

Research Progress of Antigens Related to the Process of *Toxoplasma gondii* Invading Host Cell

Xiaojing Sun, Xi Ma, Wen Xu, Jia Yao, Lei Zhang, Changbin Chai, Yang Wang*

Department of Pathogenic Biology, School of Basic Medicine Science, Xi'an Medical University, Xi'an Shaanxi
Email: *yang.wang@xiyi.edu.cn

Received: Oct. 27th, 2019; accepted: Nov. 11th, 2019; published: Nov. 18th, 2019

Abstract

Toxoplasma gondii, as a strict intracellular parasite, can cause toxoplasmosis to both human and animals, and pose a serious threat to human health and the development of animal husbandry. In this paper, the research progress of the key antigens related to the process of *Toxoplasma gondii* invading host cells was introduced in detail, and the process and mechanism of its invading host cells were briefly described, which will provide reference for further research in the future.

Keywords

Toxoplasma gondii, Antigens, Parasitophorous Vacuole

弓形虫入侵宿主细胞相关抗原研究进展

孙晓敬, 马茜, 徐文, 姚佳, 张磊, 柴长斌, 汪洋*

西安医学院基础医学部, 病原生物学教研室, 陕西 西安
Email: *yang.wang@xiyi.edu.cn

收稿日期: 2019年10月27日; 录用日期: 2019年11月11日; 发布日期: 2019年11月18日

摘要

弓形虫作为一种严格胞内寄生原虫,其引起的人兽共患弓形虫病给人类健康及畜牧业发展造成严重威胁。论文详细介绍了与弓形虫入侵宿主细胞过程相关的关键抗原的研究进展,并对其侵入宿主细胞的过程和相关机制做了简要阐述,为今后的深入研究提供参考。

*通讯作者。

文章引用: 孙晓敬, 马茜, 徐文, 姚佳, 张磊, 柴长斌, 汪洋. 弓形虫入侵宿主细胞相关抗原研究进展[J]. 自然科学, 2019, 7(6): 585-589. DOI: 10.12677/ojns.2019.76068

关键词

弓形虫, 抗原, 纳虫空泡

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

弓形虫是一种专性细胞内寄生原虫,可引起人兽共患弓形虫病,全球约 1/3 人口受弓形虫威胁。由于其机会致病的特点,人体多为获得性隐性感染,但如果免疫功能低下或缺陷时(如恶性肿瘤、器官移植、艾滋病等),则会导致严重症状,甚至危及生命。若孕妇感染弓形虫,可造成流产或早产,也可垂直传播影响胎儿发育,严重者有致畸甚至引起死胎[1]。因此弓形虫病严重威胁着人类健康和优生优育,也在一定程度上制约着我国畜牧业的发展。长久以来,人们不断探索研究弓形虫入侵的相关抗原及其机制,力求研制出预防和控制该寄生虫病的疫苗或药物,从而减少其带来的消极影响。为此,本文就弓形虫各期入侵相关抗原的研究进展作简要介绍。

2. 弓形虫入侵相关抗原

弓形虫生活史比较复杂,全程需要两类宿主,分别进行无性生殖和有性生殖。在猫科动物体内完成有性生殖,同时也进行无性生殖,因此猫是弓形虫的终宿主兼中间宿主。有性生殖只限于猫科动物小肠上皮细胞内,称肠内期发育;无性生殖阶段可在肠外其他组织的有核细胞内进行,称肠外期发育。弓形虫在人或其他动物体内只能完成无性生殖,为中间宿主。整个生活史过程中需经历多个发育阶段,包括滋养体(速殖子)、包囊(缓殖子)、裂殖体、配子体和卵囊等,目前国内外研究多集中在弓形虫速殖子和缓殖子阶段的抗原,速殖子是弓形虫急性感染的主要致病阶段,在细胞内迅速增殖,破坏细胞;而包囊内缓殖子是慢性感染的主要阶段,虫体缓慢增殖,可长期存在于宿主组织内,当宿主免疫系统受损时,缓殖子可转换成迅速繁殖的速殖子,速殖子和缓殖子展现出不同的抗原全貌,包括一些共同抗原,但同时也存在各自的期特异性抗原主要包括如下几大类:如弓形虫分泌排泄抗原(excreted/secreted antigen, E/SA)、胞膜抗原(surface membrane antigen, SAG)及胞质抗原(cytoplasmic antigen)。

2.1. 分泌、排泄抗原(E/SA)

弓形虫在生命活动中,不断向寄生的外环境排出和分泌一些代谢产物和分泌物,抗原性强,可刺激机体的免疫应答,即为分泌排泄抗原,该类抗原可用各种免疫学方法来进行鉴定。弓形虫感染早期,在实验动物和人血清中的循环抗原均被视为分泌排泄抗原。例如在弓形虫急性感染小鼠的腹水中检测到的可溶性抗原;在体外培养弓形虫的细胞上清液中亦可检测到一种高分子量可溶性抗原[2];分泌排泄抗原的检出有助于弓形虫病的早期诊断,且对免疫功能低下患者弓形虫病的诊断具有重要的价值。

2.2. 表膜抗原

弓形虫虫体表膜是宿主免疫系统识别并杀伤虫体的关键部位,膜抗原具有作为诊断抗原和免疫疫苗的双重潜在价值而被广泛研究,并且在识别和诱导宿主保护性免疫方面有特殊意义。目前已确定多种期特异性表面抗原(SAG),它们分属于两大不同家族,SAG1 相关家族和 SAG2 相关家族[3]。SAG1 家族包

括 SAG3、缓殖子特异重组体(BSR) 4、SAG 相关序列(SRS) 1-4 蛋白、SAG5、SAG5.1 和 SAG5.2 [3]。其中 SAG1 和 SRS1-3 只存在于速殖子表面, BSR4 只存在于缓殖子表面, SAG3 是两阶段共有的。该家族成员在弓形虫入侵宿主细胞中发挥重要功能, 其可与宿主细胞表面的受体结合, 介导纳虫空泡的形成。SAG2 家族包括 4 个特定的 SAG2 相关蛋白, 为早在期 SAG2 和 SAG2B-SAG2D, SAG2A 和 SAG2B 只在速殖子期表达, 而 SAG2C 和 SAG2D 只表达于缓殖子期[4]。SAG4 和 SAG4.2 是两种额外的、非结构相关的缓殖子特异性表面抗原[5], 目前仅发现于包囊结构上, 它包含一个囊壁糖蛋白特定的 CST1 和包囊基质分子, 因此被称为基质抗原(MAG) I [5]。

2.3. 胞质抗原

细胞质抗原是指除了膜组分以外的全部虫体抗原。包括微线体蛋白(microneme protein, MICs)、棒状体蛋白(rhoptry protein, ROPs)和致密颗粒蛋白(dense granules antigen, GRAs)。

2.3.1. 微线体蛋白

微线体位于虫体前端棒状体的周围, 是一种分泌器官, 其分泌的 MIC 在虫体早期侵入宿主细胞的过程中发挥重要功能, 包括识别、黏附、与宿主细胞相互作用等。目前, 已经鉴定的 MIC 达 15 种以上, 部分 MIC 拥有黏附区域, 因此具有识别及黏附细胞的作用; 还有部分 MIC 无黏附区域, 在虫体不同阶段中的表达量亦有一定差异, 其可作为诊断弓形虫急性或隐性感染的诊断抗原[6]。研究发现, MIC10 作为一种由微线体产生的高丰度蛋白分子, 可从弓形虫虫体上释放进入患者血液循环中, 作为一种分子靶标用于弓形虫病的诊断[7]。

2.3.2. 棒状体蛋白

弓形虫棒状体可分泌 30 多种蛋白质, 根据蛋白在棒状体上定位的不同, 可以分为棒状体颈部蛋白(RONs)和棒状体基部蛋白(ROPs), 两类蛋白均在虫体入侵宿主和 PV 修饰方面发挥关键作用[8]。其中, ROP 基因家族被认为是弓形虫最佳候选疫苗之一, 其中 ROP5、ROP17、ROP18、ROP19、ROP31、ROP54 作为候选疫苗分子, 具有良好的免疫原性和免疫保护性, 为棒状体分泌的蛋白质, 主要位于纳虫空泡和棒状体内, 此类抗原作为弓形虫入侵相关蛋白质, 主要参与黏附宿主细胞、形成移动连接、形成和修饰纳虫空泡及调节宿主转录等过程[9]。而 RONs 作为一种非常保守的蛋白质, 其分泌后会靶向定位于宿主细胞质膜上, 且整个分泌过程受微线体的调控。在弓形虫入侵细胞过程中, 微线体蛋白会介导棒状体分泌 RONs 并排放至虫体外, 进而参与纳虫空泡膜(Parasitophorous vacuole membrane, PVM)的形成, 为弓形虫速殖子成功侵入宿主细胞提供保障[9]。此外, 研究还发现 ROP9 和 MIC3 蛋白质在入侵的过程中的表达量明显高于游离虫体的表达量, 且通过肝素结合、竞争抑制及细胞黏附实验, 证明了 ROP9 和 MIC3 能够与肝素特异性结合并黏附于宿主细胞表面, 是弓形虫重要的毒力因子[10]。

2.3.3. 致密颗粒蛋白

GRA 由致密颗粒分泌, 当弓形虫入侵宿主细胞后, 所释放的部分致密颗粒蛋白分布于纳虫空泡的表面并发挥修饰作用, 同时能够保护胞内虫体的存活及增殖。目前, 已报道的致密颗粒蛋白将近 30 种之多, 其中 GRA1~GRA10 的研究较为常见, 亦有对 GRA12、GRA22、GRA24 等相关的研究报道[11]。GRA1 又称为 P24, 主要发挥修饰调理纳虫空泡结构的重要作用, 能够促进巨噬细胞的生长及黏附, 同时对胞内钙离子的释放具有调节作用[12]; GRA2 抗原性较强, 在弓形虫急性和慢性感染中普遍存在, 与虫体毒力有关, 其在虫体入侵后起着诱导纳虫空泡表面网络结构形成的作用, 此外 GRA6 具有维持该网状结构稳定的重要功能, 研究表面, 当利用基因敲除技术分别将 GRA2 和 GRA6 基因敲除, 发现弓形虫入侵宿主细胞后不能正确形成纳虫空泡, 管状网络结构被一些小凝集物所取代[13]; GRA3 定位于纳虫泡膜上,

与速殖子纳虫泡的形成有关,而且 GRA3 的存在是虫体复制的一个前提条件。GRA10 为一种可溶性的致密颗粒蛋白,被分泌到纳虫空泡和弓形虫胞质中[14]。GRA12 是在弓形虫入侵宿主细胞后不久,由虫体前段分泌到 PV,再通过一系列迁移活动,最后驻留在整个液泡空间,与成熟的膜质纳米管网络相关,GRA12 的功能同 GRA2 及 GRA6 相似[13]。GRA14 的二级结构是由 3 个 β 折叠、6 个 α 螺旋、11 个 β 转角及多个无规卷曲所构成,它存在于纳虫空泡膜(Parasitophorous vacuole membrane, PVM)中,有较好的保守性,有望作为新型的弓形虫疫苗候选分子用于弓形虫病的预防[15]。GRA15 主要在速殖子期表达,是一种拥有独特功能的多态性分泌蛋白,不包含任何保守结构域,目前还没有发现与 GRA15 有同源性的蛋白质,研究表明 GRA15 可以很好的诱导 CD8 + T 淋巴细胞所介导的 CTL 效应[16]。

3. 展望

弓形虫主动侵入宿主细胞并产生损伤的过程,是由多种相关抗原、多个调控机制,且与宿主细胞内众多因子相互作用,而最终形成的一种感染与抗感染的动态平衡。弓形虫所分泌的致病蛋白种类繁多,且结构复杂,至今相关领域的研究仍面临着严峻的挑战,如某些功能分子的致病及免疫机制,弓形虫不同时期抗原的免疫原性,速殖子与缓殖子相互转化的机制等等。相信随着研究的一步步深入,越来越多的未知问题会被逐一阐明,这将对弓形虫病的诊断、预防及治疗以及开发高效安全的药物和疫苗提供新的思路。

基金项目

博士科研启动基金(2016DOC32);西安医学院国科金培育项目(2017GJFY24);陕西省高校科协青年人才托举项目(20160231);配套基金(2017PT45)。

参考文献

- [1] 刘玲利,崔克. 弓形虫病的研究进展[J]. 中国动物保健, 2013, 15(10): 20-23.
- [2] Blader, I. and Koshy, A.A. (2014) *Toxoplasma gondii* Development of Its Replicative Niche: In Its Host Cell and beyond. *Eukaryot Cell*, **13**, 965-976. <https://doi.org/10.1128/EC.00081-14>
- [3] Charles, E., Callegan, M.C. and Ira, B.J. (2007) The SAG1 *Toxoplasma gondii* surface Protein Is Not Required for Acute Ocular Toxoplasmosis in Mice. *Infection and Immunity*, **75**, 2079-2083. <https://doi.org/10.1128/IAI.01685-06>
- [4] Khanaliha, K., Motazedian, M.H., Kazemi, B., et al. (2014) Evaluation of Recombinant SAG1, SAG2, and SAG3 Antigens for Serodiagnosis of Toxoplasmosis. *The Korean Journal of Parasitology*, **52**, 137-142. <https://doi.org/10.3347/kjp.2014.52.2.137>
- [5] 何勇,周鹏,尹创成,等. 弓形虫主要表面抗原的研究进展[J]. 畜牧与兽医, 2010, 42(5): 95-98.
- [6] Foroutan, M., Zaki, L. and Ghaffarifar, F. (2018) Recent progress in Microneme-Based Vaccines Development against *Toxoplasma gondii*. *Clinical and Experimental Vaccine Research*, **7**, 93-103. <https://doi.org/10.7774/cevr.2018.7.2.93>
- [7] 吴彬,曹利利,姚新华,等. 弓形虫疫苗研究进展[J]. 动物医学进展, 2013, 34(1): 102-106.
- [8] Zhao, Y., Zhou, D., Chen, J. and Sun, X. (2017) Sequence Variation in Rhoptry Neck Protein 10 Gene among *Toxoplasma gondii* Isolates from Different Hosts and Geographical Locations. *Iranian Journal of Parasitology*, **12**, 332-338.
- [9] Vetrivel, U. and Nagarajan, H. (2018) Deciphering Ophthalmic Adaptive Inhibitors Targeting RON4 of *Toxoplasma gondii*: An integrative *in Silico* Approach. *Life Sciences*, **213**, 82-93. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.10.022>
- [10] Zhang, D., Jiang, N. and Chen, Q. (2019) ROP9, MIC3, and SAG2 Are Heparin-Binding Proteins in *Toxoplasma gondii* and Involved in Host Cell Attachment and Invasion. *Acta Tropica*, **192**, 22-29. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.01.001>
- [11] 胡玲英,张念章,王金磊,等. 弓形虫致密颗粒蛋白的生物学功能及免疫原性研究的新进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2015, 31(7): 663-668.
- [12] Rezaei, F., Sharif, M., Sarvi, S., Hejazi, S.H., Aghayan, S., Pagheh, A.S., Dodangeh, S. and Daryani, A. (2019) A Systematic Review on the Role of GRA Proteins of *Toxoplasma gondii* in Host Immunization. *Journal of Microbiological*

Methods, **165**, 105696. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.105696>

- [13] 王学俭. 弓形虫致密颗粒蛋白 6(GRA6)的研究进展[J]. 中国动物检疫, 2014, 32(2): 45-48.
- [14] Witola, W.H., Bauman, B., McHugh, M. and Matthews, K. (2014) Silencing of GRA10 Protein Expression Inhibits *Toxoplasma gondii* Intra-Cellular Growth and Development. *Parasitology International*, **63**, 651-658. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2014.05.001>
- [15] Rome, M.E., Beck, J.R., Turetzky, J.M., Webster, P. and Bradley, P.J. (2008) Intervacuolar Transport and Unique Topology of GRA1, a Novel Dense Granule Protein in *Toxoplasma gondii*. *Infection and Immunity*, **76**, 4865-4875. <https://doi.org/10.1128/IAI.00782-08>
- [16] Bando, H., Lee, Y., Sakaguchi, N., Pradipta, A., Ma, J.S., Tanaka, S., Cai, Y., Liu, J., Shen, J., Nishikawa, Y., Sasai, M. and Yamamoto, M. (2018) Inducible Nitric Oxide Synthase Is a Key Host Factor for *Toxoplasma* GRA15-Dependent Disruption of the Gamma Interferon-Induced Antiparasitic Human Response. *MBio*, **9**, e01738-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.01738-18>