

细菌外膜囊泡调节免疫细胞功能活动的研究进展

马东雪, 石俊, 蒲星羽, 王鑫, 韩顶立

重庆医科大学生物医学工程学院超声医学工程国家重点实验室, 重庆

收稿日期: 2023年3月3日; 录用日期: 2023年4月3日; 发布日期: 2023年4月13日

摘要

外膜囊泡(OMV)是一种来源于革兰氏阴性菌的纳米级大小的球形蛋白脂质体。OMVs可以运输多种化学成分,包括脂类、脂多糖、膜包埋的相关蛋白和小分子、肽聚糖和核酸,特别是粘附素和毒素等毒力因子通常在OMV中富集。OMVs在细菌与宿主细胞间沟通、微生物毒力和调节细菌群落内的微生物相互作用以及调节宿主免疫反应方面发挥着不同的作用。它们在细菌培养和感染过程中无处不在地产生,现在被认为在宿主与细菌的相互作用中发挥着关键作用。在这里,我们着重讨论了OMVs对宿主免疫细胞的影响作用,重点介绍它们对各类免疫细胞所做出的免疫功能调节的研究现状。

关键词

细菌外膜囊泡, 免疫应答, 巨噬细胞, 中性粒细胞, 树突状细胞

Advances in the Study of Bacterial Outer Membrane Vesicles Regulating the Functional Activity of Immune Cells

Dongxue Ma, Jun Shi, Xingyu Pu, Xin Wang, Dingli Han

State Key Laboratory of Ultrasound in Medicine and Engineering, College of Biomedical Engineering, Chongqing Medical University, Chongqing

Received: Mar. 3rd, 2023; accepted: Apr. 3rd, 2023; published: Apr. 13th, 2023

Abstract

The outer membrane vesicles (OMV) is a nanoscale-sized spherical protein liposome derived from gram-negative bacteria. OMVs can transport a variety of chemical components, including lipids, lipopolysaccharides, membrane embedded related proteins and small molecules, peptidomucopolysaccharides, and nucleic acids, particularly adhesives and toxins, which are usually rich in OMV. OMVs play differ-

ent roles in bacteria and host cell intervals, microbial toxicity and microbial interactions in the formation of bacterial communities and regulating the host immune response. They are everywhere in bacterial culture and infection, and they are now considered to play a key role in the interaction of the host and bacteria. Here, we focused on the effects of OMVs on host immune cells, focusing on the research status of immune function adjustment made by various types of immune cells.

Keywords

Bacterial Outer Membrane Vesicles, Immune Responses, Macrophages, Neutral Granulocytes, Dendritic Cells

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

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



Open Access

1. 细菌外膜囊泡简介

1.1. 细菌外膜囊泡结构

细菌外膜囊泡(outer membrane vesicles, OMV)是从革兰氏阴性菌自然释放到细胞外环境中的纳米球形双层(20~250 nm)囊泡[1], 是细菌在生长过程中分泌出的不具备复制能力的双层膜结构[2] [3]。研究证明, 所有的革兰氏阴性菌以及部分种类的革兰氏阳性菌都在其生存周期中普遍分泌 OMV [4] [5]。OMV 可以通过大型胞饮作用、网格蛋白介导的胞吞作用等进入细胞内部或其他特定部位[6]。

1.2. 细菌外膜囊泡内容物与功能

蛋白质组学和生化分析表明, OMV 中含有多种母体细菌衍生的组分。OMV 的组成以外膜蛋白为主, 同时也包括 DNA、RNA、脂多糖(LPS)、蛋白质、酶和肽聚糖等其他物质[7] [8]。其表面由具有脂多糖外层(LPS)、外膜蛋白和受体的磷脂双分子层组成; 其内部, OMV 具有薄的肽聚糖层、周质蛋白以及核酸[9] [10] [11] [12] [13]。

大多数细菌释放外膜囊泡(OMV)含有特定的货物分子并因此具有不同的功能, 包括传输毒力因子、DNA 转移、对噬菌体截留、诱导发病机制、信号转导、介导细菌与宿主细胞间通讯以及细菌相互之间通信[6] [14] [15]等。此外, 细菌外膜囊泡也具有调节免疫活动的功能, 因此在用作疫苗、抗癌药物和纳米技术[7] [16]中的应用有巨大潜力。在本文中, 着重介绍细菌外膜囊泡调节宿主免疫应答的生物学功能, 重点介绍 OMV 在调节各类免疫细胞功能活动方面的国内外最新研究进展。

2. OMV 对免疫细胞功能调节的国内外研究现状

2.1. 细菌外膜囊泡调节巨噬细胞免疫应答

细菌外膜囊泡对巨噬细胞功能活动的调节受到外膜囊泡的来源菌体差异及其所包含的不同内容物的影响, 因而对巨噬细胞所做出的调节行为也是多种多样的。例如有研究表明脑膜炎奈瑟氏菌 OMV 通过激活巨噬细胞来上调 HLA-DR、共刺激分子 CD80 和 CD86 以及细胞间粘附分子 1 (ICAM1)的表达[17]从而诱导适应性免疫反应。脑膜炎奈瑟氏菌 OMV 刺激单核巨噬细胞产生 CCL₂、CCL₃ 和 CCL₅ (又称 RANTES)、CXCL₈、IL-1 β 、IL-6、IL-10、IL-12p40、IL-12p70 和 TNF [18]。类似地, 幽门螺杆菌 OMV 促进人外周血单核细胞产生 IL-6 [19]。沙门氏杆菌 OMVs 可诱导小鼠巨噬细胞产生肿瘤坏死因子(TNF)

和一氧化氮(NO) [20]。牙龈假单胞菌 OMV 诱导小鼠巨噬细胞产生 NO 和表达诱导型一氧化氮合酶(INOS) [21], 从而进一步加重疾病状态。有最近研究还发现了脑膜炎奈瑟氏菌 OMV 可诱导外周血单核细胞衍生血栓因子、组织因子和纤溶酶原激活物抑制物 2 的产生, 以促进脑膜炎球菌败血症期间观察到的血管内凝血、微血栓形成和器官功能障碍的发展[17]。

在 2020 年有研究人员发现在 1 $\mu\text{g/ml}$ 浓度下用益生性大肠杆菌 nissle 1917 衍生的外膜囊泡来刺激小鼠来源巨噬细胞 Raw264.7 可促进该细胞的增殖, 提高免疫相关酶活性及其吞噬作用[22]。此外, ECN_OMVs 在体外诱导比促炎反应(IL-6 和 TNF- α)更强烈的抗炎反应(IL-10), 并且还调节 TH1-偏振细胞因子(IL-12)和 TH2-偏振产生细胞因子(IL-4)的量[22]。更进一步测试发现了 ECN_OMVs 的刺激有效改善了 RAW264.7 巨噬细胞的抗菌活性。

有研究表明部分减毒的细菌外膜囊泡(further-modified outer membrane vesicles—FMOMV)对流感病毒的感染有潜在的保护作用。施用 FMOMV 来对抗致死性的流行性 H1N1、PR8、H5N2 病毒和高致病性 H5N1 病毒对人体健康有着显著的保护; 这种广泛的抗病毒活性主要依赖于巨噬细胞, 而独立于中性粒细胞[23]。已知肺泡巨噬细胞(AMS)是首先识别异物的主要免疫细胞, 并在肺部诱导随后的免疫激活。表明 FMOMV 可以有效激活巨噬细胞并诱导肺组织中的抗病毒细胞因子, 并且是急剧募集和激活巨噬细胞[23]。有趣的是, FMOMV 在激活巨噬细胞过程中显示出比其他配体更明显的保护作用, 而不会表现出任何不良影响。

除了具有促炎作用外, 细菌外膜囊泡还具有抗炎作用, 有利于病原体或促进继发性细菌感染。例如, 幽门螺杆菌 OMV 诱导人外周血单个核细胞产生免疫抑制细胞因子 IL-10, 以限制炎症并促进细菌的存活 [24]。牙龈假单胞菌 OMV 促进巨噬细胞上 CD14 表达的丧失, 使这些细胞对次级大肠杆菌 LPS 刺激诱导的 TLR4 信号无反应[25]。流产杆菌 OMVs 抑制 TLR2、TLR4 和 TLR5 的反应, 限制干扰素 γ 诱导的 MHCII 类分子的表达, 并促进流产杆菌在 THP-1 细胞中的内化[16]。大量研究表明细菌外膜囊泡可以限制炎症, 促进细菌在宿主中的存活。

2.2. 细菌外膜囊泡调节中性粒细胞的功能活动

OMVs 以不同的方式调节中性粒细胞的功能, 这取决于它们的细菌来源和毒力决定因素组成。例如, 脑膜炎奈瑟氏菌的 OMV 刺激人中性粒细胞产生肿瘤坏死因子和白细胞介素- 1β , 并上调 CXCL8、CCL3 和 CCL4 的表达[26]。这些反应可以被干扰素 γ 进一步增强, 这表明在干扰素 γ 存在的慢性炎症状态下, 中性粒细胞对脑膜炎奈瑟氏菌 OMV 的免疫反应是可以增强的[26]。相反, 来自致病性大肠杆菌的外膜囊泡含有细胞毒性坏死因子 1 型(CNF1), 这是一种细菌毒素, 可以削弱中性粒细胞的吞噬和趋化能力[27]。

中性粒细胞激活的标志之一是中性粒细胞胞外陷阱的产生, 它含有 DNA、抗菌肽和组蛋白, 形成细胞外纤维以捕获和杀死细胞外病原体[28]。脑膜炎奈瑟氏菌和索马里组织杆菌的 OMVs 诱导中性粒细胞形成网, 从而杀死这些病原体[7] [29]。然而, 脑膜炎奈瑟氏菌 OMVs 诱导的中性粒细胞胞外陷阱的形成一定程度上也促进了细菌的定植, 并可能解释了脑膜炎球菌病患者中检测到的大量 OMV [30]。

2.3. 细菌外膜囊泡调节树突状细胞的免疫活动

近年来多个研究表明来自多种病原体的外膜囊泡可诱导树突状细胞成熟并产生细胞因子。沙门氏菌 OMVs 诱导树突状细胞表面 CD86 和 MHCII 类分子的表达以及 TNF 和 IL-12 的产生, 它们还促进保护性 B 细胞和 T 细胞反应的发展[19]。同样, 脑膜炎奈瑟氏菌 OMV 可诱导树突状细胞成熟, 其特征是上调 MHCII 类分子和共刺激分子, 并产生促炎细胞因子和趋化因子[18]。脑膜炎奈瑟氏菌 OMV 通过改变宿主通透性来增加蛋白(BPI)结合[31], 能够促进其向树突状细胞传递和内化。BPI 是一种宿主免疫因子, 除了

促进细菌清除外, 还能结合以及中和内毒素[32]。总的来说, 这些研究表明, OMV 通过诱导树突状细胞成熟和促进抗原提呈, 以及通过抑制其对 OMV 或次级细菌抗原的细胞因子反应来调节树突状细胞的各种功能活动。

拟杆菌(BT)是人肠道微生物的突出成分, 如所有革兰氏阴性细菌能够天然产生从细胞表面脱落的纳米外膜囊泡(OMV)。其外膜囊泡可以通过肠上皮屏障来介导涉及上皮和免疫细胞的微生物宿主细胞串扰, 以帮助保持肠道稳态[33]。有研究人员研究了来自健康个体和克罗恩病或溃疡性结肠炎患者的拟杆菌 OMV 与血液或结肠粘膜衍生的树突状细胞(DC)之间的相互作用。结果显示在健康个体中, 拟杆菌 OMVs 通过结肠直流刺激显著改变了($P < 0.05$) IL-10 表达, 而在外周血血液衍生的树突状细胞中, 它们也刺激了 IL-6 的显著改变(分别为 $P < 0.001$ 和 $P < 0.01$)并且激活标记蛋白 CD80 [33]。相反, 在溃疡性结肠炎患者中拟杆菌 OMV 无法通过调节树突状细胞来引发 IL-10 表达。此外, 在与正常对照相比之下, 克罗恩病或溃疡性结肠炎患者通过激活巨噬细胞而引发的血液中的 IL-10 改变的比例明显降低($P < 0.01$ 和 $P < 0.001$)。研究结果表明了共生肠道细菌 BT 产生的 OMV 的关键作用, 揭示了 OMV 在 IBD 患者中局部和系统性地对微生物群的成分进行平衡的免疫应答, 而这一过程通过树突状细胞介导。

3. 总结和展望

在过去的几十年中, OMV 在很多研究领域取得了较大进展, 最近的研究表明, 多种细菌(包括革兰氏阴性菌以及部分革兰氏阳性菌)所释放的 OMV 在激活宿主免疫应答中发挥着非常重要的作用, 也使得我们对 OMV 与各类宿主细胞间的相互作用有了更加深入的了解, 特别是对 OMV 引发的免疫反应的研究。本篇综述重点介绍了细菌外膜囊泡对免疫细胞(中性粒细胞、巨噬细胞、树突状细胞)的功能调节, 以及引起免疫细胞功能改变的部分机制。对这些相互作用的详细了解将丰富现有的细菌外膜囊泡知识体系。这些进展确保了外膜囊泡与免疫细胞相互作用的研究在未来几年仍将是一个忙碌和有意义的领域。但 OMV 的发展仍然存在许多机遇和挑战, 需要更多的努力和临床试验, 相信基于细菌外膜囊泡的免疫调节功能研究具有更多有待探索的地方, 相信未来也会有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] Beveridge, T.J. (1999) Structures of Gram-Negative Cell Walls and Their Derived Membrane Vesicles. *Journal of Bacteriology*, **181**, 4725-4733. <https://doi.org/10.1128/JB.181.16.4725-4733.1999>
- [2] 冯文艳, 张扣兴. 革兰阴性菌外膜囊泡的研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2019, 44(1): 32-39.
- [3] 陈琪, 吴敏, 白宏震, 等. 细菌外膜囊泡纳米载体的制备及其免疫调节作用[J]. 浙江大学学报(医学版), 2017, 46(2): 118-126.
- [4] 陈桥桥, 涂仕娟, 夏修文, 等. 细菌外膜囊泡发生机制及其影响因素的研究进展[J]. 右江民族医学院学报, 2019, 41(5): 572-574.
- [5] Lee, J., Kim, O.Y. and Ghoo, Y.S. (2016) Proteomic Profiling of Gram-Negative Bacterial Outer Membrane Vesicles: Current Perspectives. *PROTEOMICS—Clinical Applications*, **10**, 897-909. <https://doi.org/10.1002/prca.201600032>
- [6] Schwechheimer, C. and Kuehn, M. (2015) Outer-Membrane Vesicles from Gram-Negative Bacteria: Biogenesis and Functions. *Nature Reviews Microbiology*, **13**, 605-619. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3525>
- [7] Kaparakis-Liaskos, M. and Ferrero, R. (2015) Immune Modulation by Bacterial Outer Membrane Vesicles. *Nature Reviews Immunology*, **15**, 375-387. <https://doi.org/10.1038/nri3837>
- [8] Jan, A.T. (2017) Outer Membrane Vesicles (OMVs) of Gram-Negative Bacteria: A Perspective Update. *Frontiers in Microbiology*, **8**, Article 1053. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01053>
- [9] Kuehn, M.J. and Kesty, N.C. (2005) Bacterial Outer Membrane Vesicles and the Host-Pathogen Interaction. *Genes & Development*, **19**, 2645-2655. <https://doi.org/10.1101/gad.1299905>
- [10] Nakao, R., Hasegawa, H., Ochiai, K., Takashiba, S., Ainai, A., Ohnishi, M., Watanabe, H. and Senpuku, H. (2011) Outer Membrane Vesicles of *Porphyromonas gingivalis* Elicit a Mucosal Immune Response. *PLOS ONE*, **6**, e26163.

- <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026163>
- [11] Grenier, D. and Mayrand, D. (1987) Functional Characterization of Extracellular Vesicles Produced by *Bacteroides Gingivalis*. *Infection and Immunity*, **55**, 111-117. <https://doi.org/10.1128/iai.55.1.111-117.1987>
- [12] Haurat, M.F., Aduse-Opoku, J., Rangarajan, M., Dorobantu, L., Gray, M.R., Curtis, M.A. and Feldman, M.F. (2011) Selective Sorting of Cargo Proteins into Bacterial Membrane Vesicles. *Journal of Biological Chemistry*, **286**, 1269-1276. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.185744>
- [13] Veith, P.D., Chen, Y.-Y., Gorasia, D.G., Chen, D., Glew, M.D., O'Brien-Simpson, N.M., Cecil, J.D., Holden, J.A. and Reynolds, E.C. (2014) *Porphyromonas gingivalis* Outer Membrane Vesicles Exclusively Contain Outer Membrane and Periplasmic Proteins and Carry a Cargo Enriched with Virulence Factors. *Journal of Proteome Research*, **13**, 2420-2432. <https://doi.org/10.1021/pr401227e>
- [14] Brown, L., Wolf, J.M., Prados-Rosales, R. and Casadevall, A. (2015) Through the Wall: Extracellular Vesicles in Gram-Positive Bacteria, Mycobacteria and Fungi. *Nature Reviews Microbiology*, **13**, 620-630. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3480>
- [15] Orench-Rivera, N. and Kuehn, M.J. (2016) Environmentally Controlled Bacterial Vesicle-Mediated Export. *Cellular Microbiology*, **18**, 1525-1536. <https://doi.org/10.1111/cmi.12676>
- [16] Gujrati, V., et al. (2014) Bioengineered Bacterial Outer Membrane Vesicles as Cell-Specific Drug-Delivery Vehicles for Cancer Therapy. *ACS Nano*, **8**, 1525-1537. <https://doi.org/10.1021/nn405724x>
- [17] Grandi, A., Tomasi, M., Zanella, I., et al. (2017) Synergistic Protective Activity of Tumor-Specific Epitopes Engineered in Bacterial Outer Membrane Vesicles. *Frontiers in Oncology*, **7**, Article 253. <https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00253>
- [18] Tan, K., Li, R., Huang, X. and Liu, Q. (2018) Outer Membrane Vesicles: Current Status and Future Direction of These Novel Vaccine Adjuvants. *Frontiers in Microbiology*, **9**, Article 783. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00783>
- [19] Wang, S., Huang, W., Li, K., et al. (2017) Engineered Outer Membrane Vesicle is Potent to Elicit HPV16E7-Specific Cellular Immunity in a Mouse Model of TC-1 Graft Tumor. *International Journal of Nanomedicine*, **12**, 6813-6825. <https://doi.org/10.2147/IJN.S143264>
- [20] Liu, Q., Tan, K., Yuan, J., et al. (2018) Flagellin-Deficient Outer Membrane Vesicles as Adjuvant Induce Cross-Protection of *Salmonella* Typhimurium Outer Membrane Proteins against Infection by Heterologous *Salmonella* Serotypes. *International Journal of Medical Microbiology*, **308**, 796-802. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2018.06.001>
- [21] Peer, D., Karp, J.M., Hong, S., et al. (2007) Nanocarriers as an Emerging Platform for Cancer Therapy. *Nature Nanotechnology*, **2**, 751-760. <https://doi.org/10.1038/nnano.2007.387>
- [22] Hu, R., Lin, H., Li, J., Zhao, Y., Wang, M., Sun, X., Min, Y., Gao, Y. and Yang, M. (2020) Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917-Derived Outer Membrane Vesicles Enhance Immunomodulation and Antimicrobial Activity in Raw264.7 Macrophages. *BMC Microbiology*, **20**, Article No. 268. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01953-x>
- [23] Ernsting, M.J., Murakami, M., Roy, A. and Li, S.-D. (2013) Factors Controlling the Pharmacokinetics, Biodistribution and Intratumoral Penetration of Nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, **172**, 782-794. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.09.013>
- [24] Tahmasbi Rad, A., Chen, C.W., Aresh, W., et al. (2019) Combinational Effects of Active Targeting, Shape, and Enhanced Permeability and Retention for Cancer Theranostic Nanocarriers. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **11**, 10505-10519. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b21609>
- [25] Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A. and Jemal, A. (2018) Global Cancer Statistics 2018: Globocan Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **68**, 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- [26] Berzofsky, J.A., Terabe, M., Trepel, J.B., et al. (2018) Cancer Vaccine Strategies: Translation from Mice to Human Clinical Trials. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, **67**, 1863-1869. <https://doi.org/10.1007/s00262-017-2084-x>
- [27] da Silva, J.L., Dos Santos, A.L.S., Nunes, N.C.C., et al. (2019) Cancer Immunotherapy: The Art of Targeting the Tumor Immune Microenvironment. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, **84**, 227-240. <https://doi.org/10.1007/s00280-019-03894-3>
- [28] Kesty, N.C. and Kuehn, M.J. (2004) Incorporation of Heterologous Outer Membrane and Periplasmic Proteins into *Escherichia coli* Outer Membrane Vesicles. *Journal of Biological Chemistry*, **279**, 2069-2076. <https://doi.org/10.1074/jbc.M307628200>
- [29] Fantappiè, L., Santis, M.D., Chiarot, E., et al. (2014) Antibody-Mediated Immunity Induced by Engineered *Escherichia coli* OMVs Carrying Heterologous Antigens in Their Lumen. *Journal of Extracellular Vesicles*, **3**, Article ID: 24015. <https://doi.org/10.3402/jev.v3.24015>
- [30] Kim, O.Y., Park, H.T., Dinh, N.T.H., et al. (2017) Bacterial Outer Membrane Vesicles Suppress Tumor by Interfe-

-
- ron- γ -Mediated Antitumor Response. *Nature Communications*, **8**, Article No. 626. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00729-8>
- [31] Banchereau, J. and Palucka, K. (2018) Cancer Vaccines on the Move. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **15**, 9-10. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.149>
- [32] Durant, L., Stentz, R., Noble, A., Brooks, J., Gicheva, N., Reddi, D., O'Connor, M.J., Hoyles, L., McCartney, A.L., Man, R., Pring, E.T., Dilke, S., Hendy, P., Segal, J.P., Lim, D.N.F., Misra, R., Hart, A.L., Arebi, N., Carding, S.R. and Knight, S.C. (2020) *Bacteroides thetaiotaomicron*-Derived Outer Membrane Vesicles Promote Regulatory Dendritic Cell Responses in Health but Not in Inflammatory Bowel Disease. *Microbiome*, **8**, Article No. 88. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00868-z>
- [33] Bae, E.-H., Seo, S.H., Kim, C.-U., Jang, M.S., Song, M.-S., Lee, T.-Y., Jeong, Y.-J., Lee, M.-S., Park, J.-H., Lee, P., Kim, Y.S., Kim, S.-H. and Kim, D.-J. (2019) Bacterial Outer Membrane Vesicles Provide Broad-Spectrum Protection against Influenza Virus Infection via Recruitment and Activation of Macrophages. *Journal of Innate Immunity*, **11**, 316-329. <https://doi.org/10.1159/000494098>