepA、FhuA、FhuE)的表达均受 Fur 蛋白调控^[47]。同样, Fur 蛋白也调控血红素转运系统中 ABC 转运系统、TonB 系统的表达^[48]。

Fur 蛋白的序列具有高度同源性, 蛋白的结构也很相似: 其 N 端有一个 DNA 结合结构域, C 端组氨酸丰富, 有二聚化的结构域和包括二价铁离子结合位点在内的多个金属离子结合位点。如大肠杆菌 Fur 蛋白的 C 端有一个用于稳定 Fur 二聚体构象的锌离子结合位点^[46]。Fur 蛋白可以与其调节基因启动子上一段富含 A、T 核苷酸的回文序列相结合, 这段序列高度保守, 被称为 Fur box^[49]。如图 2 所示, 当细菌细胞内铁离子充足时, Fur 单体可以与 Fe^{2+} 结合, 形成 Fe^{2+} -Fur 复合物, 再二聚化形成 Fe^{2+} -Fur 复合物的二聚体, 二聚体识别并结合到铁摄取相关基因启动子上游的 Fur box 上, 占据了该基因的启动子识别位点, 抑制该基因表达。当细胞内铁缺乏时, 二聚体解聚, 对于铁摄取相关基因的抑制解除, 细菌对于铁的摄取能力提升^[50]。

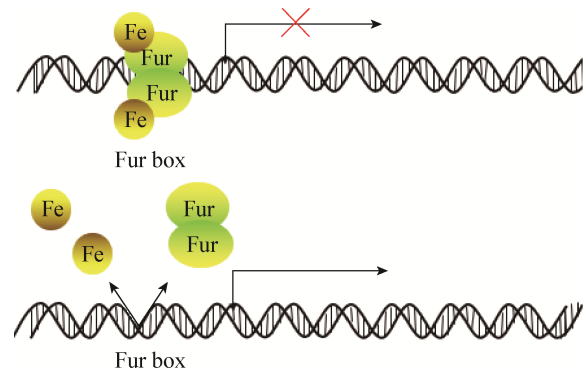


图 2 Fur 蛋白调控机制

Figure 2 Fur regulatory mechanism

注: 当铁元素充足时, Fur 可与 Fe^{2+} 结合形成 Fe^{2+} -Fur 复合物二聚体。二聚体识别并与 Fur box 结合, 抑制下游基因的表达。当铁元素缺乏时, 二聚体解聚, 解除对铁摄取相关基因的抑制。

Note: When iron is abundant, Fur can combine with Fe^{2+} to form a dimer of Fe^{2+} -Fur complex. The dimer recognizes and binds to the Fur box inhibiting the expression of this gene. When iron deficiency occurs, the dimer depolymerizes and the inhibition of iron uptake related genes is relieved.

Fur 蛋白除调控铁摄取相关基因的表达外,还影响铁储存蛋白 Bfr、FtnA 和 FtnB 的表达^[48]。在铁缺乏时 Fur 蛋白可以抑制一些含铁蛋白的表达,以降低铁的消耗,提高铁的利用效率^[47]。总之, Fur 蛋白可以通过对铁离子摄取、储存和利用的全局调控,来维持细菌体内的铁稳态。

耶尔森氏菌(*Yersinia*)通过 HmuRSTUV 血红素吸收系统利用血红素和血红蛋白中的铁。HmuR 是一种依赖于 TonB 系统的血红素和血红蛋白外膜受体。HmuTUV 是一种内膜 ABC 转运蛋白,它将血红素和血红蛋白从周质空间转运到细胞质中,使其在细胞质中被 HmuS 降解。*hmuR* 和 *hmuSTUV* 均是在铁的限制条件下表达的。*hmuR* 的表达受 Fur 蛋白的调控。在铁限制条件下, Fur 蛋白从 *hmuR* 启动子处解离使 *hmuR* 蛋白表达。而 *hmuSTUV* 的表达,需要全局调控因子 IscR 从 *hmuR* 和 *hmuS* 基因间区域的启动子处起作用。在低铁环境中, Fur 和 IscR 的差异表达可以最大限度地促进血红素的吸收和利用^[51]。

除受 Fur 蛋白调控外, Feo 转运系统还受 RstA/RstB 双组分调控系统的调控。RstA/RstB 系统是由膜蛋白 RstB 及其同源的反应调节蛋白 RstA 组成的典型的双组分调控系统。在沙门氏菌(*Salmonella*)中, Fe²⁺充足时, Fe²⁺可以作为一种信号分子激活 RstB 蛋白, RstB 蛋白又作用于 RstA 使 RstA 蛋白发生磷酸化。RstA 蛋白磷酸化后可直接与 *feoA* 启动子结合并激活 *feoAB* 操纵子编码 Fe²⁺ 转运体 FeoB。FeoB 蛋白的大量表达导致 Fe²⁺ 摄入增加,这使得 Fe²⁺-Fur 复合物的水平提高,从而令 Fur 调节蛋白对目标基因产生过度抑制,降低细菌摄取 Fe²⁺ 的能力,抑制沙门氏菌的生长^[52]。

4 与铁摄取相关的抗感染免疫和抗菌治疗

针对细菌生存繁殖对铁稳态的严重依赖,可将病原菌的铁获取系统作为抗菌治疗的靶点,开发针对病原菌铁稳态的化合物治疗细菌感染,同时可基于该系统研发疫苗。

4.1 细菌铁摄取与免疫

调节铁的分布是宿主抵御病原体入侵的一种先天免疫机制^[53]。即使在没有感染的情况下,人体铁代谢的方式也确保了致病微生物很难接触到铁。人体内 80% 以上的铁都被隔离在红细胞内的血红蛋白复合物中^[54]。即使病原体进化出了通过溶解红细胞释放血红蛋白最终从血红素中摄取铁的机制,也必须与宿主清除被破坏的红细胞的机制相竞争。沙门氏菌等病原菌可以激活巨噬细胞进行红细胞吞噬,巨噬细胞利用膜上的 SR-A 和 CD36 等受体结合并吞噬受损红的细胞^[55]。

细胞外游离铁的缺乏是限制入侵病原菌利用铁的有效手段。转铁蛋白与细胞外的铁具有很高的亲和力,在健康人群中,转铁蛋白的饱和度通常小于 50%^[56]。当转铁蛋白结合能力饱和时,血浆中一些亲和力较低的分子,如白蛋白、柠檬酸盐和氨基酸等也会与铁螯合,以减少可被病原菌利用的胞外游离铁的含量^[25]。乳铁蛋白是一种糖蛋白,与游离铁也有很高的亲和力。黏膜分泌物中含有高浓度的乳铁蛋白,构成了黏膜表面的铁限制^[57]。

降低感染处铁的含量也是抵抗病原菌的一种免疫机制。在炎症条件下引起的低铁血症可抑制病原菌对铁の利用。Cartwright 等^[58]在研究中记录了低铁血症,他们在给犬肌肉注射金黄色葡萄球菌后注意到犬血浆中的铁含量急剧下降。一种多肽 Heparin 参与了这种低铁反应。在 Heparin 敲除的小鼠中,炎症条件下的低铁血症不存在或明显减弱^[59]。如图 3 所示,炎症过程中 Heparin 水平的提高导致运铁蛋白降解,限制了 *fpn1* 介导的肠道铁吸收和铁从所有来源进入血清,同时增强肝脏和脾脏巨噬细胞的铁固存,使血清铁水平迅速下降^[60]。Heparin 主要由肝脏产生,肝脏中 Heparin 的释放受到促炎性细胞因子和内质网未折叠蛋白反应的诱导。除了在肝脏中产生 Heparin 外,中性粒细胞和巨噬细胞也会合成 Heparin,从而降低感染病灶处的铁含量^[61]。炎症条件下 Heparin 的升高主要是白介素-6 (IL-6) 浓度的升高所致。其他细胞因子如 IL-6、15、16 也可以部分替代 IL-6 对 Heparin 的刺激作用^[59]。

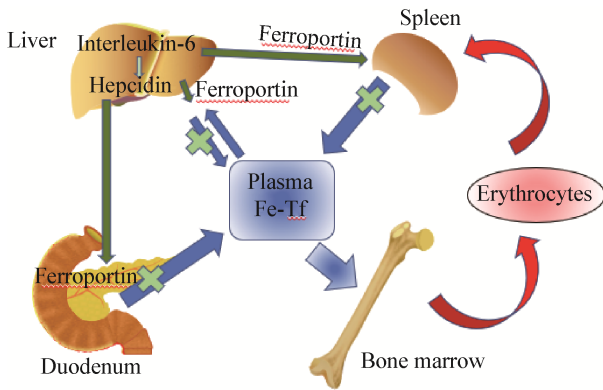


图 3 炎症下低铁血症发生机制^[58]

Figure 3 The mechanism of hypoferremia of inflammation^[58]

注: 铁调节途径以绿色显示, 铁流动方向以蓝色显示, 红细胞产生及流动以红色显示。

Note: Iron regulatory pathway in green, iron flows in blue and erythropoiesis and erythrocytes in red.

Lcn2 是一种由中性粒细胞、巨噬细胞等免疫细胞产生的抗菌和免疫调节肽。它的主要功能是结合儿茶酚类铁载体, 限制病原菌对 Fe^{3+} 的利用。值得注意的是, 沙门氏菌可以通过改变铁载体的结构来规避 Lcn2 的作用。沙门氏菌中 *iroA* 基因簇编码的酶和受体将糖基附着在铁载体上, 使其体积增大, Lcn2 无法中和, 同时保留了铁载体与铁结合的能力^[55]。

感染部位吞噬细胞的激活也限制了病原菌对铁の利用。促炎性细胞因子降低了吞噬细胞表面转铁蛋白受体的表达, 从而促进了细胞内铁转运蛋白 Nramp1 的表达。Nramp1 是一种二价金属离子转运体, 可降低细胞内的铁含量, 从而限制该区域内可被病原菌利用的铁^[62]。

为了应对宿主体内随时变化的铁离子浓度, 细菌必需准确感知宿主体内铁离子浓度的变化并及时做出反应, 才能成功建立感染。本课题组的研究发现, 在不影响细菌生长的前提下, 缺铁条件下 PAO1 中 *fpuWXYZCDE* 的转录较铁充足条件下增加了 10 倍左右, 而在缺铁培养基中补加 0.2 mmol/L 的 FeCl_3 可以将 *fpuWXYZCDE* 的转录恢复到铁充足条件下的水平^[6]。

4.2 铁摄取系统可作为抗菌治疗的靶点

目前, 针对病原体铁稳态的抗菌化合物可大致分为两类: 一类是针对铁摄取系统合成的抗菌化合物, 另一类是利用铁摄取系统的选择性来开发靶向抗生素^[24]。在前一类化合物中, 以铁载体的合成为目标的抗菌化合物最为典型。对氨基水杨酸 (P-aminosalicylic acid, PAS) 是最早被用于治疗结核病的抗菌素之一, 它抑制了结核杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 铁载体分枝杆菌素的合成。在此之后, 大量针对铁载体生物合成的抑制剂被开发出来。

开发针对铁转运系统的第二类新型抗菌素, 是将铁载体与抗生素进行共价连接, 产生抗菌化合物。与铁载体偶联能降低内酰胺类、万古霉素和氟喹诺酮类抗生素的最小抑菌浓度。与铁载体结合的 β -内酰胺 MC-1 对铜绿假单胞菌在体外和体内的活性都有抑制作用^[63]。

目前已研制出几种针对病原体铁摄取系统的疫苗。Alteri 等使用了大规模的疫苗学方法确定了尿路致病性大肠杆菌疫苗的候选抗原, 并发现了通过针对 6 种外膜铁受体产生的免疫作用可以抵抗泌尿道感染^[64]。

5 小结和展望

铁是生命活动所必需的重要金属元素, 广泛参与合成蛋白质、核酸以及呼吸作用等各种生理活动。铁元素的缺乏和过量都会影响细菌的生存和繁殖。到目前为止, 虽然人们对铁元素在细菌中的转运及调控等进行了广泛的研究, 但仍有许多问题需要继续探索。如: 铁载体如何合成及分泌; 转铁蛋白结合蛋白和乳铁蛋白结合蛋白能否被重复利用; 微生物体内存在多种铁离子转运系统, 而哪种在其入侵宿主过程中起主要作用, 结合我们对 PAO1 中金属离子转运系统的研究推测, 细菌中存在一类铁特异性的高亲和力转运系统, 在细菌入侵、定殖等铁离子极度缺乏的情况下起主要作用, 而另一类非特异性的低亲和力转运系统在铁离子充足的情况

下发挥作用。相信未来对于细菌铁元素的摄取及调控机制的研究将更加深入和具体。

REFERENCES

- [1] Becker KW, Skaar EP. Metal limitation and toxicity at the interface between host and pathogen[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2014, 38(6): 1235-1249
- [2] Palmer LD, Skaar EP. Transition metals and virulence in bacteria[J]. *Annual Review of Genetics*, 2016, 50: 67-91
- [3] Taudte N, German N, Zhu YG, et al. Restoration of growth by manganese in a mutant strain of *Escherichia coli* lacking most known iron and manganese uptake systems[J]. *BioMetals*, 2016, 29(3): 433-450
- [4] Porcheron G, Dozois CM. Interplay between iron homeostasis and virulence: Fur and RyhB as major regulators of bacterial pathogenicity[J]. *Veterinary Microbiology*, 2015, 179(1/2): 2-14
- [5] Lo FC, Chen CL, Lee CM, et al. A study of NO trafficking from dinitrosyl-iron complexes to the recombinant *E. coli* transcriptional factor SoxR[J]. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 2008, 13(6): 961-972
- [6] Gao L, Guo ZS, Wang Y, et al. The two-operon-coded ABC transporter complex FpvWXYZDEF is required for *Pseudomonas aeruginosa* growth and virulence under iron-limiting conditions[J]. *The Journal of Membrane Biology*, 2018, 251(1): 91-104
- [7] Cornelis P, Wei Q, Andrews SC, et al. Iron homeostasis and management of oxidative stress response in bacteria[J]. *Metallomics*, 2011, 3(6): 540-549
- [8] Melo AMP, Teixeira M. Supramolecular organization of bacterial aerobic respiratory chains: from cells and back[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 2016, 1857(3): 190-197
- [9] Jones MA, Hulme SD, Barrow PA, et al. The *Salmonella* pathogenicity island 1 and *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion systems play a major role in pathogenesis of systemic disease and gastrointestinal tract colonization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in the chicken[J]. *Avian Pathology*, 2007, 36(3): 199-203
- [10] Duangurai T, Indrawattana N, Pumirat P. *Burkholderia pseudomallei* adaptation for survival in stressful conditions[J]. *BioMed Research International*, 2018, 2018: 3039106
- [11] Schubert S, Rakin A, Heesemann J. The *Yersinia* high-pathogenicity island (HPI): evolutionary and functional aspects[J]. *International Journal of Medical Microbiology*, 2004, 294(2/3): 83-94
- [12] Hancock V, Ferrières L, Klemm P. The ferric yersiniabactin uptake receptor FyuA is required for efficient biofilm formation by urinary tract infectious *Escherichia coli* in human urine[J]. *Microbiology*, 2008, 154(1): 167-175
- [13] Oh E, Andrews KJ, Jeon B. Enhanced biofilm formation by ferrous and ferric iron through oxidative stress in *Campylobacter jejuni*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1204
- [14] Zhao XL, Drlica K. Reactive oxygen species and the bacterial response to lethal stress[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2014, 21: 1-6
- [15] Moos T, Morgan EH. Transferrin and transferrin receptor function in brain barrier systems[J]. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 2000, 20(1): 77-96
- [16] Ghigo JM, Létoffé S, Wandersman C. A new type of hemophore-dependent heme acquisition system of *Serratia marcescens* reconstituted in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1997, 179(11): 3572-3579
- [17] Saha M, Sarkar S, Sarkar B, et al. Microbial siderophores and their potential applications: a review[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(5): 3984-3999
- [18] Neilands JB. Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270(45): 26723-26726
- [19] Wyckoff EE, Allred BE, Raymond KN, et al. Catechol siderophore transport by *Vibrio cholerae*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2015, 197(17): 2840-2849
- [20] Jordan LD, Zhou YY, Smallwood CR, et al. Energy-dependent motion of TonB in the Gram-negative bacterial inner membrane[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(28): 11553-11558
- [21] Schalk IJ, Guillon L. Fate of ferrisiderophores after import across bacterial outer membranes: different iron release strategies are observed in the cytoplasm or periplasm depending on the siderophore pathways[J]. *Amino Acids*, 2013, 44(5): 1267-1277
- [22] Carpenter C, Payne SM. Regulation of iron transport systems in *Enterobacteriaceae* in response to oxygen and iron availability[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2014, 133: 110-117
- [23] Wang CY, Karpowich N, Hunt JF, et al. Dynamics of ATP-binding cassette contribute to allosteric control, nucleotide binding and energy transduction in ABC transporters[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2004, 342(2): 525-537
- [24] Cassat JE, Skaar EP. Iron in infection and immunity[J]. *Cell Host & Microbe*, 2013, 13(5): 509-519
- [25] Hammer ND, Skaar EP. Molecular mechanisms of *Staphylococcus aureus* iron acquisition[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2011, 65: 129-147
- [26] Grigg J, Vermeiren CL, Heinrichs DE, et al. Heme coordination by *Staphylococcus aureus* IsdE[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(39): 28815-28822
- [27] Skaar EP, Gaspar AH, Schneewind O. IsdG and IsdI, heme-degrading enzymes in the cytoplasm of *Staphylococcus aureus*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(1): 436-443
- [28] Choby JE, Skaar EP. Heme synthesis and acquisition in bacterial pathogens[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2016, 428(17): 3408-3428
- [29] Anzaldi LL, Skaar EP. Overcoming the heme paradox: heme toxicity and tolerance in bacterial pathogens[J]. *Infection and Immunity*, 2010, 78(12): 4977-4989
- [30] Wandersman C, Delepelaire P. Bacterial iron sources: from siderophores to hemophores[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2004, 58: 611-647
- [31] Contreras H, Chim N, Credali A, et al. Heme uptake in bacterial pathogens[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2014, 19: 34-41

- [32] Foster AW, Patterson CJ, Robinson NJ, et al. Metallomics and the cell[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2013, 257(21/22): 3072-3073
- [33] Létoffé S, Redeker V, Wandersman C. Isolation and characterization of an extracellular haem-binding protein from *Pseudomonas aeruginosa* that shares function and sequence similarities with the *Serratia marcescens* HasA haemophore[J]. *Molecular Microbiology*, 1998, 28(6): 1223-1234
- [34] Cope LD, Thomas SE, Hrkal Z, et al. Binding of heme-hemopexin complexes by soluble HxuA protein allows utilization of this complexed heme by *Haemophilus influenzae*[J]. *Infection and Immunity*, 1998, 66(9): 4511-4516
- [35] Perry RD, Bobrov AG, Kirillina O, et al. *Yersinia pestis* transition metal divalent cation transporters[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2012, 954: 267-279
- [36] Sepúlveda Cisternas I, Salazar JC, García-Angulo VA. Overview on the bacterial iron-riboflavin metabolic axis[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1478
- [37] Kim H, Lee H, Shin D. The FeoA protein is necessary for the FeoB transporter to import ferrous iron[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2012, 423(4): 733-738
- [38] Weaver EA, Wyckoff EE, Mey AR, et al. FeoA and FeoC are essential components of the *Vibrio cholerae* ferrous iron uptake system, and FeoC interacts with FeoB[J]. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(21): 4826-4835
- [39] Álvarez-Fraga L, Vázquez-Ucha JC, Martínez-Gutián M, et al. Pneumonia infection in mice reveals the involvement of the *feoA* gene in the pathogenesis of *Acinetobacter baumannii*[J]. *Virulence*, 2018, 9(1): 496-509
- [40] Hung KW, Juan TH, Hsu YL, et al. NMR structure note: the ferrous iron transport protein C (FeoC) from *Klebsiella pneumoniae*[J]. *Journal of Biomolecular NMR*, 2012, 53(2): 161-165
- [41] Lau CKY, Krewulak KD, Vogel HJ. Bacterial ferrous iron transport: the Feo system[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2016, 40(2): 273-298
- [42] Cartron ML, Maddocks S, Gillingham P, et al. Feo-transport of ferrous iron into bacteria[J]. *Biometals*, 2006, 19(2): 143-157
- [43] Kalidasan V, Joseph N, Kumar S, et al. Iron and virulence in *Stenotrophomonas maltophilia*: all we know so far[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2018, 8: 401
- [44] Hsueh KL, Yu LK, Chen YH, et al. FeoC from *Klebsiella pneumoniae* contains a [4Fe-4S] cluster[J]. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(20): 4726-4734
- [45] Beauchene NA, Mettert EL, Moore LJ, et al. O₂ availability impacts iron homeostasis in *Escherichia coli*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(46): 12261-12266
- [46] Fillat MF. The FUR (ferric uptake regulator) superfamily: diversity and versatility of key transcriptional regulators[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2014, 546: 41-52
- [47] McHugh JP, Rodríguez-Quinones F, Abdul-Tehrani H, et al. Global iron-dependent gene regulation in *Escherichia coli*. A new mechanism for iron homeostasis[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(32): 29478-29486
- [48] Kim IH, Wen YC, Son JS, et al. The Fur-iron complex modulates expression of the quorum-sensing master regulator, SmcR, to control expression of virulence factors in *Vibrio vulnificus*[J]. *Infection and Immunity*, 2013, 81(8): 2888-2898
- [49] Pich OQ, Carpenter BM, Gilbreath JJ, et al. Detailed analysis of *Helicobacter pylori* Fur-regulated promoters reveals a Fur box core sequence and novel Fur-regulated genes[J]. *Molecular Microbiology*, 2012, 84(5): 921-941
- [50] Troxell B, Hassan HM. Transcriptional regulation by Ferric Uptake Regulator (Fur) in pathogenic bacteria[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2013, 3: 59
- [51] Schwiesow L, Mettert E, Wei YH, et al. Control of *hmu* heme uptake genes in *Yersinia pseudotuberculosis* in response to iron sources[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2018, 8: 47
- [52] Jeon J, Kim H, Yun JE, et al. RstA-promoted expression of the ferrous iron transporter FeoB under iron-replete conditions enhances Fur activity in *Salmonella enterica*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(22): 7326-7334
- [53] Ganz T, Nemeth E. Iron homeostasis in host defence and inflammation[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2015, 15(8): 500-510
- [54] Soares MP, Weiss G. The Iron age of host-microbe interactions[J]. *EMBO Reports*, 2015, 16(11): 1482-1500
- [55] Nairz M, Dichtl S, Schroll A, et al. Iron and innate antimicrobial immunity—Depriving the pathogen, defending the host[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2018, 48: 118-133
- [56] Barber MF, Elde NC. Escape from bacterial iron piracy through rapid evolution of transferrin[J]. *Science*, 2014, 346(6215): 1362-1366
- [57] Baker HM, Baker EN. A structural perspective on lactoferrin function[J]. *Biochemistry and Cell Biology*, 2012, 90(3): 320-328
- [58] Cartwright GE, Lee GR. Annotation: The anaemia of chronic disorders[J]. *British Journal of Haematology*, 1971, 21(2): 147-153
- [59] Ganz T. Iron and infection[J]. *International Journal of Hematology*, 2018, 107(1): 7-15
- [60] Armitage AE, Lim PJ, Frost JN, et al. Induced disruption of the iron-regulatory hormone hepcidin inhibits acute inflammatory hypoferraeemia[J]. *Journal of Innate Immunity*, 2016, 8(5): 517-528
- [61] Nairz M, Haschka D, Demetz E, et al. Iron at the interface of immunity and infection[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2014, 5: 152
- [62] Jabado N, Jankowski A, Dougaparsad S, et al. Natural resistance to intracellular infections: natural resistance-associated macrophage protein 1 (Nramp1) functions as a pH-dependent manganese transporter at the phagosomal membrane[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2000, 192(9): 1237-1248
- [63] McPherson CJ, Aschenbrenner LM, Lacey BM, et al. Clinically relevant gram-negative resistance mechanisms have no effect on the efficacy of MC-1, a novel siderophore-conjugated monocarbam[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2012, 56(12): 6334-6342
- [64] Alteri CJ, Hegan EC, Sivick KE, et al. Mucosal immunization with iron receptor antigens protects against urinary tract infection[J]. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(9): e1000586