



链球菌脂蛋白的功能作用及其作为疫苗候选蛋白和抗菌药物靶标的研究进展*

阳小燕** 朱可欣 郭众 邓一丹 李莎 乐尧金**

(遵义医科大学珠海校区生物工程系, 珠海市中药基础及应用研究重点实验室, 珠海 519041)

摘要 脂蛋白是一类广泛存在于革兰氏阴性细菌和革兰氏阳性细菌中的细胞膜锚定蛋白, 具有多种生物学功能. 脂蛋白不仅作为细菌的毒力因子, 而且能够识别和激活宿主的免疫系统, 是当前预防和治疗细菌感染的热门靶点之一. 本文对链球菌中脂蛋白的主要功能及其在疫苗和抗菌药物研究中的进展进行了综述和展望, 为今后链球菌中脂蛋白的深入研究拓宽了思路.

关键词 脂蛋白, 肺炎链球菌, A族链球菌, B族链球菌, 变异链球菌, 疫苗, 抗菌药物靶标

中图分类号 Q5, R392

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0129

链球菌是一类革兰氏阳性细菌, 广泛存在于自然界、人及动物的粪便和健康人的鼻咽部, 常见的包括肺炎链球菌、A族链球菌(又称化脓链球菌)、B族链球菌(又称无乳链球菌)、变异链球菌、猪链球菌等. 链球菌属中对人类致病的主要是肺炎链球菌、A族链球菌、B族链球菌和变异链球菌, 这些链球菌会引起肺炎、脑膜炎、败血症、猩红热、丹毒、产褥热、感染性心内膜炎、链球菌中毒性休克综合征等一系列感染性疾病, 对人类健康造成重大威胁^[1-4]. 近年来随着抗生素在临床上的广泛应用以及不合理应用, 导致细菌的抗药性迅速提高和传播, 链球菌对青霉素、红霉素、克林霉素的耐药率持续上升, 并发现了对其他抗生素耐药的链球菌, 甚至还出现了耐受万古霉素的链球菌, 给临床上链球菌感染的治疗提出了新的挑战^[4-8]. 应对细菌耐药问题的主要措施包括正确合理使用抗生素、研制有效的疫苗和开发不同于现有抗生素作用机制的新型抗菌药物.

脂蛋白是细菌中一类重要的锚定在细胞膜上的分泌蛋白, 它通常含有由18~36个氨基酸组成的信号肽, 在营养物质和离子摄取、黏附宿主细胞、抗生素耐药性形成、蛋白质分泌、信号转导、接合、孢子形成、细胞分裂和细胞壁代谢等生物过程中发挥着重要作用^[9-13]. 脂蛋白作为细菌的信号分子能

触发宿主的固有免疫系统, 进而引起炎症, 并经Toll样受体识别引发固有免疫和适应性免疫反应^[10, 14]. 在革兰氏阳性细菌中, 脂蛋白暴露在细胞膜外, 不仅影响细菌的毒力, 而且能够刺激宿主的免疫系统, 因此脂蛋白可以成为这些细菌引发的感染性疾病的候选疫苗和药物靶标. 目前许多脂蛋白已被证明是潜在的疫苗和抗菌药物靶标, 成为当前抗菌研究的热门靶点之一^[15-17]. 鉴此, 本文主要介绍了链球菌中脂蛋白的功能及其作为疫苗候选蛋白和抗菌药物靶标的研究进展, 为预防和治疗链球菌感染疾病提供理论依据.

1 链球菌脂蛋白生物合成和基本概况

链球菌中脂蛋白的生物合成经历了以下步骤^[11, 18]: 第一步是脂蛋白前体分泌, 即在核糖体上由mRNA翻译合成的折叠或者未折叠的脂蛋白

* 国家自然科学基金(81860356, 31860259), 贵州省自然科学基金项目(黔科合基础[2020]1Y352), 遵义医科大学优秀青年人才计划(18zy-005)和遵义医学院2017年度博士科研启动资金(F-879, F-884)资助项目.

** 通讯联系人. Tel: 0756-7623310

阳小燕. E-mail: ouyangxiangyan@126.com

乐尧金. E-mail: leyaojin@163.com

收稿日期: 2020-05-04, 接受日期: 2020-06-12

前体在其信号肽序列的作用下, 定向到细胞质膜上, 并经 Sec 或 Tat 分泌途径穿过细胞质膜; 第二步是脂质修饰, 即脂质基团通过 Lgt (脂蛋白二酰基甘油转移酶) 共价连接到“脂盒”的半胱氨酸巯基上形成硫醚键; 第三步是信号肽切除, 即 Lsp (脂蛋白 II 型信号肽酶) 识别乙二酰基修饰的脂蛋白信号肽, 并在保守序列的保守切割位点将信号肽切除, 形成具有功能的成熟二酰基甘油基脂蛋白 (图 1)。成熟的二酰基甘油基脂蛋白形式是低 GC

(鸟嘌呤、胞嘧啶) 含量的革兰阳性菌 (包括链球菌) 中脂蛋白的主要存在形式, 而成熟的三酰化脂蛋白是革兰氏阴性菌和高 GC 含量的革兰阳性菌中脂蛋白的主要存在形式, 由 Lnt (脂蛋白 N-酰基转移酶) 催化磷脂酰乙醇胺的酰基链转移到半胱氨酸的 N 端形成的。近来有文献报道, 在低 GC 含量的革兰阳性菌 (包括链球菌) 中也存在成熟的三酰化脂蛋白^[17-18], 但是目前对链球菌中 Lnt 的功能和结构知之甚少。

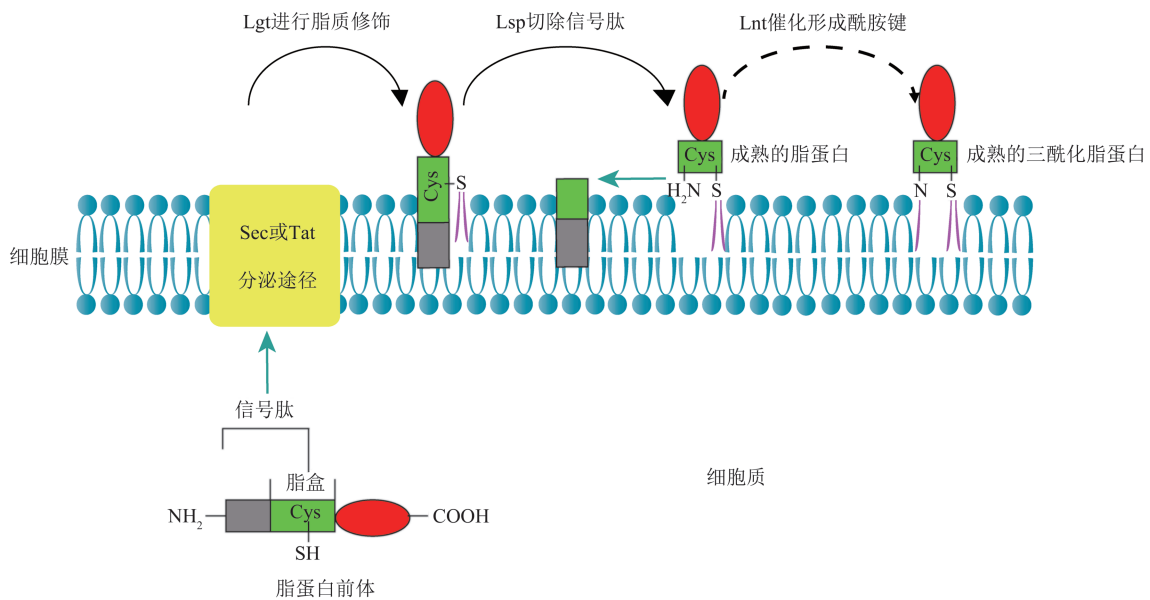


Fig. 1 The biosynthesis process of lipoproteins in *Streptococci*

图1 链球菌脂蛋白的生物合成过程

Lgt: 脂蛋白二酰基甘油转移酶; Lsp: 脂蛋白 II 型信号肽酶; Lnt: 脂蛋白 N-酰基转移酶, 虚线箭头代表在链球菌中有待进一步确证的步骤。

研究表明, 脂蛋白基因占细菌基因组的 1%~3%, 平均相当于有 30~80 个基因用于编码脂蛋白, 脂蛋白是细菌蛋白质组的重要组成部分^[17]。通过实验和生物信息学预测分析得知, 肺炎链球菌 TIGR4 菌株有 46 种脂蛋白^[19], 而肺炎链球菌 D39 菌株有 37 种脂蛋白^[20]。生物信息学分析结果显示, A 族链球菌 M1 血清型菌株有 30 种脂蛋白^[21], 而在 B 族链球菌中脂蛋白约占总蛋白质组的 2%, 其中 B 族链球菌 2603/V 菌株中有 44 种脂蛋白, B 族链球菌 NEM316 菌株中有 41 种脂蛋白^[22]。这些脂蛋白参与链球菌的许多重要的生物过程, 具有多种生物学功能 (图 2)。

2 链球菌脂蛋白的生物学功能

2.1 脂蛋白作为 ABC 转运系统的底物结合蛋白

ABC 转运系统 (ATP-binding cassette (ABC) transporters) 是一类广泛分布于生物体中的蛋白质复合物, 它们能够跨过细胞膜的磷脂双分子层转运特定的底物, 包括金属离子、铁载体、糖类、氨基酸、肽类和维生素等^[23-24]。在细菌中, 所有 ABC 转运系统具有共同的结构, 即两个跨膜结构域 (transmembrane domains, TMDs), 两个核苷酸结合结构域 (nucleotide-binding domains, NBDs) 和一个底物结合蛋白 (substrate-binding

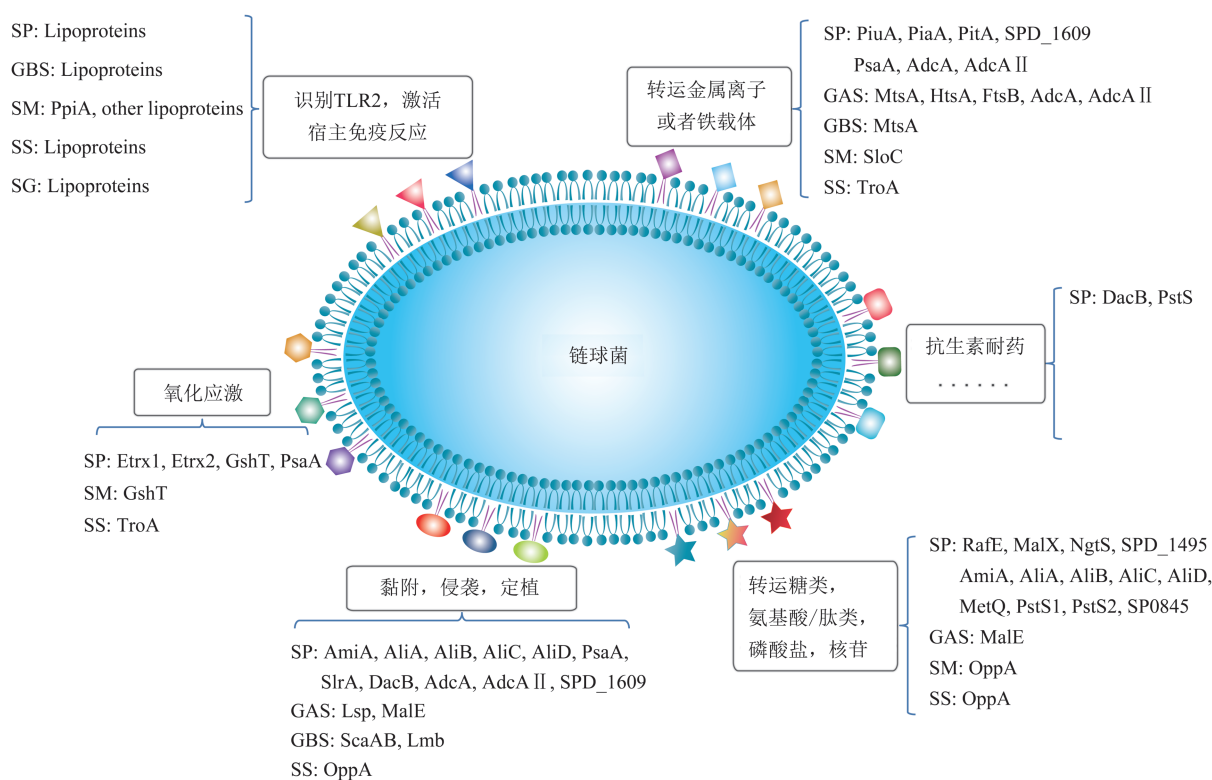


Fig. 2 The biological function of known lipoproteins in *Streptococci*

图2 链球菌中已知脂蛋白的生物学功能

SP: 肺炎链球菌; GAS: A族链球菌; GBS: B族链球菌; SM: 变异链球菌; SS: 猪链球菌; SG: 戈登链球菌。

proteins, SBPs)。底物结合蛋白是一类典型的脂蛋白，其作为具有高亲和力的受体，能特异性地结合底物，并将底物传递给相应的ABC转运系统^[23, 25-26]。有研究报道，在肺炎链球菌和B族链球菌中分别至少有20个脂蛋白参与底物结合^[19, 22]。

2.1.1 参与金属离子或者铁载体的转运

金属离子如铁、锰、锌、铜等在细菌中参与许多重要的生物过程，它们不仅作为蛋白质的辅因子维持蛋白质的结构和功能，还在信号传导和毒力调节中发挥重要作用，是细菌生存所必需的微量元素^[27-29]。细菌体内约1/4到1/3蛋白质是金属蛋白，这些蛋白质在执行功能时都需要金属离子的参与，因此细菌进化出了一系列ABC转运系统，用于从宿主环境中摄取金属离子^[30]。在链球菌中常见的金属离子ABC转运系统有铁离子ABC转运系统、锰离子ABC转运系统和锌离子ABC转运系统。

在肺炎链球菌中，已报道有4个脂蛋白参与铁离子、血红素或者铁载体的转运，它们分别是PiuA (SPD_1652)、PiaA (SPD_0915)、PitA和

SPD_1609脂蛋白^[13, 31-32]。铁载体是一类对三价铁离子具有高特异性和高亲和力 ($K_{\text{aff}} > 10^{30}$) 的低分子量化合物 ($< 1000 \text{ Du}$)^[33]，其中PiuA脂蛋白主要参与血红素的转运^[34]，PiaA脂蛋白主要参与铁色素（一种铁载体）的转运^[35]，PitA和SPD_1609脂蛋白主要参与铁离子的转运^[13, 32]。在A族链球菌中，MtsA/HtsA（又称SiaA），和FtsB三个脂蛋白分别参与铁离子、血红素或铁载体的转运^[36-38]，且MtsA脂蛋白不仅能转运 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} ，还能转运 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Cu^{2+} ^[36, 39]。同样地，B族链球菌中脂蛋白MtsA也参与 Fe^{2+} 和 Mn^{2+} 的转运^[40]。在变异链球菌中，有研究报道脂蛋白SloC参与 Fe^{2+} 和 Mn^{2+} 的转运^[41]。

锰离子ABC转运系统是链球菌中另一重要的金属离子转运系统，除了MtsA和SloC脂蛋白能转运 Mn^{2+} 之外，肺炎球菌表面黏附素A (PsaA)是在肺炎链球菌中研究最多、最详细的锰离子转运脂蛋白，该蛋白质除了能转运 Mn^{2+} ，还能转运 Zn^{2+} ^[42]，脂蛋白PsaA具有多种生物学功能并存在

于所有已知的肺炎链球菌血清型分型中^[43]. 有研究发现猪链球菌中的脂蛋白 TroA 也能转运锰离子^[44].

脂蛋白 AdcA 和 AdcAII (又称 Lmb 蛋白、Lsp 蛋白或者 Lbp 蛋白) 是两个广泛存在于链球菌中参与锌离子转运的底物结合蛋白, 这两个蛋白质有助于维持细菌体内锌稳态^[45-47].

2.1.2 参与糖类、氨基酸/肽类、磷酸盐、核苷的转运

从宿主环境中获取必需营养素是病原体细菌生存和成功感染宿主的前提条件. 为了维持生长和感染能力, 细菌除了从宿主环境获取金属离子, 还需要获取糖类、氨基酸、肽类、磷酸盐、核苷等其他营养物质. 已有的研究结果显示, 在肺炎链球菌中至少有 4 个 ABC 转运系统脂蛋白参与糖类的转运, 分别是脂蛋白 RafE^[48]、MalX^[49]、NgtS (SPD_0090)^[50]、SPD_1495^[51]. 其中脂蛋白 MalX 在肺炎链球菌利用外源性宿主糖原供自身生长过程中发挥重要作用^[49]. Robb 等^[50] 发现脂蛋白 NgtS 能够转运糖原, 而脂蛋白 SPD_1495 不仅参与糖转运, 而且负调节荚膜多糖的形成, 从而增强细菌在宿主中的毒力^[51]. 在 A 族链球菌中, 脂蛋白 MalE 不仅参与转运麦芽糖/麦芽糊精, 而且有助于 A 族链球菌在小鼠口咽中定植^[52]. 在变异链球菌中, 脂蛋白 MsmE 和 MalE 协同转运其共同的底物——糖类 (特别是蔗糖和麦芽糖)^[53], 而且脂蛋白 MsmE 还是变异链球菌中蜜二糖代谢所必需的^[54].

链球菌中还有一系列参与氨基酸/肽类转运的脂蛋白, 已报道在肺炎链球菌中脂蛋白 AmiA、AliA、AliB、AliC 和 AliD 均参与肽类的转运^[55-57], 而脂蛋白 MetQ 参与甲硫氨酸的摄取和转运^[58]. 此外, 在变异链球菌和猪链球菌中脂蛋白 OppA 也参与肽类的转运^[59-60].

Tettelin 等^[48] 通过分析肺炎链球菌的全基因组发现脂蛋白 PstS1 和 PstS2 可能参与转运磷酸盐. 脂蛋白 SP0845 则通过结合胞苷、尿苷、鸟苷和肌苷参与核苷转运^[61].

2.2 脂蛋白参与氧化应激过程

产生活性氧 (ROS) 是宿主抵抗侵入性病原微生物的重要手段之一, 暴露于过量的 ROS 中会损伤细菌的 DNA、蛋白质或者细胞膜脂质等生物大分子^[62]. 抵抗氧化应激对于链球菌来说至关重要, 因为可确保链球菌成功定植于宿主细胞以及有利于

随后的疾病发生发展. 因此, 链球菌已经进化出强大的 ROS 防御体系用于应对氧化应激, 包括形成特定的脂蛋白, 摄取还原型谷胱甘肽 (GSH) 等^[62].

虽然肺炎链球菌缺少中和 H₂O₂ 的过氧化氢酶, 但是已报道其脂蛋白组中有 4 个蛋白质参与氧化应激过程, 包括: 两个类硫氧还蛋白脂蛋白 Etrx1 和 Etrx2^[63-64]、GSH 转运脂蛋白 GshT^[65], 以及脂蛋白 PsaA^[66]. 脂蛋白 Etrx1 和 Etrx2 能够还原被氧化的甲硫氨酸亚砷还原酶 (SpMsrAB2), 同时缺失 Etrx1 和 Etrx2 蛋白不仅导致肺炎链球菌更容易被 H₂O₂ 杀死, 还会增强巨噬细胞对肺炎链球菌的吞噬作用, 而且显著降低肺炎链球菌在小鼠肺炎感染和脑膜炎感染模型中的毒力^[63-64]. GSH 能够保护细胞免受氧化损伤, 谷胱甘肽 ABC 转运系统的底物结合蛋白 GshT 帮助肺炎链球菌和变异链球菌转运摄取 GSH 抵御氧化还原压力^[65, 67]. Johnston 等^[66] 报道脂蛋白 PsaA 也能使肺炎链球菌免受超氧化物的损伤. 另外, 研究显示脂蛋白 TroA 有助于猪链球菌应对氧化应激^[44].

2.3 脂蛋白参与链球菌对宿主细胞黏附、侵袭和定植过程

侵袭是指细菌侵入宿主细胞的过程. 黏附、侵袭和定植是细菌感染宿主细胞的第一步, 在致病过程中起着决定性作用. 研究表明, 许多链球菌脂蛋白作为毒力因子参与对宿主细胞黏附、侵袭和定植过程.

Kerr 等^[56] 研究显示肺炎链球菌的肽类转运脂蛋白 AmiA、AliA 和 AliB 影响肺炎链球菌在鼻咽部的定植, 另外两个肽类转运脂蛋白 AliC 和 AliD 不但增强肺炎链球菌在鼠鼻咽部的定植能力, 而且提高肺炎链球菌的侵袭能力^[57]. 脂蛋白 PsaA、SlrA 或者 DacB 的缺失都会显著降低肺炎链球菌对上皮细胞的黏附和定植能力^[43, 68-69]. 另外我们团队发现, 与野生型菌株相比, 缺失铁转运脂蛋白 SPD_1609 会显著降低肺炎链球菌对人肺上皮细胞的黏附和侵袭能力^[13]. 有意思的是, Brown 等^[70] 报道缺失锌转运脂蛋白 AdcAII 降低肺炎链球菌在鼻咽部的定植能力, 但是缺失锌转运脂蛋白 AdcA 或 AdcAII 会显著增加肺炎链球菌对人肺上皮细胞的侵袭能力.

Elsner 等^[71] 研究报道缺失脂蛋白 Lsp 会显著降低 A 族链球菌对人上皮细胞的黏附能力, 而缺失

脂蛋白 MalE 则会减少 A 族链球菌在小鼠口咽部的定植数目^[52]。在 B 族链球菌中, 脂蛋白 ScaAB 作为黏附素会影响 B 族链球菌对人上皮细胞的黏附能力^[72], Tenenbaum 等^[73]报道脂蛋白 Lmb 促进 B 族链球菌侵袭人脑微血管内皮细胞。脂蛋白 OppA 影响猪链球菌的生长及其对人上皮细胞的黏附能力^[60]。

2.4 脂蛋白识别 Toll 样受体 2 (TLR2) 激活宿主免疫反应

固有免疫是机体防御微生物感染的第一道防线, 上皮细胞和吞噬细胞上的模式识别受体 (PRR) 能够在早期识别细菌。Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 是一类分布广泛的固有免疫模式识别受体, 可识别来源于微生物的病原体相关分子模式 (pathogen associated molecular pattern, PAMP), 主要表达于单核细胞、巨噬细胞、树突细胞等具有免疫功能的细胞中^[74]。TLRs 识别 PAMP, 激活固有免疫, 诱导产生多种细胞因子, 产生炎症反应, 帮助机体建立获得性免疫, 在抗细菌感染免疫中发挥重要作用^[74]。TLRs 识别的 PAMP 包括来自细菌的脂多糖、肽聚糖、磷壁酸和脂蛋白。在机体中, TLR4 以二聚体形式识别革兰氏阴性细菌的脂多糖, 而 TLR2 与 TLR1 或 TLR6 形成异源二聚体识别革兰氏阳性细菌的肽聚糖、磷壁酸和脂蛋白^[75]。

近年来许多研究表明, 脂蛋白在宿主和链球菌的相互作用中起重要作用。Tomlinson 等^[76]研究结果显示, 脂蛋白是激活 TLR2 介导的针对肺炎链球菌免疫反应的关键因子, 与野生型菌株相比, 表面脂蛋白缺陷菌株 Δ lgt 中巨噬细胞的 NF- κ B 激活和 TNF- α 释放显著降低。在 B 族链球菌中, 成熟的脂蛋白是 TLR2 的主要激活因子, 在败血症的发展过程中发挥着重要作用^[77]。在变异链球菌中, Mukouhara 等^[78]通过比较分析人巨噬细胞分别感染野生型菌株和脂蛋白 PpiA 缺失突变株后的吞噬情况及其胶原结构的巨噬细胞受体 (MARCO) 的表达情况, 发现脂蛋白 PpiA 抑制巨噬细胞中 MARCO 介导对变异链球菌的吞噬作用; Segawa 等^[79]研究戈登链球菌和变异链球菌的野生型菌株和脂蛋白缺陷菌株 Δ lgt 在人血管内皮细胞和小鼠中的生物活性差异, 发现脂蛋白在宿主体内和体外识别这两种口腔链球菌过程中起着重要作用。

同样地, 脂蛋白在猪链球菌被宿主细胞 TLR2

识别的过程中也发挥着重要作用。为了更好地了解固有免疫在对抗猪链球菌感染中的作用, Wichgers 等^[80]分析了临床上猪链球菌血清型 2 和 9 菌株对人类 Toll 样受体的激活情况, 结果显示这两种血清型的猪链球菌脂蛋白均识别并激活 TLR2/6 复合物而不是 TLR1/2 复合物。接着, 他们团队用猪链球菌感染猪外周血单核细胞, 通过质谱鉴定发现有 9 个脂蛋白可能参与固有免疫激活过程, 进一步研究发现脂蛋白缺陷菌株 Δ lgt 确实会显著降低对猪外周血单核细胞的激活作用, 表明脂蛋白确实能够激活宿主细胞的固有免疫^[81]。最近 Lavagna 等^[82]发现溶血素缺失的猪链球菌诱导宿主细胞产生 IL-1 β 是由脂蛋白识别并激活 TLR2 介导的。另外在戈登链球菌中, 通过比较磷壁酸缺陷菌株 (Δ ltaS) 和脂蛋白缺陷型菌株 (Δ lgt) 分别诱导人单核细胞系 THP-1 和小鼠骨髓来源的巨噬细胞 (BMDM) 中的促炎细胞因子的表达情况, 发现在引起宿主感染和炎症反应过程中起主要作用的是脂蛋白而不是磷壁酸^[83]。

2.5 脂蛋白的其他生物学功能

随着对脂蛋白的深入研究, 脂蛋白在链球菌中的其他功能也陆续被发现。例如, 肺炎链球菌脂蛋白 DacB 在肽聚糖结构、细菌形态和毒力方面发挥着重要作用, 缺失脂蛋白 DacB 不仅严重影响该菌的细胞形态、细胞分裂以及在巨噬细胞中的存活率, 而且增加肺炎链球菌对万古霉素的敏感性^[69, 84]; 脂蛋白 PstS 的表达量与肺炎链球菌对青霉素耐药性成正比, 失活 PstS 显著降低该菌对青霉素的耐药性^[85]; 肺炎链球菌脂蛋白 PrsA 可能作为蛋白质折叠伴侣参与蛋白质折叠^[9]; 变异链球菌脂蛋白 PrtM 参与 K⁺ 的利用, 有助于该菌的渗透适应能力^[86]。

3 链球菌脂蛋白作为疫苗候选蛋白

抗生素的广泛使用和滥用, 使得细菌耐药性和耐药菌感染成为 21 世纪全球抗感染领域面临的严峻问题, 特别是多重耐药性菌的出现造成抗感染治疗失败, 导致发病率和死亡率上升、医疗费用增加^[87-89]。研制有效的疫苗和开发不同于现有抗生素作用机制的新型抗菌药物被认为是应对细菌耐药问题的两个重要措施。脂蛋白因其广泛存在于革兰氏阴性菌和阳性菌中, 且暴露在细胞膜外不仅作为细菌的毒力因子, 而且作为激动剂能够刺激宿主的免

疫系统, 因此近年来在疫苗和抗菌药物研究中备受关注.

已有研究报道多种链球菌蛋白作为潜在的疫苗候选物, 特别是暴露在细菌表面的蛋白质(如脂蛋白), 它们是蛋白疫苗中最有潜力的候选物(表1). 这些蛋白质不仅具有较高的保守性和较强的免疫原性, 而且理论上能够同时引起体液免疫和细胞免疫, 从而诱导产生更为有效的免疫应答^[15].

在肺炎链球菌中, 研究最多的脂蛋白疫苗是PsaA蛋白, 该蛋白质高度保守, 存在于所有已发现的肺炎链球菌菌株中^[43]. PsaA蛋白具有强的免疫原性, 不但在成人体内而且在儿童体内能产生抗体反应^[90]. 虽然被动和主动免疫结果显示, 脂蛋白PsaA在抵抗系统性肺炎链球菌感染方面的作用甚微, 但是免疫重组PsaA蛋白能够降低肺炎链球菌在小鼠体内的定植数目^[91]. 为了达到更好的免疫保护效果, 经常将脂蛋白PsaA和其他蛋白抗原联合使用, 例如: 与单独免疫PsaA蛋白相比, PsaA与PspA蛋白联合免疫能够增强对小鼠的保护效果^[92]. Lu等^[93]用PsaA-PspA融合蛋白免疫小鼠不仅诱导小鼠产生高水平的PsaA和PspA抗体, 而且诱导IL-17A分泌, 攻毒实验结果显示免疫PsaA-PspA融合蛋白帮助小鼠免受系统性肺炎链球菌感染. 免疫二价蛋白疫苗(包含PsaA-PspA23融合蛋白和PspA4蛋白)与铝佐剂混合物显著提高不同血清型肺炎链球菌感染小鼠的存活率^[94]. PsaA与霍乱毒素B亚基的融合蛋白(CTB-PsaA)鼻内免疫小鼠不仅保护小鼠免受肺炎链球菌在鼻咽部的定植, 而且不会改变小鼠口腔和鼻咽的正常微生物群^[95]. Lu等^[96]构建了PsaA与肺炎链球菌溶血素(Ply)无毒衍生物PdT的融合蛋白(PsaA-PdT), 并将PsaA-PdT融合蛋白与细胞壁多糖联用能保护小鼠免受黏膜和系统性肺炎链球菌感染. 此外, PsaA与无毒突变体6Ply的融合蛋白(PsaA Δ 6Ply)可显著调节和增强促炎性CD4⁺ T细胞应答, 进而增强小儿黏膜免疫应答^[97].

将重组脂蛋白PiuA和PiaA与佐剂混匀后免疫小鼠, 显著提高了小鼠在系统性和呼吸道肺炎链球菌感染中的存活率^[98-99]. Jomaa等^[100]进一步研究显示, 抗PiuA和抗PiaA抗体可增强细胞对不同血清型肺炎链球菌的补体依赖性和非依赖性调理吞噬作用, 表明接种PiaA和PiuA疫苗是通过促进细菌性调理吞噬作用而非抑制铁转运来预防肺炎链球菌感染的. Whalan等^[101]发现来自不同血清型肺炎链

球菌感染的败血症患者血清能与重组PiuA和PiaA蛋白发生血清型非依赖性抗体反应, 且在7个月的健康婴儿中也发现了抗PiuA和抗PiaA抗体, 提示PiuA和PiaA蛋白疫苗不仅可覆盖多种血清型肺炎链球菌感染, 而且可以有效地预防2岁以下的婴幼儿肺炎链球菌感染. 免疫重组SP0845蛋白为小鼠在系统性肺炎链球菌感染中提供保护作用^[61].

在A族链球菌中, 主动或者被动免疫脂蛋白HtsA保护小鼠抵抗皮下A族链球菌感染^[102], 而用不含信号肽的重组AdcA蛋白免疫小鼠可显著提高被不同血清型A族链球菌系统性感染小鼠的存活率^[103]. 在B族链球菌中, 用重组蛋白ScaAB免疫小鼠诱导产生了较高水平的抗体, 表明ScaAB具有免疫原性^[104], 加入抗脂蛋白Lmb的多克隆抗体显著降低B族链球菌对宿主细胞的侵袭能力^[73].

4 链球菌脂蛋白作为抗菌药物靶标

理想的抗菌药物靶标需符合两个条件: 一是多种细菌生长所必需的; 二是原核生物特有的, 在宿主细胞中无同源物. 脂蛋白广泛存在于革兰氏阴性细菌和阳性细菌中, 作为毒力因子在宿主和病原菌相互作用中起重要作用, 因此靶向脂蛋白的生物合成和成熟途径被认为是一种有前途的抗菌策略^[17]. 链球菌中主要参与脂蛋白合成和成熟的酶包括: Lgt(二酰基甘油转移酶)和Lsp(脂蛋白信号肽酶). 这两种酶的缺失会导致链球菌活力和致病能力的下降^[17-18, 23, 79, 81, 105-106], 而且这两个酶是原核生物所特有的, 在人宿主细胞中无同源蛋白, 因此Lgt和Lsp可作为潜在的针对链球菌抗菌药物靶标(表1). 虽然目前还未发现特异性靶向抑制Lgt的抑制剂, 但是研究发现有三个针对Lsp的抑制剂, 分别是格罗泊霉素(Globomycin)、苯甲酰胺类化合物(Inhibitor-99)和抗生素TA(Myxovirescin)^[17]. Khandavilli等^[23]研究发现表达肺炎链球菌Lsp蛋白能帮助大肠杆菌拮抗Globomycin毒性.

此外, 靶向干预特定脂蛋白的药物也显示出抗链球菌的活性(表1), Pramanik和Braun的研究结果显示阿波霉素(Albomycin)能够与肺炎链球菌的铁载体转运脂蛋白FhuD(又名PiaA)结合, 并通过该系统进入细菌体内发挥抗菌作用^[107]. 我们团队的前期研究显示钉配合物R-825能够与铁色素竞争结合脂蛋白PiaA, 双铈配合物能够与血红素竞争结合脂蛋白PiuA, 降低肺炎链球菌的铁获取,

从而抑制细菌的生长^[108-109]. Obaidullah等^[110]通过虚拟筛选发现了一系列潜在靶向抑制肺炎链球菌

转运系统脂蛋白PsaA的小分子,为开发新型抗菌药物提供了可行的策略.

Table 1 Known lipoprotein-related vaccine candidates and antimicrobial targets in Streptococci

表1 链球菌中已知的与脂蛋白相关的疫苗候选物和抗菌药物靶标

物种	蛋白质名	应用领域	参考文献
肺炎链球菌	PsaA	疫苗候选物和抗菌药物靶标	[43,90,110]
肺炎链球菌	PiuA	疫苗候选物和抗菌药物靶标	[98-99,109]
肺炎链球菌	PiaA	疫苗候选物和抗菌药物靶标	[98-99,108]
肺炎链球菌	Sp0845	疫苗候选物	[61]
A族链球菌	HtsA	疫苗候选物	[102]
A族链球菌	AdcA	疫苗候选物	[103]
B族链球菌	ScaAB	疫苗候选物	[104]
B族链球菌	Lmb	疫苗候选物	[73]
肺炎链球菌、变异链球菌、猪链球菌、B族链球菌	Lgt、Lsp	抗菌药物靶标	[17,23,79,81,105-106]

5 总结和展望

脂蛋白作为链球菌蛋白组的重要一族,不仅参与转运金属离子、糖类、氨基酸/肽类、磷酸盐、核苷等营养物质,氧化应激过程以及对宿主细胞黏附、侵袭和定植等多种生物学过程,而且识别TLR2受体诱导宿主产生免疫应答,甚至还参与抗生素的耐药性形成过程.更重要的是,脂蛋白在链球菌中保守性较高且具有免疫原性,阻断脂蛋白的生物合成过程可以显著降低链球菌在宿主体内的生存能力和致病性,因此脂蛋白被认为是链球菌中有潜力的候选疫苗和药物靶标.随着生物技术不断发展和完善以及研究的深入,越来越多的链球菌脂蛋白种类及功能被发现,但是大部分脂蛋白疫苗的开发处在动物实验阶段,针对脂蛋白的抗菌药物研究也才刚刚起步,还有一系列问题等待解决,例如:
a. 是否还有未被鉴定的脂蛋白,其他已鉴定的假定脂蛋白具有何种生物学功能?
b. 脂蛋白是如何与TLR2相互作用,激活宿主免疫应答?
c. 哪些脂蛋白在参与识别TLR2的过程中扮演重要的角色?
d. 哪些脂蛋白在链球菌中高度保守,并在多种链球菌中具有抗原性和免疫保护效果,能够用于制备针对多种链球菌感染的蛋白联合疫苗?
e. 除已知的Lgt、Lsp、PsaA、PiaA和PiuA外,还有哪些脂蛋白能够作为抗菌药物靶标?等等.这些问题的解决将为预防和治疗链球菌感染的疾病提供新的视角,为脂蛋白在疫苗和抗菌药物研究领域的应用提供更广阔的前景.

参 考 文 献

- [1] Kanwal S, Vaitla P. Streptococcus Pyogenes [M]. StatPearls. Treasure Island (FL). 2020
- [2] Raabe V N, Shane A L. Group B streptococcus (*Streptococcus agalactiae*). Microbiology Spectrum, 2019, 7(2): 10.1128/microbiolspec.GPP3-0007-2018
- [3] Ralph A P, Carapetis J R. Group a streptococcal diseases and their global burden. Current Topics in Microbiology and Immunology, 2013, 368:1-27
- [4] Van Der Poll T, Opal S M. Pathogenesis, treatment, and prevention of pneumococcal pneumonia. Lancet, 2009, 374(9700): 1543-1556
- [5] Musser J M, Beres S B, Zhu L, et al. Reduced *in vitro* susceptibility of *Streptococcus pyogenes* to beta-lactam antibiotics associated with mutations in the pbp2x gene is geographically widespread. Journal of Clinical Microbiology, 2020, 58(4):e01993-19
- [6] Oppegaard O, Skrede S, Mylvaganam H, et al. Emerging threat of antimicrobial resistance in beta-hemolytic Streptococci. Frontiers in Microbiology, 2020, 11:797
- [7] Hayes K, O'halloran F, Cotter L. A review of antibiotic resistance in Group B Streptococcus: the story so far. Critical Reviews in Microbiology, 2020, 1-17
- [8] Novak R, Henriques B, Charpentier E, et al. Emergence of vancomycin tolerance in *Streptococcus pneumoniae*. Nature, 1999, 399(6736): 590-593
- [9] Bartual S G, Alcorlo M, Martinez-Caballero S, et al. Three-dimensional structures of Lipoproteins from *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*. International Journal of Medical Microbiology, 2018, 308(6): 692-704
- [10] Braun V, Hantke K. Lipoproteins: structure, function, biosynthesis. Sub-cellular Biochemistry, 2019, 92:39-77
- [11] Hutchings M I, Palmer T, Harrington D J, et al. Lipoprotein

- biogenesis in Gram-positive bacteria: knowing when to hold 'em, knowing when to fold 'em. *Trends in Microbiology*, 2009, **17**(1): 13-21
- [12] Kovacs-Simon A, Titball R W, Michell S L. Lipoproteins of bacterial pathogens. *Infection and Immunity*, 2011, **79**(2): 548-561
- [13] Yang X Y, Li N, Xu J Y, *et al.* Lipoprotein SPD_1609 of *Streptococcus pneumoniae* promotes adherence and invasion to epithelial cells contributing to bacterial virulence. *Frontiers in Microbiology*, 2019, **10**:1769
- [14] Nguyen M T, Gotz F. Lipoproteins of Gram-positive bacteria: key players in the immune response and virulence. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2016, **80**(3): 891-903
- [15] Leng C H, Liu S J, Chen H W, *et al.* Recombinant bacterial lipoproteins as vaccine candidates. *Expert Review of Vaccines*, 2015, **14**(12): 1623-1632
- [16] Voss F, Kohler T P, Meyer T, *et al.* Intranasal vaccination with lipoproteins confers protection against Pneumococcal colonisation. *Frontiers in Immunology*, 2018, **9**:2405
- [17] El Arnaout T, Soulimane T. Targeting lipoprotein biogenesis: considerations towards antimicrobials. *Trends in Biochemical Sciences*, 2019, **44**(8): 701-715
- [18] Kurokawa K, Ryu K H, Ichikawa R, *et al.* Novel bacterial lipoprotein structures conserved in low-GC content gram-positive bacteria are recognized by Toll-like receptor 2. *The Journal of Biological Chemistry*, 2012, **287**(16): 13170-13181
- [19] Perez-Dorado I, Galan-Bartual S, Hermoso J A. Pneumococcal surface proteins: when the whole is greater than the sum of its parts. *Molecular Oral Microbiology*, 2012, **27**(4): 221-245
- [20] Pribyl T, Moche M, Dreisbach A, *et al.* Influence of impaired lipoprotein biogenesis on surface and exoproteome of *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Proteome Research*, 2014, **13**(2): 650-667
- [21] Lei B, Liu M, Chesney G L, *et al.* Identification of new candidate vaccine antigens made by *Streptococcus pyogenes*: purification and characterization of 16 putative extracellular lipoproteins. *The Journal of Infectious Diseases*, 2004, **189**(1): 79-89
- [22] Sutcliffe I C, Harrington D J. Putative lipoproteins of *Streptococcus agalactiae* identified by bioinformatic genome analysis. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2004, **85**(4): 305-315
- [23] Khandavilli S, Homer K A, Yuste J, *et al.* Maturation of *Streptococcus pneumoniae* lipoproteins by a type II signal peptidase is required for ABC transporter function and full virulence. *Molecular Microbiology*, 2008, **67**(3): 541-557
- [24] Davidson A L, Dassa E, Orelle C, *et al.* Structure, function, and evolution of bacterial ATP-binding cassette systems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2008, **72**(2): 317-364
- [25] Maqbool A, Horler R S, Muller A, *et al.* The substrate-binding protein in bacterial ABC transporters: dissecting roles in the evolution of substrate specificity. *Biochemical Society Transactions*, 2015, **43**(5): 1011-1017
- [26] Counago R M, Mcdevitt C A, Ween M P, *et al.* Prokaryotic substrate-binding proteins as targets for antimicrobial therapies. *Current Drug Targets*, 2012, **13**(11): 1400-1410
- [27] Andreini C, Bertini I, Cavallaro G, *et al.* Metal ions in biological catalysis: from enzyme databases to general principles. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 2008, **13**(8): 1205-1218
- [28] Hood M I, Skaar E P. Nutritional immunity: transition metals at the pathogen-host interface. *Nature Reviews Microbiology*, 2012, **10**(8): 525-537
- [29] Begg S L. The role of metal ions in the virulence and viability of bacterial pathogens. *Biochemical Society Transactions*, 2019, **47**(1): 77-87
- [30] Waldron K J, Robinson N J. How do bacterial cells ensure that metalloproteins get the correct metal? *Nature Reviews Microbiology*, 2009, **7**(1): 25-35
- [31] Brown J S, Gilliland S M, Holden D W. A *Streptococcus pneumoniae* pathogenicity island encoding an ABC transporter involved in iron uptake and virulence. *Molecular Microbiology*, 2001, **40**(3): 572-585
- [32] Brown J S, Gilliland S M, Ruiz-Albert J, *et al.* Characterization of pit, a *Streptococcus pneumoniae* iron uptake ABC transporter. *Infection and Immunity*, 2002, **70**(8): 4389-4398
- [33] Winkelmann G. Microbial siderophore-mediated transport. *Biochemical Society Transactions*, 2002, **30**(4): 691-696
- [34] 乐尧金, 郭众, 阳小燕. 肺炎链球菌血红素结合脂蛋白PiaA的表达、纯化和表征. *微生物学通报*, 2018, **45**(11): 2409-2417
Le Y J, Guo Z, Yang X Y. *Microbiology China*, 2018, **45**(11): 2409-2417
- [35] Zhang L, Li N, Cao K, *et al.* Crucial residue Trp158 of lipoprotein PiaA stabilizes the ferrichrome-PiaA complex in *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2017, **167**:150-156
- [36] Janulczyk R, Pallon J, Bjorck L. Identification and characterization of a *Streptococcus pyogenes* ABC transporter with multiple specificity for metal cations. *Molecular Microbiology*, 1999, **34**(3): 596-606
- [37] Lei B, Liu M, Voyich J M, *et al.* Identification and characterization of HtsA, a second heme-binding protein made by *Streptococcus pyogenes*. *Infection and Immunity*, 2003, **71**(10): 5962-5969
- [38] Hanks T S, Liu M, McClure M J, *et al.* ABC transporter FtsABCD of *Streptococcus pyogenes* mediates uptake of ferric ferrichrome. *BMC Microbiology*, 2005, **5**:62
- [39] Sun X, Ge R, Chiu J F, *et al.* Lipoprotein MtsA of MtsABC in *Streptococcus pyogenes* primarily binds ferrous ion with bicarbonate as a synergistic anion. *FEBS Letters*, 2008, **582**(9): 1351-1354
- [40] Bray B A, Sutcliffe I C, Harrington D J. Expression of the MtsA lipoprotein of *Streptococcus agalactiae* A909 is regulated by manganese and iron. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2009, **95**(1): 101-109
- [41] Paik S, Brown A, Munro C L, *et al.* The sloABCR operon of *Streptococcus mutans* encodes an Mn and Fe transport system required for endocarditis virulence and its Mn-dependent

- repressor. *Journal of Bacteriology*, 2003, **185**(20): 5967-5975
- [42] Li N, Yang X Y, Guo Z, *et al.* Varied metal-binding properties of lipoprotein PsaA in *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 2014, **19**(6): 829-838
- [43] Rajam G, Anderton J M, Carlone G M, *et al.* Pneumococcal surface adhesin A (PsaA): a review. *Critical Reviews in Microbiology*, 2008, **34**(3-4): 163-173
- [44] Wichgers Schreur P J, Rebel J M, Smits M A, *et al.* TroA of *Streptococcus suis* is required for manganese acquisition and full virulence. *Journal of Bacteriology*, 2011, **193**(19): 5073-5080
- [45] Plumptre C D, Eijkelkamp B A, Morey J R, *et al.* AdcA and AdcAII employ distinct zinc acquisition mechanisms and contribute additively to zinc homeostasis in *Streptococcus pneumoniae*. *Molecular Microbiology*, 2014, **91**(4): 834-851
- [46] Loisel E, Jacquamet L, Serre L, *et al.* AdcAII, a new pneumococcal Zn-binding protein homologous with ABC transporters: biochemical and structural analysis. *Journal of Molecular Biology*, 2008, **381**(3): 594-606
- [47] Tedde V, Rosini R, Galeotti C L. Zn²⁺ Uptake in *Streptococcus pyogenes*: characterization of adcA and lmb Null Mutants. *Plos One*, 2016, **11**(3): e0152835
- [48] Tettelin H, Nelson K E, Paulsen I T, *et al.* Complete genome sequence of a virulent isolate of *Streptococcus pneumoniae*. *Science*, 2001, **293**(5529): 498-506
- [49] Abbott D W, Higgins M A, Hyrnuik S, *et al.* The molecular basis of glycogen breakdown and transport in *Streptococcus pneumoniae*. *Molecular Microbiology*, 2010, **77**(1): 183-199
- [50] Robb M, Hobbs J K, Woodiga S A, *et al.* Molecular characterization of N-glycan degradation and transport in *Streptococcus pneumoniae* and its contribution to virulence. *Plos Pathogens*, 2017, **13**(1): e1006090
- [51] Zheng Y D, Pan Y, He K, *et al.* SPD_1495 contributes to capsular polysaccharide synthesis and virulence in *Streptococcus pneumoniae*. *mSystems*, 2020, **5**(1): e00025-20
- [52] Shelburne S A, 3rd, Sumbly P, Sitkiewicz I, *et al.* Maltodextrin utilization plays a key role in the ability of group A *Streptococcus* to colonize the oropharynx. *Infection and Immunity*, 2006, **74**(8): 4605-4614
- [53] Kilic A O, Honeyman A L, Tao L. Overlapping substrate specificity for sucrose and maltose of two binding protein-dependent sugar uptake systems in *Streptococcus mutans*. *FEMS Microbiology Letters*, 2007, **266**(2): 218-223
- [54] Arimoto T, Igarashi T. Role of prolipoprotein diacylglycerol transferase (Lgt) and lipoprotein-specific signal peptidase II (LspA) in localization and physiological function of lipoprotein MsmE in *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiology and Immunology*, 2008, **23**(6): 515-519
- [55] Claverys J P, GROSSIORD B, Alloing G. Is the Ami-AliA/B oligopeptide permease of *Streptococcus pneumoniae* involved in sensing environmental conditions? *Research in Microbiology*, 2000, **151**(6): 457-463
- [56] Kerr A R, Adrian P V, Esteveo S, *et al.* The Ami-AliA/AlkB permease of *Streptococcus pneumoniae* is involved in nasopharyngeal colonization but not in invasive disease. *Infection and Immunity*, 2004, **72**(7): 3902-3906
- [57] Bradshaw J L, Pipkins H R, Keller L E, *et al.* Mucosal infections and invasive potential of nonencapsulated *Streptococcus pneumoniae* are enhanced by oligopeptide binding proteins AliC and AliD. *mBio*, 2018, **9**(1): e02097-17
- [58] Basavanna S, Chimalapati S, Maqbool A, *et al.* The effects of methionine acquisition and synthesis on *Streptococcus pneumoniae* growth and virulence. *Plos One*, 2013, **8**(1): e49638
- [59] Nepomuceno R S, Tavares M B, Lemos J A, *et al.* The oligopeptide (opp) gene cluster of *Streptococcus mutans*: identification, prevalence, and characterization. *Oral Microbiology and Immunology*, 2007, **22**(4): 277-284
- [60] Zheng F, Shao Z Q, Hao X, *et al.* Identification of oligopeptide-binding protein (OppA) and its role in the virulence of *Streptococcus suis* serotype 2. *Microbial Pathogenesis*, 2018, **118**: 322-329
- [61] Saxena S, Khan N, Dehinwal R, *et al.* Conserved surface accessible nucleoside ABC transporter component SP0845 is essential for pneumococcal virulence and confers protection *in vivo*. *Plos One*, 2015, **10**(2): e0118154
- [62] Ezraty B, Gennaris A, Barras F, *et al.* Oxidative stress, protein damage and repair in bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, **15**(7): 385-396
- [63] Saleh M, Bartual S G, Abdullah M R, *et al.* Molecular architecture of *Streptococcus pneumoniae* surface thioredoxin-fold lipoproteins crucial for extracellular oxidative stress resistance and maintenance of virulence. *EMBO Molecular Medicine*, 2013, **5**(12): 1852-1870
- [64] Ribes S, Abdullah M R, Saleh M, *et al.* Thioredoxins and methionine sulfoxide reductases in the pathophysiology of pneumococcal meningitis. *The Journal of Infectious Diseases*, 2016, **214**(6): 953-961
- [65] Potter A J, Trappetti C, Paton J C. *Streptococcus pneumoniae* uses glutathione to defend against oxidative stress and metal ion toxicity. *Journal of Bacteriology*, 2012, **194**(22): 6248-6254
- [66] Johnston J W, Myers L E, Ochs M M, *et al.* Lipoprotein PsaA in virulence of *Streptococcus pneumoniae*: surface accessibility and role in protection from superoxide. *Infection and Immunity*, 2004, **72**(10): 5858-5867
- [67] Vergauwen B, Verstraete K, Senadheera D B, *et al.* Molecular and structural basis of glutathione import in Gram-positive bacteria via GshT and the cystine ABC importer TcyBC of *Streptococcus mutans*. *Molecular Microbiology*, 2013, **89**(2): 288-303
- [68] Hermans P W, Adrian P V, Albert C, *et al.* The streptococcal lipoprotein rotamase A (SlrA) is a functional peptidyl-prolyl isomerase involved in pneumococcal colonization. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, **281**(2): 968-976
- [69] Abdullah M R, Gutierrez-Fernandez J, Pribyl T, *et al.* Structure of the pneumococcal I_d-carboxypeptidase DacB and pathophysiological effects of disabled cell wall hydrolases DacA

- and DacB. *Molecular Microbiology*, 2014, **93**(6): 1183-1206
- [70] Brown L R, Gunnell S M, Cassella A N, *et al.* AdcAII of *Streptococcus pneumoniae* affects pneumococcal invasiveness. *Plos One*, 2016, **11**(1): e0146785
- [71] Elsner A, Kreikemeyer B, Braun-Kiewnick A, *et al.* Involvement of Lsp, a member of the Lral-lipoprotein family in *Streptococcus pyogenes*, in eukaryotic cell adhesion and internalization. *Infection and Immunity*, 2002, **70**(9): 4859-4869
- [72] Vorob'eva E I, Vorob'eva O V, Suvorova A N. Analysis of group B streptococcal gene scaAB encoding the protein involved in adherence and aggregation. *Mol Gen Mikrobiol Virusol*, 2005, **3**: 9-11
- [73] Tenenbaum T, Spellerberg B, Adam R, *et al.* *Streptococcus agalactiae* invasion of human brain microvascular endothelial cells is promoted by the laminin-binding protein Lmb. *Microbes and Infection*, 2007, **9**(6): 714-720
- [74] Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature Immunology*, 2010, **11**(5): 373-384
- [75] Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 2006, **124**(4): 783-801
- [76] Tomlinson G, Chimalapati S, Pollard T, *et al.* TLR-mediated inflammatory responses to *Streptococcus pneumoniae* are highly dependent on surface expression of bacterial lipoproteins. *Journal of Immunology*, 2014, **193**(7): 3736-3745
- [77] Henneke P, Dramsi S, Mancuso G, *et al.* Lipoproteins are critical TLR2 activating toxins in group B streptococcal sepsis. *Journal of Immunology*, 2008, **180**(9): 6149-6158
- [78] Mukouhara T, Arimoto T, Cho K, *et al.* Surface lipoprotein PpiA of *Streptococcus mutans* suppresses scavenger receptor MARCO-dependent phagocytosis by macrophages. *Infection and Immunity*, 2011, **79**(12): 4933-4940
- [79] Segawa T, Saeki A, Hasebe A, *et al.* Differences in recognition of wild-type and lipoprotein-deficient strains of oral Streptococci *in vitro* and *in vivo*. *Pathogens and Disease*, 2013, **68**(3): 65-77
- [80] Wichgers Schreur P J, Rebel J M, Smits M A, *et al.* Differential activation of the Toll-like receptor 2/6 complex by lipoproteins of *Streptococcus suis* serotypes 2 and 9. *Veterinary Microbiology*, 2010, **143**(2-4): 363-370
- [81] Wichgers Schreur P J, Rebel J M, Smits M A, *et al.* Lgt processing is an essential step in *Streptococcus suis* lipoprotein mediated innate immune activation. *Plos One*, 2011, **6**(7): e22299
- [82] Lavagna A, Auger J P, Girardin S E, *et al.* Recognition of lipoproteins by Toll-like Receptor 2 and DNA by the AIM2 inflammasome is responsible for production of interleukin-1beta by virulent suliyisin-negative *Streptococcus suis* serotype 2. *Pathogens*, 2020, **9**(2): 147
- [83] Kim H Y, Kim A R, Seo H S, *et al.* Lipoproteins in *Streptococcus gordonii* are critical in the infection and inflammatory responses. *Molecular Immunology*, 2018, **101**: 574-584
- [84] Barendt S M, Sham L T, Winkler M E. Characterization of mutants deficient in the L, D-carboxypeptidase (DacB) and WalRK (VicRK) regulon, involved in peptidoglycan maturation of *Streptococcus pneumoniae* serotype 2 strain D39. *Journal of Bacteriology*, 2011, **193**(9): 2290-2300
- [85] Soualhine H, Brochu V, Menard F, *et al.* A proteomic analysis of penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* reveals a novel role for PstS, a subunit of the phosphate ABC transporter. *Molecular Microbiology*, 2005, **58**(5): 1430-1440
- [86] Kunii M, Arimoto T, Hasegawa T, *et al.* Role of protease maturation lipoprotein in osmoadaptation of *Streptococcus mutans*. *FEMS Microbiology Letters*, 2014, **356**(1): 45-52
- [87] Dumford D M, 3rd, Skalweit M. Antibiotic-resistant infections and treatment challenges in the immunocompromised host. *Infectious Disease Clinics of North America*, 2016, **30**(2): 465-489
- [88] Paterson D L, Isler B, Stewart A. New treatment options for multiresistant gram negatives. *Current opinion in infectious diseases*, 2020, **33**(2): 214-223
- [89] Ho J, Tambyah P A, Paterson D L. Multiresistant Gram-negative infections: a global perspective. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 2010, **23**(6): 546-553
- [90] Simell B, Korkeila M, Pursiainen H, *et al.* Pneumococcal carriage and otitis media induce salivary antibodies to pneumococcal surface adhesin a, pneumolysin, and pneumococcal surface protein a in children. *The Journal of Infectious Diseases*, 2001, **183**(6): 887-896
- [91] Whaley M J, Sampson J S, Johnson S E, *et al.* Concomitant administration of recombinant PsaA and PCV7 reduces *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A colonization in a murine model. *Vaccine*, 2010, **28**(18): 3071-3075
- [92] Briles D E, Ades E, Paton J C, *et al.* Intranasal immunization of mice with a mixture of the pneumococcal proteins PsaA and PspA is highly protective against nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae*. *Infection and Immunity*, 2000, **68**(2): 796-800
- [93] Lu J, Sun T, Wang D, *et al.* Protective immune responses elicited by fusion protein containing PsaA and PspA fragments. *Immunological Investigations*, 2015, **44**(5): 482-496
- [94] Yu J, Chen X, Li B, *et al.* A pneumococcal vaccine combination with two proteins containing PspA families 1 and 2 can potentially protect against a wide range of *Streptococcus pneumoniae* strains. *Immunologic Research*, 2018, **66**(4): 528-536
- [95] Pimenta F C, Miyaji E N, Areas A P, *et al.* Intranasal immunization with the cholera toxin B subunit-pneumococcal surface antigen A fusion protein induces protection against colonization with *Streptococcus pneumoniae* and has negligible impact on the nasopharyngeal and oral microbiota of mice. *Infection and Immunity*, 2006, **74**(8): 4939-4944
- [96] Lu Y J, Forte S, Thompson C M, *et al.* Protection against Pneumococcal colonization and fatal pneumonia by a trivalent conjugate of a fusion protein with the cell wall polysaccharide. *Infection and Immunity*, 2009, **77**(5): 2076-2083
- [97] Pope C, Oliver E H, Ma J, *et al.* Genetic conjugation of components in two pneumococcal fusion protein vaccines

- enhances paediatric mucosal immune responses. *Vaccine*, 2015, **33**(14): 1711-1718
- [98] Brown JS, Ogunniyi AD, Woodrow MC, *et al.* Immunization with components of two iron uptake ABC transporters protects mice against systemic *Streptococcus pneumoniae* infection. *Infection and Immunity*, 2001, **69**(11): 6702-6706
- [99] Jomaa M, Terry S, Hale C, *et al.* Immunization with the iron uptake ABC transporter proteins PiaA and PiuA prevents respiratory infection with *Streptococcus pneumoniae*. *Vaccine*, 2006, **24**(24): 5133-5139
- [100] Jomaa M, Yuste J, Paton J C, *et al.* Antibodies to the iron uptake ABC transporter lipoproteins PiaA and PiuA promote opsonophagocytosis of *Streptococcus pneumoniae*. *Infection and Immunity*, 2005, **73**(10): 6852-6859
- [101] Whalan R H, Funnell S G, Bowler L D, *et al.* PiuA and PiaA, iron uptake lipoproteins of *Streptococcus pneumoniae*, elicit serotype independent antibody responses following human pneumococcal septicaemia. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2005, **43**(1): 73-80
- [102] Song Y, Zhang X, Cai M, *et al.* Active and passive immunizations with HtsA, a streptococcal heme transporter protein, protect mice from subcutaneous group A Streptococcus infection. *J Microbiol Immunol Infect*, 2020, **53**(1): 87-93
- [103] Makthal N, Nguyen K, Do H, *et al.* A critical role of zinc importer AdcABC in Group A Streptococcus-host interactions during infection and its implications for vaccine development. *EBioMedicine*, 2017, **21**:131-141
- [104] Vorobieva E I, Meringova L F, Leontieva G F, *et al.* Analysis of recombinant group B streptococcal protein ScaAB and evaluation of its immunogenicity. *Folia Microbiologica*, 2005, **50**(2): 172-176
- [105] Bray B A, Sutcliffe I C, Harrington D J. Impact of lgt mutation on lipoprotein biosynthesis and *in vitro* phenotypes of *Streptococcus agalactiae*. *Microbiology*, 2009, **155**(Pt 5): 1451-1458
- [106] Chimalapati S, Cohen J M, Camberlein E, *et al.* Effects of deletion of the *Streptococcus pneumoniae* lipoprotein diacylglyceryl transferase gene lgt on ABC transporter function and on growth *in vivo*. *Plos One*, 2012, **7**(7): e41393
- [107] Pramanik A, Braun V. Albomycin uptake *via* a ferric hydroxamate transport system of *Streptococcus pneumoniae* R6. *Journal of Bacteriology*, 2006, **188**(11): 3878-3886
- [108] Yang X Y, Sun B, Zhang L, *et al.* Chemical interference with iron transport systems to suppress bacterial growth of *Streptococcus pneumoniae*. *Plos One*, 2014, **9**(8): e105953
- [109] Yang X Y, Xu J Y, Meng M, *et al.* Dirhodium (II) complex interferes with iron-transport system to exert antibacterial action against *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Proteomics*, 2019, **194**:160-167
- [110] Obaidullah A J, Ahmed M H, Kitten T, *et al.* Inhibiting Pneumococcal surface antigen A (PsaA) with small molecules discovered through virtual screening: steps toward validating a potential target for *Streptococcus pneumoniae*. *Chemistry & Biodiversity*, 2018, **15**(12): e1800234

Research Progress of Lipoprotein Functions and Their Application as Vaccine Candidates or Drug Targets in Streptococci*

YANG Xiao-Yan**, ZHU Ke-Xin, GUO Zhong, DENG Yi-Dan, LI Sha, LE Yao-Jin**

(Zhuhai Key Laboratory of Basic and Applied Research in Chinese Medicine, Department of Bioengineering,

Zhuhai Campus of Zunyi Medical University, Zhuhai 519041, China)

Abstract Lipoproteins are a kind of cell membrane anchoring proteins widely found in Gram-negative bacteria and Gram-positive bacteria, which possess many biological functions. Lipoproteins are not only as virulence factors, but also can recognize and elicit the host's immune system, which becomes one of the most popular research targets for the prevention and treatment of bacterial infection. This paper reviews the research progress of lipoprotein functions, and their application as vaccine candidates or drug targets in Streptococci. The prospect and suggestion are provided for the future research on Streptococci lipoprotein, which will expand research ideas for lipoprotein in Streptococci.

Key words lipoprotein, *Streptococcus pneumoniae*, group A Streptococcus, group B Streptococcus, *Streptococcus mutans*, vaccine, antimicrobial target

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0129

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81860356, 31860259), Guizhou Provincial Natural Science Foundation (QKH-J[2020]1Y352), Excellent Young Talents Fund Program of Zunyi Medical University (18zy-005) and Doctoral Research Startup Project of Zunyi Medical University (F-879, F-884).

** Corresponding author.

Tel: 86-756-7623310

YANG Xiao-Yan. E-mail: ouyangxiangyan@126.com

LE Yao-Jin. E-mail: leyaojin@163.com

Received: May 4, 2020 Accepted: June 12, 2020