

细菌细胞间通讯的群感效应*

齐枝花¹ 于鑫^{1**} 余萍¹ 夏明芳² 郑正¹

(南京大学环境学院 污染控制与资源化国家重点实验室 南京 210093)¹

(江苏省环境科学研究院 南京 210036)²

摘要: 自然界中的细菌大多数以生物膜的形式存在, 这种存在方式增强了细菌对环境的适应性和病原菌的致病性。近年来研究表明, 细菌群感效应 (quorum-sensing) 是调控生物膜形成和其它生物学功能的机制。细菌能够分泌特定的信号分子并感应它的浓度, 当信号分子浓度达到阈值时, 细菌就能够引发包括致病基因在内的相关基因的表达以适应环境的变化。由于生物膜的形成是病原菌致病性和其它要求一定细胞密度才能产生功能的基础, 所以细菌群感效应的发现为防止病原菌的毒害作用提供了新的思路。

关键词: 细菌群感效应, 信号分子, 细胞间通讯

中图分类号: Q93 文献标识码: A 文章编号: 0253-2654 (2005) 02-0128-06

Quorum-Sensing: A Mechanism of Bacterial Cell-to-Cell Communication *

QI Zhi-Hua¹ YU Xin^{1**} YU Ping¹ XIA Ming-Fang² ZHENG Zheng¹

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210093)¹

(Jiangsu Institute of Environmental Sciences, Nanjing 210036)²

Abstract: It is well known that, in nature, most bacteria prefer to form complex surface-attached communicates called biofilm, which make the bacteria have more chances to survive in changed environment and increases their production of virulence factors. Recently, researchers showed that quorum-sensing plays a very important role in biofilm formation and other bacteria physiological processes. Bacteria can secret and detect specific signaling molecule, when the density of the signals reached the threshold, it will activate multiple target genes, including the virulence gene of pathogens, to adapt to the changed environment. These findings provide us new methods for inhibiting production of virulence in pathogens, for biofilm is the base of the production of virulence and other density-dependent physiological processes.

Key words: Quorum-sensing, Signaling molecule, Cell-to-cell communication

长期以来, 人们一直认为微生物, 尤其是细菌, 只能被动地感受外界环境的变化, 而没有群体效应。直到上世纪 70 年代, Hasting 等^[1] 对海洋生物发光器中的发光细菌 *Vibrio fischeri* 和 *Vibrio harveyi* 的发光机制研究中发现细菌细胞间存在信息交流, 此后科学家们便推测细菌细胞间的信息交流是否普遍存在于各种细菌中。进入 90 年代后, 科学家们对包括革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌在内的多种细菌进行研究, 证实了这个推测。同时发现细菌细胞间信息传递的载体是可溶性的小分子信号分子。通常, 细菌细胞中的信号分子合成酶能够低水平地合成小分子信号分子, 细菌通过这些信号分子进

* 国家自然科学基金项目资助 (No. 50408026)

江苏省科技厅 2003 年度重大公益专项“饮用水有机毒物处理中试平台”资助 (No. BM200271)

** 通讯作者 Tel: 025-83592841 转 410, E-mail: xinyu@nju.edu.cn

收稿日期: 2004-07-08, 修回日期: 2004-09-12

行信息的交流^[2-4]。当信号分子浓度较低时,它不足以与细胞中的转录调控蛋白结合,因而不能诱导目的基因的表达。但是信号分子的浓度会随着细菌浓度的增大而增大,当信号分子的浓度达到阈值时,它们就会渗入到细胞内和转录调节蛋白结合,形成转录调节蛋白-信号分子聚合物,此聚合物能够结合到染色体的某个特定的DNA序列上,使信号分子合成基因在内的靶基因得到表达,同时生产更多的信号分子。此时的细菌就通过信号分子传递了信息,改变了它们间的行为,显示出单个细菌所不具有的生理功能和生态特征。这种依赖细胞密度的细胞信息交流现象被称为细菌群感效应(Quorum-sensing,简称QS)。

细菌群感效应的发现,使科学家的注意力从对单个细胞行为的研究转移到对多细胞行为的研究上。在特定的环境条件下,通过细菌群感效应,细菌的生理生态特征发生了改变,有利于细菌在不利的环境条件下生存。目前,科学家们对细菌群感效应的研究主要还是集中于调控原理及其潜在的作用方面。

1 细菌群感效应的原理

1.1 革兰氏阴性细菌的 QS 调控机制

细菌群感效应的关键是小分子信号分子的合成和浓度的增加。革兰氏阴性细菌 QS 调控机制所用的信号分子一般是脂肪类物质,主要是酰基高丝氨酸内酯及其衍生物(AHLs)^[1,3]。信号分子没有种属特异性,并有着相似的调控机制。通常以发光细菌 *V. fischeri* 的发光调控机制 LuxI-LuxR 为基本模型,其它细菌的信号分子合成酶和转录调节蛋白分别与 LuxI 和 LuxR 同源。

以 *V. fischeri* 为例^[1,2,5],海洋生物发光器中单个存在的 *V. fischeri* 并不发出明显可见的光,但是一旦 *V. fischeri* 聚在一起并且达到一定的浓度时就会发出很明显的光。经过研究证明,*V. fischeri* 的发光现象是由 QS 调节所控制的。*V. fischeri* 的发光性能由两种蛋白所调控——信号分子合成酶 LuxI 和转录调节蛋白 LuxR。其中 LuxI 能够自动维持低水平地合成可以溶解的小分子信号分子 OHHL (N-(3-oxohexanoyl)-L-homoserine lactone, N-3-氧-己酰基-高丝氨酸内酯)。当环境中细胞密度较低时,产生的少量信号分子不足以和 LuxR 结合,因而不能引发依赖 luxR 的 LuxI 和 Lux 操纵子的大量转录。因此,荧光功能性基因也得不到表达(如图 1 A)。当环境中细胞密度足够大,信号分子浓度达到阈值浓度时,OHHL 就进入到细胞内和 LuxR 结合形成 LuxR-OHHL 整合体,此整合体结合到 *lux* 启动子上,使 *lux* 操纵子和 LuxI 得到大量表达,从而荧光功能性基因也得到表达,生物体发光。同时, LuxI 的增多进一步促进 OHHL 的合成,形成一个正反馈调节机制,使荧光功能性基因不断地得到表达,*V. fischeri* 就发出明显的荧光(如图 1 B)。

另一种研究较为深入的革兰氏阴性菌是 *Pseudomonas aeruginosa*^[1,6]。它存在两种相互联系的调控路径,分别是 *las* 和 *rhl*,并且两者存在先后顺序,*las* 在前并一定程度上控制 *rhl*。两种调控路径的转录调节基因分别是 *lasR* 和 *rhlR*,信号分子合成基因分别是 *lasI* 和 *rhlI*。又如 *P. aureofaciens* 的 QS 是通过 PhzIR 来完成的,*Erwinia carotovora* 控制抗菌素合成的 QS 是 CarIR,而 *Vibrio harveyi* 的信号分子合成酶是 LuxM 等。

1.2 革兰氏阳性细菌的 QS 调控机制

革兰氏阳性菌 QS 的信号分子一般是寡肽和氨基酸,其调控过程包括寡肽的合成、加工、分泌及其对寡肽的响应等,而且调控过程没有统一的模型。下面以 *Bacillus subtilis* 的由多信号系统控制的感受态和孢子形成来说明^[6]。

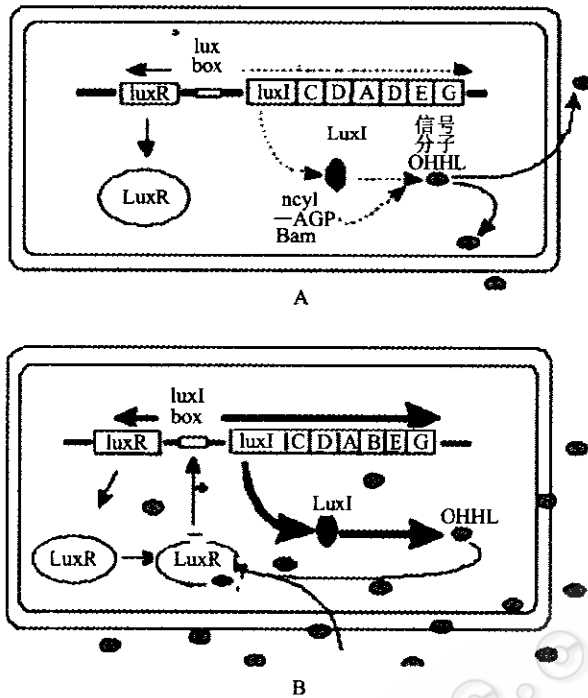


图1 QS 对 *V. fischeri* 发光性能的调节

A 低细胞浓度时, B 高细胞浓度时

Bacillus subtilis 孢子的形成和感受态的诱导依赖于细胞密度和胞外信号分子^[5,7,8]。其中感受态的诱导依赖于两种信号分子, 分别是 ComX 和 CSF (competence and sporulation factor)。ComX 的活性依赖于双组分调节系统 (感受蛋白/调节蛋白) ComP 和 ComA。当 ComX 的浓度达到阈值时, ComX 信号分子进入细胞内导致 ComP/ComA 系统中组氨酸激酶 (HK) ComP 磷酸化, 磷酸化了的 ComP 再与响应调节蛋白 (RR) ComA 结合, 使 ComA 磷酸化, 形成 ComA ~ P。ComA ~ P 可以激活包括感受态基因 *comS* 在内的靶基因的表达, 完成了 QS 对感受态的调控 (如图 2)。

CSF (由 *phrC* 编码产生) 调控 ComA 活性的过程要复杂些。当 CSF 的浓度达到一定值时, CSF 就通过寡肽通透酶 (oligopeptide permease, Opp) 转移到细胞的内部。在低浓度时, CSF 通过降低 RapC 磷酸酶 (aspartyl-phosphate phosphatase, 它会抑制 ComA 的磷酸化) 的活性来激活 ComA, 提高了 ComA ~ P 的浓度, 使 *comS* 得到表达。但是有时 CSF 是通过抑制另一种磷酸酶 RapB 的活性来激活 ComA 的; 在高浓度的情况下, CSF 和组氨酸蛋白激酶 ComP 结合, 抑制了 ComP 的活性, 从而使 *comS* 的表达受到抑制, 但是此时却使孢子形成基因得到表达 (如图 2)。

参与孢子形成过程的信号分子主要是 CSF 和 ARNQT (由 *phrA* 编码产生), 两种信号分子通过 Opp 进入细胞内, 抑制磷酸化酶 RapB 和 RapA (这两种酶能够使 Spo0F-P 发生去磷酸化作用) 的活性。所以使 Spo0F 被激酶 (KinA, B, C) 磷酸化, 并在细胞内不断的积累。同时, 磷酸化了的 Spo0F 可通过 Spo0B 使 Spo0A 磷酸化, 启动孢子形成的过程 (如图 3)。所以 *Bacillus subtilis* 的 QS 调控是通过一系列的磷酸化过程来实现的。

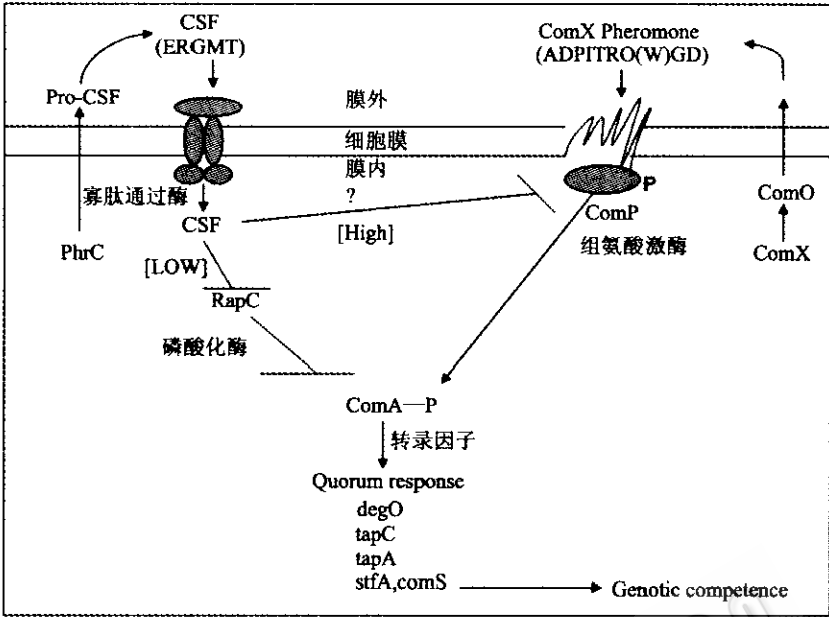


图 2 QS 对 *Bacillus subtilis* 感受态的调控

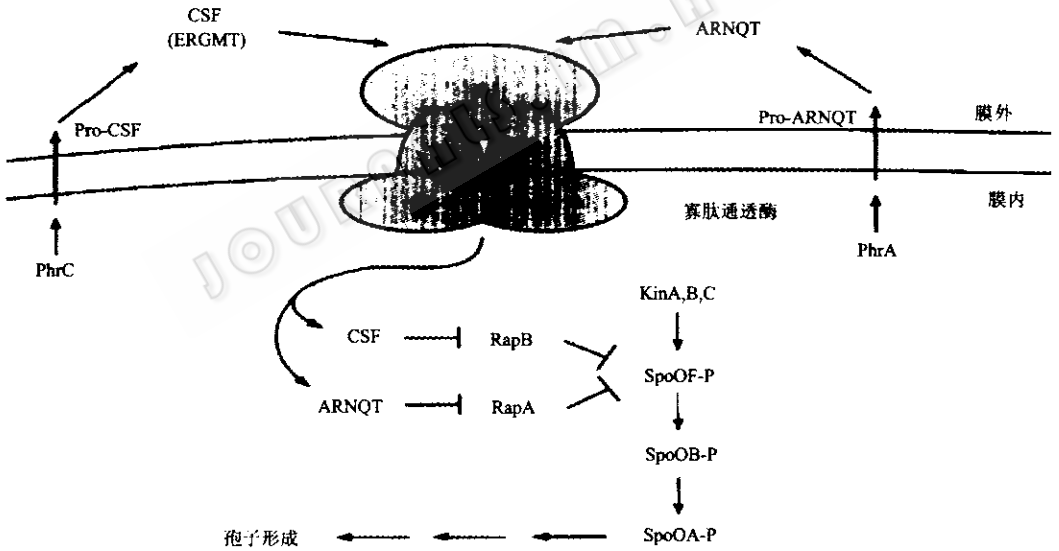


图 3 QS 对 *Bacillus subtilis* 孢子形成的调控

2 影响细菌群感效应的因素

除了对 QS 的调控机制进行研究外, 研究者还发现 QS 受多种因素的影响, 主要有以下几种: (1) 卤代呋喃酮; (2) 信号分子降解酶; (3) 微生物的降解作用。

卤代呋喃酮 (halogenated furanones) 是目前 QS 调控机制的主要抑制剂, 最早是在海洋红藻 *Delisea pulchra* 中发现的^[5,9]。它与某些信号分子具有类似的结构, 因此会与信号分子竞争假单胞菌等 LasR 上的结合位, 阻碍了信号分子和 LasR 的结合, 使 QS 调控作用受到抑制。而且, 卤代呋喃酮与转录蛋白结合时, 会使转录调节蛋白形成易于

被水解蛋白水解的构象^[10]，转录调节因被水解而不能与信号分子结合，QS 调控系统被中断。经过检测发现，卤代呋喃酮可使转录蛋白的半衰期降低 100 倍，使转录蛋白的浓度不断降低，因而达不到阈值浓度；可使 *Vibrio harveyi* 的活性降低 3,300 倍^[11]，从而抑制它的发光性能和毒性因子的合成^[9,11]；可抑制 *Escherichia coli* 的活性^[11]；可抑制 *P. aeruginosa*^[12] 和 *Serratia liquefaciens* 生物膜的形成；可抑制 *E. carotovora* 抗生素合成和致病因子的表达等。由于卤代呋喃酮对 QS 抑制性和目前 QS 对细菌各种生理生态学的调控作用，各领域的学者，特别是医药领域，对它进行了广泛而深入的研究^[12]。

信号分子降解酶（主要是 AiiA）能够降解信号分子 AHLs，使信号分子难以达到阈值浓度，从而抑制 QS 调控机制。如 *Bacillus* sp. 240B1，它含有 *aiiA* 基因，这种基因能够编码乙酰高丝氨酸内酯降解酶 AiiA，水解 AHL 的内酯键，生成酯酰高丝氨酸内酯^[9]。Lazaro Molina 等人将从 *Bacillus* sp. 克隆出来的 *aiiA* 引入到烟草和马铃薯的根部，发现由 *aiiA* 编码出的内脂降解酶能够抑制根部上的致病菌 *E. carotovora* 的 QS 调控系统，使 *E. carotovora* 对烟草和马铃薯根部的软腐蚀作用降低。有学者还将从 *Bacillus* sp. A24 中提取出的 *aiiA* 基因克隆到 *P. aeruginosa* PA01 的细胞中，在较高的细胞浓度下，*aiiA* 都会通过干扰 QS 系统使 *P. aeruginosa* PA01 的毒性因子和外毒素酶的表达受到抑制，并且使细菌的群聚性能大大地降低。Teplitski 和 Wolfgang D 还发现某些高等植物如豌豆、大豆和水稻可以分泌一些化特异性化合物，它们要么抑制 QS，要么被作为信号分子激发 QS。但是，可惜的是这些化合物的结构至今仍不清楚。此外，有人还从土壤中分离出一种信号分子降解酶——氨酰酶，它是由 *Variovorax paradoxus* 所合成。这种酶能裂解脂肪酸并矿化高丝氨酸内脂环，使 AHLs 被降解^[9]。Xu 等人还从猪的肾中分离出一种酰基酶 I，这种酶能够将信号分子 N-酰基高丝氨酸内酯去酰基化，生成氨基酸和 L-高丝氨酸，抑制了细菌生物膜的形成。

微生物的信号分子降解作用主要是指某些微生物能够以与它共存的细菌所合成的信号分子作为碳源和氮源，分解这些信号分子以获得生长和生存所必须的物质和能量，使共存菌的 QS 受到抑制。

3 QS 的研究意义和应用

近几十年来的研究证实，细菌群感效应 QS 参与很多生物学功能的调控。诸如 *P. aeruginos* 等病原菌胞外酶的产生；发光菌的生物发光性；Ti 质粒的结合转移；细菌抗生素的合成；毒性因子的表达；病原菌的致病性；生物表面活性物质的产生；细菌的聚集性（swarming）、游动性和生物膜的形成等^[4,7,9,10,13,14]。其中 QS 调控病原菌毒性因子的表达和生物膜的形成是目前倍受关注的问题。

研究证实，病原菌对宿主细胞的致病作用一般需要毒性因子的表达，并且大多数病原菌的致病性是和生物膜的形成紧密联系在一起的。诸如：由 *Escherichia coli* 引起的尿路感染，由 *Staphylococcus aureu* 引起的导管内感染，由 *P. aeruginosa* 引起的胆囊性纤维化患者的肺炎等^[4]。当这些病原菌形成生物膜时，它们对宿主细胞的致病性和对抗菌药的免疫性能就会成倍的增加。因此在医学界，研究新型高效的抗菌药物已成为热点。细菌 QS 系统的研究表明，QS 控制着病原菌的致病性和某些细菌生物膜的形成。David^[15] 对 *P. aeruginosa* 生物膜的形成进行研究发现，由 QS 突变体（QS 调控作用受到了抑制）所形成的生物膜比较薄，没有正常成熟的生物膜结构，并且对生物灭菌剂十

二烷基磺酸钠 (SDS) 的抵抗作用显著降低。但是在培养液中加入 QS 调控机制所需的信号分子后, 突变体就恢复原有形成生物膜的性能。其他学者对这方面的研究都得出了相似的结论^[2,14]。同时, 抑制 QS 的某些物质或微生物同样能够有效的抑制细菌生物膜的形成。这方面的研究为医学界的学者们提供了研制高效抗菌药的新思路。即如果我们能够研制出一种物质, 它能够抑制病原菌的 QS 系统, 那么它就能有效的控制病原菌的毒害作用。

综上所述, 对细菌群感效应进行深入研究, 利用信号分子类似物和信号分子降解酶对 QS 的干扰和破坏作用, 将为利用现代分子技术防止致病菌的毒害作用开辟新的路径。

参 考 文 献

- [1] 刘海舟, 张素琴. 应用与环境生物学报, 2000, **6** (3): 288 ~ 294.
- [2] Whitehead N A, Barnard A M L, Slater H, *et al.* FEMS Microbiology Reviews, 2001, **25**: 365 ~ 404.
- [3] Smith R S, Lglewski B H. Current opinion in Microbiology, 2003, **6**: 56 ~ 60.
- [4] Ward J P, King J R, Koerber A J, *et al.* J Math Biol, 2003, **47**: 23 ~ 55.
- [5] Bassler B L. Current Opinion in Microbiology, 1999, **2**: 582 ~ 587.
- [6] Smith K M, Bu Y, Suga H. Chemistry & Biology, 2003, **10**: 81 ~ 89.
- [7] Withers H, Swit S, Williams P. Current Opinion in Microbiology, 2001, **4**: 186 ~ 193.
- [8] Michiel K, Luis E. Peptides, 2001, **22**: 1579 ~ 1596.
- [9] Molina L, Constantinescu F, Michel L, *et al.* FEMS Microbiology Ecology, 2003, **45**: 71 ~ 81.
- [10] Manefield M, Rasmussen T B, Hentzer M, *et al.* Microbiology, 2002, **148** (Pt 4): 1119 ~ 27.
- [11] Ren D, Sims J J, Wood T K. Environ Microbiol, 2001, **3** (11): 731 ~ 736.
- [12] Hentzer M, Riedel K, Rasmussen T B, *et al.* Microbiology, 2002, **148**: 87 ~ 102.
- [13] Huber B, Riedel K, Hentzer M, *et al.* Microbiology, 2001, **147**: 2517 ~ 2528.
- [14] 吴红, 宋志军, Michael. 自然科学学报, 2003, **13** (7): 679 ~ 687.
- [15] Davies D G, Parsek M R, Pearson J P, *et al.* Science, 1998, **280**: 295 ~ 298.