

ST3Gal 参与肠道致病菌对肠上皮细胞黏附和侵袭的影响*

尚杨杨 蒋涛 冉郅键 刘韵 叶钧

(陆军军医大学西南医院消化内科, 重庆 400038)

【摘要】 目的 探讨 ST3Gal 合成的 $\alpha 2, 3$ -唾液酸残基修饰对肠道致病菌黏附和侵袭肠上皮细胞的影响。方法 通过促分化技术获得分化的结肠上皮细胞株 (HT-29-Gal), 再通过腺病毒转染技术, 获得 ST3Gal 过表达细胞株 (ST3Gal/HT-29-Gal) 和干扰细胞株 (ST3Gal-sh/HT-29-Gal) 及其对照细胞株 (Ctr/HT-29-Gal), 获得的上述细胞株与肠道致病菌 (EPEC 或 EHEC O157:H7) 共孵育 2 h 后, 通过荧光显微镜和琼脂糖克隆法计数黏附于上述细胞株表面的肠道致病菌数; 获得的上述细胞株与肠道致病菌 (EIEC) 共培养 2 h 后, 通过庆大霉素杀灭黏附于细胞表面的肠道致病菌, 再采用琼脂糖克隆法计数侵入上述细胞株内的肠道致病菌数。最后通过细胞通透性 (FD4) 实验和跨膜电阻 (TEER) 实验评价 ST3Gal 对肠上皮细胞屏障功能的影响。结果 荧光显微镜和琼脂糖克隆法计数均显示, 黏附于 ST3Gal/HT-29-Gal 细胞表面的肠道致病菌 (EPEC 或 EHEC O157:H7) 数低于其对照细胞 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 侵入 ST3Gal/HT-29-Gal 细胞内肠道致病菌 (EIEC) 数高于其对照细胞 ($P < 0.01$); ST3Gal/HT-29-Gal 细胞 TEER 值低于其对照细胞 ($P < 0.01$); ST3Gal/HT-29-Gal 细胞通透性高于其对照细胞 ($P < 0.01$); ST3Gal/HT-29-Gal 细胞中 MUC2 的 RNA 和蛋白表达量均低于其对照细胞 ($P < 0.01$), 相反结果在 ST3Gal-sh/HT-29-Gal 细胞中被证实。结论 ST3Gal 抑制肠道致病菌黏附于结肠上皮细胞表面, 促进肠道致病菌侵入结肠上皮细胞内。

【关键词】 $\alpha 2, 3$ 唾液酸; 大肠杆菌; 通透性; 黏附; 侵袭

【中图分类号】 R378.2 **【文献标志码】** A **DOI:** 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2024. 07. 004

The involvement of $\alpha 2, 3$ -sialic acids in the adhesion and invasion of *Escherichia coli* to intestinal epithelial cells

SHANG Yangyang, JIANG Tao, RAN Lijian, LIU Yun, YE Jun

(Department of Gastroenterology, Southwest Hospital, Army Medical University, Chongqing 400038, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of 2,3 sialic acid residues on the adhesion and invasion of *Escherichia coli* to intestinal epithelial cells. **Methods** The differentiated colon epithelial cell line (HT-29-Gal) was selected as the object of study, ST3Gal overexpression cell line (ST3Gal/HT-29-Gal), interference cell line (ST3Gal-sh/HT-29-Gal) and control cell line (Ctr/HT-29-Gal) were obtained by adenovirus transfection. These cell lines were co-cultured with *Escherichia coli* (EPEC or EHEC O157:H7). Bacterial staining and bacterial gradient dilution clonal counting were used to count the number of bacteria adherent to colon epithelial cell lines. These cell lines were co-cultured with invasive *Escherichia coli* (EIEC), and the bacteria attached to the surface of colon epithelial cells were killed by gentamicin. Then the number of bacteria invaded into colon epithelial cells was counted by bacterial gradient dilution cloning counting assays. Finally, the effect of ST3Gal on the barrier function of intestinal epithelial cells by the permeability (FD4) and transmembrane resistance (TEER) experiments. **Results** Bacterial staining and bacterial gradient dilution clonal count assays showed that the number of bacteria (EPEC or EHEC O157:H7) adherent to the surface of ST3Gal/HT-29-Gal cells was lower than Ctr/HT-29-Gal cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The number of bacteria (EIEC) invaded into ST3Gal/HT-29-Gal cells was higher than Ctr/HT-29-Gal cells ($P < 0.01$). The TEER values of ST3Gal/HT-29-Gal cells was

基金项目: 重庆市自然科学基金面上项目 (cstc2020jcyj-msxmX1094)

通讯作者: 叶钧, 副主任医师, E-mail: 399322521@qq.com

引用本文: 尚杨杨, 蒋涛, 冉郅键, 等. ST3Gal 参与肠道致病菌对肠上皮细胞黏附和侵袭的影响[J]. 西部医学, 2024, 36(7): 957-962. DOI: 10.

3969/j. issn. 1672-3511. 2024. 07. 004

lower than Ctr/HT-29-Gal cells ($P < 0.01$). The permeability of ST3Gal/HT-29-Gal cells was higher than Ctr/HT-29-Gal cells ($P < 0.01$). The expression of MUC2 mRNA and protein in ST3Gal/HT-29-Gal cells was lower than Ctr/HT-29-Gal cells ($P < 0.01$), while the opposite results were confirmed in ST3Gal-sh/HT-29-Gal cells. **Conclusion** $\alpha 2,3$ sialic acid residues inhibites bacterial(EPEC and EHEC O157:H7) adhesion to the surface of colon epithelial cells, promoting bacterial(EIEC) invaded into colon epithelial cells.

【Key words】 $\alpha 2,3$ sialic acid; Escherichia coli; Permeability; Adhesion; Invasion

肠道黏膜屏障由上皮细胞和覆盖于上皮细胞表面的黏液层组成,黏液层主要由杯状细胞合成并分泌的黏蛋白形成,而黏蛋白分子中携带有大量的 O-型糖链,约占分子重量的 70%^[1]。因此,肠道黏蛋白 O-型糖基化修饰对于维持肠黏膜屏障完整性和功能起着至关重要的作用。黏蛋白分子不同类型的唾液酸修饰由不同的唾液酸糖基转移酶(ST)介导合成,Dalziel M 首次发现 ST3Gal(即 ST3Gal1)的功能是转移 $\alpha 2,3$ -唾液酸到 Core 1 O-型糖链上,形成 $\alpha 2,3$ -唾液酸修饰的 Core 1 O-型糖链。课题组既往研究发现 Core 2 O-型糖链可以减少肠道致病菌对结肠上皮细胞的黏附和侵袭^[2-3];Core 3 O-型糖链可以减少肠道致病菌对结肠上皮细胞的黏附,并对肠道致病菌侵袭易感^[4]。本研究选择分化的 HT-29-Gal 细胞模拟体外肠黏膜屏障,通过分别构建 ST3Gal 过表达和干扰的结肠上皮细胞株来探讨 ST3Gal 合成的 $\alpha 2,3$ -唾液酸残基修饰对肠道致病菌黏附和侵袭肠上皮细胞的影响。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂 结肠癌细胞株 HT-29 购于上海中科院细胞库(货号:CBP60011),肠道致病菌(EPEC、EHEC O157:H7 和 EIEC)由陆军军医大学微生物教研室赠送所得,ST3Gal 过表达及干扰腺病毒载体均购于上海吉玛公司,跨膜电阻测定板购于美国 Costar 公司(货号:3422),碘化丙啶染色液(PI)购于美国 Sigma 公司(货号:S7109),FITC-Dextran 4 (FD4)购于上海谷研实业有限公司(货号:60842-46-8),ST3Gal 兔来源多克隆抗体购于 Invitrogen 公司(货号:PA5-21721),二抗山羊抗兔购于索莱宝公司(货号:K1034G-AF594),Lectin(生物素化的 MAA)购于 Vector labs 公司(货号:B-1265-1)。

1.2 HT-29-Gal 细胞建立 HT-29-Gal 细胞株由 HT-29 细胞通过半乳糖(Gal)促分化获得,具体培养方法,参照课题组前期文献^[5]。

1.3 ST3Gal 过表达与干扰 HT-29-Gal 细胞株转染 ST3Gal 腺病毒转染 HT-29-Gal 细胞株具体实验方法参照课题组前期文献^[4],得到的细胞分别命名为: Ctr/HT-29-Gal 和 ST3Gal/HT-29-Gal、Ctr/HT-29-Gal 和 ST3Gal-sh/HT-29-Gal。

1.4 ST3Gal 过表达与干扰效果检测 当 Ctr/HT-

29-Gal 和 ST3Gal/HT-29-Gal、Ctr/HT-29-Gal 和 ST3Gal-sh/HT-29-Gal 生长融合至单层时,按照 PCR 和 Western blot 试剂盒说明书提取上述细胞中 RNA 和蛋白。ST3Gal 过表达与干扰效果检测具体方法参照课题组前期文献^[4-5]。

1.5 肠道致病菌黏附及侵袭实验 具体实验方法参照课题组前期文献^[6]。

1.6 跨膜电阻 (TEER) 测定 Ctr/HT-29-Gal 和 ST3Gal/HT-29-Gal、Ctr/HT-29-Gal 和 ST3Gal-sh/HT-29-Gal 细胞 TEER 检测具体方法参照课题组前期文献^[6]。

1.7 FITC-dextran(FD4)通透性实验 当 Ctr/HT-29-Gal 和 ST3Gal/HT-29-Gal、Ctr/HT-29-Gal 和 ST3Gal-sh/HT-29-Gal 生长融合至单层时,将上述细胞接种于测定板中,按照 FD4 通透性测定法,在上室中加入 FD4(使其终浓度为 1 mg/mL),37 °C 培养 2 h,从下室吸取 100 μ L 培养基进行荧光值测定,发射波长为 492 nm,接收波长为 520 nm。

1.8 Lectin 组化 当 Ctr/HT-29-Gal 和 ST3Gal/HT-29-Gal、Ctr/HT-29-Gal 和 ST3Gal-sh/HT-29-Gal 生长融合至单层时,4%多聚甲醛固定 20 min 后,按照组化说明书操作,加入生物素化标记的 MAA(浓度为 15 μ g/mL),放置于 4 °C 冰箱孵育过夜,加入链霉素卵白素,室温 20 min,加入 PBS 清洗 3 次,再依次滴加 DAB 显色及苏木素复染,通过不同浓度乙醇脱水、二甲苯透亮,最后固定和镜检。

1.9 统计学分析 使用 SPSS 18.0 软件统计分析数据,采用样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ST3Gal 过表达与干扰结果 ST3Gal 过表达腺病毒转染 HT-29-Gal 后,通过 PCR 和 Western blot 检测发现,ST3Gal/HT-29-Gal 细胞株中 ST3Gal 的 RNA 和蛋白表达量均明显高于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株($P < 0.01$)(图 1A~B);3 种 ST3Gal 干扰腺病毒片段转染 HT-29-Gal 后,通过 PCR 和 Western blot 检测发现,3 种干扰片段均有效,其中 ST3Gal-sh2/HT-29-Gal、ST3Gal-sh3/HT-29-Gal 细胞株中 RNA 和蛋白表达量明显低于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株($P < 0.05$),见图 1C~D。

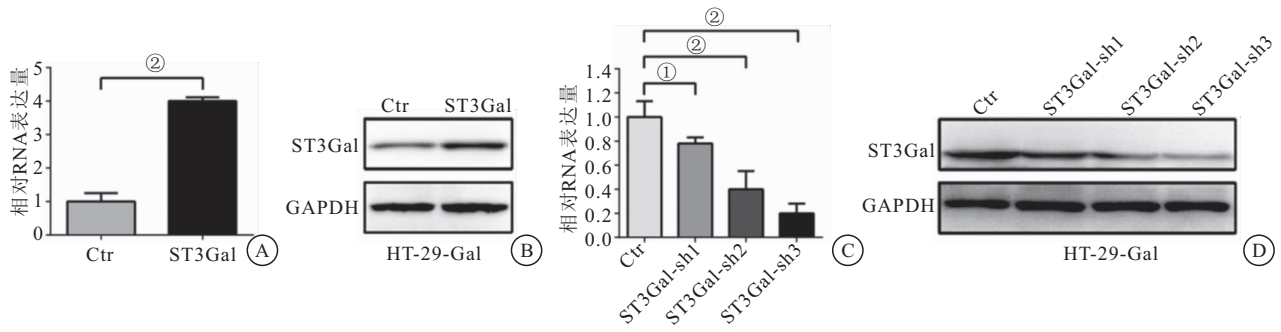


图 1 ST3Gal 干扰与过表达

Figure 1 ST3Gal interference and overexpression cell lines were established

注: A~B. 分别是检测过表达 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞的 ST3Gal mRNA 和蛋白表达水平; C~D. 分别是检测敲降 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞的 ST3Gal mRNA 和蛋白表达水平。两组比较, ① $P < 0.05$; ② $P < 0.01$ 。

2.2 ST3Gal 对糖链结构变化的影响结果 ST3Gal/HT-29-Gal 细胞株中 MAA 的表达量明显高于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株 ($P < 0.01$) (图 2A~B); ST3Gal-

sh3/HT-29-Gal 细胞株中 MAA 的表达量明显低于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株 ($P < 0.01$), 见图 2C~D。

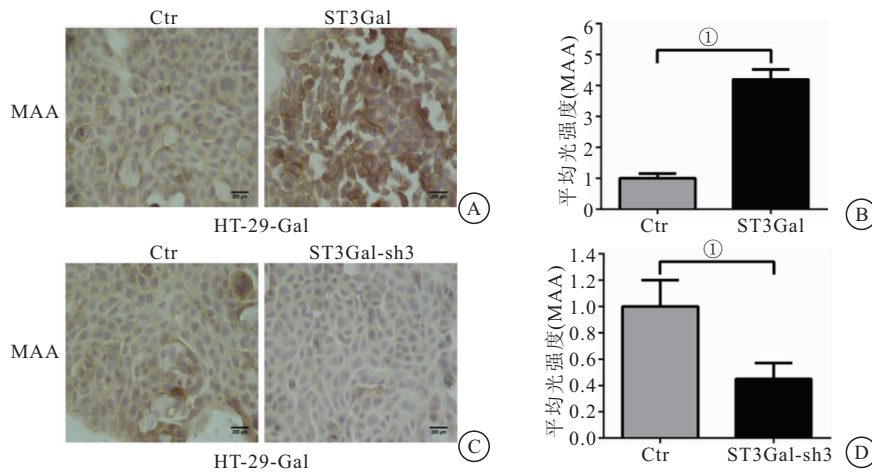


图 2 Lectin(MAA) 染色 α -2,3 唾液酸结构

Figure 2 Lectin (MAA) stained the structure of α -2,3 sialic acid in cell lines

注: A. Lectin(MAA) 染色过表达 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞的 α -2,3 唾液酸结构 (200 \times); B. 定量分析图 A 的 MAA 染色结果; C. Lectin(MAA) 染色敲降 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞的 α -2,3 唾液酸结构 (200 \times); D. 定量分析图 C 的 MAA 染色结果。两组比较, ① $P < 0.01$ 。

2.3 肠道致病菌黏附实验(直接观察法)结果 ST3Gal/HT-29-Gal 细胞株表面上黏附的肠道致病菌 (EPEC 和 EHEC O157:H7) 数低于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株 ($P < 0.01$) (图 3A~B); ST3Gal-sh3/HT-29-Gal 细胞株表面上黏附的肠道致病菌 (EPEC 和 EHEC O157:H7) 数高于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株 ($P < 0.01$), 见图 3C~D。

2.4 肠道致病菌黏附实验(传统克隆计数法)结果 ST3Gal/HT-29-Gal 细胞株表面上黏附的肠道致病菌 (EPEC 和 EHEC O157:H7) 数低于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) (图 4A); ST3Gal-sh3/HT-29-Gal 细胞株表面上黏附的肠道致病菌 (EPEC 和 EHEC O157:H7) 数高于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株

($P < 0.01$), 见图 4B。

2.5 肠道致病菌侵袭实验结果 侵袭入 ST3Gal/HT-29-Gal 细胞株中的肠道致病菌 (EIEC) 数高于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株 ($P < 0.01$) (图 5A); 侵袭入 ST3Gal-sh3/HT-29-Gal 细胞株中的肠道致病菌 (EIEC) 数低于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株 ($P < 0.01$), 见图 5B。

2.6 ST3Gal 对肠上皮细胞屏障的影响 ST3Gal/HT-29-Gal 细胞株的 TEER 值低于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株 ($P < 0.01$) (图 6A); ST3Gal-sh3/HT-29-Gal 细胞株的 TEER 值高于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株 ($P < 0.01$) (图 6B); ST3Gal/HT-29-Gal 细胞株的荧光值高于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株 ($P < 0.01$) (图 6C); ST3Gal-

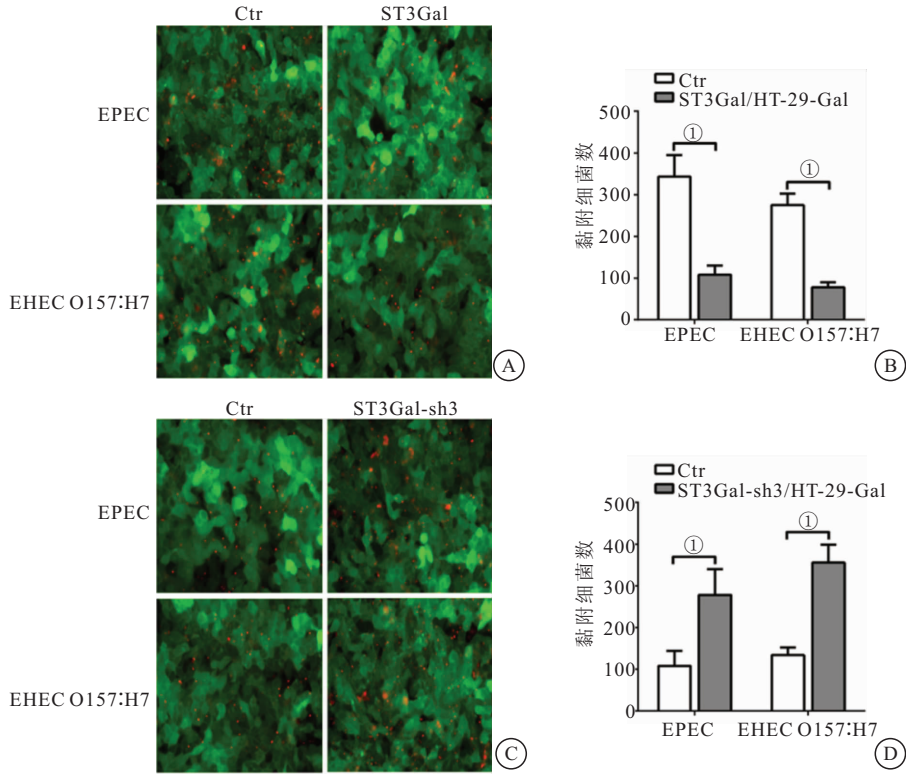


图 3 荧光显微镜观察并计数黏附于结肠上皮细胞表面的肠道致病菌(EPEC 和 EHEC O157:H7)数

Figure 3 The number of bacteria (EPEC and EHEC O157:H7) that adhere to the surface of colonic epithelial cells is counted by Fluorescence microscope

A. 检测过表达 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞表面黏附的 EPEC 和 EHEC O157:H7 致病菌数目(200×); B. 定量分析图 A 的 EPEC 和 EHEC O157:H7 细菌数; C. 检测敲降 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞表面黏附的 EPEC 和 EHEC O157:H7 致病菌数目(200×); D. 定量分析图 C 的 EPEC 和 EHEC O157:H7 细菌数。两组比较, ① $P < 0.01$ 。

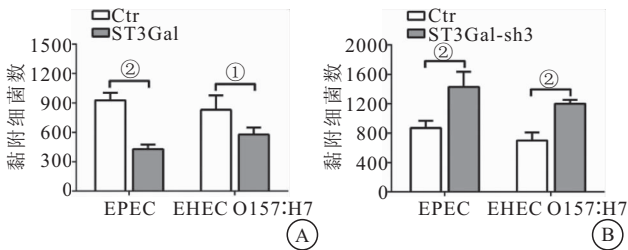


图 4 琼脂板肠道致病菌克隆计数黏附于结肠上皮细胞表面的肠道致病菌(EPEC 和 EHEC O157:H7)数

Figure 4 The number of bacteria (EPEC and EHEC O157:H7) adherent to the surface of colonic epithelial cells was counted on agar plate

注: A. 计数黏附在过表达 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞表面的肠道致病菌 EPEC 和 EHEC O157:H7 在琼脂板的克隆数; B. 计数黏附在敲降 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞表面的肠道致病菌 EPEC 和 EHEC O157:H7 在琼脂板的克隆数。两组比较, ① $P < 0.05$; ② $P < 0.01$ 。

sh3/HT-29-Gal 细胞株的荧光值低于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株($P < 0.01$), 见图 6D。

2.7 ST3Gal 对肠上皮细胞黏蛋白表达的影响 PCR 和 Western blot 检测发现, ST3Gal/HT-29-Gal 细胞株中 MUC2RNA 和蛋白表达量均明显低于 Ctr/

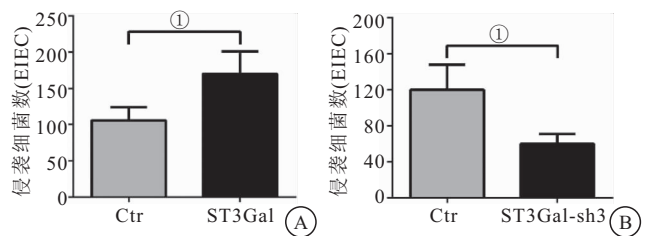


图 5 侵袭入结肠上皮细胞内的肠道致病菌(EIEC)数

Figure 5 Number of bacteria (EIEC) invading colon epithelial cells

注: A. 计数侵袭过表达 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞的肠道致病菌 EIEC 在琼脂板的克隆数; B. 计数侵袭敲降 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞的肠道致病菌 EIEC 在琼脂板的克隆数。两组比较, ① $P < 0.01$ 。

HT-29-Gal 细胞株($P < 0.01$) (图 7A~B); ST3Gal-sh3/HT-29-Gal 细胞株中 MUC2 的 RNA 和蛋白表达量均明显高于 Ctr/HT-29-Gal 细胞株($P < 0.01$), 见图 7C~D。

3 讨论

肠道黏膜屏障对维持肠道稳态来说十分重要, 展开面积可达 260~300 平方米^[7], 是抵御肠腔内致病物(如细菌、病毒、寄生虫和毒素)入侵的一线屏障^[8]。小肠黏液层仅有一层, 即疏松层黏液, 而结肠黏液层

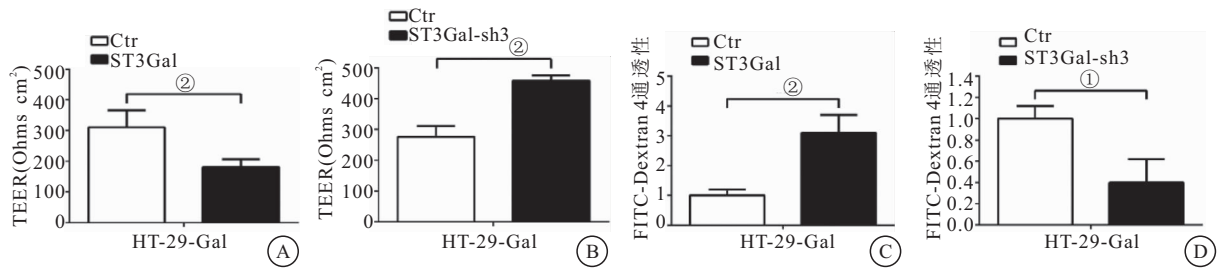


图 6 ST3Gal 对肠上皮细胞 TEER 和通透性的影响

Figure 6 Effect of ST3Gal on TEER and permeability of intestinal epithelial cells

注:A. 检测过表达 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞的 TEER 值;B. 检测敲降 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞的 TEER 值;C. 检测过表达 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞的通透性;D. 检测敲降 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞的通透性。两组比较,① $P < 0.05$;② $P < 0.01$ 。

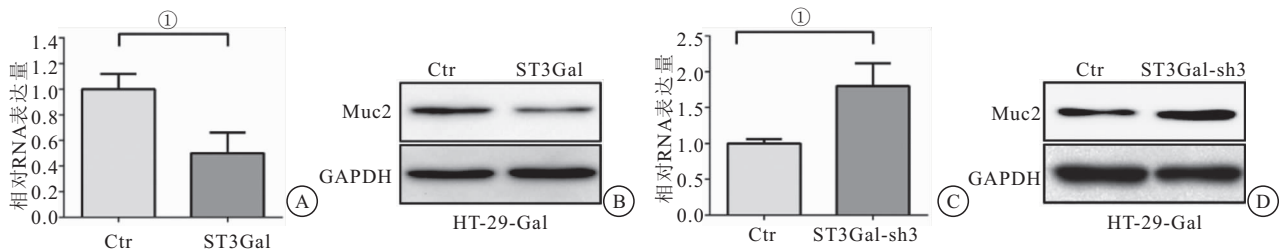


图 7 ST3Gal 对肠上皮细胞 MUC2 表达的影响

Figure 7 Effect of ST3Gal on MUC2 expression in colonic epithelial cells

注:A. 过表达 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞的 MUC2 mRNA 表达水平;B. 敲降 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞的 MUC2 mRNA 表达水平;C. 过表达 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞的 MUC2 蛋白表达水平;D. 敲降 ST3Gal 的 HT-29-Gal 细胞株及其对照细胞的 MUC2 蛋白表达水平。两组比较,① $P < 0.01$ 。

有两层:一层是最外的疏松层黏液,细菌定居于此;另一层是无菌的致密层黏液,牢固地附着在结肠上皮和共生菌群之间,并将其分离开^[9-10]。肠道黏液层中富含大量的共生菌,大约有 10^{13} 细菌定植^[11]。因肠道 PH 值不同和其他因素原因,只有一小部分共生菌落定植在小肠,大部分定植在结肠黏液层中,主要是拟杆菌、厚壁菌、放线菌、变形菌和疣菌,大约占人体肠道共生菌的 70%^[8,12]。在正常情况下,肠道共生菌与黏膜屏障通过保持动态平衡而抵御病原体入侵^[13]。这种平衡的破坏将导致相关疾病的发生,如炎症性肠病^[14]。

前期课题组研究发现,抑制 HT-29-Gal 细胞株中 O-型糖链的合成,将导致肠道致病菌(EPEC 和 EHEC O157:H7)黏附结肠上皮细胞表面减少,同时导致分泌型黏蛋白 2(MUC2)表达减少^[3]。O-型糖链根据不同的连接,可以区分为 8 种核心结构,即 Core1-Core8。抑制 HT-29-Gal 细胞株中 O-型糖链的合成,是抑制细胞株中所有 O-型糖链合成,不能区分是哪一种核心结构发挥功能。因此进一步研究发现,抑制结肠上皮细胞中 C2GnT2(催化合成 Core 2 O-型糖链)的表达,将导致肠道致病菌黏附结肠上皮细胞表面减少^[15];促进结肠上皮细胞中 β 3gnT6(催化合成 Core 3 O-型糖链)的表达,将抑制肠道致病菌黏附肠上皮细

胞^[6]。这提示 Core 2 和 Core 3 O-型糖链影响肠道致病菌黏附于结肠上皮细胞。本研究通过促进或抑制结肠上皮细胞中 ST3Gal 的合成发现,促进结肠上皮细胞中 ST3Gal 的合成,将导致 $\alpha 2,3$ 唾液酸残基表达增加;反之,抑制结肠上皮细胞中 ST3Gal 的合成,将导致 $\alpha 2,3$ 唾液酸残基表达减少。这提示 ST3Gal 影响肠道 $\alpha 2,3$ 唾液酸残基修饰。

促进结肠上皮细胞中 ST3Gal 合成 $\alpha 2,3$ 唾液酸残基,将导致肠道致病菌(EPEC 和 EHEC O157:H7)黏附结肠上皮细胞表面减少;反之,抑制结肠上皮细胞中 ST3Gal 合成 $\alpha 2,3$ 唾液酸残基,将导致肠道致病菌(EPEC 和 EHEC O157:H7)黏附结肠上皮细胞表面增加。同时有文献报道,EPEC 和 EHEC O157:H7 致病的第一步是黏附于肠黏液屏障中的糖被上,进而完成定植和致病^[16]。这表明 ST3Gal 合成的 $\alpha 2,3$ 唾液酸残基阻碍肠道致病菌(EPEC 和 EHEC O157:H7)黏附于肠上皮细胞,可能不是肠道致病菌(EPEC 和 EHEC O157:H7)的黏附位点。同时促进结肠上皮细胞中 ST3Gal 的表达,将导致 EIEC 侵袭数量增加;抑制结肠上皮细胞中 ST3Gal 的表达,将导致 EIEC 侵袭数量减少。这可能是 ST3Gal 合成的 $\alpha 2,3$ 唾液酸残基改变了肠上皮细胞屏障功能。因此本研究进一步测定肠上皮细胞 TEER 和 FD4 通透性发现,促进

结肠上皮细胞中 ST3Gal 的合成将导致 TEER 值降低,通透性增加;抑制结肠上皮细胞中 ST3Gal 的合成将导致 TEER 值增加,通透性降低。这提示 ST3Gal 合成的 α 2,3唾液酸残基修饰将减弱肠上皮细胞屏障功能。同时有文献报道,敲除小鼠中 C3GnT(催化合成 Core 3 O-型糖链),将减弱小鼠肠道屏障功能^[17], C3GnT 与 C1GalT(催化合成 Core 1 O-型糖链)共用同一底物(Tn 抗原)^[18-19],抑制 Core 3 O-型糖链结构的合成,将增加 Core 1 O-型糖链结构的合成,而 ST3Gal 合成的 α 2,3唾液酸残基修饰的 Core 1 O-型糖链。这进一步提示 α 2,3唾液酸残基可能通过改变 Core 1 O-型糖链的功能而影响肠上皮细胞屏障功能。

MUC2 作为肠道黏液组成的主要黏蛋白,是构成肠道黏液屏障的主要成份^[20-21],因此,本研究进一步研究 ST3Gal 对肠上皮细胞 MUC2 表达的影响,结果发现促进结肠上皮细胞中 ST3Gal 的表达,将导致结肠上皮细胞中 MUC2 表达减少;反之,抑制结肠上皮细胞中 ST3Gal 的表达,将导致结肠上皮细胞中 MUC2 表达增加。这表明 ST3Gal 可能通过抑制肠上皮细胞 MUC2 的表达而减弱肠上皮细胞屏障功能,进而抑制肠道致病菌(EPEC 和 EHEC O157:H7)黏附肠上皮细胞和对肠道致病菌(EIEC)侵袭易感。然而,ST3Gal1 调控 MUC2 表达的具体机制,需要进一步深入研究。

4 结论

ST3Gal 合成的 α 2,3唾液酸残基修饰参与肠道致病菌(EPEC 和 EHEC O157:H7)黏附肠上皮细胞,同时参与肠道致病菌(EIEC)侵袭入肠上皮细胞中,这或许为将来炎症性肠病的防治提供新的思路和治疗靶点。

【参考文献】

[1] BERGSTROM K S, XIA L. Mucin-type O-glycans and their roles in intestinal homeostasis[J]. *Glycobiology*, 2013, 23(9): 1026-1037.

[2] YE J, PAN Q, SHANG Y, *et al.* Core 2 mucin-type O-glycan inhibits EPEC or EHEC O157:H7 invasion into HT-29 epithelial cells[J]. *Gut Pathog*, 2015, 7: 31.

[3] YE J, SONG L, LIU Y, *et al.* Core 2 Mucin-Type O-Glycan Is Related to EPEC and EHEC O157:H7 Adherence to Human Colon Carcinoma HT-29 Epithelial Cells[J]. *Dig Dis Sci*, 2015, 60(7): 1977-1990.

[4] YE J, WEI X, SHANG Y, *et al.* Core 3 mucin-type O-glycan restoration in colorectal cancer cells promotes MUC1/p53/miR-200c-dependent epithelial identity [J]. *Oncogene*, 2017, 36(46): 6391-6407.

[5] PAN Q, TIAN Y, LI X, *et al.* Enhanced membrane-tethered mucin 3 (MUC3) expression by a tetrameric branched peptide

with a conserved TFLK motif inhibits bacteria adherence[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(8): 5407-5416.

[6] 刘韵,叶钧. Core 3 O-型糖链参与大肠杆菌对肠上皮细胞黏附和侵袭的影响[J]. *中国医药科学*, 2022, 12(3): 37-41.

[7] HELANDER H F, FÄNDRIS L. Surface area of the digestive tract - revisited [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2014, 49(6): 681-689.

[8] HUSE S M, DETHLEFSEN L, HUBER J A, *et al.* Exploring microbial diversity and taxonomy using SSU rRNA hypervariable tag sequencing[J]. *PLoS Genet*, 2008, 4(11): e1000255.

[9] BERGSTROM K, SHAN X, CASERO D, *et al.* Proximal colon-derived O-glycosylated mucus encapsulates and modulates the microbiota[J]. *Science*, 2020, 370(6515): 467-472.

[10] SHARPEN J D A, DOLAN B, NYSTRÖM E E L, *et al.* Transglutaminase 3 crosslinks the secreted gel-forming mucus component Mucin-2 and stabilizes the colonic mucus layer[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 45.

[11] SENDER R, FUCHS S, MILO R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body[J]. *PLoS Biol*, 2016, 14(8): e1002533.

[12] HILLMAN E T, LU H, YAO T, *et al.* Microbial Ecology along the Gastrointestinal Tract[J]. *Microbes Environ*, 2017, 32(4): 300-313.

[13] LEUNG C Y, WEITZ J S. Not by (Good) Microbes Alone: Towards Immunocommenseal Therapies[J]. *Trends Microbiol*, 2019, 27(4): 294-302.

[14] ZHANG Y, WANG L, OGANSEY D K W, *et al.* Mucin-Type O-Glycans: Barrier, Microbiota, and Immune Anchors in Inflammatory Bowel Disease[J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 5939-5953.

[15] 刘韵,叶钧,宋丽丽,等. Core 2 和 Core 4 O-型糖链参与大肠杆菌对肠上皮细胞的黏附与侵袭[J]. *第三军医大学学报*, 2014, 36(2): 105-109.

[16] SHEKAR A, RAMLAL S, JEYABALAJI J K, *et al.* Intranasal co-administration of recombinant active fragment of Zonula occludens toxin and truncated recombinant EspB triggers potent systemic, mucosal immune responses and reduces span of E. coli O157:H7 fecal shedding in BALB/c mice[J]. *Med Microbiol Immunol*, 2019, 208(1): 89-100.

[17] AN G, WEI B, XIA B, *et al.* Increased susceptibility to colitis and colorectal tumors in mice lacking core 3-derived O-glycans [J]. *J Exp Med*, 2007, 204(6): 1417-1429.

[18] RAEV S A, AMIMO J O, SAIF L J, *et al.* Intestinal mucin-type O-glycans: the major players in the host-bacteria-rotavirus interactions[J]. *Gut Microbes*, 2023, 15(1): 2197833.

[19] THOMPSON N, WAKARCHUK W. O-glycosylation and its role in therapeutic proteins [J]. *Biosci Rep*, 2022, 42(10): BSR20220094.

[20] ARIKE L, HOLMÉN-LARSSON J, HANSSON G C. Intestinal Muc2 mucin O-glycosylation is affected by microbiota and regulated by differential expression of glycosyltransferases[J]. *Glycobiology*, 2017, 27(4): 318-328.

[21] YAO D, DAI W, DONG M, *et al.* MUC2 and related bacterial factors: Therapeutic targets for ulcerative colitis[J]. *EBioMedicine*, 2021, 74: 103751.

(收稿日期: 2023-05-08; 修回日期: 2024-05-16; 编辑: 刘灵敏)