

动物源产肠毒素大肠杆菌 (ETEC) 黏附素研究进展

周虹, 朱军, 朱国强*

扬州大学兽医学院, 禽类预防医学教育部重点实验室, 扬州 225009

摘要:动物源产肠毒素大肠杆菌 (enterotoxigenic *Escherichia coli*, ETEC) 是引起动物 (尤其是幼龄动物) 腹泻的主要病原菌。已知黏附素和肠毒素是 ETEC 中两种重要的毒力因子, 在致病性中两者缺一不可。其中黏附素结合到宿主易感肠上皮细胞是 ETEC 感染的第一步, 也是最重要的关键步骤。动物源 ETEC 的菌毛黏附素主要包括 K88、K99、987P、F18、F17 和 F41 等。人们从 20 世纪 60 年代就开始了 ETEC 菌毛黏附素的相关研究, 包括菌毛的基因、结构组成、生物合成、菌毛表达的调控机制以及黏附素和宿主受体相互作用等, 这些研究基础有助于我们深入了解 ETEC 病原菌的感染机理; 并且在疾病诊断和新疫苗的开发中具有重大意义。

关键词:产肠毒素大肠杆菌 (ETEC), 黏附素, 菌毛

中图分类号: S852 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2012)06-0679-08

1961 年, Orskov 等人首先报道了大肠杆菌粘附性抗原 K88 是从动物体分离到的, 腹泻猪的肠道菌株表达了这种特定抗原。后来证实粘附性抗原 K88 是一种依赖于质粒表达的蛋白质抗原^[1], 电子显微镜下观察到其形态为暴露在菌体表面的丝状物, 这种丝状物细而柔韧, 能够凝集红血球。Smith 和 Linggood 用缺失了编码肠毒素或者 K88 抗原质粒的产肠毒素大肠杆菌 (enterotoxigenic *Escherichia coli*, ETEC) 感染猪, 证明了肠毒素和 K88 都是导致严重腹泻或者脱水死亡的必需致病因子, 后来形成了分子科赫假说^[2]。Jones 和 Rutter 的互补试验研究证实了 K88 在产肠毒素大肠杆菌粘附和定植于猪小肠过程中的作用^[3]。此后, K88ac、K88ab 基因及其功能产物的研究工作进一步推动了其他菌毛黏附素以及相关分子克隆和遗传学的研究。

1 与 ETEC 致病相关的菌毛

目前已经鉴定出多种动物 ETEC 菌毛, 包括 K88、K99、987P 和 F41 等都是动物 ETEC 重要的粘附性毒力因子。通过缺失临床菌株中编码菌毛基因的质粒证实了这些菌毛在 ETEC 致病过程中的必要性。但是从来没有特定的同源基因突变株的验证试验报道, 因此, 有人认为可能受质粒编码的其他基因缺失而影响致病性结果。在腹泻动物的临床分离株中发现, 大多数菌毛 (包括 K88ab, ac, ad (F4)、F41、K99 (F5)、987P (F6)、F18ac (2134P, 8813)、F18ac (2134P, 8813)、F17a (F[Y], Att25)) 都与肠毒素 (基因) 联系在一起。通常同 1 个分离株携带有表达两种或者多种菌毛的基因, 每种类型的菌

基金项目: 国家自然科学基金 (30571374, 30771603, 31072136); 江苏省属高校自然科学重大基础研究项目 (08KJA230002); 江苏高校优势学科建设工程资助项目; 教育部创新团队; 科技部转基因生物新品种培育重大专项 (2009ZX08006-004B)

* 通信作者。Tel: +86-514-87972590; Fax: +86-514-87972218; E-mail: yzgzhu@hotmail.com, yzgzhu@yzu.edu.cn

作者简介: 周虹 (1987-), 女, 四川成都人, 硕士, 主要从事病原微生物致病机理及免疫机理研究。E-mail: xiaoyunzhouiris@126.com

收稿日期: 2011-12-01; 修回日期: 2012-03-13

毛至少携带 1 个粘附性区域部位,可以专一性地识别宿主受体。宿主的种类、年龄和组织特异性都起着决定性作用。

1.1 菌毛基因

同大多数细菌菌毛一样,ETEC 菌毛产生需要一组含有 1 个或多个操纵子的基因簇,它们大多数坐落在 40–100 kb 的大质粒上,并且通常同时编码肠毒素基因。在某些情况下,菌毛基因紧挨着肠毒

素基因,形成 1 个毒力岛,包括了所有与腹泻症状有关的遗传学基因簇。菌毛基因簇由 3 个或 3 个以上必需基因编码,包括结构蛋白、伴侣蛋白和推进蛋白编码基因(图 1)。每种菌毛的 1 个(有时候是 2 个或多个)亚基至少携带 1 个与特异性哺乳动物宿主细胞受体结合的位点。所有菌毛的生物合成机制都包括两类分子,1 个或多个细胞浆周质伴侣分子和外膜蛋白分子,或者是推进蛋白分子(usheer)^[5]。

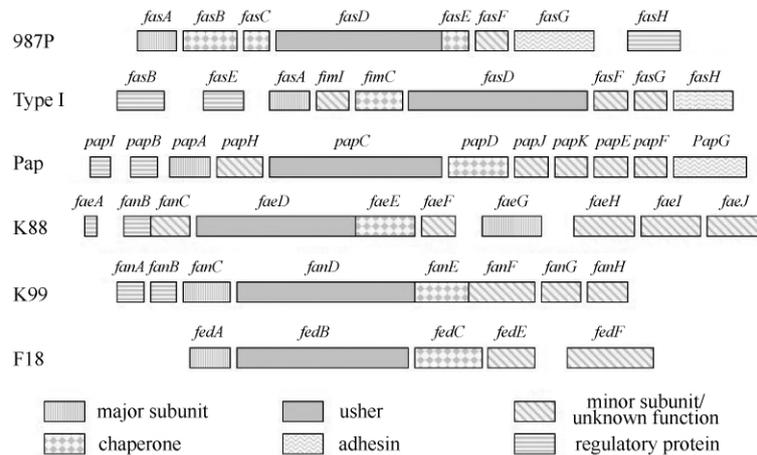


图 1 ETEC 菌毛的操纵子基因簇结构(部分由 Dr. Dieter M. Schifferli 提供)

Fig. 1 Gene cluster structure of ETEC fimbriae operon.

1.2 菌毛结构

菌毛直径通常在 3–7 nm 之间。已报道 ETEC 菌毛中最细的是 K88、F17 和 F41,最粗的是 987P, K99 和 F18 则居中,文献中引用的直径大小根据细菌生长环境和染色技术的不同而不同。一根菌毛由成百个蛋白质亚基组成,这些蛋白质亚基沿着丝状轴线呈螺旋状排列,沿轴线的亚基数越少,表面亚基间的相互作用力就越小,菌毛就更细、更灵活。螺旋状菌毛结构中还具有 1 个轴向孔(≈ 2 nm),电子显微镜下只能观察到较粗的菌毛的轴向孔。粗菌毛在一定的体外条件下可以被拉伸,有人认为这种拉伸是为了适应和调控那几百个菌丝的长度,这些菌丝可以使得细菌在肠道蠕动时和蠕动造成的剪切力作用下锚定肠道定植,即剪切力增强了菌毛介导的细菌粘附到靶细胞的能力^[6]。I 型菌毛的精确研究表明,这种能力的提高包括了粘附性菌毛亚基之间连接链的延长^[7],但是剪切力是否导致了菌毛其他空间构象的改变还有待确定。动物 ETEC 菌毛的次要亚基常常都位于菌丝的末端或是游离端,备受争议的是次要亚基是有效地整合到菌毛体中,还是容

易从菌毛末端脱落再紧紧靠在菌丝边缘。分离到的大肠杆菌 I 型菌毛的机械分散片段导致粘附介导作用的增强,暴露出隐藏的或未结合的粘附性次要亚基^[8]。

1.3 菌毛黏附素和宿主受体

人们普遍认为 ETEC 菌毛在细菌定植肠道的过程中仅仅起到锚定的作用,也有人认为菌毛介导的信号转导机制可能会引起其他的细胞应答反应,目前尚不清楚细菌的鞭毛蛋白^[9]和其他效应分子优化传递到小肠粘膜先天免疫系统的潜力。ETEC 菌株的发病机制与小肠的定植相关,与大肠无关,其定植部位由肠道内受体的分布和控制菌毛表达的特定的环境信号共同决定。

许多菌毛能结合糖蛋白或糖脂上的糖基,从而介导红细胞凝集,所以红细胞凝集试验是用于研究菌毛及菌毛分类的一种常规方法^[10],但是有一些动物 ETEC 菌毛,如 987P 菌毛只有经化学处理后才有红细胞凝集的作用。事实上,红细胞上的 O 和 N 型糖基化宿主分子不同于小肠粘液和肠细胞刷状缘,小肠粘液和刷状缘上的一些受体分子的存在、修饰

或缺失随着年龄而变化,这些变化可以用于解释 ETEC 致泄和肠道定植的年龄依赖性问题^[11]。肠道受体分子限于特定年龄段的这种现象不是决定新生动物和断奶动物对菌毛介导定植作用的敏感性的唯一因素。个体的遗传组成决定受体是否表达,以及抗 ETEC 定植的适应性被动(初乳)或主动保护性免疫反应也同样重要。表 1 列出了肠道中动物 ETEC 菌毛的主要受体,以及它们的同源菌毛黏附素。

表 1 动物 ETEC 菌毛黏附素及其受体
Table 1 Fimbriae and their corresponding receptors
of animal-originated ETEC

Fimbriae	Adhesins	Intestinal receptor molecules
K88ab	FaeG (ab)	b: Transferrin N-glycan (74 kDa) bc: IMPTPG (210 - 240 kDa) bcd: Glycoproteins (45 - 70 kDa)
K88ac	FaeG (ac)	bc: IMPTPG (210 - 240 kDa) bcd: Glycoproteins (45 - 70 kDa)
K88ad	FaeG (ad)	d: Neutral glycosphingolipids bed: Glycoproteins (45 - 70 kDa)
F41	Major subunit	Unknown (erythrocytes: glycophorin A ^m)
K99	FanC	N-glycolylsialoparagloboside N-glycolyl-GM3
987P	FasG	Sulfatide proteins (32 - 35 kDa) ^[12]
	FasA	Ceramide monohexoside (hydroxylated galactosyl-cerebroside)
F18ac	FedF	Unknown [F18ab: α (1, 2) fucosyl-containing glyconjugates]
F17a	F17-G	Mucins, Glycoproteins (170 - 200 kDa)

研究表明 K88ab 菌毛亚基 FaeG 上位于 150 位的苯丙氨酸残基在肠道的粘附过程中可能有重要的作用^[13]。不同 K88 受体在猪上有 6 种表型 (A、B、C、D、E、F) 3 个 K88 变种都显示出外源凝集素对最小识别序列的特异活性,这个序列含有 β -HexNAc, 增强结合能力的末端 β -半乳糖^[14]。作为 K88、K99 和 987P 菌毛受体的肠道神经酰胺类都发生了羟基化反应,表明了脂基团在神经节苷脂类与短碳水化合物链结合特性中的重要性。此外,糖脂受体嵌入膜内的脂质部分决定了宿主细胞表面糖基的靶位。与 K88 相似, K99 的主要亚基 (FanC) 被证实与菌毛的血凝性质有关^[15]。

987P 菌毛不能凝集哺乳动物的红细胞,只能粘附肠道细胞。987P 次要亚基 FasG 可以介导 987P 粘附猪肠道的硫脂类糖脂受体,多个残基可与硫脂类的硫基团通过氢键和(或)盐桥相连^[16]。除 FasG 的两种肠道粘附特性外,987P 菌毛存在第三种类

型,主要亚基 FasA 和猪小肠上皮细胞刷状缘羟基酰胺单己糖苷之间结合。在 987P 中观察到了动物 ETEC 菌毛上多配体的表达,同一结构上拥有不同粘附性质的亚基可以使有菌毛的 ETEC 为空间上或结构上独立的配基受体活力提供一种能量上经济节约的体系。例如,在不同配基受体的相互作用下使得有菌毛的 ETEC 可以在幼龄动物小肠的特定片段定植并引起腹泻,或维持在成年动物中,低水平定植宿主群中。

F18 菌毛中 F18ab 的次要亚基 FedF 作为黏附素专一性地结合猪肠上皮细胞,其氨基酸残基 60 到 109 的连续的区段被证明对粘附起重要作用。所有 FedF C 末端氨基酸相当保守,无论是 F18ab 或是 F18ac,都没有发现任何特定的与血清型变种相关联氨基酸残基突变^[17],说明 FedF 亚单位为 F18ab 和 F18ac 大肠杆菌中高度保守的共同功能性黏附素, F18ab 和 F18ac 的 FedF 亚基结合相同的仔猪肠上皮细胞上大分子受体^[18]。遗传学相关研究表明, F18ab 黏附素介导的细菌对仔猪肠上皮细胞吸附能力决定于易感仔猪 F18 黏附素受体基因位点的显性等位基因 (B),抵抗力则决定于隐性等位基因 (b)^[19]。研究发现位于猪染色体 6q11 区的 α -(1, 2)-岩藻糖转移酶基因 1 (FUT₁) 307 位点多态性可作为 F18 介导的细菌粘附敏感性或抗性遗传性状的 1 个标记基因^[19],上述发现使得开展猪抗性育种具有了可能性。F18 大肠杆菌黏附素 FedF 受体结合域及其关键氨基酸残基已被鉴定,将 FedF 受体结合域区段 DNA 克隆入 V 型分泌系统 MisL 的载体结构域上,使之在大肠杆菌工程菌表面呈分泌表达,并在体外测试上述功能性黏附素受体结合域与易感宿主仔猪肠上皮细胞的结合、粘附特性。对猪大肠杆菌 F18 受体相关基因 (FUT₁) 多态性与 F18 抗性/易感性的相关性进行了系统的研究分析,建立了猪抗 F18 大肠杆菌病分子育种的可行性方案,并首次在国内获得和验证抗 F18 大肠杆菌病 FUT₁ 基因 AA 型苏太猪核心群^[20-21]。上述研究认为这种转葡萄糖基酶把 1 个或多个单体的岩藻糖添加到 F18ab 菌毛受体上,当然这一受体特性还有待验证。

F17 菌毛的黏附素是 F17-G 次要亚基, F17-G 突变株产生的正常菌毛不能粘附猪肠上皮细胞。粘附抑制试验表明, F17a 菌毛的特异性糖基是牛粘蛋白或肠道糖蛋白的 O-连接寡糖上的末端或内部

的 N-乙酰葡糖胺^[22]。目前已经确定了结合 N-乙酰葡糖胺的 2 个 F17 黏附素 (F17-G 和 GafD) 的免疫球蛋白样凝集区域的晶体结构。

1.4 菌毛的生物合成

菌毛生物合成中,各亚单位蛋白多肽包括主要、次要结构亚单位,伴侣蛋白(chaperones)和推进蛋白(usher)都在胞浆内合成,带有特征信号序列各肽链在胞浆膜识别后通过通用分泌路径(General Secretary Pathway),输送至胞浆膜外,至周质间隙(periplasma)装配^[23]。由于菌毛是从基部开始生长的,所以连接在末端的次要亚基必须比主要亚基先递呈给推进蛋白。这些次要亚基在菌毛延伸的初始阶段是必不可少的,如下面对单个菌毛描述的那样,当次要亚基发生突变时,会导致菌毛减少或缺失。

987P 菌毛生物合成过程中,FasB 是主要结构单位,FasA 的周间隙伴侣蛋白,FasC 是黏附素 FasG 的伴侣蛋白,存在于周间隙内膜蛋白侧,FasE 为伴侣样蛋白质,存在于周间隙外膜蛋白内侧。伴侣蛋白除能保护结构亚单位在周间隙内有效装配,避免被周间隙内大量的外蛋白酶各自消化降解外,其重要功能在于保持伴侣蛋白——输出亚单位的适度构象,这种伴侣分子连接亚基形成的构象是维持亚基输出和组装的能量来源,亚基在伴侣蛋白的作用下释放和输送到推进蛋白 FasD,最后整合成螺旋状菌毛呈现在生长的细菌表面^[24]。FasD 也对菌毛纤维延伸起着锚定作用^[25]。FasF 为接合蛋白,把 FasA 和 FasG 连接起来,FasG 和 FasF 亚单位启动了菌毛的延伸,如果没有两者的参与,菌毛则不能表达,或仅有很稀少的短纤维存在(如 FasF 突变株)。

K88ab、K88ac 和 K88ad 菌毛的 DNA 序列差异在他们主要亚基 FaeG,而 K88ab 和 K88ac 的附加基因序列完全相同^[26]。K88 伴侣蛋白、FaeE 同质二聚体和推进蛋白 FaeD 都参与了粘附性主要亚基 FaeG 和 3-5 个次要亚基(FaeC, FaeF, FaeH, 以及可能的 FaeI 和 FaeJ)的输出。F41 基因簇与 K88 基因簇的基因排列相似,它们的输出和组装系统也密切相关。

K99 亚基的输出由单体分子伴侣蛋白 FanE 和推进蛋白 FanD 协调。次要亚基 FanF 位于菌毛的末端和轴干。FanG 和 FanH 都是 K99 菌毛的次要成分^[27],它们与 FanF 有关,并且参与菌毛的初始化和延伸。

根据 F18ab、F18ac 菌毛的序列,推测出 FedB 和 FedC 基因可能被用于编码 F18ab 亚基的推进分子和伴侣分子蛋白^[28]。这个菌毛的生物合成装置需要 3 种 F18ab 亚基(即主要成分 FedA, 2 个次要亚基 FedE 和黏附素 FedF)的输出和组装,FedE 参与了 FedF 的输出和组装,或是调控 F18 上 FedF 的粘附性质。

牛 ETEC 菌株 F17a 基因簇的 DNA 序列分析揭示四种基因(Genbank 登陆号为 AF022140)的存在,伴侣分子 F17a-D 和推进蛋白 F17a-C 在主要亚基 F17a-A 和次要粘附性亚基 F17a-G 的输出和组装过程中起着必需的作用。其主要亚基是用于 F17a-G 在细菌表面的输出、最终构象或呈递所必需的^[29]。

1.5 菌毛表达的调控

每个菌毛基因簇通常都包括了 1 个或 2 个专门调控该基因簇中其他基因的转录的基因。一般说来,菌毛基因簇每个转录方向只有 1 个启动子,但是,一些基因簇携带有多个启动子和操纵子以合成不同的附加蛋白^[30]。除了菌毛的专一性调控操作子外,每个菌毛基因簇通常都属于特异性调控操作子,这种调控操作子可以由全局性的调控操作子活化或抑制,转录调控保证了所有的细菌能够同步地开启或关闭菌毛的表达,其“开(on)”和“关(off)”变异株的比率取决于生长环境条件的变化;菌毛的表达也可以在转录后进行调控;另外,一些菌毛还会经历位相改变,人们认为位相变化能够在 1 个细菌种群突然接触到新环境时提高其存活率,这样的新环境可以筛选出更稀有的位相突变体。

K88 基因簇中的 FaeA 基因负调控 K88 的表达,其顺式调控是由 FaeB 上游第 3 个 GATC 位点的甲基化水平介导的。FaeA 和 FaeB 间 2 个 IsI 因子的存在,导致了在 FaeA 和 FaeB 的转录中,在 FaeA 的组成型表达及自激活中,都缺乏可探测到的 FaeB 调控效应。这些效应解释了 K88 菌毛不经历 P 菌毛那样的位相变化,却出现了相似的调控蛋白和顺式 GATC 位点^[31]。

K99 菌毛的产生或主要亚基 FanC 的转录在对数生长期被氧、低 pH 值和甘油激活,反之在稳定生长期,在高 pH 值环境中,以及含葡萄糖、丙酮酸盐、阿拉伯糖或乳糖的培养基中,表达的菌毛和 Fan 的转录较少。研究表明醋酸盐对菌毛的合成有强烈的抑制效应,并且当醋酸盐和葡萄糖在一起时完全抑

制了 K99 的表达, K99 表达还受到代谢产物阻遏的调控。两组产生 K99 的 ETEC 菌株可以根据不同生长条件下菌毛合成的调控机制进行区分。在 K99 基因转录中, K99 基因簇 5' 末端的 2 个基因 *FanA* 和 *FanB* 沿同一方向转录, 并且激活 K99 的表达, 它们扮演了位于 *fanA* 和 *fanB* 序列后 2 个终止子相关因子的转录反终止因子。*FanC* 序列后的第 2 个终止子包括了 1 个潜在的茎环结构的 1 个二重对称型, 表明该位点转录的终止不依赖任何因子。*Lrp* (亮氨酸相关调控蛋白) 通过与 *FanA* 启动子结合而激活 K99 转录, 丙氨酸和亮氨酸对 *Fan* 基因转录和 K99 菌毛表达的抑制效应可能是由 *Lrp* 介导的^[32]。*FanF* 和 *FanE* 之间的环茎结构可能是 *FanF* 转录的衰减器, *FanEF* 操纵子同 *FanABCD* 操纵子一样都受到分解代谢产物阻遏的调控。

早期研究指出在猪小肠内, 或者是在体外, 当细菌生长至稳定期时, 在空气介质界面形成菌膜, 987P 菌毛就能达到最佳的表达状态。987P 菌毛的表达要经历位相变化, 专一的环境信号或生长条件都可以控制位相变化的概率, 但是它的 DNA 片段不直接受到 DNA 倒位的调控, 且甲基化的调控并不参与 987P 的表达和位相变化, 尚不清楚双拷贝 987P 的 DNA 是否是位相变化所必需的。*FasH* 和 *FasA* 的表达都是应碳源和氮源而受到调控^[24], 由于这些营养信号在肠道环境中受到不同的调控, 使得不同的肠道病原体在肠道的各段优先定植^[33]。*FasH* (*FapR*) 是调节基因, 仅存在于染色体基因组上, 其 DNA 序列与转录活化因子 *Arac* DNA 结合序列相似, 正向调节 987P 菌毛和 *FasA* 表达^[34]。受体分布和不同肠段调节菌毛表达的不同环境信号决定着肠道大肠杆菌定居位点^[33]。

已知 F41 的表达由温度调控, 但是目前还没有报道过 F18 和 F17 菌毛合成的调控基因。F18 基因簇与兔的吸附和抹平大肠杆菌 AF/R1 菌毛基因簇相似^[16], 但 F18 的表达是否由与 AF/R1 的顺式转录调控因子相似的蛋白质调控还有待验证。

2 流行病学

近年来, 从病猪分离到的有菌毛的菌株出现的 K88 和 O 血清型的分型比 30 年前更少。例如, K88ac 变异株变得比其他 K88 变异株更具主导地

位, O149 成为了美国和欧洲 ETEC 的主要 O 血清型^[35]。有人认为这些血清型的变化是长期受到疫苗的压力造成的; 另外, 某些血清型的成功选择可能是由养猪业多年来发生的变化 (少数大型的设施) 引起的; 但是, 动物对 ETEC 的适应性也不是完全相同的^[24]。

3 研究意义

研究 ETEC 菌毛有助于更好地理解生物学以及致病过程中这些细胞器的作用; 也为疾病的诊断、预防和治疗工具打开了一道新的大门; 并且使得有效的肠道外抗粘附疫苗得到发展, 母猪的预防接种成为一项低成本高效力的健康管理策略等。这些对于我们深入了解 ETEC 病原菌的感染机理, 疾病诊断和新疫苗的开发中都具有重大意义。

4 结束语

多年来, 复合抗生素结合大肠杆菌商业化疫苗用于预防和临床治疗, 在一定程度上降低了初生仔猪和断奶仔猪腹泻率。上述疫苗的功绩在于特异性抵抗、抑制、中和体内已侵袭感染的 ETEC 病原菌, 减缓或尽量保护仔猪不发病, 但鉴于外界环境污染有大量病原菌和猪体内病原菌得不到有效清除, 长期和大量复合抗生素的使用, 导致多种耐药性 ETEC 不断产生和迅速水平传播扩散, 造成抗生素低效和在动物体内的蓄积, 也会导致动物胃肠道正常菌群紊乱, 消化不良, 引发胃肠道和机体抵抗力下降, 易继发或并发多种疾病; 免疫压力选择下不断增加产生优势血清型致病性菌株 (如 ETEC K88ac 的流行)。细菌进入机体的第一步也是最重要的关键步骤就是菌体表面黏附素和宿主细胞表面相应的特异性大分子受体结合, 而介导细菌的粘附、定植和繁殖, 导致宿主细胞信号传递和适当途径的介质传递, 从而引发机体在细胞、组织器官上的一系列生理生化变化过程。因此, 基于猪源产肠毒素大肠杆菌黏附素和黏附素操纵子基因克隆鉴定和体外功能性表达^[36-37], 易感仔猪肠上皮细胞大分子蛋白受体分离鉴定, 确定相应受体结合域、黏附素重要结合域和重要结合域中关键氨基酸残基以及它们各自结合域的特征化, 从分子水平上研究黏附素与易感宿主细胞

表面受体结合、粘附特性,相互作用的精确机制^[12],才能高效、特异性地旨在封闭/阻止肠道上皮细胞受体与 ETEC 病原菌的结合,开辟出非抗生素治疗、广谱、全新和高效的预防和阻断细菌性感染途径。

致谢 值此论文付梓之际,感谢美国宾夕法尼亚大学兽医学院 Dieter M. Schifferli 教授对本科科研项目的大力支持,并提出了许多宝贵建议,特别是提供了与 ETEC 菌毛研究密切相关的实验材料。

参考文献

- [1] Stirm S , Orskov I , Orskov F. K88 , an episome-determined protein antigen of *Escherichia coli*. *Nature* , 1966 , 209(5022) : 507-508.
- [2] Falkow S. Molecular Koch's postulates applied to microbial pathogenicity. *Reviews of Infectious Diseases* , 1988 , 10 Suppl 2 : S274-S276.
- [3] Jones GW , Rutter JM. Role of the K88 antigen in the pathogenesis of neonatal diarrhea caused by *Escherichia coli* in piglets. *Infection and Immunity* , 1972 , 6 (6) : 918-927.
- [4] Le Bouguenec C , Bertin Y. AFA and F17 adhesins produced by pathogenic *Escherichia coli* strains in domestic animals. *Veterinary Research* , 1999 , 30(2-3) : 317-342.
- [5] Thanassi DG , Saulino ET , Hultgren SJ. The chaperone/usher pathway: a major terminal branch of the general secretory pathway. *Current Opinion in Microbiology* , 1998 , 1(2) : 223-231.
- [6] Brooks DE , Cavanagh J , Jayroe D , Janzen J , Snoek R , Trust TJ. Involvement of the MN blood group antigen in shear-enhanced hemagglutination induced by the *Escherichia coli* F41 adhesin. *Infection and Immunity* , 1989 , 57(2) : 377-383.
- [7] Thomas WE , Trintchina E , Forero M , Vogel V , Sokurenko EV. Bacterial adhesion to target cells enhanced by shear force. *Cell* , 2002 , 109 (7) : 913-923.
- [8] Ponniah S , Endres RO , Hastly DL , Abraham SN. Fragmentation of *Escherichia coli* type 1 fimbriae exposes cryptic D-mannose-binding sites. *Journal of Bacteriology* , 1991 , 173(13) : 4195-4202.
- [9] Sirard JC , Niedergang F , Kraehenbuhl JP. Live attenuated *Salmonella*: a paradigm of mucosal vaccines. *Immunological Reviews* , 1999 , 171 : 5-26.
- [10] Bijlsma IG , Frik JF. Haemagglutination patterns of the different variants of *Escherichia coli* K88 antigen with porcine , bovine , guinea pig , chicken , ovine and equine erythrocytes. *Research in Veterinary Science* , 1987 , 43 (1) : 122-123.
- [11] Hur J , Lee KM , Lee JH. Age-dependent competition of porcine enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) with different fimbria genes-Short communication. *Acta Veterinaria Hungarica* , 2011 , 59(4) : 411-417.
- [12] Zhu GQ , Chen H , Choi BK , Del PF , Schifferli DM. Histone H1 proteins act as receptor for the 987P fimbrial of enterotoxigenic *E. coli*. *Journal of Biological Chemistry* , 2005 , 280(24) : 23057-23065.
- [13] Jacobs AA , Roosendaal B , van Breemen JF , de Graaf FK. Role of phenylalanine 150 in the receptor-binding domain of the K88 fibrillar subunit. *Journal of Bacteriology* , 1987 , 169(11) : 4907-4911.
- [14] Grange PA , Mouricout MA , Lavery SB , Francis DH , Erickson AK. Evaluation of receptor binding specificity of *Escherichia coli* K88 (F4) fimbrial adhesin variants using porcine serum transferrin and glycosphingolipids as model receptors. *Infection and Immunity* , 2002 , 70(5) : 2336-2343.
- [15] Jacobs AA , van den Berg PA , Bak HJ , de Graaf FK. Localization of lysine residues in the binding domain of the K99 fibrillar subunit of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Biochimica et Biophysica Acta* , 1986 , 872 (1-2) : 92-97.
- [16] Cantey JR , Blake RK , Williford JR , Moseley SL. Characterization of the *Escherichia coli* AF/R1 pilus operon: novel genes necessary for transcriptional regulation and for pilus-mediated adherence. *Infection and Immunity* , 1999 , 67(5) : 2292-2298.
- [17] Tielsa P , Verdoncka F , Smet A , Goddeeris B , Cox E. The F18 fimbrial adhesin FedF is highly conserved among F18⁺ *Escherichia coli* isolates. *Veterinary Microbiology* , 2005 , 110 (3-4) : 277-283.
- [18] Rippinger P , Bertschinger HU , Imberechts H , Nagy B , Sorg I , Stamm M , Wild P , Wittig W. Designations F18ab and F18ac for the related fimbrial types F107 , 2134P and 8813 of *Escherichia coli* isolated from porcine postweaning diarrhoea and from oedema disease. *Veterinary Microbiology* , 1995 , 45(4) : 281-295.
- [19] Vogeli P , Bertschinger H U , Stamm M , Stricker C , Hagger C , Fries R , Rapacz J , Stranzinger G. Genes specifying receptors for F18 fimbriated *Escherichia coli* ,

- causing oedema disease and postweaning diarrhoea in pigs, map to chromosome 6. *Animal Genetics*, 1996, 27 (5): 321-328.
- [20] 吴圣龙, 原志伟, 鞠慧萍, 黄雪根, 华金弟, 沈家林, 周冠月, 王建业, 谢恺舟, 陈国宏, 朱国强. 苏太仔猪 FUT1 基因 M307 位点多态性与 F18 大肠杆菌抗病相关性体外鉴定. *中国预防兽医学报 (Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine)*, 2007, 29 (10): 783-787.
- [21] 原志伟, 蒋颖, 王建业, 朱国强. V 型分泌系统菌体表面展示 F18 大肠杆菌黏附素及其受体结合位点的确定. *微生物学报 (Acta Microbiologica Sinica)*, 2007, 47 (2): 319-323.
- [22] Mouricout M, Milhavet M, Durie C, Grange P. Characterization of glycoprotein glycan receptors for *Escherichia coli* F17 fimbrial lectin. *Microbial Pathogenesis*, 1995, 18 (4): 297-306.
- [23] Stathopoulos C, Hendrixson DR, Thanassi DG, Hultgren SJ, St GJR, Curtiss RR. Secretion of virulence determinants by the general secretory pathway in gram-negative pathogens: an evolving story. *Microbes and Infection*, 2000, 2 (9): 1061-1072.
- [24] Osek J. Clonal analysis of *Escherichia coli* strains isolated from pigs with post-weaning diarrhea by pulsed-field gel electrophoresis. *FEMS Microbiology Letters*, 2000, 186 (2): 327-331.
- [25] Kehoe M, Sellwood R, Shipley P, Dougan G. Genetic analysis of K88-mediated adhesion of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Nature*, 1981, 291 (5811): 122-126.
- [26] Mol O, Oudega B. Molecular and structural aspects of fimbriae biosynthesis and assembly in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Review*, 1996, 19 (1): 25-52.
- [27] Simons LH, Willemsen PT, Bakker D, de Graaf FK, Oudega B. Localization and function of FanH and FanG, minor components of K99 fimbriae of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Microbial Pathogenesis*, 1991, 11 (5): 325-336.
- [28] Smeds A, Hemmann K, Jakava-Viljanen M, Pelkonen S, Imberechts H, Palva A. Characterization of the adhesin of *Escherichia coli* F18 fimbriae. *Infection and Immunity*, 2001, 69 (12): 7941-7945.
- [29] Lintermans PF, Bertels A, Schlicker C, Deboeck F, Charlier G, Pohl P, Norgren M, Normark S, van Montagu M, De Greve H. Identification, characterization, and nucleotide sequence of the F17-G gene, which determines receptor binding of *Escherichia coli* F17 fimbriae. *Journal of Bacteriology*, 1991, 173 (11): 3366-3373.
- [30] Lee J H, Isaacson R E. Expression of the gene cluster associated with the *Escherichia coli* pilus adhesin K99. *Infection and Immunity*. 1995, 63 (10): 4143-4149.
- [31] Huisman TT, de Graaf FK. Negative control of *fae* (K88) expression by the 'global' regulator Lrp is modulated by the 'local' regulator FaeA and affected by DNA methylation. *Molecular Microbiology*. 1995, 16 (5): 943-953.
- [32] Braaten BA, Platko JV, van der Woude MW, Simons BH, de Graaf FK, Calvo JM, Low DA. Leucine-responsive regulatory protein controls the expression of both the pap and fan pili operons in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*, 1992, 89 (10): 4250-4254.
- [33] Edwards RA, Keller LH, Schifferli DM. Improved allelic exchange vectors and their use to analyze 987P fimbria gene expression. *Gene*, 1998, 207 (2): 149-157.
- [34] Klaasen P, Woodward MJ, van Zijderveld FG, de Graaf FK. The 987P gene cluster in enterotoxigenic *Escherichia coli* contains an STpa transposon that activates 987P expression. *Infection and Immunity*, 1990, 58 (3): 801-807.
- [35] Frydendahl K. Prevalence of serogroups and virulence genes in *Escherichia coli* associated with postweaning diarrhoea and edema disease in pigs and a comparison of diagnostic approaches. *Veterinary Microbiology*, 2002, 85 (2): 169-182.
- [36] 张建军, 朱国强. 大肠杆菌 F18 菌毛操纵子全基因克隆、表达及生物学活性. *微生物学报 (Acta Microbiologica Sinica)*, 2007, 47 (5): 790-794.
- [37] 朱春红, 朱国强. 大肠杆菌 K88ac 菌毛操纵子 *fae* 全基因的克隆、表达及生物学活性初步研究. *生物技术通讯 (Letters in Biotechnology)*, 2008, 19 (2): 265-268.

Fimbriae of animal-originated Enterotoxigenic *Escherichia coli*—A review

Hong Zhou , Jun Zhu , Guoqiang Zhu *

College of Veterinary Medicine , Ministry of Education Key Lab for Avian Preventive Medicine , Yangzhou University , Yangzhou 225009 , China

Abstract: Animal-originated enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) are major pathogens resulting in newborn and young animal diarrhea. Adhesins and enterotoxins , both are essential for the pathogenicity of ETEC , are two major virulent factors of ETEC. Adhesion of animal-originated ETEC fimbrial adhesins (mainly including K88 , K99 , 987P , F18 , F17 and F41) to intestinal epithelial cells is the initial and most important step involved in the ETEC infection. From the 1960s , studies on ETEC fimbrial genes , structure , biosynthesis , regulation of expression , interaction between fimbriae and host receptors have helped to better understand the biology and role of these organelles in pathogenesis. These studies also provide insight into new diagnostic tools and development of vaccines and inhibitors of ETEC colonization.

Keywords: enterotoxigenic *Escherichia coli* (EETEC) , adhesin , fimbriae

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30571374 , 31072136 , 30771603) , by the Jiangsu High Education Key Basic Science Foundation (08KJA230002) , by the Genetically Modified Organisms Technology Major Project of China (2009ZX08006-004B) , by the Program for Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University "PCSIRT": IRT0978 and by the Priority Academic Program of Development Jiangsu Higher Education Institutions

* Corresponding author. Tel: +86-514-87972590; Fax: +86-514-87972218; E-mail: yzqzhu@hotmail.com , yzqzhu@yzu.edu.cn Received: 1 December 2011 / Revised: 13 March 2012

1953 年创刊以来所有文章全文上网

从 2008 年 1 月开始《微生物学报》的所有文章开始全文上网了。欢迎广大读者登陆本刊主页 (<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>) 浏览、查询、免费下载全文! 由于《微生物学报》历史久远,为方便读者查阅,将刊期变化作以下统计。

《微生物学报》刊、期统计表

2012 年 6 月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953 - 1956	半年刊	1 - 4	1 - 2
1957 - 1958	季刊	5 - 6	1 - 4
1959	季刊	7	1 - 2
1959 - 1962	停刊 3 年		
1962	季刊	8	3 - 4
1963 - 1965	季刊	9 - 11	1 - 4
1966	季刊	12	1 - 2
1966 - 1972	停刊 6 年半		
1973 - 1988	季刊	13 - 28	1 - 4
1989 - 2007	双月刊	29 - 47	1 - 6
2008 - 2011	月刊	48 - 51	1 - 12
2012	月刊	52	6