



细菌的信号转导系统及其在耐药中的作用*

吕铎言 张贵鑫 朱禹奇 贾 宇 关松磊**

(吉林农业大学生命科学学院, 长春 130118)

摘要 耐药菌的日益增多给临床治疗带来巨大的困难, 揭示耐药机制成为遏制耐药菌的基本环节。细菌的信号系统是菌体之间信息交流的主要渠道, 在调控细菌耐药性方面发挥重要的作用。本文梳理了细菌双组分系统、群体感应系统、第二信使、吡啶等细菌信号系统(分子)与细菌耐药性的关系, 总结了各信号系统调控细菌耐药性的机制和途径, 包括调控生物膜的形成、调节药物外排泵的活性、激活抗生素灭活酶、提高耐药基因表达水平、促进耐药基因转移、修饰细胞壁结构等, 涉及到细菌耐药的多个环节。各信号系统不仅可以独立调控耐药, 还可以互相作用, 形成调控网络, 从多个层面调节细菌耐药性。因此, 靶向细菌信号系统, 阻断菌体之间的信号联络, 有望成为遏制细菌耐药性日益严重的新策略。

关键词 信号转导, 细菌, 耐药机制, 调控

中图分类号 Q7, Q93

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0289

抗生素的大量使用加剧了耐药菌的产生以及耐药基因的传播^[1]。日益增多的耐药细菌给临床感染性疾病的治疗带来巨大挑战。细菌耐药的机制复杂, 主要包括: 产生抗生素灭活酶、改变细胞外膜通透性、激活主动外排系统、形成生物被膜、改变抗菌药物作用靶位、基因突变等。细菌中存在的信号转导系统通过细胞之间或细胞与环境的信息传递, 感知并协调集体行为, 帮助细菌适应环境, 产生耐药性^[2]。本文主要总结了双组分系统、群体感应系统、第二信使、吡啶等细菌信号转导系统或分子在细菌耐药性产生、传播、扩散过程中的作用, 为今后阻遏细菌耐药性传播奠定基础。

1 双组分系统

1.1 双组分系统的信号转导机制

双组分系统(two-component system, TCS)是细菌感知和响应外界环境变化最主要的信号系统, 它在细菌生长、耐药性、毒力、生物膜形成等方面发挥重要作用^[3]。TCS根据不同的磷酸基团传递步骤分为两类: 经典系统和非经典系统。它们都由两个基本结构组成: a. 组氨酸蛋白激酶(histidine kinase, HK), 它是由两个单体组成的同源二聚体膜蛋白; b. 反应调控蛋白(response regulator protein, RR)。TCS的信号转导由信号输

入、HK自我磷酸化、RR磷酸化及信号输出等环节构成^[4]。HK通过传感器结构域感受刺激, 当其感应到环境刺激信号时发生二聚化, 催化ATP依赖的特定组氨酸残基自我磷酸化, 把磷酸基团结合于下游的RR磷酸接受器结构域的天门冬氨酸残基上, 由此激活效应器结构域, 促使RR与相关基因启动子和蛋白质结合, 调控其表达, 从而完成应答反应^[5]。在经典途径中, HK与RR之间的磷酸基团仅需一次传递即可完成反应; 而在非经典系统中, 磷酸基团则需要多步传递最终完成调控反应, 包括杂合TCS和复杂TCS^[6]。故而TCS主要是将HK传递器中组氨酸残基上的磷酸基团转移到RR磷酸接受器上, 也就是通过磷酸基团的传递进而实现信号的输入及输出^[7](图1)。

TCS在革兰氏阴性菌以及革兰氏阳性菌中都存在。不同种属、不同菌株TCS的种类差别较大。其中大肠杆菌的TCS研究得最为透彻, Oshima等^[8]通过检测K-12菌株TCS缺失突变体的mRNA表达谱, 得出大肠杆菌K-12菌株中含有18种TCS,

* 吉林省科技厅“优秀青年人才基金”(20180520044JH)和吉林省教育厅项目(JJKH20180679KJ)资助。

** 通讯联系人。

Tel: 0431-84532887, E-mail: 17736856@qq.com

收稿日期: 2021-09-26, 接受日期: 2021-11-26

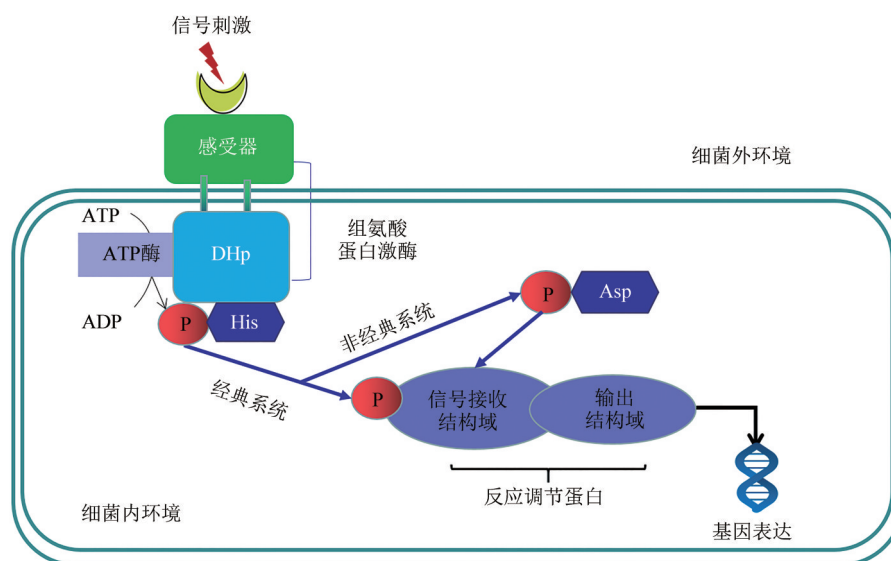


Fig. 1 Signal transduction process of two-component system^[6-7]

图1 TCS的信号转导过程^[6-7]

DHp: 二聚化组氨酸磷酸转移结构域。

功能涉及耐药性、呼吸调控、耐药性调控、趋化性、能量代谢、盐代谢调控、鞭毛合成、渗透压调控等。当外界环境发生变化时, 大肠杆菌可以通过诸多的TCS产生响应信号, 进而调控菌体状态^[9]。

1.2 细菌双组分信号转导与耐药性的关系及机制

TCS作为细菌信号转导的主要形式, 已被证实与耐药性有关(表1)。TCS参与的耐药机制较为复杂^[10-11], 主要包括以下5条途径。a. 促进生物膜形成: 生物膜通过包裹细菌, 形成屏障阻止抗生素的渗入, 是引起细菌耐药的主要机制之一。形成生物膜的细菌耐药性极强, 且可以逃避宿主的免疫识别, 造成临床治疗的困难^[12]。TCS系统是调控生物膜形成的4种机制之一。许多TCS都在生物膜形成过程中发挥作用, 如铜绿假单胞菌中的GacS/GacA和SagS TCS。GacS/GacA TCS通过激活*rsm*基因, 编码两个小的ncRNA (RsmY和RsmZ), 其高表达时细菌呈生物膜状态, 低表达时呈浮游状态; SagS系统的周质结构域HmsP可调节生物膜形成, *ΔsagS*菌株会恢复对抗菌药物的敏感性^[13]。此外, 表皮葡萄球菌的SrrBA TCS也具有促进菌体生长和生物膜形成的能力^[14]。b. 上调药物外排泵的表达水平: 细菌的外排泵系统对药物的浓度敏感, 通过外排作用诱导耐药。如QseBC TCS通过调节外排泵基因的转录水平(如*acrA*、*acrB*、*acrD*等基因)或促进生物膜合成调控耐药性^[15-16]。EvgS/

EvgA TCS通过调节因子的过表达来增加药物外排的效率, 增强了大肠杆菌对阿霉素、红霉素以及结晶紫的耐药性^[17]。Wang等^[18]在BaeSR TCS中发现, BaeR过量可以降低外膜TolC蛋白以及*ompR*、*marA*、*rob*基因的表达水平, 进而降低无*acrB*大肠杆菌对头孢菌素的敏感性, 同时也可以上调MdtABC泵的表达量, 增加抗生素的外排^[19]。AdeRS TCS可以通过上调AdeAB (C) 外排泵的活性, 诱导对替加环素的耐药性^[20-21]。c. 激活抗生素灭活酶: 铜绿假单胞菌中的CreBC TCS不仅影响生物膜的形成, 还激活染色体*ampC*基因, 进而激活β-内酰胺酶, 水解β-内酰胺类抗生素^[22]。此外, GluSR、PhoPQ TCS也可以激活β-内酰胺酶引起β-内酰胺类抗生素的抗性^[23-24]。d. 应激反应诱导抗生素耐药: 在β-内酰胺类抗生素环境下, 细菌细胞壁遭到破坏, 细菌*ftsI*基因产物青霉素结合蛋白3 (PBP3) 的失活能够激活DpiB/A双组分信号, 中断DNA复制从而诱导细菌DNA损伤修复机制(SOS反应)发生, 使细菌在恶劣环境中存活^[25]。e. 修饰细菌细胞膜结构: CesRK、CesSR、CiaRH、WalKR TCS在抗生素环境中, 通过上调细胞膜相关基因的表达, 修饰细胞膜的结构或增强细胞壁的合成^[26-27], 使抗生素不易进入菌体内造成破坏。以上研究均表明, TCS在细菌耐药过程中具有不可或缺的作用。

Table 1 Two-component systems associated with bacterial resistance
表1 与细菌耐药性有关的双组分系统

机制	双组分系统	涉及的抗生素	文献
上调MDR外排泵	BraRS (BceRS, NsaRS)、AmgRS、BaeSR、EnvZ/OmpR、EvgAS、SagS、YvcPQ、EvgAS、CpxAR、MtrAB、QseBC、AdeRS、SmeRySy、VirRS、LsrRS、GraRS	乳链菌肽、氨基糖苷类、头孢曲松、妥布霉素、杆菌肽、固有耐药、氯霉素、阿米卡星、萘啶酸、四环素、异烟肼、利福平、乙胺丁醇、万古霉素、替加环素、Nukacin ISK-1、达托霉素、阳离子抗生素	[10-11, 15-21]
细胞膜相关基因的上调	CesRK、CesSR、CiaRH	β -内酰胺类、多黏菌素B	[10-11, 27]
促进生物膜形成	BfmRS、ComDE、CreBC、fsr、GacSA、Hk11/Hr11、LiaSR、RcsBCD、RetS-GacSA、SagS、VicKR、RcsBCD、NarXL、QseBC	氯霉素、达托霉素、妥布霉素、固有耐药	[10-16]
激活 β -内酰胺酶	BlrAB、CreBC、VbrKR GluSR、PhoPQ	β -内酰胺类	[11, 22-24]
降低孔蛋白的表达	EnvZ/OmpR、PhoBR、CpxAR、CzcRS、CopRS	β -内酰胺类、氯霉素、阿米卡星、萘啶酸、四环素、碳青霉烯类、四环素	
调控细胞壁压力反应	LiaSR、WalKR	万古霉素、杆菌肽、 β -内酰胺类、多黏菌素B、乳链菌肽、固有耐药	[11, 26]
上调PBP5蛋白	CroRS	β -内酰胺类	[11]
修饰LPA	CprRS、RcsBCD、PhoPQ、PmrAB、ParRS、CrrAB	多黏菌素、氨基糖苷、达托霉素、阳离子抗生素	[11, 27]
激活干扰乳链菌肽与脂质II结合的基因NsrX	NsrRS	乳链菌肽	[11]
多药耐药菌落形态遗传开关的调控	MtrAB	异烟肼、利福平、乙胺丁醇、万古霉素	[11]
突变提高SCVs变异	PmrAB	多黏菌素、氨基糖苷	[11]
氨基糖苷乙酰转移酶表达增加	AarG	氨基糖苷、四环素、氯霉素、环丙沙星	[11]
改变万古霉素靶点	VanSR	万古霉素	[11]
丙氨酰化改性磷壁酸, 逆转细菌表面电荷	GraRS (aps)	达托霉素、万古霉素 阳离子抗生素	[11]
增加肽聚糖的合成和转肽酶PBP2的表达	VraSR	甲氧西林、万古霉素、达托霉素、苯唑西林、 β -内酰胺类	[11]
抑制细菌程序性死亡	LytRS	抗菌肽	[26]
促进DNA损伤修复	DpiB/A	β -内酰胺类	[25]
机制不清	LisRK、MisSR、PdtRS	乳链菌肽、头孢菌素类、多粘菌素、氨基糖苷、四环素、青霉素、大环内酯类、林可酰胺、固有耐药	[11]

2 群体感应系统

群体感应 (quorum sensing, QS) 系统是细菌

感应自身群体密度的信号系统, 这种感应作用依赖于细菌自分泌的信号分子 (autoinducer, AI), 当自身密度达到阈值时信号分子与受体蛋白相互作用, 从而导致群体中基因表达的协调变化, 是菌体

之间信号联络的主要方式之一。它依赖于细胞外信号的产生和传递,在毒力、生物膜形成、菌体生长、Ti质粒转移、抗生素抗性以及与生物体共生等方面有重要作用^[28-30]。不同的种属拥有不同的群体系统及信号分子,主要包括^[31]: a. 以酰基高丝氨酸内酯(N-acyl homoserine lactone, AHL)为自诱导信号的革兰氏阴性菌 LuxI (AHL 合成酶)/LuxR (AHL 受体) 系统^[32], 包括4个子系统(Las、Rhl、Qqs、Iqs), 3-oxo-C12-HSL 和 C4-HSL 等都属于 AHL 的同系物^[33]。b. 以寡肽 AIP (寡肽类物质) 为信号分子的革兰氏阳性菌, 以 TCS 为信号系统, 如葡萄球菌的 Agr 系统。此外, 革兰氏

阳性菌还可以通过 γ -丁内酯 (GBL) 与 AHL 受体结合, 形成革兰氏阳性菌与阴性菌之间的信号通讯^[34]。c. LuxS/AI-2 系统以呋喃硼酸二酯 (furanosyl borate diester, AI-2) 为信号分子, 属于种间 QS 系统, 在革兰氏阳性菌与阴性菌中都有分布。d. 扩散性信号分子 (diffusible signal factor, DSF)。以上 QS 系统各具特点, 在介导细菌耐药过程中发挥作用。QS 可通过调控生物被膜、药物外排泵、抗生素水解酶活性及可移动元件等多种机制影响耐药 (图2)。其中, 调控生物被膜形成是 QS 系统介导细菌耐药最主要的作用。

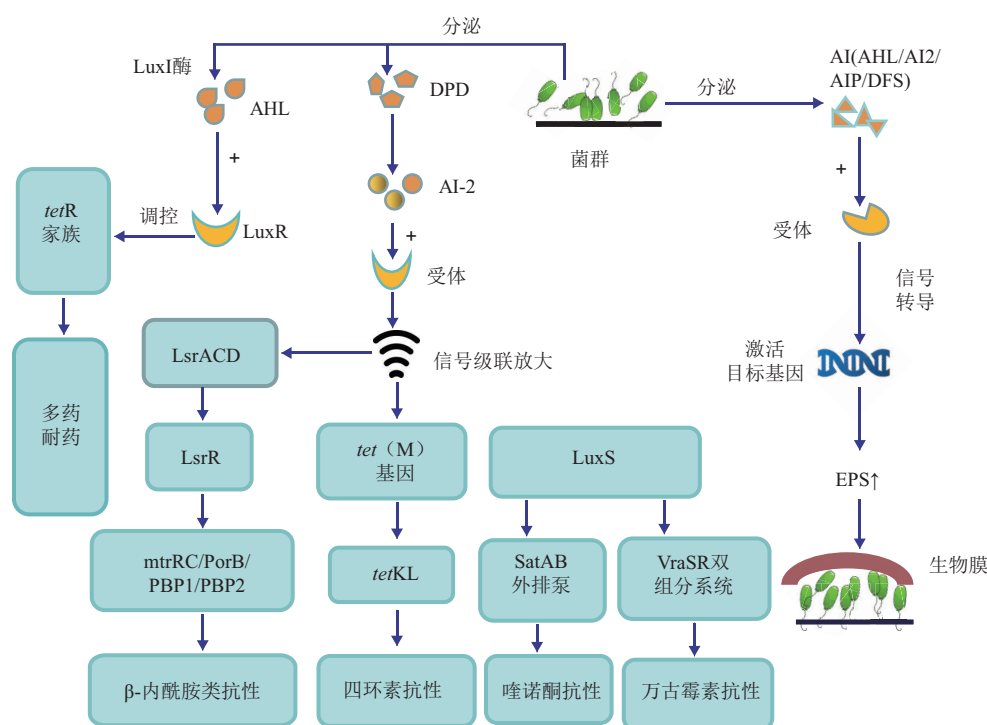


Fig. 2 Mechanism of quorum sensing system inducing drug resistance

图2 群体感应系统诱导耐药的机制

2.1 LuxI/luxR-AHL系统及其与耐药性的关系

AHL 是 QS 的一类主要自诱导信号, 有超过 200 种细菌可以产生这种分子。AHL 具有一个高度保守的高丝氨酸内酯环, 通过酰胺键连接到酰基链上。LuxI/luxR 是革兰氏阴性杆菌中最常见的 QS 系统, 其中 LuxI 是合成 AHL 的关键酶, LuxR 是 AHL 的受体^[35]。AHL 可以通过调控生物膜形成和耐药基因表达等机制诱导耐药。当细菌密度增加, AHL 水平也逐渐升高, 密度达到阈值时, AHL 进入细胞, 结合并激活 LuxR, 二者形成复合物, 随

后激活与 QS 相关基因的表达, 调控细胞外聚合物 (EPS, 包括多糖基质、脂质蛋白、纤维蛋白等) 的合成, 影响生物膜的形成^[36]。早在 2007 年就有研究者发现, AHL 信号分子缺乏的铜绿假单胞菌只能形成很薄的生物膜, 极易被表面活性剂十二烷基磺酸钠 (SDS) 破坏, 但在重新添加 AHL 后, 又恢复为成熟生物膜, 证实了 AHL 在调控生物膜形成过程中的关键作用。Tang 等^[37] 又发现, LuxI 和 LuxR 缺失的荧光假单胞菌的生物膜和胞外多糖产量显著降低, 生物膜薄且不致密, 重新添加

AHL的同系物C4-HSL后, 菌株的生物膜又恢复致密。Culler等^[38]发现, 大肠杆菌可通过SdiA蛋白检测其他细菌分泌的AHL, 来控制细胞膜的合成。除了调控生物膜以外, AHL还通过其他途径影响耐药。如Dou等^[39]在AHL缺陷型的鲍曼不动杆菌突变体中加入美罗培南和哌拉西林, 结果发现, AHL缺陷型的鲍曼不动杆菌突变体对美罗培南和哌拉西林比野生型更敏感, 说明AHL参与调控耐药基因的表达。

2.2 LuxS/AI-2系统及其与耐药性的关系

AI-2是一种在物种间交流的通用信号分子。AI-2的前体是DPD(4,5-二羟基-2,3-戊二酮, S-腺苷甲硫氨酸甲基化代谢的副产物), DPD活性很高, 可以形成不同的衍生物, 可被细菌识别。LuxS/AI-2系统可通过以下4种方式诱导耐药。

a. 调控生物被膜形成的关键基因: Xue等^[40]采用外源添加AI-2, 证明可增强*ica*操纵子及编码生物被膜相关*bhp*基因的转录, 进而显著提高表皮葡萄球菌生物被膜的形成能力。更早的研究发现, AI-2通过抑制III型分泌系统或调控*lytA*基因转录, 影响细胞壁的降解和生物被膜的形成。b. 影响外排泵活性: 如在大肠杆菌中, LuxS/AI-2通过过表达调控SdiA, 使耐药外排泵AcrAB和MDR的表达增加, 诱导耐药。在猪链球菌中, LuxS/AI-2系统影响外排泵SatAB的表达, 影响其对喹诺酮类抗生素的耐药性^[41]。c. 调控可移动元件携带耐药基因的表达: 质粒、整合子基因盒及转座子在细菌耐药过程中发挥重要作用。质粒介导的耐药是最常见的形式。 β -内酰胺酶位于质粒上, 通过水解 β -内酰胺类抗生素引起耐药。Xue等^[42]证实了在外源添加AI-2后, 通过以LsrR依赖性方式上调质粒TEM型酶(属于超广谱 β -内酰胺酶)的表达来增加大肠杆菌的耐药性。另外, 转座子能够在染色体、质粒和噬菌体之间移动, 因此转座子上的耐药基因更容易水平传播。四环素耐药基因*tet*(M)位于转座子Tn916上, Wang等^[43]证实, 通过外源添加AI-2, 可以上调*tet*的基因表达, 从而增加中间链球菌以及猪链球菌对四环素的耐受性。具体基因调控的机制尚不清楚。d. 与VraSR TCS协同诱导耐药^[44]: VraSR TCS能够检测破坏细菌细胞壁合成的因素, 并调节细胞壁生物合成途径。研究发现, $\Delta luxS$ 金黄色葡萄球菌VraSR表达水平较野生型增高4倍, 且同时恢复了对万古霉素的敏感性, 细胞壁更容易被破坏, 表明LuxS/AI-2系统可能通过VraSR TCS

诱导了对抗生素的耐药性。

由于新型抗生素研发困难, 研究者提出了抑制QS或群体淬灭(quorum quenching, QQ)阻碍生物膜形成及抑制细菌毒力来抑制耐药的策略。QQ主要机制是酶解或修饰AHL分子、抑制信号分子合成、干扰信号分子或阻断信号转导级联, 比较代表性的群体淬灭剂包括乳糖酶、酰化酶、还原酶、氧化酶、c8-HSL、AgrA转录小分子抑制剂等^[45]。目前阻断QS已经成为防止细菌耐药的主要策略之一。

3 第二信使

第二信使是细菌之间信息交流的主要分子, 主要位于细胞内, 主要包括cAMP、c-di-GMP(cyclic diguanosine monophosphate)、c-di-AMP(cyclic diadenosine monophosphate)、cGMP, 这些分子在细菌毒力、生物膜形成、药物外排等过程中发挥重要作用。

3.1 环磷酸腺苷(cAMP)与耐药性的关系

cAMP是第一个被发现的第二信使, 在原核和真核生物中广泛存在, 主要作用是将外部的信息传递给内部效应分子, 使细胞对外界环境做出响应, 在信号转导中起关键作用。除此之外, cAMP还可以调节许多细菌的基本生理功能以及病理过程, 并在细菌分泌系统和毒力基因调控方面具有重要作用。cAMP由跨膜腺苷酸环化酶(transmembrane adenylate cyclase, tmAC)水解ATP生成, 磷酸二酯酶(PDE)催化其水解, tmAC受异三聚体G蛋白直接调控, G蛋白与其偶联受体(GPCR)结合发出信号调控cAMP的产生^[46]。cAMP的受体蛋白CRP为转录调节因子, 它控制大肠杆菌中490多种基因表达^[47], 包括*acrAB-tolC*外排基因以及*marAB*基因。有研究表明, *crp*基因的失活, 降低了MarA介导的对诺氟沙星、氯霉素以及米诺环素的多重耐药性^[48], 证明CRP-cAMP具有调节细菌耐药性的作用。

c-di-AMP是近10年发现的广泛存在于细菌中的第二信使。2分子的ATP在DAC催化下合成1分子c-di-AMP, 后者调控生物膜诱导耐药性的作用尚存在争议。有研究显示, c-di-AMP可以调控金黄色葡萄球菌的生物膜形成, 但是具体机制不详。在变异链球菌中, c-di-AMP积累调控细菌多糖合成酶编码基因*gtfB*的表达, 促进生物膜的形成^[49]。与之相反, c-di-AMP在枯草芽孢杆菌中通过促进

sinR 基因的表达, 抑制生物被膜形成相关基因 *epsA*、*tapA* 和 *slrR*, 从而抑制生物被膜的形成^[50]。因此, c-di-AMP 在细菌耐药性中的作用尚有待确认。

3.2 c-di-GMP及其与耐药性的关系

与 cAMP 相同, c-di-GMP 也属于第二信使, 它由两个 GTP 分子通过双鸟苷酸环化酶 (dual guanylate cyclase, DGC) 合成, 其浓度受鸟苷酸环化酶 (cGMPase, GC) 和磷酸二酯酶 (phosphodiesterases, PDEs) 影响。c-di-GMP 在调节细菌行为、毒力和生物膜形成过程中扮演着重要角色^[51]。影响生物膜形成使 c-di-GMP 引起细菌耐药的主要途径。c-di-GMP 的浓度可以控制细菌生存的状态: 低浓度 c-di-GMP 使细菌处于浮游状态, 此时生物膜不形成; 反之, 高浓度的 c-di-GMP 能够提高黏附能力, 促进胞外多聚物的合成, 帮助生物被膜形成^[52-53]。除了控制细菌生存状态以外, c-di-GMP 还可以提高酶的活性, 促进细菌 EPS 的分泌, 在大肠杆菌中, c-di-GMP 可同时结合受体蛋白 PgaC、PgaD, 改变 PgaCD 的结构, 激活酶活性, 促进胞外多糖的合成和释放, 从而促进生物被膜的形成^[54]。在荧光假单胞杆菌中, c-di-GMP 与 LapD 蛋白结合引起构象改变, 使后者与 LapG 蛋白结合, 释放了与细胞表面黏附有关的 LapA 蛋白, LapA 蛋白通过 ABC 型转运系统分泌到细胞表面, 促进生物被膜的形成^[55-56]。说明 c-di-GMP 作为第二信使在细菌耐药性方面具有重要作用。

4 新型信号分子——吡啶

4.1 吡啶的信号分子作用

吡啶也是一种广泛存在的细菌 AI, 最早在 1897 年被发现, 一直被认为与细菌代谢息息相关。近年来, 才发现是一种新型的信号分子。截止目前, 超过 145 种细菌能产生吡啶。吡啶可影响细菌的抗生素耐受性、质粒的稳定性、生物膜合成等多种生理过程, 且与细菌的致病性息息相关。吡啶由色氨酸代谢产生, 且在细胞内被色氨酸酶转化为色氨酸, 故而色氨酸酶的活性直接影响吡啶的浓度与信息传递功能。除色氨酸酶外, SOS 反应中 LexA 下游的小热激蛋白 IbpA 也调控吡啶的含量^[57]。当小热激蛋白大量产生导致破坏细胞新陈代谢时, 可促使吡啶大量产生。故而当细菌在抗生素环境下诱发 SOS 反应时, 吡啶可大量产生, 从而帮助细菌适应恶劣环境。近年来随着研究的不断深入, 发现

吡啶还是一种重要的信号分子, 其满足信号分子的条件^[58]: a. 吡啶在特定的时期和生理条件下产生以适应环境; b. 可被感受器识别, 吡啶的输入与输出感受器为 AcrEF 泵和 Mtr 转运蛋白^[59]; c. 具有积累效应; d. 吡啶的代谢和分解不会影响菌体正常的细胞应答反应。所以, 吡啶是细菌之间关键的信号分子之一。

4.2 吡啶与细菌耐药性的关系

吡啶主要通过多种方式调控细菌的耐药性。

a. 影响药物外排泵的活性: 吡啶通过转录激活因子 GadX 诱导药物外排泵基因 *mdtEF*、*acrD* 的表达, 提高对苯唑西林、氯苯西林、萘夫西林及红霉素的抗性^[60]。吡啶也通过 TCS 或 QS 效应蛋白 SdiA 调控药物外排泵 AcrAB 的表达^[61]。研究发现, 吡啶通过 BaeSR 和 CpxAR TCS 可上调多种耐药基因的表达^[62]。大肠杆菌在加入外源吡啶后, *mdtABCD*、*mdtI*、*mdfA*、*mdtK*、*mdtJ*、*cusB*、*acrD* 等多个基因的表达增加了两倍以上, 提高了对羧苄青霉素的抗性^[63]。吡啶这种促进外排泵基因表达的作用不仅局限在产吡啶菌, 在不产吡啶的菌属中也同样发挥作用。b. 影响生物膜形成: 吡啶可以通过促进细菌多糖的合成而参与大肠杆菌、霍乱弧菌和铜绿假单胞菌等生物膜的形成。但是也有一部分研究认为, 吡啶抑制生物膜合成。如大肠杆菌的小热激蛋白 IbpAB 与细菌的热应激有关, IbpAB 可以调控吡啶的合成, 内源性氧化及热应激胁迫使 *ibpAB* 突变菌株吡啶合成增加, 此时生物膜合成受阻^[64]。另一种说法是, 多元胁迫抗性蛋白 YcfR 诱导吡啶生物合成, 但是却抑制了生物膜的合成。c. 其他途径: 吡啶也被证明可通过氧化应激 (OxyR) 和噬菌体休克 (Psp) 通路, 产生持留菌进而对抗生素产生抗性。此外, 吡啶还具有稳定质粒的作用。当耐药基因跟随质粒进行水平转移时, 细胞分裂调节子 (regulator of cell division, Rcd) 通过吡啶防止多拷贝质粒的丢失, 提高质粒的遗传稳定性, 进而提高细菌对环境的适应性和抵抗能力。虽然吡啶也属于细菌的 AI, 但是其受体系统及在微生物群体协调中的作用仍存在争议, 它可以抑制细胞分裂降低群体密度, 抑制群体信号转导^[65], 也可以正双向调控生物膜的合成, 这些特点与其他 QS 信号分子不同, 因此目前并没有明确地把吡啶归入 QS 信号分子, 而是单独作为细菌之间信息传递的分子进行研究。吡啶在微生物之间传递信息的生态学机制将是今后研究的热点问题。

5 多种信号系统构成协同调控网络

细菌的各种信号系统往往并不是单独发挥作用, 它们之间存在复杂的协同网络, 共同调节各种生理活动。

a. TCS之间存在协同作用: 如BaeSR TCS中的调节因子BaeR过量产生可使耐药基因(如多药转运蛋白ABC)以及麦芽糖转运、趋化反应和鞭毛生物合成的基因上调, 但前提条件为细胞中有TCS PhoBR或CreBC的存在^[66], 说明TCS之间存在协同作用机制。在铜绿假单胞菌的生物膜形成阶段不仅需要QS信号分子的参与, 还至少需要4个TCS来完成, 包括SagS、BfiRS、BfmRS和MifRS。

b. TCS与QS的协同作用: LuxS/AI-2和LuxI/luxR-AHL QS是TCS与QS互相协作的经典例子。Sperandio等^[67]研究表明, TCS QseBC的调节因子通过QS信号分子AI-2激活鞭毛和运动基因的调节因子*flhDC*的转录, 故而双TCS QseBC是大肠杆菌群体感应调节级联的一个组成部分。

c. TCS与c-di-GMP形成复杂的多级信号网络: 如铜绿假单胞菌的耐药性通过TCS SagS和c-di-GMP响应性转录调节剂BrlR共同调节, 其中BrlR是多药外排泵激活剂MerR家族的成员, 当*sagS*基因失活时, 生物膜中BrlR水平含量降低, 证明TCS SagS间接促进BrlR功能的激活, 导致多药耐药^[12]。

d. 第二信使与吡啶的协同作用: 研究者们发现, 增加cAMP的含量可以促进吡啶的产生。原因是色氨酸酶受cAMP调节, 色氨酸酶活性与cAMP活性成正相

关, 当磷酸二酯酶降解了cAMP, 吡啶水平也随之降低^[68]。

e. 第二信使与QS的相互协同和制约: 铜绿假单胞菌的LasR/LasI QS可通过诱导DGC活性来正向调控c-di-GMP, RhlR/RhII系统则通过诱导PDE活性负向调节c-di-GMP水平, QS与c-di-GMP相互配合地调控细胞毒力与生物膜形成^[69]。另一项研究发现^[70], 当霍乱弧菌处于高密度时, QS HapR受体蛋白可抑制c-di-GMP的合成, 降低c-di-GMP水平, 使细菌处于浮游状态, 而间接抑制生物膜的形成。所以, c-di-GMP的作用受控于群QS, 二者既相互协同, 又相互制约。

f. 吡啶与QS的协同作用: 吡啶衍生物4-羟基吡啶(4-HI)与QS信号能使刺激肽(CSP)和*sigX*诱导肽(XIP)共同作用来增强变形链球菌的生物膜形成。在变形链球菌中加入吡啶之后可使细胞内形成变形链球菌生物膜的主要成分, 胞外不溶性多糖和胞外DNA(eDNA)的含量明显增加, 证明4-HI对变形链球菌的生物膜形成起到很大作用。而CSP和XIP也可诱导变形链球菌中的细胞死亡和eDNA释放。有研究发现^[71], 在QS信号CSP和XIP缺失株Δ*comC*和Δ*sigX*中加入吡啶, 其生物膜无增加现象, 而在LytF自溶素缺失株Δ*lytF*中加入吡啶后, 其生物膜显著增加。证明吡啶与QS信号分子CSP与XIP具有协同作用, 改变变形链球菌的生物膜含量。细菌内含有的信号系统互相协调, 互相制约, 形成密切的调控网络, 为细菌耐药提供了条件(图3)。

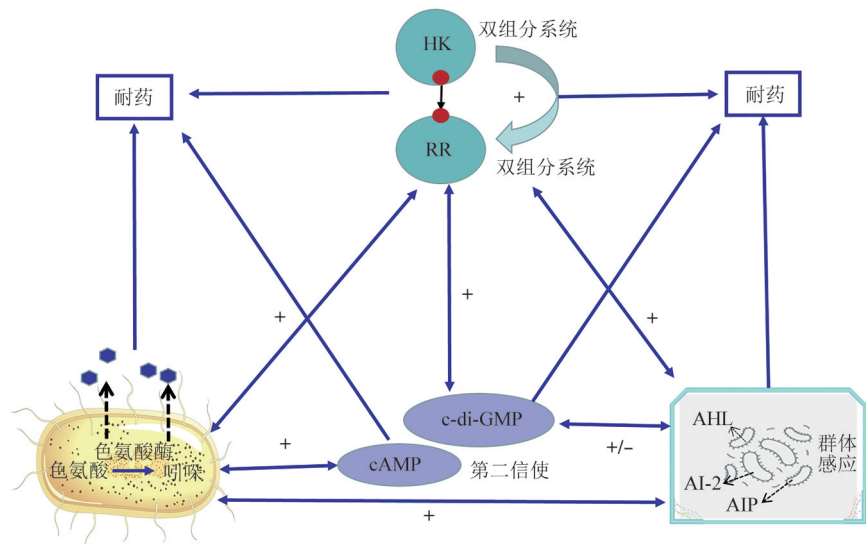


Fig. 3 Drug-resistance regulatory networks of bacterial signaling systems

图3 细菌各种信号系统耐药调控网络
+表示协同作用; -表示拮抗制约作用。

6 结 论

细菌间的信息传导系统已被证实与细菌耐药性密切相关。细菌可以通过信号分子来感受环境中药物的浓度进而调控相关基因的表达,且各种信号系统之间互相协同,共同构成调控网络,控制菌体之间的信息交流,调控包括耐药性、毒力、代谢、应激等多种生理作用。经文献调研显示,TCS、QS、第二信使、喏啉等信息传递系统可以通过促进生物膜形成、提高药物外排泵活性、促进耐药基因转移、激活抗生素水解酶、细胞膜修饰等多途径影响细菌耐药性。通过阻断细胞间的信号交流可以降低细菌耐药性或阻断耐药基因的传播,此策略已经成为遏制耐药菌的新方向。如QQ,通过抑制或降解信号分子的产生来抑制毒力基因的表达以及生物膜的形成。此外,利用组氨酸酶抑制剂可削减TCS中组氨酸酶的活性作用^[72],减少磷酸基团的转移,且一种抑制剂可对同一株菌中含有的多个TCS有抑制作用^[73]。但是,细菌信号系统十分复杂,在大肠杆菌K-12中找到的TCS就有18种^[8],如此复杂的信号系统,单一阻断一个或几个信号通路,对于耐药性的影响可能收效甚微。喏啉存在多种衍生形式,关于喏啉受体系统尚不清楚,其信号阻断剂的研制尚无显著进展。因此,继续寻找信号分子及其受体系统的多靶点抑制剂,需要深入了解各信号系统之间的互作网络,寻找关键节点,才有可能有效干扰菌群信号和阻断菌体之间的信息交流。要做到这些,不仅关系到细菌的耐药性,更关系到毒力和致病性。

参 考 文 献

- [1] Qu J, Huang Y, Lü X. Crisis of antimicrobial resistance in China: now and the future. *Front Microbiol*, 2019, **10**:2240
- [2] Hughes D T, Sperandio V. Inter-kingdom signalling: communication between bacteria and their hosts. *Nat Rev Microbiol*, 2008, **6**(2):111-120
- [3] Xue M, Raheem M A, Gu Y, *et al.* The KdpD/KdpE two-component system contributes to the motility and virulence of avian pathogenic *Escherichia coli*. *Res Vet Sci*, 2020, **131**:24-30
- [4] Padilla-Vaca F, Mondragón-Jaimes V, Franco B. General aspects of two-component regulatory circuits in bacteria: domains, signals and roles. *Curr Protein Pept Sci*, 2017, **18**(10):990-1004
- [5] Papon N, Stock A M. Two-component systems. *Curr Biol*, 2019, **29**(15):R724-R725
- [6] Groisman E A. Feedback control of two-component regulatory systems. *Annu Rev Microbiol*, 2016, **70**:103-124
- [7] Hoch J A. Two-component and phosphorelay signal transduction. *Curr Opin Microbiol*, 2000, **3**(2):165-170
- [8] Oshima T, Aiba H, Masuda Y, *et al.* Transcriptome analysis of all two-component regulatory system mutants of *Escherichia coli* K-12. *Mol Microbiol*, 2002, **46**(1):281-291
- [9] Kenney L J, Anand G S. EnvZ/OmpR two-component signaling: an archetype system that can function noncanonically. *EcoSal Plus*, 2020, **9**(1):10.1128/ecosalplus.ESP-0001-2019
- [10] Bhagirath A Y, Li Y, Patidar R, *et al.* Two component regulatory systems and antibiotic resistance in gram-negative pathogens. *Int J Mol Sci*, 2019, **20**(7):1781
- [11] Tierney A R, Rather P N. Roles of two-component regulatory systems in antibiotic resistance. *Future Microbiol*, 2019, **14**(6):533-552
- [12] 刘琳,谭小娟,贾爱群.细菌群体感应与细菌生物被膜形成之间的关系. *微生物学报*, 2012, **52**(3):271-278
Liu L, Tan X J, Jia A Q. *Acta Microbiologica Sinica*, 2012, **52**(3):271-278
- [13] Dingemans J, Poudyal B, Sondermann H, *et al.* The Yin and Yang of SagS: distinct residues in the HmsP domain of SagS independently regulate biofilm formation and biofilm drug tolerance. *Mosphere*, 2018, **3**(3):e00192-18
- [14] 朱涛,谷生丽.双组分信号转导系统SrrBA调控表皮葡萄球菌生长和生物膜形成. *皖南医学院学报*, 2015, **34**(1):12-16
Zhu T, Gu S L. *Journal of Wannan Medical College*, 2015, **34**(1):12-16
- [15] 李文昌. QseBC与McbR调控大肠杆菌耐药性及生物被膜的分子机制[D].合肥:安徽农业大学, 2020
Li W C. The regulatory mechanism of QseBC and McbR on antibiotic resistance and biofilm formation in *Escherichia coli*[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2020
- [16] Ahmad A, Majaz S, Nouroz F. Two-component systems regulate ABC transporters in antimicrobial peptide production, immunity and resistance. *Microbiology*, 2020, **166**(1):4-20
- [17] Nishino K, Yamaguchi A. Overexpression of the response regulator evgA of the two-component signal transduction system modulates multidrug resistance conferred by multidrug resistance transporters. *J Bacteriol*, 2001, **183**(4):1455-1458
- [18] Wang S, You C, Memon F Q, *et al.* BaeR participates in cephalosporins susceptibility by regulating the expression level of outer membrane proteins in *Escherichia coli*. *J Biochem*, 2021, **169**(1):101-108
- [19] Nagakubo S, Nishino K, Hirata T, *et al.* The putative response regulator BaeR stimulates multidrug resistance of *Escherichia coli* via a novel multidrug exporter system, MdtABC. *J Bacteriol*, 2002, **184**(15):4161-4167
- [20] Lucaßen K, Müller C, Wille J, *et al.* Prevalence of RND efflux pump regulator variants associated with tigecycline resistance in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from a worldwide survey. *J Antimicrob Chemother*, 2021, **76**(7):1724-1730
- [21] Lee Y T, Chen H Y, Yang Y S, *et al.* AdeABC efflux pump controlled by AdeRS two component system conferring resistance

- to tigecycline, omadacycline and eravacycline in clinical carbapenem resistant *Acinetobacter nosocomialis*. Front Microbiol, 2020, **11**:584789
- [22] Moya B, Dötsch A, Juan C, *et al.* Beta-lactam resistance response triggered by inactivation of a nonessential penicillin-binding protein. PLoS Pathog, 2009, **5**(3):e1000353
- [23] Marunga J, Goo E, Kang Y, *et al.* Mutations in the two-component GluS-GluR regulatory system confer resistance to β -lactam antibiotics in burkholderia glumae. Front Microbiol, 2021, **12**:721444
- [24] Huang H H, Wu B K, Li L H, *et al.* Role of the PhoPQ two-component regulatory system in the β -lactam resistance of *Stenotrophomonas maltophilia*. J Antimicrob Chemother, 2021, **76**(6):1480-1486
- [25] Miller C, Thomsen L E, Gaggero C, *et al.* SOS response induction by beta-lactams and bacterial defense against antibiotic lethality. Science, 2004, **305**(5690):1629-1631
- [26] Wu S, Lin K, Liu Y, *et al.* Two-component signaling pathways modulate drug resistance of *Staphylococcus aureus*. Biomed Rep, 2020, **13**(2):5
- [27] Gogry F A, Siddiqui M T, Sultan I, *et al.* Current update on intrinsic and acquired colistin resistance mechanisms in bacteria. Front Med (Lausanne), 2021, **8**:677720
- [28] Wu S, Liu J, Liu C, *et al.* Quorum sensing for population-level control of bacteria and potential therapeutic applications. Cell Mol Life Sci, 2020, **77**(7):1319-1343
- [29] Tobias N J, Brehm J, Kresovic D, *et al.* New vocabulary for bacterial communication. Chem Bio Chem, 2020, **21**(6):759-768
- [30] Mukherjee S, Bassler B L. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. Nat Rev Microbiol, 2019, **17**(6):371-382
- [31] Abisado R G, Benomar A S, Klaus A J R, *et al.* Bacterial quorum sensing and microbial community interactions. Mbio, 2018, **9**(3):e02331-17
- [32] Papenfort K, Bassler B L. Quorum sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria. Nat Rev Microbiol, 2016, **14**(9):576-588
- [33] Rasamiravaka T, El Jaziri M. Quorum-sensing mechanisms and bacterial response to antibiotics in *P. aeruginosa*. Curr Microbiol, 2016, **73**(5): 747-753
- [34] Liu X, Wang W, Li J, *et al.* A widespread response of Gram-negative bacterial acyl-homoserine lactone receptors to Gram-positive *Streptomyces* γ -butyrolactone signaling molecules. China Life Sci, 2021, **64**(10):1575-1589
- [35] Yin Y L, How K Y, Yin W F, *et al.* Functional characterization of quorum sensing LuxR-type transcriptional regulator, EasR in *Enterobacter asburiae* strain L1. Peer J, 2020, **8**:e10068
- [36] Utari P D, Vogel J, Quax W J. Deciphering physiological functions of AHL quorum quenching acylases. Front Microbiol, 2017, **8**:1123
- [37] Tang R, Zhu J L, Feng L F, *et al.* Characterization of LuxI/ LuxR and their regulation involved in biofilm formation and stress resistance in fish spoilers *Pseudomonas fluorescens*. Int J Food Microbiol, 2019, **297**:60-71
- [38] Culler H, Couto S, Higa J, *et al.* Role of SdiA on biofilm formation by atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. Genes, 2018, **9**(5):253
- [39] Dou Y, Song F, Guo F, *et al.* *Acinetobacter baumannii* quorum-sensing signalling molecule induces the expression of drug-resistance genes. Mol Med Rep, 2017, **15**(6):4061-4068
- [40] Xue T, Ni J, Shang F, *et al.* Autoinducer-2 increases biofilm formation via an ica- and bhp-dependent manner in *Staphylococcus epidermidis* RP62A. Microbes Infect, 2015, **17**(5):345-352
- [41] Wang Y, Liu B, Li J, *et al.* LuxS/AI-2 system is involved in fluoroquinolones susceptibility in *Streptococcus suis* through overexpression of efflux pump SatAB. Vet Microbiol, 2019, **233**:154-158
- [42] Xue T, Yu L, Shang F, *et al.* Short communication: the role of autoinducer 2 (AI-2) on antibiotic resistance regulation in an *Escherichia coli* strain isolated from a dairy cow with mastitis. J Dairy Sci, 2016, **99**(6):4693-4698
- [43] Wang Y, Liu B, Grenier D, *et al.* Regulatory mechanisms of the LuxS/AI-2 system and bacterial resistance. Antimicrob Agents Chemother, 2019, **63**(10):e01186-19
- [44] Xue T, Zhao L, Sun B. LuxS/AI-2 system is involved in antibiotic susceptibility and autolysis in *Staphylococcus aureus* NCTC 8325. Int J Antimicrob Agents, 2013, **41**(1):85-89
- [45] Chen X, Zhang L, Zhang M, *et al.* Quorum sensing inhibitors: a patent review (2014-2018). Expert Opin Ther Pat, 2018, **28**(12): 849-865
- [46] Wang D, Qi J, Han W, *et al.* Kanamycin-induced production of 2', 3'-cyclic AMP in *Escherichia coli*. Biochem Biophys Res Commun, 2020, **527**(4):854-860
- [47] Geng H, Jiang R. cAMP receptor protein (CRP) -mediated resistance/tolerance in bacteria: mechanism and utilization in biotechnology. Appl Microbiol Biotechnol, 2015, **99**(11): 4533-4543
- [48] Ruiz C, Levy S B. Many chromosomal genes modulate MarA-mediated multidrug resistance in *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother, 2010, **54**(5):2125-2134
- [49] Peng X, Zhang Y, Bai G C, *et al.* Cyclic di-AMP mediates biofilm formation. Mol Microbiol, 2016, **99**(5): 945-959
- [50] Gundlach J, Rath H, Herzberg C, *et al.* Second messenger signaling in bacillus subtilis: accumulation of cyclic di-AMP Inhibits biofilm formation. Front Microbiol, 2016, **7**:804
- [51] Valentini M, Filloux A. Biofilms and cyclic di-GMP (c-di-GMP) signaling: lessons from pseudomonas aeruginosa and other bacteria. J Biol Chem, 2016, **291**(24):12547-12555
- [52] Römling U, Galperin M Y, Gomelsky M. Cyclic di-GMP: the first 25 years of a universal bacterial second messenger. Microbiol Mol Biol Rev, 2013, **77**(1):1-52
- [53] Whiteley C G, Lee D J. Bacterial diguanylate cyclases: structure, function and mechanism in exopolysaccharide biofilm

- development. *Biotechnol Adv*, 2015, **33**(1):124-141
- [54] Steiner S, Lori C, Boehm A, *et al.* Allosteric activation of exopolysaccharide synthesis through cyclic di-GMP-stimulated protein-protein interaction. *EMBO J*, 2013, **32**(3):354-368
- [55] Newell P D, Monds R D, O'Toole G A. LapD is a bis-(3',5')-cyclic dimeric GMP-binding protein that regulates surface attachment by *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(9):3461-3466
- [56] Newell P D, Boyd C D, Sondermann H, *et al.* A c-di-GMP effector system controls cell adhesion by inside-out signaling and surface protein cleavage. *PLoS Biol*, 2011, **9**(2):e1000587
- [57] Miwa T, Chadani Y, Taguchi H. *Escherichia coli* small heat shock protein IbpA is an aggregation-sensor that self-regulates its own expression at posttranscriptional levels. *Mol Microbiol*, 2021, **115**(1):142-156
- [58] 韩茵, 孙苗苗, 王建平, 等. 吡啶作为细菌细胞间信号分子的研究进展. *微生物学通报*, 2015, **42**(4):736-748
Han Y, Sun M M, Wang J P, *et al.* *Microbiology China*, 2015, **42**(4): 736-748
- [59] Piñero-Fernandez S, Chimere C, Keyser U F, *et al.* Indole transport across *Escherichia coli* membranes. *J Bacteriol*, 2011, **193**(8):1793-1798
- [60] Lee H H, Molla M N, Contor C R, *et al.* Bacterial charity work leads to population-wide resistance. *Nature*, 2010, **467**(7311): 82-85
- [61] Rahmati S, Yang S, Davidson A L, *et al.* Control of the AcrAB multidrug efflux pump by quorum-sensing regulator SdiA. *Mol Microbiol*, 2002, **43**(3):677-685
- [62] Rosner J L, Martin R G. Reduction of cellular stress by TolC-dependent efflux pumps in *Escherichia coli* indicated by BaeSR and CpxARP activation of spy in efflux mutants. *J Bacteriol*, 2013, **195**(5):1042-1050
- [63] Hirakawa H, Inazumi Y, Masaki T, *et al.* Indole induces the expression of multidrug exporter genes in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*, 2005, **55**(4):1113-1126
- [64] Kuczyńska-Wiśnik D, Matuszewska E, Laskowska E. *Escherichia coli* heat-shock proteins IbpA and IbpB affect biofilm formation by influencing the level of extracellular indole. *Microbiology (Reading)*, 2010, **156**(Pt 1):148-157
- [65] Chu W, Zere T R, Weber M M, *et al.* Indole production promotes *Escherichia coli* mixed-culture growth with *Pseudomonas aeruginosa* by inhibiting quorum signaling. *Appl Environ Microbiol*, 2012, **78**(2):411-419
- [66] Nishino K, Honda T, Yamaguchi A. Genome-wide analyses of *Escherichia coli* gene expression responsive to the BaeSR two-component regulatory system. *J Bacteriol*, 2005, **187**(5): 1763-1772
- [67] Sperandio V, Torres A G, Kaper J B. Quorum sensing *Escherichia coli* regulators B and C (QseBC): a novel two-component regulatory system involved in the regulation of flagella and motility by quorum sensing in *E. coli*. *Mol Microbiol*, 2002, **43**(3): 809-821
- [68] Kwan B W, Osbourne D O, Hu Y, *et al.* Phosphodiesterase DosP increases persistence by reducing cAMP which reduces the signal indole. *Biotechnol Bioeng*, 2015, **112**(3):588-600
- [69] Kim B, Park J S, Choi H Y, *et al.* Terrein is an inhibitor of quorum sensing and c-di-GMP in *Pseudomonas aeruginosa*: a connection between quorum sensing and c-di-GMP. *Sci Rep*, 2018, **8**: 8617
- [70] Theodora N A, Domabel V, Waturangi D E. Screening and quantification of anti-quorum sensing and antibiofilm activities of phyllosphere bacteria against biofilm forming bacteria. *BMC Res Notes*, 2019, **12**: 732-736
- [71] Inaba T, Obana N, Habe H, *et al.* Biofilm formation by *Streptococcus mutans* is enhanced by indole via the quorum sensing pathway. *Microbes Environ*, 2020, **35**(2):ME19164
- [72] Buschiazzo A, Trajtenberg F. Two-component sensing and regulation: how do histidine kinases talk with response regulators at the molecular level. *Annu Rev Microbiol*, 2019, **73**:507-528
- [73] Watanabe T, Okada A, Gotoh Y, *et al.* Inhibitors targeting two-component signal transduction. *Adv Exp Med Biol*, 2008, **631**:229-236

Study on Bacterial Signal Transduction Systems and The Roles in Drug Resistance*

LÜ Shuo-Yan, ZHANG Gui-Xin, ZHU Yu-Qi, JIA Yu, GUAN Song-Lei**

(College of Life Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract The increasing number of drug-resistant bacteria has brought great difficulties to clinical treatment, revealing the mechanism of drug resistance has become one of the basic ways to curb drug-resistant bacteria. Bacterial signaling system is the main channels of information exchange between bacteria and plays an important role in the regulation of bacterial drug resistance. This paper reviews the relationship between bacterial two-component system, quorum sensing signaling system, the second messengers, indole and other bacterial signal systems (molecules) and bacterial drug resistance, and summarizes the mechanisms and pathways of regulating drug resistance. It mainly includes regulating biofilm formation, regulating the activity of drug efflux system, activating antibiotic inactivation enzyme, improving drug-resistant gene expression level, promoting drug-resistant gene transfer, modifying cell wall structure, *etc.*, which involves all links of bacterial drug resistance. Each signaling system can not only regulate drug resistance independently, but also cooperate with each other to form a regulatory network to regulate bacterial drug resistance at multiple levels. The above phenomenon indicates that bacterial signal transduction system plays a pivotal role in regulating bacterial drug resistance. Blocking or jamming the signaling system and cutting off the communication signals between bacteria could be a new strategy to curb the growing resistance of bacteria.

Key words signal transduction, bacteria, drug resistance mechanism, regulation

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0289

* This work was supported by grants from “Excellent Young Talents Fund” Project of Jilin Provincial Department of Science and Technology (20180520044JH) and Project of Jilin Provincial Department of Education (JJKH20180679KJ).

** Corresponding author.

Tel: 86-431-84532887, E-mail: 17736856@qq.com

Received: September 26, 2021 Accepted: November 26, 2021