

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.11.043

· 专论与综述 ·

喹诺酮信号系统研究进展*

郑红达^{1,2} 周丽曼^{1,2} 唐艺丹^{1,2} 于文功^{1,2} 宫倩红^{1,2,△}

(1 中国海洋大学医药学院 山东 青岛 266003; 2 海洋药物教育部重点实验室 山东 青岛 266003)

摘要: 喹诺酮信号系统是铜绿假单胞菌群体感应调控网络中一个重要组成部分,对于绿脓菌素和弹性蛋白酶等毒力因子的表达及细菌生物被膜形成和细菌运动具有重要的调控作用,因此与临床细菌感染密切相关。3,4-二羟基-2-庚基-喹诺酮(Pseudomonas quinolone signal, PQS)及2-庚基-4-喹诺酮(4-hydroxy-2-heptylquinoline, HHQ)是 pqs 调控系统中重要的信号分子。PQS 对于细菌在压力下群体密度及细菌物质运输具有调控作用,从而增强细菌对于环境的适应能力。同时 PQS 等分子在一定程度上抑制了人体的免疫系统,帮助细菌在宿主体内生存。HHQ 在其他革兰氏阴性细菌及革兰氏阳性细菌中也有合成并发挥调控作用,所以喹诺酮信号分子不仅是种内也是种间交流媒介。将喹诺酮系统作为靶点降低细菌的信号交流是抑制细菌感染的一个新思路。本文对喹诺酮信号系统进行概述。

关键词: 喹诺酮信号系统; 群体感应; 铜绿假单胞菌

中图分类号: R978 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)11-2170-03

The Research on the Regulatory Function of the Pqs Quorum Sensing System*

ZHENG Hong-da^{1,2}, ZHOU Li-man^{1,2}, TANG Yi-dan^{1,2}, YU Wen-gong^{1,2}, GONG Qian-hong^{1,2}

(1 School of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China, Qingdao, Shandong, 266003, China; 2 Key Laboratory of Marine Drugs, Ministry of Education, Qingdao, Shandong, 266003, China)

ABSTRACT: Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic pathogen. Diverse virulence factors and secondary metabolites are regulated by a hierarchical quorum sensing system. There are three quorum sensing systems, named las, rhl and pqs. The pqs system plays an important role in quorum sensing regulatory network and it regulates the expression of virulence factor genes such as pyocyanin and elastase. The biofilm formation and swarming activity are regulated by the pqs system. The quorum sensing molecules of the pqs system includes 3,4-dihydroxy-2-heptyl-quinolone named Pseudomonas quinolone signal (PQS) and 4-hydroxy-2-heptylquinoline (HHQ). PQS is a multifunctional molecule which plays a role in an autolytic process under stressful conditions. PQS is also associated with the transport. HHQ is synthesized in other gram-negative bacteria and gram-positive bacteria. It is the potential for treating bacterial infections by disrupting the pqs system. This article is a review of the pqs quorum sensing system.

Key words: The pqs quorum sensing system; Quorum sensing; Pseudomonas aeruginosa

Chinese Library Classification (CLC): R978 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)11-2170-03

铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)是一种临床常见的机会致病菌,对于肺部囊性纤维化等免疫缺陷性病人的感染几率很高。对抗生素临床耐药性的增强及利用生物被膜作为保护使铜绿假单胞菌感染的治疗变得愈加困难。细菌群体感应(quorum sensing, QS)以化学交流的方式精密地调节细菌群体行为,包括对毒力因子基因表达、细菌运动、生物被膜形成和次级代谢的调控。抑制细菌群体感应可以降低其致病毒力但又区别于传统抗生素直接杀死细菌的方法,从而避免了选择压力下抗性的产生^[1]。铜绿假单胞菌具有三个群体感应调控系统,包括研究较为透彻的 las 和 rhl 两种以高丝氨酸内酯类(N-acylhomoserine lactones, AHL)作为信号分子的系统,以及以喹诺酮类

为信号分子的 pqs 系统。铜绿假单胞菌 pqs 信号系统主要由信号分子 3,4-二羟基-2-庚基-喹诺酮(Pseudomonas quinolone signal, PQS)和 2-羟基-4-喹诺酮(2-heptyl-4-quinolone, HHQ)以及调控蛋白 PqsR 组成。铜绿假单胞菌 pqs 系统不但正调控着细菌致病性相关因素而且对于人体的免疫系统具有抑制作用。喹诺酮系统的信号分子 HHQ 在伯霍尔德杆菌属等其他人体病原菌中也广泛存在^[2]。本文将综述喹诺酮信号系统的研究进展,为抑制细菌感染提供理论依据。

1 喹诺酮类信号分子的合成与调控

1.1 信号分子的合成

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81102368)

作者简介:郑红达(1986-),女,硕士研究生,主要研究方向:细菌群体感应,电话:0532-82031562,

E-mail: hongdazh@yeah.net

△ 通讯作者:宫倩红,副教授,博士, E-mail: gongqh@ouc.edu.cn

(收稿日期:2013-09-25 接受日期:2013-10-22)

PQS 信号分子属于 2-氨基-4-喹诺酮类(2-alkyl-4-quinolones, AHQ), 其合成依赖于色氨酸代谢和其他芳香族氨基酸合成途径同时又受到脂肪酸代谢的影响^[9]。在铜绿假单胞菌中由基因簇 *phnAB* 表达产物催化合成 PQS 的初始前体: 对氨基苯甲酸, 其经过 *pqsABCDE* 基因簇编码酶催化后合成 PQS 的直接前体 HHQ^[4]。HHQ 被细菌释放到胞外后由自身或周围细菌运输入胞

内, 由 PqsH, 一种单加氧酶催化转化成 PQS(图 1)。铜绿假单胞菌中 50 多种不同的喹诺酮类分子合成都与 *pqsABCDE* 阅读框相关, 其中 *pqsE* 虽然没有参与合成途径, 但对于毒力因子起到重要调控作用, 因此对细菌致病能力有显著影响^[5]。研究表明, HHQ 也可以作为信号分子发挥调控作用^[6]。HHQ 及 PQS 的调控作用见图 1。

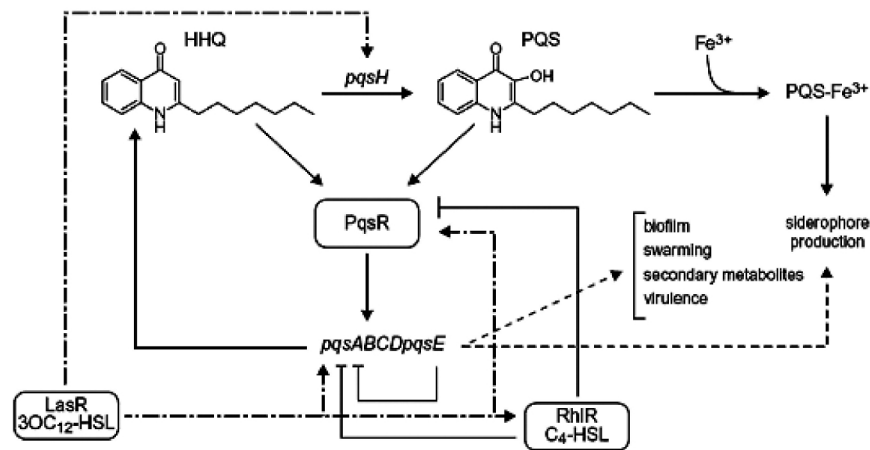


图 1 PQS 合成及调控作用^[5]

Fig. 1 The synthesis and regulation of PQS^[5]

1.2 信号分子合成的调节

PQS 合成受到 *las*、*rhl* 和 *pqs* 三个群体感应系统的调节。首先, PQS 或 HHQ 与其受体蛋白 PqsR 结合形成活性复合物, 以正反馈的形式促进基因簇 *phnAB* 和 *pqsABCDE* 的表达, PqsR 单独也可启动 *pqsABCDE* 阅读框^[7]。其次, *las* 系统中 LasR/3-oxo-C12-HSL 复合物不但正调控 *pqsR* 和 *pqsABCDE* 阅读框的表达, 而且对于 *pqsH* 的表达也具有直接的促进作用^[8]。再次, *rhl* 系统中 RhlR/C4-HSL 复合物负调控 *pqsABCDE* 阅读框及 *pqsR* 基因的表达^[9](图 1)。这种复杂的调控方式对于 *pqs* 系统和 *las* 及 *rhl* 系统的平衡均具有重要作用, 对于细菌致病能力也有重要影响。

1.3 其他细菌中 PQS 信号分子合成情况

通过基因组数据分析得出人体病原菌伯霍尔德杆菌属的 *Burkholderia pseudomallei* 及 *Burkholderia thailandensis* 中含有 PQS 合成相关的 *pqsABCDE* 及 *phnAB* 基因簇并且含有 *pqsR* 基因^[10]。节杆菌属的 *Arthobacter nitroguajacolicus* 可以利用 PQS 的短链同系物作为捕获 Fe^{3+} 的媒介^[10]。假单胞菌属和伯霍尔德杆菌属在基因水平上关系较远, 但它们都可以合成喹诺酮类分子说明该类分子既是种内信号分子也是种间信号分子, 因此其对于细菌感染能力的调节具有普遍性特点^[10]。

2 喹诺酮系统对于细菌致病力的影响

2.1 喹诺酮系统在群体感应调控网络中的地位

喹诺酮系统在 *las* 及 *rhl* 系统之间起到一种平衡作用, 可以调节一系列的毒力因子相关基因的表达, 对于平台期早期的 *rhl* 系统依赖的胞外产物也有重要影响。通过外源加入 PQS 信号分子可以诱导细菌浓度依赖性的毒力因子包括弹性蛋白酶、外毒素类和绿脓菌素等的提前表达, 并且可以增加 *rhlR*、*rpoS*

和 *rhlI* 等基因的表达水平^[11]。在 *pqsE* 基因存在情况下, PQS 信号分子可以回补 *rhl* 系统调控基因的表达, 这说明 AHL 依赖性的群体感应系统和 AHQ 依赖性的群体感应系统是相互联系的^[12]。此外, PQS 信号分子对于铜绿假单胞菌生物被膜的形成也具有重要作用, 从而增强细菌对于外界环境的适应能力^[13]。

2.2 喹诺酮系统对物质运输的作用

PQS 具有螯合铁离子的作用并形成 PQS- Fe^{3+} 复合物, 该复合物通过 PQS 与细胞外膜相接触, 促进细胞表面载体蛋白对 Fe^{3+} 的运输。在氧化压力或反硝化作用下, PQS 调控的绿脓杆菌螯铁蛋白及绿脓菌素可以直接调控 Fe^{3+} 的运输^[14-16]。PQS 螯合 Fe^{3+} 的功能可以抑制其他细菌的生长, 从而使铜绿假单胞菌在群体中占据优势^[14]。

PQS 通过与细胞外膜相互作用促进膜囊泡 (Membrane Vesicles, MV) 的释放^[17]。MV 是革兰氏阴性细菌胞外常见的分泌物, 在革兰氏阳性细菌中也有发现。铜绿假单胞菌以 MV 作为 PQS 运输媒介, 同时将毒力因子运送至宿主细胞质并引起免疫应答反应^[18]。在伯霍尔德杆菌及大肠杆菌中也发现 PQS 促进 MV 形成的现象^[8]。

复合物 PqsR/PQS 以绿脓菌素为最终调控物质调节铜绿假单胞菌外排泵 *mexGHI-ompD* 基因的表达^[18]。MexGHI-OpmD 可将与 PQS 结构相似的抗生素外排到细胞外从而产生耐药性^[17]。除此以外, PQS 还可以通过促进 III 型分泌系统影响细菌对毒力因子等运输, 增强细菌的感染能力^[19]。

2.3 喹诺酮信号系统具有调控菌体密度的作用

PQS 与细菌的自裂解过程相关, 在压力条件下对平衡细菌浓度具有重要作用。当压力存在时, PQS 信号分子促进细菌自裂解, 这样有利于幸存菌体获得更多营养物质并且可以利用胞外的 DNA 形成生物被膜^[20]。铜绿假单胞菌 *pqsA* 突变体不但减

少了胞外 DNA 的释放而且降低对抗生素的抗性,相反,pqsL 基因突变后 PQS 过表达,细菌的自裂解程度显著增强,幸存菌体对抗生素抗性提高。PQS 在调节有氧呼吸时需要 PqsR 的参与,而对无氧呼吸 NO_3^- 途径的调节则不需要^[17]。在有氧条件下,外源加入的 PQS 对细菌生长具有强烈的抑制作用并导致稳定期的延迟^[14]。

3 喹诺酮信号系统对宿主免疫系统的抑制作用

在处于铜绿假单胞菌早期感染阶段,肺囊性纤维化病人的呼吸道和痰液中可以检测到 PQS 信号分子。在支气管肺泡细胞中检测到 PQS,由此推测 PQS 可能通过支气管肺泡细胞进入宿主免疫系统^[21]。PQS 具有引起宿主免疫系统细胞凋亡的作用^[22],而且还能抑制免疫细胞的增值,降低细胞因子的释放进而抑制先天性免疫系统中 T 淋巴细胞的激活^[23];此外,PQS 等 AHQ 分子通过抑制转录因子 HIF-1(hypoxia-inducible factor 1)的激活削弱了免疫系统的作用^[24]。虽然 PQS 在人体环境中溶解度较低,但表面活性剂鼠李糖脂可增强其溶解度从而促进其对于宿主免疫系统的抑制作用^[22]。

4 喹诺酮信号系统抑制剂的研究现状

抑制喹诺酮信号系统进而降低细菌致病能力是治疗铜绿假单胞菌感染的一种潜在而有效的途径,同时对于治疗伯霍尔德杆菌属等其他病原菌引起的疾病也具有重要意义。目前已报道的由革兰氏阳性细菌分泌的吲哚(indole)等双环类化合物可以抑制 PQS 信号分子的合成并且可以抑制 MV 的产量从而降低了细菌感染能力^[25]。设计底物类似物也是抑制 PQS 信号分子合成的一种研究方向,目前研究的邻氨基苯甲酸或其卤代化合物可以有效的抑制氨基喹诺酮信号分子的合成。通过小鼠感染模型证明这种底物类似物可以有效抑制细菌感染的扩散并达到降低小鼠致死率的效果^[26]。另外白色念珠菌的信号分子法尼醇(farnesol)通过与 PQS 竞争性结合 PqsR 调控蛋白,导致下游基因的表达及 PQS 信号分子的合成降低^[27]。这类活性化合物也表明细菌之间特别是共感染的细菌之间相互作用。从海洋红藻中分离的呋喃酮经过修饰得到的卤代物可以抑制 phnAB 的转录,降低对氨基苯甲酸的合成。另外,腺苷酸通过抑制 Fe^{3+} 的摄取,激活对氨基苯甲酸降解酶 antA 及 antB 的表达从而抑制 PQS 信号分子的合成^[28]。综上,抑制喹诺酮信号系统的途径包括抑制信号分子的合成、促进信号分子的降解及抑制信号分子与调控蛋白的有效识别。寻找稳定性高且无细胞毒性的喹诺酮系统抑制物是目前一个重要的研究课题。

5 结语

在铜绿假单胞菌群体感应调控网络中,喹诺酮信号系统占据重要地位,其具有平衡细菌浓度及增强细菌感染能力的作用。喹诺酮类信号分子不仅是种内也是种间的交流语言。检测病人呼吸道中的信号分子可以作为早期感染的一种评价手段。以 PQS 为切入点研究细菌的感染机制以及寻找有效的抑制剂是治疗细菌感染的可行途径。

参考文献(References)

[1] 邹姗姗,宫倩红,尹守亮,等.铜绿假单胞菌群体感应抑制剂研究进

展[J].现代生物医学进展,2010,10: 949-954

- Zou Shan-shan, Gong Qian-hong, Yin Shou-liang, et al. Research progress of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing inhibitors [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2010,10: 949-954
- [2] Tashiro Y., Ichikawa S., Nakajima-Kambe T., et al. *Pseudomonas* quinolone signal affects membrane vesicle production in not only gram-negative but also gram-positive bacteria [J]. Microbes Environ, 2010, 25(2):120-125
- [3] Diggle S.P., Cornelis P., Williams P., et al. 4-quinolone signalling in *Pseudomonas aeruginosa*: old molecules, new perspectives [J]. Int J Med Microbiol, 2006, 296(2-3): 83-91
- [4] Coleman J.P., Hudson L.L., McKnight S.L., et al. *Pseudomonas aeruginosa* PqsA is an anthranilate-coenzyme A ligase[J]. J Bacteriol, 2008, 190(4): 1247-1255
- [5] Rampioni G., Pustelny C., Fletcher M.P., et al. Transcriptomic analysis reveals a global alkyl-quinolone-independent regulatory role for PqsE in facilitating the environmental adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to plant and animal hosts [J]. Environ Microbiol, 2010, 12 (6): 1659-1673
- [6] Reen F.J., Clarke S.L., Legendre C., et al. Structure-function analysis of the C-3 position in analogues of microbial behavioural modulators HHQ and PQS [J]. Org Biomol Chem, 2012, 10(44): 8903-8910
- [7] Wade D.S., Calfee M.W., Rocha E.R., et al. Regulation of *Pseudomonas* quinolone signal synthesis in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Bacteriol, 2005, 187(13): 4372-4380
- [8] Deziel E., Lepine F., Milot S., et al. Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* 4-hydroxy-2-alkylquinolines (HAQs) reveals a role for 4-hydroxy-2-heptylquinoline in cell-to-cell communication [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(5): 1339-1344
- [9] Xiao G., J. He and L.G. Rahme. Mutation analysis of the *Pseudomonas aeruginosa* mvfR and pqsABCDE gene promoters demonstrates complex quorum-sensing circuitry [J]. Microbiology, 2006, 152(Pt 6): 1679-1686
- [10] Zhou L., Glennon J. D., Luong J. H., et al. Detection of the *Pseudomonas* Quinolone Signal (PQS) by cyclic voltammetry and amperometry using a boron doped diamond electrode [J]. Chem Commun (Camb), 2011, 47(37): 10347-10349
- [11] Diggle S.P., Winzer K., Chhabra S. R., et al. The *Pseudomonas aeruginosa* quinolone signal molecule overcomes the cell density-dependency of the quorum sensing hierarchy, regulates rhl-dependent genes at the onset of stationary phase and can be produced in the absence of LasR [J]. Mol Microbiol, 2003, 50(1): 29-43
- [12] Farrow J.M., Sund Z. M., Ellison M. L., et al. PqsE functions independently of PqsR-*Pseudomonas* quinolone signal and enhances the rhl quorum-sensing system [J]. J Bacteriol, 2008, 190(21): 7043-7051
- [13] Costaglioli P., Barthe C., Claverol S., et al. Evidence for the involvement of the anthranilate degradation pathway in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation [J]. Microbiologyopen, 2012, 1(3): 326-339
- [14] Diggle S.P., Matthijs S., Wright V. J., et al. The *Pseudomonas aeruginosa* 4-quinolone signal molecules HHQ and PQS play multifunctional roles in quorum sensing and iron entrapment [J]. Chem Biol, 2007, 14(1): 87-96

(下转第 2192 页)

- bition[J]. Cell, 2010, 142:52-64
- [12] Pollak M. Insulin and insulin-like growth factor signalling in neoplasia[J]. Nat Rev Cancer, 2008, 8:915-928
- [13] Renehan AG, Frytystyk J, Flyvbjerg A. Obesity and cancer risk: the role of the insulin-IGF axis [J]. Trends Endocrinol Metab, 2006, 17:328-336
- [14] Reeves GK, Pirie K, Beral V, et al. Cancer incidence and mortality in relation to body mass index in the Million Women Study: cohort study[J]. BMJ, 2007, 335:1134
- [15] Simpson ER, Mahendroo MS, Means GD, et al. Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis[J]. Endocr Rev, 1994, 15:342-355
- [16] Wellen KE, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue[J]. J Clin Invest, 2003, 112:1785-1788
- [17] Candace A. Gilbert, Joyce M. Slingerland. Cytokines, Obesity, and Cancer: New Insights on Mechanisms Linking Obesity to Cancer Risk and Progression[J]. Annu. Rev. Med, 2013, 64:45-57
- [18] Mantovani A, Allavena P, Sica A, et al. Cancer-related inflammation [J]. Nature, 2008, 454:436-444
- [19] Holland WL, Bikman BT, Wang LP, et al. Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice [J]. J Clin Invest, 2011, 121:1858-1870
- [20] Nomura DK, Long JZ, Niessen S, et al. Monoacylglycerol lipase regulates a fatty acid network that promotes cancer pathogenesis[J]. Cell, 2010, 140:49-61

(上接第 2172 页)

- [15] Bredenbruch F., Geffers R., Nimtz M., et al. The *Pseudomonas aeruginosa* quinolone signal (PQS) has an iron-chelating activity [J]. Environ Microbiol, 2006, 8(8):1318-1329
- [16] Toyofuku M., Nomura N., Kuno E., et al. Influence of the *Pseudomonas* quinolone signal on denitrification in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Bacteriol, 2008, 190(24): 7947-7956
- [17] Toyofuku M., Nakajima-Kambe T., Uchiyama H., et al. The effect of a cell-to-cell communication molecule, *Pseudomonas* quinolone signal (PQS), produced by *P. aeruginosa* on other bacterial species [J]. Microbes Environ, 2010, 25(1): 1-7
- [18] Dietrich L.E., Price-Whelan A., Petersen A., et al. The phenazine pyocyanin is a terminal signalling factor in the quorum sensing network of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Mol Microbiol, 2006, 61 (5): 1308-1321
- [19] Singh G., Wu B., Baek M.S., et al. Secretion of *Pseudomonas aeruginosa* type III cytotoxins is dependent on *Pseudomonas* quinolone signal concentration [J]. Microb Pathog, 2010, 49(4): 196-203
- [20] Allesen-Holm M., Barken K.B., Yang L., et al. A characterization of DNA release in *Pseudomonas aeruginosa* cultures and biofilms [J]. Mol Microbiol, 2006, 59(4): 1114-1128
- [21] Hooi D.S., Bycroft B.W., Chhabra S.R., et al. Differential immune modulatory activity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signal molecules [J]. Infect Immun, 2004, 72(11): 6463-6470
- [22] Calfee M.W., Shelton J.G., McCubrey J.A., et al. Solubility and bioactivity of the *Pseudomonas* quinolone signal are increased by a *Pseudomonas aeruginosa*-produced surfactant [J]. Infect Immun, 2005, 73 (2): 878-882
- [23] Skindersoe M.E., Zeuthen L.H., Brix S., et al. *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signal molecules interfere with dendritic cell-induced T-cell proliferation [J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2009, 55(3): 335-345
- [24] Legendre C., Reen F.J., Mooij M.J., et al. *Pseudomonas aeruginosa* Alkyl quinolones repress hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) signaling through HIF-1 α degradation [J]. Infect Immun, 2012, 80 (11): 3985-3992
- [25] Tashiro Y., Ichikawa S., Nakajima-Kambe T., et al. Bicyclic compounds repress membrane vesicle production and *Pseudomonas* quinolone signal synthesis in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. FEMS Microbiol Lett, 2009, 304(2): 123-130
- [26] Lesic B, Le'pine F, De'ziel E, et al. Inhibitors of pathogen intercellular signals as selective anti-infective compounds [J]. PLoS Pathog, 2007, 3(9): e126
- [27] Kalia V.C.. Quorum sensing inhibitors: An overview [J]. Biotechnol Adv, 2012, 1873-1899
- [28] Zhou L., Reen F.J., O'Gara F., et al. Analysis of *Pseudomonas* quinolone signal and other bacterial signalling molecules using capillaries coated with highly charged polyelectrolyte monolayers and boron doped diamond electrode [J]. J Chromatogr A, 2012, 1251: 169-175