

# 群体感应与微生物耐药性

陈昱帆<sup>1,2</sup>, 刘诗胤<sup>1,2</sup>, 梁志彬<sup>1,2</sup>, 吕明发<sup>1,2</sup>, 周佳暖<sup>1,2</sup>, 张炼辉<sup>1,2</sup>

1. 华南农业大学群体微生物研究中心, 广州 510642;
2. 广东省微生物信号与作物病害防控重点实验室, 广州 510642

**摘要:** 微生物耐药性已成为全球关注的严重问题, 其演化机制和调控机理也已成为研究热点。近年来的研究发现, 一些微生物耐药性机制受到群体感应系统的调控。群体感应是一种在微生物界广泛存在并与菌体密度关联的细胞-细胞间的通讯系统。高密度的菌落群体能够产生足够数量的小分子信号, 激活下游包括致病毒力和耐药性机制在内的多种细胞进程, 耐受抗生素并且危害寄主。本文结合国内外最新的研究进展, 对微生物群体感应系统的研究现状进行了概括性介绍, 重点阐述了群体感应系统对微生物耐药性机制的调控作用, 如微生物生物被膜形成和药物外排泵调控等方面的作用, 并探讨了利用群体淬灭控制微生物耐药性的新策略。

**关键词:** 微生物耐药性; 群体感应; 生物被膜; 群体淬灭; 药物外排泵

## Quorum sensing and microbial drug resistance

Yufan Chen<sup>1,2</sup>, Shiyin Liu<sup>1,2</sup>, Zhibin Liang<sup>1,2</sup>, Mingfa Lv<sup>1,2</sup>, Jianuan Zhou<sup>1,2</sup>, Lianhui Zhang<sup>1,2</sup>

1. Integrative Microbiology Research Centre, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
2. Guangdong Province Key Laboratory of Microbial Signals and Disease Control, Guangzhou 510642, China

**Abstract:** Microbial drug resistance has become a serious problem of global concern, and the evolution and regulatory mechanisms of microbial drug resistance has become a hotspot of research in recent years. Recent studies showed that certain microbial resistance mechanisms are regulated by quorum sensing system. Quorum sensing is a ubiquitous cell-cell communication system in the microbial world, which associates with cell density. High-density microbial cells produce sufficient amount of small signal molecules, activating a range of downstream cellular processes including virulence and drug resistance mechanisms, which increases bacterial drug tolerance and causes infections on host organisms. In this review, the general mechanisms of microbial drug resistance and quorum-sensing systems are summarized with a focus on the association of quorum sensing and chemical signaling systems with microbial drug resistance mechanisms, including biofilm formation and drug efflux pump. The potential use of quorum quenching as a new strategy to control microbial resistance is also discussed.

**Keywords:** microbial drug resistance; quorum sensing; biofilm formation; quorum quenching; drug efflux pump

收稿日期: 2016-04-20; 修回日期: 2016-06-20

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(973 计划)(编号: 2015CB150600)和国家自然科学基金项目(编号: 31330002, 31270170)资助

[Supported by the National Basic Research Program of China (973 Program) (No. 2015CB150600) and the National Natural Science Foundation of China (Nos. 31330002, 31270170)]

作者简介: 陈昱帆, 博士研究生, 专业方向: 微生物学。E-mail: chen-yufan@stu.scau.edu.cn

通讯作者: 张炼辉, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 微生物学、植物病理学。E-mail: lh-zhang01@scau.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.16-141

网络出版时间: 2016/8/12 10:44:00

URI: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20160812.1044.006.html>

微生物病害,特别是耐药病原菌的感染,可导致巨大的生命和财产损失,已成为人类健康和动植物生存的重大威胁之一。在历史上很长一段时期,人类对这些疾病束手无策,直到病原理论的建立和特定微生物与感染性疾病因果关系的确立,微生物病原及其病害机理才进入人类的视野。这些具有里程碑意义的发现最终促成了抗生素和疫苗的开发<sup>[1]</sup>。20 世纪 20 年代抗生素的发现和发展重写了医学史,一度广泛致命的传染病得到治疗,使得人类面对传染病束手无策的局面得以缓解。目前,抗生素在世界范围内广泛使用,据统计,近年来世界各国每年抗生素的使用量高达 10~20 万吨<sup>[2]</sup>。目前使用的大多数抗生素以直接杀死病原菌为目的,比如破坏细胞膜、干扰关键蛋白质合成等。这种“生或死”的选择压力促进了微生物耐药性的进化,抗生素的大规模使用随之带来了严重的微生物耐药性问题。近年来,在世界各地都出现了能抵抗各种常用抗生素的“超级细菌”<sup>[3-5]</sup>。时至今日,传染病仍是威胁人类健康的主要原因<sup>[1,4]</sup>。这些严峻的现实一方面说明明确病原微生物的致病机理、探索新型病害防控方法策略的重要性,另一方面也强调研究微生物耐药性的演化机制和调控机理的必要性。

研究表明“超级细菌”通常具有多样化的耐药性机制,包括简单的靶标基因突变到复杂的多基因编码的生物被膜(Biofilm)系统<sup>[6-8]</sup>。近年来的微生物群体感应(Quorum sensing)系统及其与一些耐药性关联关系的发现,为研究耐药性机制的调控机理提供了新的角度和手段<sup>[9,10]</sup>。本文在阐述微生物的耐药性机制的基础上,对微生物群体感应机理展开介绍,重点讨论群体感应和化学通讯系统对微生物耐药性的调控作用,同时探讨针对微生物群体感应现象开发新型药物防控病害及克服微生物耐药性的可能性。

## 1 微生物的耐药性机制

目前,市场上常用的抗生素药物根据其攻击靶点的不同可分为以下 3 类:(1)破坏细菌细胞膜的生物合成;(2)影响细菌关键蛋白的合成;(3)干扰细菌 DNA 的复制和损伤修复<sup>[11]</sup>。抗生素在临床治疗中的大量使用,使得微生物针对抗生素的攻击靶点形成了相对应的多种耐药性机制<sup>[5]</sup>,主要有以下 3 种机

制:通过化学修饰钝化抗生素,利用外排泵系统排出抗生素,以及药物靶向基因的修饰(图 1)。同时,很多病原菌可以形成致密的生物被膜(图 2)<sup>[12]</sup>,从而使细菌具有很强的耐药性。

化学修饰钝化抗生素活性机制,即通过分泌一种修饰酶改变抗生素药物的化学结构,从而导致抗生素钝化,活性丧失(图 1)。其酶学机理包括抗生素降解和抗生素化学基团衍生化。最经典的例子来自青霉素和头孢菌素药物的抗药细菌,抗性菌通过产生  $\beta$ -内酰胺酶水解药物中的  $\beta$ -内酰胺环,使药物丧失活性<sup>[13]</sup>,并且,根据  $\beta$ -内酰胺酶功能的不同分为 4 组,首先根据能否被金属螯合剂 EDTA 钝化分为两类,能够被 EDTA 螯合的归为第 3 组,接着根据能否被克拉维酸抑制将第 1、2、4 组分为两类,其中,能被克拉维酸抑制的归为第 2 组,在剩下的两组中,第 1 组属于头孢菌素降解酶,第 4 组属于青霉素降解酶<sup>[14]</sup>。同时, $\beta$ -内酰胺酶的编码基因可以通过质粒介导或者转座子突变传递到其他细菌中<sup>[15,16]</sup>。典型的抗生素药物钝化的例子来自于氨基糖苷类抗生素抗性菌,该些细菌通过产生一些基团修饰酶,比如乙酰转移酶,磷酸转移酶以及核苷酸转移酶,将氨基糖苷类药物特定位点上的氨基或者羟基进行特定修饰,使药物丧失活性<sup>[17]</sup>。

微生物也可以利用外排泵系统排出抗生素(图 1)。抗生素药物通常必须通过微生物的细胞膜进入细胞内,才能对特异靶点进行有效攻击。抗生素药物外排抗性是微生物耐药性的一个重要机制,它是由药物外排泵来完成的。微生物在细胞膜上组装好外排泵蛋白,将细胞内的抗生素药物排出,其排出速度通常比药物渗透速度快,由此将细胞内的药物水平控制在非敏感水平。截至目前,已发现的微生物外排泵系统多种多样,如有亲脂性、亲水性的外排系统等,分别针对不同化学性质的药物<sup>[18,19]</sup>。

另一重要耐药性机制是药物靶向基因的修饰(图 1)。该机制主要通过修饰改变药物靶向基因,使药物丧失攻击靶点。 $\beta$ -内酰胺类抗生素通过抑制细菌细胞壁转肽过程的黏肽合成酶,即青霉素结合蛋白(Penicillin binding proteins, PBPs),使细菌无法形成完整的细胞壁而死亡,从而起到杀菌作用<sup>[20]</sup>。在耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin-resistant

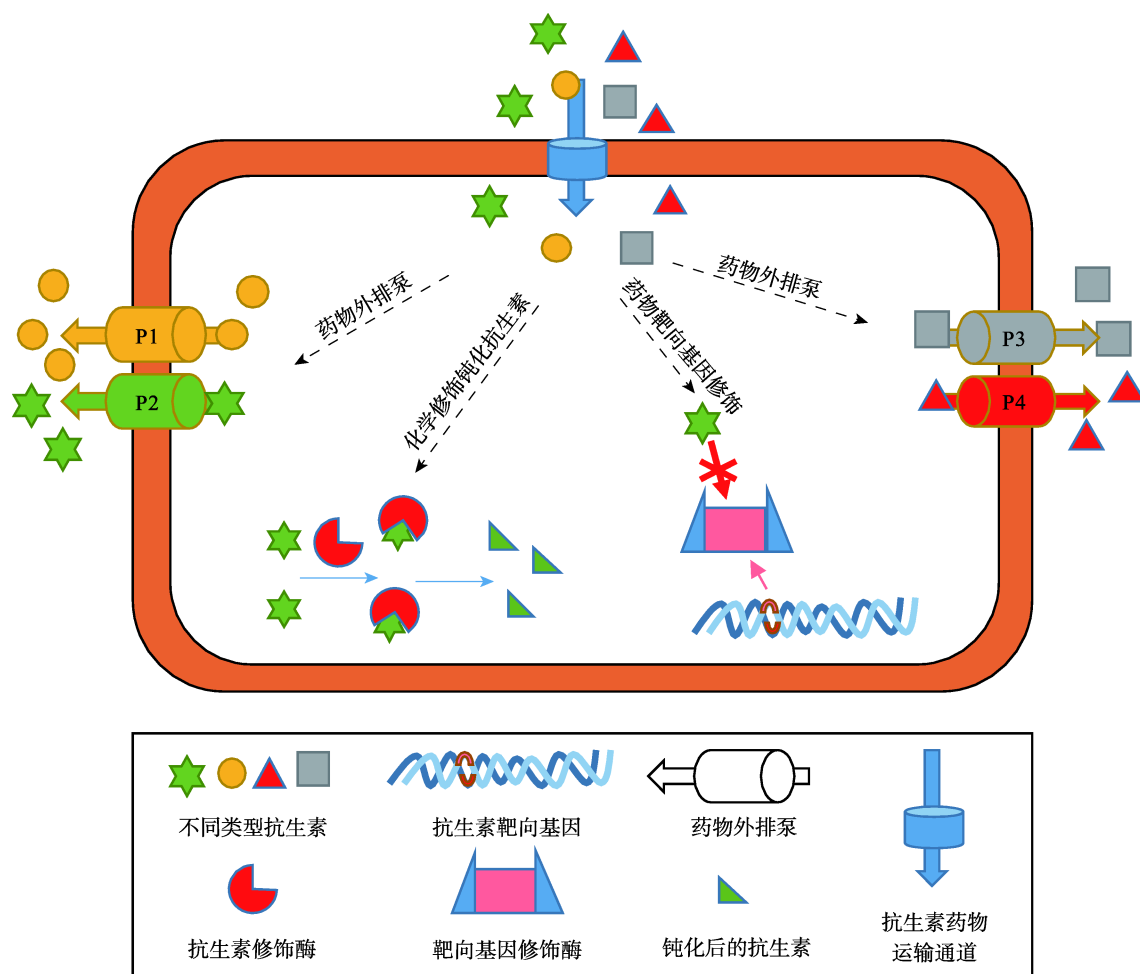
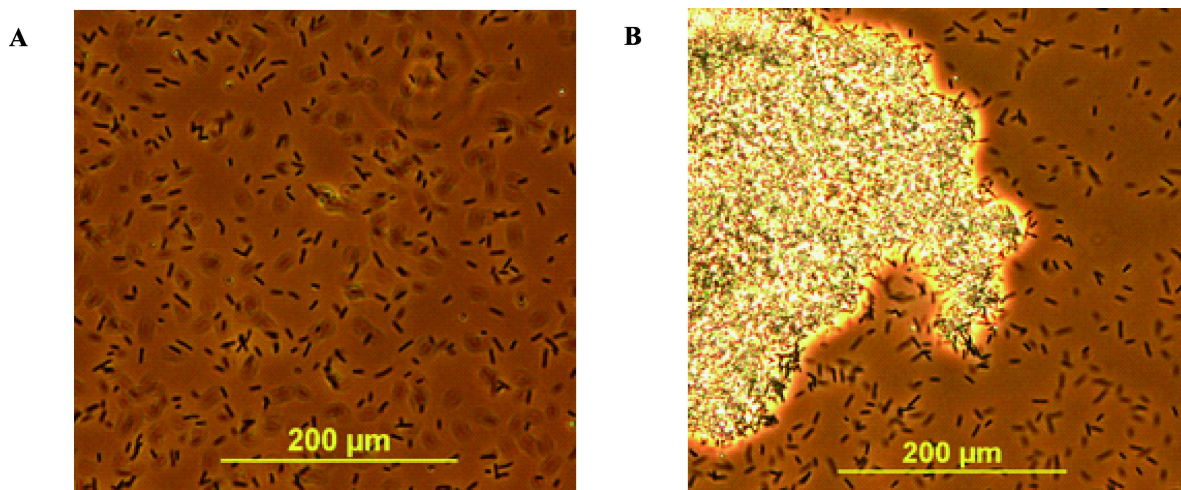


图 1 微生物常见抗药性机制

**Fig. 1 Common mechanisms of microbial drug resistance**



**图 2** 细菌的游离生长状态(A)和致密状态生物被膜的形成(B)

**Fig. 2** Planktonic bacteria (A) and formation of bacterial biofilm (B)

图引自文献[12]。

*Staphylococcus aureus*, MRSA)中,大量产生一种细菌细胞壁形成所需的转肽酶 PBP2a,该蛋白其与  $\beta$ -内酰胺类抗生素的亲合性极低,而且能够降低  $\beta$ -内酰胺类抗生素的酰化作用,从而躲避抗生素的危害,并且能够将肽聚糖层链接起来,组成成熟的细胞壁<sup>[6,21]</sup>。经过后续研究发现,PBP2a 由位于葡萄球菌染色体 *mec* 盒(*Staphylococcal cassette chromosome mec*, SCC*mec*)上的 *mecA* 基因编码,其表达受到 MecR1 蛋白的激活,而被 MecI 蛋白抑制<sup>[22,23]</sup>。通过蛋白结构分析发现,与青霉素敏感型蛋白 PBPs 相比,PBP2a 蛋白上的丝氨酸活性位点位于一个狭窄的裂缝中,该构象变化降低了  $\beta$ -内酰胺类抗生素介导的酰化反应,从而降低了 PBP2a 与抗生素的结合活性<sup>[24]</sup>。

近年来,研究人员发现细菌生物被膜对细菌耐药性的形成也尤为重要(图 2)。细菌生物被膜产生的耐药性是一个系统的、复杂的抗药机制,其耐药性原理至少有如下 3 点<sup>[7,25]</sup>:(1)生物被膜本身是有效的药物屏障,可显著降低抗生素的渗透性。细菌通过蛋白质和 DNA,特别是胞外多糖等组分互相连接,形成一个难以逾越的屏障,从而可大幅降低抗生素药物的渗透性,提高生物被膜内细菌的生存率。(2)生物被膜内特殊的微环境,使膜内菌体产生异质性(Heterogeneity),调节菌体的抗生素抗性。研究发现,生物被膜内不同区域的营养物质、菌体分泌物的浓度并不相同,导致在生物被膜内不同区域的菌体生长状态不一致,即菌体异质性,进而形成了不同抗药程度的菌体。(3)生物被膜外的极端环境,促使膜内菌体产生抗药性。生物被膜外一些剧烈的环境变化,比如温度、pH 值以及某些化学物质浓度的改变,都可能影响生物被膜内菌体调节自身生理生化的功能,降低其生长效率,形成抵抗抗生素的状态。

多种耐药性机制的存在加剧了克服和解决微生物耐药性问题的难度。在微生物与抗生素这种“道高一尺魔高一丈”的斗争当中,越来越多的微生物进化出了多种抗性机制,成为“超级细菌”。例如,超级耐药菌金黄色葡萄球菌一方面能够通过产生  $\beta$ -内酰胺酶特异性降解青霉素,另一方面通过产生 PBP2a 蛋白使甲氧西林丧失结合细胞壁黏肽合成酶的能力<sup>[23]</sup>。在另一种超级细菌绿脓杆菌中,除了能够产生不同的药物外排泵来抵抗多种类型的抗生素

外<sup>[26]</sup>,还能通过水平基因转移来获得抗性基因<sup>[27]</sup>,并且其菌体形态的变化以及致密的生物被膜能够抵御市面上几乎所有的抗生素<sup>[28]</sup>。

## 2 微生物群体感应系统及其调控机理

近年来微生物群体感应系统的发现,为研究耐药性机制的调控机理和克服微生物耐药性提供了新的希望。研究表明群体感应系统调控微生物的多种细胞进程,如致病基因表达、毒素产生和胞外多糖合成,并在药物外排泵及微生物生物被膜的形成过程中发挥重要的调控作用<sup>[9,10]</sup>。

群体感应现象在细菌中首先被发现。长期以来,单细胞的细菌被认为是互不相干的个体,它们各自编码自身活动,但近期的研究结果清楚表明,细菌细胞间可通过互相通信联系以协调基因的表达,从而以群体的形式对不断变化的环境条件作出反应。这种细胞与细胞间的通信机制,被称为群体感应,它依赖于产生、检测和对积累的小分子信号作出快速反应,因而与细菌的细胞密度有关。在低细胞密度时,每个细菌细胞产生低浓度的群体感应信号,这些信号通过扩散或主动运输到达细胞外部环境。当细菌生长至一定的细胞密度时,细胞外部环境累积的群体感应信号达到临界浓度,即与细菌的群体感应信号受体蛋白作有效识别反应,进而同步协调整个细菌群体的基因表达和各种生物活动<sup>[9,10,29-31]</sup>。

不同的细菌可能产生不同的群体感应信号。目前已知的群体感应信号包括酰基高丝氨酸内酯(*N*-Acyl homoserine lactones, AHLs)<sup>[32-34]</sup>、寡肽(Oligopeptide)类分子<sup>[35]</sup>、羟基棕榈酸甲酯(Palmitic acid methyl ester, PAME)<sup>[36]</sup>、呋喃硼酸二酯(Furanosyl borate diester, AI-2)<sup>[37]</sup>和扩散性信号分子(Diffusible signal factor, DSF)<sup>[38]</sup>,其中大部分涉及细菌毒力的调节<sup>[39-41]</sup>。群体感应现象不仅存在于原核王国的单细胞细菌,真核病原真菌也可使用群体感应信号来协调生物功能,比如白色念珠菌(*Candida albicans*)通过产生法尼醇(Farnesol)来调节酵母状与菌丝体之间的形态转换,从而影响真菌的毒力<sup>[42]</sup>。下文将分别以 AHL 和 DSF 这两类研究比较广泛的群体感应系统为例简单讨论群体感应系统的调控机理。

AHL 介导的群体感应系统是目前研究最多的一



种细胞与细胞间的通信机制。已知有超过 200 种细菌产生 AHL 型群体感应信号。其中大部分为病原菌,例如在农业上重要的病原细菌根癌农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*)<sup>[33]</sup> 和软腐病菌 (*Erwinia carotovora*)<sup>[43]</sup>、医学上重要的病原细菌绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)<sup>[44]</sup> 和伯克氏菌 (*Burkholderia cepacia* complex)<sup>[45,46]</sup>。典型的 AHL 群体感应系统由 *luxI/luxR* 产物所组成,其中 *luxI* 编码 AHL 信号合成酶,*luxR* 编码 AHL 信号受体调节蛋白。在最早发现 AHL 系统的海洋费氏弧菌 (*Aliivibrio fischeri*) 中,在低细菌群体密度时,*luxI* 基因编码产生少量的 AHL 分子,当细菌群体密度到达某个阈值后,细菌周围积累的 AHL 信号分子进入细胞,结合并激活 LuxR 蛋白,LuxR 蛋白即启动 *luxI* 基因过量表达并激活下游发光基因的表达<sup>[32,47-49]</sup>。

另一类广泛存在的群体感应系统由 DSF 家族信号所介导。1997 年,Barber 等<sup>[50]</sup>首次报道黄单胞杆菌 (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) 能产生一种新型可扩散的信号分子,调控多种胞外降解酶(纤维素酶、蛋白酶和果胶酶等)和胞外多糖的产生;随后,张炼辉实验室鉴定该信号分子的化学结构为顺-11-甲基-2-十二碳烯酸 (*cis*-11-methyl-2-dodecenoic acid),并阐明了其调控的生物学功能和信号传导通路<sup>[38,51-53]</sup>。在黄单胞杆菌中,DSF 信号合成酶 RpfF 和双组份系统 RpfC/RpfG 是群体感应系统的核心组分。在低群体密度时,合成酶 RpfF 与 DSF 受体 RpfC 结合,黄单胞杆菌仅产生微量的 DSF 信号,当细菌分裂生长至一定群体密度时,RpfC 识别积累的 DSF 引发自我磷酸化,导致 RpfC 构型改变,从而释放 RpfF 迅速合成 DSF,高浓度的 DSF 信号保持下游 RpfC 处于激活状态,并通过磷酸化激活 RpfG 对 c-di-GMP 第二信使的降解功能,调控黄单胞杆菌中致病因子的产生以及生物被膜的形成等<sup>[10,54]</sup>。DSF 信号不仅存在于所有黄单胞菌属细菌中,也广泛存在于伯克氏菌、绿脓杆菌和多种海洋细菌中<sup>[10,55,56]</sup>。多种 DSF 信号类似物已被鉴定报道,如顺-2-十二碳烯酸 (*cis*-2-dodecenoic acid, BDSF)<sup>[57]</sup>、(2Z,5Z)-11-甲基-2,5 二烯-12 烷酸 ((2Z,5Z)-11-methyldodeca-2,5-dienoic acid, CDSF)<sup>[58]</sup>,形成了 DSF 家族的群体感应信号系统。

### 3 群体感应对微生物生物被膜形成的调控作用

研究发现,野生型绿脓杆菌在体外可形成致密的结构分化完整的生物被膜,对抗生素有极强的耐药性,但其群体感应信号合成酶 LasI 的缺失突变体,则形成平坦且未完全分化的生物被膜,对抗生素的抗药性显著降低<sup>[59]</sup>。当在群体感应信号缺失的绿脓杆菌中加入相应的 AHL 信号分子,该突变体又恢复形成野生型生物被膜的能力<sup>[59,60]</sup>。Hentzer 等<sup>[61]</sup>研究表明,在细菌培养过程中加入能抑制群体感应的化学分子,能显著降低野生型绿脓杆菌形成致密型生物被膜的能力。除了 AHL 介导的群体感应系统,DSF 群体感应系统与微生物第二信使 c-di-GMP 也参与了生物被膜形成和发育的调控。

#### 3.1 AHL 信号在细菌生物被膜形成过程中的作用

绿脓杆菌常使囊肿性纤维化 (Cystic fibrosis, CF) 患者和免疫能力较差者引发严重感染<sup>[62]</sup>。它是一种耐药性很强的细菌,其形成的生物被膜对多种抗生素具有较强的抗性。目前研究表明,绿脓杆菌的致病力受一个复杂的群体感应网络调节,该网络由 4 个信号系统组成,包括 2 个 AHL 群体感应系统 Las 和 Rhl,以及 PQS 和 IQS 信号系统<sup>[63-66]</sup>。Las 系统处于 QS 系统网络的顶层,不仅控制细菌毒力因子表达,而且在高磷酸盐的环境下调控下游 Rhl 和 PQS 系统的活性,以此调控细菌代谢,特别是生物被膜的形成,提高绿脓杆菌的耐药性<sup>[66]</sup>。而绿脓杆菌 Las 系统的缺失突变体,仅形成结构简单且对抗生素敏感的生物被膜。在低磷酸盐的条件下,缺失了 Las 系统的绿脓杆菌仍具有致病力和强耐药性,主要是通过 *amb* 操纵子产生 IQS 信号来激活下游的 Rhl 系统,同时 *amb* 基因的缺失也抑制生物被膜的形成<sup>[67]</sup>。

#### 3.2 DSF 信号在细菌生物被膜形成过程中的作用

DSF 信号的一个重要功能是调控生物被膜的形成。十字花科致病菌野油菜黄单胞杆菌能够通过 DSF 信号的浓度变化调控细菌生物被膜的形成和驱散。研究发现,在 DSF 信号产生缺陷的菌株中,其细菌胞外多糖合成密切相关的 *xagABC* 基因簇的表达被激活,从而促进细菌形成生物被膜<sup>[51,68]</sup>。与之

相反,高密度的野生型细菌群体产生大量的 DSF 信号,随后 DSF 信号通过 RpfC 激活 RpfG 降解细胞内的 c-di-GMP 信号,抑制 *xagABC* 基因簇的表达,并且促进野油菜黄单胞菌产生由 *manA* 基因编码的内-1,4- $\beta$ -甘露聚糖酶,催化降解细菌群落中的胞外多糖,从而抑制野油菜黄单胞菌生物被膜的形成<sup>[69]</sup>。因此,在野油菜黄单胞菌中,群体感应系统分别以反向调控和正向调控方式,控制与其生物被膜形成相关的 *xagABC* 基因簇和与生物被膜驱散有关的 *manA* 基因的表达<sup>[10]</sup>,然而群体感应信号 DSF 调控这两个系统表达和平衡的分子机制仍有待进一步研究阐明。

### 3.3 细菌第二信使 cyclic-di-GMP 在生物被膜形成过程中的作用

细菌细胞内第二信使 cyclic-di-GMP (c-di-GMP) 浓度的改变控制着细菌在浮游状态(Motility)和固着状态(Sessility)之间的转化。一般而言,低浓度的 c-di-GMP 不利于生物被膜的形成,使细菌处于浮游生长状态,高浓度的 c-di-GMP 能够提高细胞黏附机制组分的产生和分泌,促进生物被膜形成,使其形成固着状态<sup>[70,71]</sup>。例如,在大肠杆菌(*Escherichia coli*)中,细胞体内增加的 c-di-GMP 同时结合到受体蛋白 PgaC 和 PgaD 上,改变了 PgaCD 的结构,激活了其酶活性,促进胞外多糖的合成和释放,从而促进了大肠杆菌生物被膜的形成<sup>[72,73]</sup>。在荧光假单胞杆菌(*P. fluorescens*)中,体内积累的 c-di-GMP 分子与 LapD 蛋白结合引起构象改变,使其与 LapG 蛋白结合,释放了与细胞表面粘附有关的 LapA 蛋白,LapA 蛋白通过 ABC 型运输结构分泌到细胞表面,进而促进生物被膜的形成<sup>[74-77]</sup>。

值得注意的是,研究表明群体感应系统可与 c-di-GMP 信号系统形成复杂的多级信号网络,以此调控细菌生物被膜的形成。如前所述,黄单胞杆菌的群体感应信号 DSF 通过 RpfC 激活 RpfG 降解细胞内的 c-di-GMP 信号,降低编码多糖合成的 *xagABC* 基因簇的表达并促进 *Xcc* 产生胞外多糖降解酶内-1,4- $\beta$ -甘露聚糖酶,从而抑制生物被膜的形成<sup>[55,69]</sup>。在霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)中,高细胞密度激活群体感应受体 HapR,后者通过直接或间接的方式调控下游与 c-di-GMP 合成及降解有关的 14 个基因的表

达,降低细胞内的 c-di-GMP 浓度,从而抑制生物被膜的形成<sup>[78,79]</sup>。

## 4 群体感应系统对微生物其他耐药性机制的调控作用

微生物群体感应系统还可能参与调控生物被膜形成之外的其他耐药性机制,如细菌的药物外排泵等。细菌药物外排泵可有效地排出进入菌体的抗生素,针对不同类型的抗生素,细菌进化形成多种不同的外排泵类型。在革兰氏阴性菌中,目前研究最为透彻的药物外排泵为 RND 家族(Resistance-nodulation-cell division superfamily)外排泵,该外排泵由 3 部分组成,从细胞膜内到膜外分别是转运蛋白、融合蛋白和孔道蛋白<sup>[80]</sup>。研究发现,RND 类型外排泵在质子梯度的驱动下,转运蛋白对药物进行选择结合,随后药物通过孔道蛋白排出菌体。研究结果表明,群体感应系统与 RND 类型外排泵之间存在互相影响的关系。一方面,群体感应系统调控药物外排泵相关基因的表达。在绿脓杆菌中,在外源加入群体感应信号分子 C4-HSL 能够上调药物外排泵系统基因 *mexAB-oprM* 的表达,增强细菌对氟喹诺酮类药物、氯霉素以及大多数  $\beta$ -内酰胺类药物的抗性。然而,绿脓杆菌中的另一个群体感应信号 3-oxo-C12-HSL 对于 *mexAB-oprM* 基因表达的调控没有显著效果<sup>[81,82]</sup>。与此相似,在类鼻疽伯克氏菌(*B. pseudomallei*)中,外源添加其自发诱导因子 C8HSL 或者 C10HSL,均能使其外排泵基因 *bpeAB-oprB* 提前表达,增强了细菌的抗药性。另一方面,外排泵系统也参与到群体感应信号的运输。在对类鼻疽伯克氏菌的研究中发现,与野生型菌株相比,其外排泵 *bpeAB* 基因突变菌株培养液中并无检测到群体感应信号 C8HSL,可能由于外排泵系统 BpeAB-OprB 受损,导致群体感应信号在菌体内过量累积,进而反馈抑制了自发诱导因子合成酶基因 *bpsI* 的表达。该研究表明,类鼻疽伯克氏菌 BpeAB-OprB 系统可能参与其群体感应信号的外排转运<sup>[83]</sup>。

## 5 利用群体淬灭防病和防治耐药性的前景展望

群体感应系统通过调控生物被膜的形成和直接

参与药物外排泵的调控, 在细菌耐药性机制的形成中发挥了重要作用。细菌耐药性的提高一来加剧了病害防治的难度, 二来药物的过量使用引发的副作用也可能会危害人体健康。近年来群体淬灭病害防治策略的发现, 为克服和解决微生物耐药性问题提供了新的可能<sup>[84]</sup>。群体淬灭是通过干扰微生物细胞间的 QS 系统, 阻止群体感应依赖型基因表达而防御病原菌感染的一种机理<sup>[85,86]</sup>。与目前常用的抗生素不同, 群体淬灭剂通过抑制微生物群体感应来降低微生物的感染, 通常不影响微生物的生长。群体淬灭主要有如下 3 种方式: (1) 降解或修饰信号分子; (2) 干扰信号分子与受体蛋白的识别结合; (3) 阻断群体感应信号的合成通路<sup>[87]</sup>。

其中降解信号分子是研究较多的一种淬灭方式, 这种方式主要是利用微生物或者其他生物产生的群体淬灭酶降解群体感应信号分子, 使得信号分子浓度低于阈值, 病原菌无法表达致病基因和产生致病因子, 因而失去对宿主的侵染能力。Dong 等<sup>[85]</sup>研究表明, 将芽孢杆菌(*Bacillus* sp. 240B1)中编码 AHL 降解酶的 *aiiA* 基因在马铃薯和烟草中表达, 其转基因烟草和马铃薯对胡萝卜软腐病菌(*Pectobacterium carotovorum*)侵染的抗性显著提高。接种病原菌后, 马铃薯块茎和烟草叶片则不出现病斑或者显著推迟病斑的出现, 这证明了酶降解 AHL 信号分子确实是一种有效的病害防控方式。这种防病方式并不作用于致病菌本身, 而是作用于致病菌产生的信号分子, 使致病基因不表达, 因而不会对病原菌施加“生或死”的选择压力, 致病菌产生耐药性的可能性大为降低, 这很可能作为一种高效、长久的药物来使用<sup>[87,88]</sup>。

另外, 群体感应信号拮抗剂(Quorum sensing inhibitors, QSIs)对于降低病原菌致病性也有重要的作用。研究者发现, 不少生物能够分泌群体感应信号类似物, 竞争性结合细菌自身的群体感应信号受体, 干扰群体感应系统的调控, 显著降低病原菌的致病力。Truchado 等<sup>[89]</sup>发现甜橙(*Citrus sinensis*)中富含的黄酮类化合物具有群体感应信号抑制剂的功能, 能够显著降低小肠结肠炎耶尔森氏菌(*Yersinia enterocolitica*)自身分泌的群体感应信号浓度, 驱散群体感应介导的生物被膜的形成, 并且不影响细菌

的生长。另一种 QSI 物质分离自大型藻类海洋红藻(*Delisea pulchra*)中的卤代呋喃酮<sup>[90]</sup>, 其结构改良后的衍生物具有更强的抑制群体感应信号的功能<sup>[91]</sup>。研究发现, 该物质通过加速 AHL 受体蛋白 LuxR 的降解转换(Protein turnover)来抑制群体感应系统控制的相关表型, 属于非竞争性的抑制剂(Nonagonist fashion)<sup>[92]</sup>, 但由于卤代呋喃酮具有高反应活性和结构不稳定性, 使其不适合开发成治疗药物。虽然在不少的细菌、真菌、植物和动物的代谢产物中均有发现群体感应信号拮抗活性, 但是目前只分离鉴定出少部分的活性分子。因此, 不少研究者采用人工合成的方法合成出群体感应信号类似物, 以拮抗病原菌的群体感应信号, 也取得了一定成效<sup>[93]</sup>。Smith 等<sup>[94]</sup>针对绿脓杆菌群体感应 Las 系统的受体蛋白 LasR 化学合成一系列的结构类似物, 通过后续实验表明, 该系列类似物能够产生拮抗效应, 抑制病原菌毒力因子的表达。此外, 研究发现, 一些与 QS 信号结构不相关的物质具有更有效的 QSI 活性, 而且结构更加稳定, 毒性更低。例如, 一种叫 TP-5 的三苯基类物质能够有效抑制绿脓杆菌的 AHL 群体感应现象<sup>[95]</sup>, 其作用机理还需进一步研究阐明。

如前所述, 群体感应系统除了影响致病基因的表达, 同时也对生物被膜形成和药物外排泵的过量表达起重要调控作用。因此, 群体淬灭制剂除了可以直接用于微生物病害防控之外, 也可与抗生素同时使用, 以降低微生物的耐药性和提高抗生素的杀菌效力。目前, 这方面的研究尚不多见。

## 6 问题与挑战

微生物耐药性机制的多样性无疑为研究和解决耐药性问题带来了极大的挑战, 因此, 研究微生物主要耐药性机制的形成机理和调控机制对于微生物病害防控具有重要的现实意义。目前, 有关微生物耐药性形成的调控机制研究尚不多见, 虽然研究证明在绿脓杆菌和其它若干病原菌中, 群体感应系统参与了生物被膜形成和药物外排泵基因表达的调控, 但更多临床上重要病原菌的耐药性机制的形成机理及其调控机制尚待深入研究。因此, 群体感应和其他调控系统研究的进展与突破, 将有可能为微生物耐药性的研究注入新的活力。



应该指出,微生物群体感应系统研究有其复杂性,同时,群体感应与耐药性关系的研究同样面临多种挑战。首先,很多微生物中群体感应机制并不是单一的。例如,肠道沙门氏菌(*Salmonella enterica*)的群体游动现象由两套群体感应系统控制<sup>[96]</sup>。绿脓杆菌中的群体感应网络至少包括 Las、Rhl、PQS 和 IQS 多个信号系统,而且各系统之间形成级联关系(Hierarchical network),是一个复杂的控制网络<sup>[66,97]</sup>。倘若细菌的同一表型受到多种信号网络的调控,对其中一种信号机制的抑制是否会被其他通讯机制代替抵消,又或者抑制了一种通讯机制会否使其他原本已停用的调控机制得以恢复,这都是今后科研中可能面临的问题。找出对微生物致病性和耐药性至关重要的群体感应调控系统将是今后研究的重点。

另外,天然突变和选择压力使得微生物对传统抗生素产生耐药性,那么,对 QSI 是否也会存在类似现象?从个体进化角度来讲,微生物有可能在群体感应调控网络中产生变异,临床中已经分离到 QS 信号缺陷型的绿脓杆菌<sup>[98-101]</sup>。Zhu 等<sup>[102]</sup>研究发现,通过过量表达根癌农杆菌的 LuxR 蛋白 TraR 也能够降低 QSI 的作用。由于群体感应信号不直接调控微生物的生长,因而研究者此前认为 QSI 不会造成微生物的选择压力。然而,微生物在具体环境中的状态(*in vivo*)与体外培养(*in vitro*)是千差万别的。QSI 不仅抑制群体感应相关致病因子的表达,同时也影响了微生物在寄主上的定植和扩散,使得微生物更容易被寄主免疫系统杀死,间接降低了其种群密度,增加病原菌的生存压力,因此,有人认为具有 QSI 抗性的菌株比 QSI 敏感菌株更有选择优势<sup>[103]</sup>。这种可能性值得后续研究注意。

从群体进化角度来讲,研究者发现,在微生物群体中存在社会分工现象,群体中存在好吃懒做的社会欺骗者(Social cheaters)和认真提供群体生长必需品(Public goods)的合作者(Cooperators)<sup>[104,105]</sup>。在对绿脓杆菌群体社会性研究中发现,具有 QSI 抗性的菌株属于合作者,产生 QS 系统介导的必需品;而 QSI 敏感型菌株(QS 系统缺陷型菌株)属于社会欺骗者,其生长需要消耗必需品,其自身却不能产生。虽然, QSI 抗性菌株具有选择优势,但是,由于生长必需品有限,整个细菌的群体密度受到限制,从

而限制了 QSI 抗性菌株的生长速率。而且,在没有抗生素的环境中, QSI 敏感型菌株由于好吃懒做的特点,比 QSI 抗性菌株更有生长优势,降低了群体的选择优势,也限制了 QSI 抗性菌株在种群中的数量<sup>[106-108]</sup>。随着对微生物群体感应系统研究的深入, Henke 等<sup>[109]</sup>发现,在哈氏弧菌(*V. harveyi*)中至少存在 3 套群体感应系统,呈现平行串联关系(Parallel),而非绿脓杆菌的级联关系。这 3 套不同的群体感应系统调控下游相同的细胞表型。近期, Even-Tov 等发现,哈氏弧菌中的社会欺骗者型与合作者型菌株的角色是可相互切换的,两者维持一定的菌落密度。当种群中使用第一套群体感应系统的菌株占主导地位时,社会欺骗者型的菌株往往通过表达另一套群体系统来快速增殖,当社会欺骗者的种群密度达到一定阈值时,其角色又变成合作者。这种微生物群体中社会性角色的动态转换对 QSI 的研发和应用具有启示意义,此研究目前尚停留在理论研究阶段<sup>[110,111]</sup>。

此外,微生物第二信使 c-di-GMP 的代谢状况与生物被膜的形成发育关系密切, c-di-GMP 代谢酶通常为多功能域的复合蛋白并包含信号接收域, c-di-GMP 信号网络通常与微生物的多种信号网络相交联,预示了复杂的调控机理。可见,阐明影响 c-di-GMP 代谢酶表达或者激活的调控机理,对于研究微生物生物被膜和耐药性的形成机理至关重要。

## 参考文献(References):

- [1] Morens DM, Folkers GK, Fauci AS. The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature*, 2004, 430(6996): 242-249. [DOI]
- [2] Wise R. Antimicrobial resistance: priorities for action. *J Antimicrob Chemother*, 2002, 49(4): 585-586. [DOI]
- [3] Monroe S, Polk R. Antimicrobial use and bacterial resistance. *Curr Opin Microbiol*, 2000, 3(5): 496-501. [DOI]
- [4] Livermore DM. The need for new antibiotics. *Clin Microbiol Infect*, 2004, 10(Suppl. 4): 1-9. [DOI]
- [5] Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nat Rev Microbiol*, 2010, 8(4): 260-271. [DOI]
- [6] Spratt BG. Resistance to antibiotics mediated by target alterations. *Science*, 1994, 264(5157): 388-393. [DOI]
- [7] Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bac-



- teria in biofilms. *Lancet*, 2001, 358(9276): 135–138. [DOI]
- [8] Barbier F, Wolff M. Multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: towards a therapeutic dead end? *Med Sci (Paris)*, 2010, 26(11): 960–968. [DOI]
- [9] Fuqua C, Greenberg EP. Listening in on bacteria: acyl-homoserine lactone signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3(9): 685–695. [DOI]
- [10] Deng YY, Wu JE, Tao F, Zhang LH. Listening to a new language: DSF-based quorum sensing in gram-negative bacteria. *Chem Rev*, 2011, 111(1): 160–173. [DOI]
- [11] Walsh C. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature*, 2000, 406(6797): 775–781. [DOI]
- [12] Zhou JN, Zhang HB, Lv MF, Chen YF, Liao LS, Cheng YY, Liu SY, Chen SH, He F, Cui ZN, Jiang ZD, Chang CQ, Zhang LH. SlyA regulates phytotoxin production and virulence in *Dickeya zeae* EC1. *Mol Plant Pathol*, 2016, doi: 10.1111/mp.12376. [DOI]
- [13] Ambler RP, Coulson AFW, Frère JM, Ghuysen JM, Joris B, Forsman M, Levesque RC, Tiraby G, Waley SG. A standard numbering scheme for the class A  $\beta$ -lactamases. *Biochem J*, 1991, 276(1): 269–270. [DOI]
- [14] Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, 39(6): 1211–1233. [DOI]
- [15] Medeiros A A.  $\beta$ -lactamases. *Br Med Bull*, 1984, 40(1): 18–27. [DOI]
- [16] Philippon A, Labia R, Jacoby G. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 1989, 33(8): 1131–1136. [DOI]
- [17] Ramirez MS, Tolmasky ME. Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist Updat*, 2010, 13(6): 151–171. [DOI]
- [18] Levy SB. Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 1992, 36(4): 695–703. [DOI]
- [19] Paulsen IT, Brown MH, Skurray RA. Proton-dependent multidrug efflux systems. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1996, 60(4): 575–608. [DOI]
- [20] Tipper DJ, Strominger JL. Mechanism of action of penicillins: a proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1965, 54(4): 1133–1141. [DOI]
- [21] Song MD, Wachi M, Doi M, Ishino F, Matsushashi M. Evolution of an inducible penicillin-target protein in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by gene fusion. *FEBS Lett*, 1987, 221(1): 167–171. [DOI]
- [22] Ubukata K, Nonoguchi R, Matsushashi M, Konno M. Expression and inducibility in *Staphylococcus aureus* of the *mecA* gene, which encodes a methicillin-resistant *S. aureus*-specific penicillin-binding protein. *J Bacteriol*, 1989, 171(5): 2882–2885. [DOI]
- [23] Peacock SJ, Paterson GK. Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annu Rev Biochem*, 2015, 84(1): 577–601. [DOI]
- [24] Lim D, Strynadka NCJ. Structural basis for the  $\beta$  lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Struct Biol*, 2002, 9(11): 870–876. [DOI]
- [25] Mah TFC, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol*, 2001, 9(1): 34–39. [DOI]
- [26] Poole K. Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect*, 2004, 10(1): 12–26. [DOI]
- [27] de la Cruz F, Davies J. Horizontal gene transfer and the origin of species: lessons from bacteria. *Trends Microbiol*, 2000, 8(3): 128–133. [DOI]
- [28] Mah TF, Pitts B, Pellock B, Walker GC, Stewart P S, O'Toole GA. A genetic basis for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm antibiotic resistance. *Nature*, 2003, 426(6964): 306–310. [DOI]
- [29] Waters CM, Bassler BL. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2005, 21(1): 319–346. [DOI]
- [30] Schuster M, Sexton DJ, Diggie SP, Greenberg EP. Acyl-homoserine lactone quorum sensing: from evolution to application. *Annu Rev Microbiol*, 2013, 67(1): 43–63. [DOI]
- [31] Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in Bacteria. *Annu Rev Microbiol*, 2001, 55(1): 165–199. [DOI]
- [32] Eberhard A, Burlingame AL, Eberhard C, Kenyon GL, Nealsen KH, Oppenheimer NJ. Structural identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri* luciferase. *Biochemistry*, 1981, 20(9): 2444–2449. [DOI]
- [33] Zhang LH, Murphy PJ, Kerr A, Tate ME. *Agrobacterium* conjugation and gene regulation by *N*-acyl-L-homoserine lactones. *Nature*, 1993, 362(6419): 446–448. [DOI]
- [34] Pearson JP, Gray KM, Passador L, Tucker KD, Eberhard A, Iglewski BH, Greenberg EP. Structure of the autoinducer required for expression of *Pseudomonas*

- aeruginosa* virulence genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91(1): 197–201. [DOI]
- [35] Ji GY, Beavis RC, Novick RP. Cell density control of staphylococcal virulence mediated by an octapeptide pheromone. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(26): 12055–12059. [DOI]
- [36] Flavier AB, Clough SJ, Schell MA, Denny TP. Identification of 3-hydroxypalmitic acid methyl ester as a novel autoregulator controlling virulence in *Ralstonia solanacearum*. *Mol Microbiol*, 1997, 26(2): 251–259. [DOI]
- [37] Chen X, Schauder S, Potier N, Van Dorsselaer A, Pelzer I, Bassler BL, Hughson F M. Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron. *Nature*, 2002, 415(6871): 545–549. [DOI]
- [38] Wang LH, He YW, Gao YF, Wu JE, Dong YH, He CZ, Wang SX, Weng LX, Xu JL, Tay L, Fang RX, Zhang LH. A bacterial cell-cell communication signal with cross-kingdom structural analogues. *Mol Microbiol*, 2004, 51(3): 903–912. [DOI]
- [39] Whitehead NA, Barnard AML, Slater H, Simpson NJL, Salmond GPC. Quorum-sensing in gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol Rev*, 2001, 25(4): 365–404. [DOI]
- [40] Withers H, Swift S, Williams P. Quorum sensing as an integral component of gene regulatory networks in Gram-negative bacteria. *Curr Opin Microbiol*, 2001, 4(2): 186–193. [DOI]
- [41] Zhang LH, Dong YH. Quorum sensing and signal interference: diverse implications. *Mol Microbiol*, 2004, 53(6): 1563–1571. [DOI]
- [42] Oh KB, Miyazawa H, Naito T, Matsuoka H. Purification and characterization of an autoregulatory substance capable of regulating the morphological transition in *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(8): 4664–4668. [DOI]
- [43] Pirhonen M, Flego D, Heikinheimo R, Palva ET. A small diffusible signal molecule is responsible for the global control of virulence and exoenzyme production in the plant pathogen *Erwinia carotovora*. *EMBO J*, 1993, 12(6): 2467–2476. [DOI]
- [44] Passador L, Cook JM, Gambello MJ, Rust L, Iglewski BH. Expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes requires cell-to-cell communication. *Science*, 1993, 260(5111): 1127–1130. [DOI]
- [45] Ulrich RL. Quorum quenching: enzymatic disruption of *N*-acylhomoserine lactone-mediated bacterial communication in *Burkholderia thailandensis*. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(10): 6173–6180. [DOI]
- [46] Valade E, Thibault FM, Gauthier YP, Palencia M, Poppoff MY, Vidal DR. The PmlI-PmlR quorum-sensing system in *Burkholderia pseudomallei* plays a key role in virulence and modulates production of the MprA protease. *J Bacteriol*, 2004, 186(8): 2288–2294. [DOI]
- [47] Dunlap PV, Kuo A. Cell density-dependent modulation of the *Vibrio fischeri* luminescence system in the absence of autoinducer and LuxR protein. *J Bacteriol*, 1992, 174(8): 2440–2448. [DOI]
- [48] Meighen EA. Molecular biology of bacterial bioluminescence. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1991, 55(1): 123–142. [DOI]
- [49] Urbanczyk H, Ast JC, Higgins MJ, Carson J, Dunlap PV. Reclassification of *Vibrio fischeri*, *Vibrio logei*, *Vibrio salmonicida* and *Vibrio wodanis* as *Aliivibrio fischeri* gen. nov., comb. nov., *Aliivibrio logei* comb. nov., *Aliivibrio salmonicida* comb. nov. and *Aliivibrio wodanis* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2007, 57(12): 2823–2829. [DOI]
- [50] Barber CE, Tang JL, Feng JX, Pan MQ, Wilson TJG, Slater H, Dow JM, Williams P, Daniels MJ. A novel regulatory system required for pathogenicity of *Xanthomonas campestris* is mediated by a small diffusible signal molecule. *Mol Microbiol*, 1997, 24(3): 555–566. [DOI]
- [51] He YW, Xu M, Lin K, Ng YJA, Wen CM, Wang LH, Liu ZD, Zhang HB, Dong YH, Dow JM, Zhang LH. Genome scale analysis of diffusible signal factor regulon in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*: identification of novel cell-cell communication-dependent genes and functions. *Mol Microbiol*, 2006, 59(2): 610–622. [DOI]
- [52] He YW, Wang C, Zhou L, Song HW, Dow JM, Zhang LH. Dual signaling functions of the hybrid sensor kinase RpfC of *Xanthomonas campestris* involve either phosphorelay or receiver domain-protein interaction. *J Biol Chem*, 2006, 281(44): 33414–33421. [DOI]
- [53] He YW, Ng AYJ, Xu M, Lin K, Wang LH, Dong YH, Zhang LH. *Xanthomonas campestris* cell-cell communication involves a putative nucleotide receptor protein Clp and a hierarchical signalling network. *Mol Microbiol*, 2007, 64(2): 281–292. [DOI]
- [54] Ryan RP, An SQ, Allan JH, McCarthy Y, Dow JM. The DSF family of cell-cell signals: an expanding class of bacterial virulence regulators. *PLoS Pathog*, 2015,

- 11(7): e1004986. [DOI]
- [55] He YW, Zhang LH. Quorum sensing and virulence regulation in *Xanthomonas campestris*. *FEMS Microbiol Rev*, 2008, 32(5): 842–857. [DOI]
- [56] Ryan RP, Dow JM. Communication with a growing family: diffusible signal factor (DSF) signaling in bacteria. *Trends Microbiol*, 2011, 19(3): 145–152. [DOI]
- [57] Boon C, Deng YY, Wang LH, He YW, Xu JL, Fan Y, Pan SQ, Zhang LH. A novel DSF-like signal from *Burkholderia cenocepacia* interferes with *Candida albicans* morphological transition. *ISME J*, 2008, 2(1): 27–36. [DOI]
- [58] He YW, Wu JE, Cha JS, Zhang LH. Rice bacterial blight pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* produces multiple DSF-family signals in regulation of virulence factor production. *BMC Microbiol*, 2010, 10(1): 187. [DOI]
- [59] Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, Costerton JW, Greenberg EP. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science*, 1998, 280(5361): 295–298. [DOI]
- [60] de Kievit TR, Iglewski BH. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infect Immun*, 2000, 68(9): 4839–4849. [DOI]
- [61] Hentzer M, Riedel K, Rasmussen TB, Heydorn A, Andersen JB, Parsek MR, Rice SA, Eberl L, Molin S, Høiby N, Kjelleberg S, Givskov M. Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound. *Microbiology*, 2002, 148(1): 87–102. [DOI]
- [62] Wilder CN, Allada G, Schuster M. Instantaneous within-patient diversity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing populations from cystic fibrosis lung infections. *Infect Immun*, 2009, 77(12): 5631–5639. [DOI]
- [63] Venturi V. Regulation of quorum sensing in *Pseudomonas*. *FEMS Microbiol Rev*, 2006, 30(2): 274–291. [DOI]
- [64] Williams P, Cámara M. Quorum sensing and environmental adaptation in *Pseudomonas aeruginosa*: a tale of regulatory networks and multifunctional signal molecules. *Curr Opin Microbiol*, 2009, 12(2): 182–191. [DOI]
- [65] Lee J, Zhang LH. The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. *Protein & Cell*, 2015, 6(1): 26–41. [DOI]
- [66] Dandekar AA, Greenberg EP. Microbiology: Plan B for quorum sensing. *Nat Chem Biol*, 2013, 9(5): 292–293. [DOI]
- [67] Lee J, Wu JE, Deng YY, Wang J, Wang C, Wang JH, Chang CQ, Dong YH, Williams P, Zhang LH. A cell-cell communication signal integrates quorum sensing and stress response. *Nat Chem Biol*, 2013, 9(5): 339–343. [DOI]
- [68] Tao F, Swarup S, Zhang LH. Quorum sensing modulation of a putative glycosyltransferase gene cluster essential for *Xanthomonas campestris* biofilm formation. *Environ Microbiol*, 2010, 12(12): 3159–3170. [DOI]
- [69] Dow JM, Crossman L, Findlay K, He YQ, Feng JX, Tang JL. Biofilm dispersal in *Xanthomonas campestris* is controlled by cell-cell signaling and is required for full virulence to plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(19): 10995–11000. [DOI]
- [70] Romling U, Galperin MY, Gomelsky M. Cyclic di-GMP: the First 25 years of a universal bacterial second messenger. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2013, 77(1): 1–52. [DOI]
- [71] Whiteley CG, Lee DJ. Bacterial diguanylate cyclases: Structure, function and mechanism in exopolysaccharide biofilm development. *Biotechnol Adv*, 2015, 33(1): 124–141. [DOI]
- [72] Hengge R. Novel tricks played by the second messenger c-di-GMP in bacterial biofilm formation. *EMBO J*, 2013, 32(3): 322–323. [DOI]
- [73] Steiner S, Lori C, Boehm A, Jenal U. Allosteric activation of exopolysaccharide synthesis through cyclic di-GMP-stimulated protein-protein interaction. *EMBO J*, 2013, 32(3): 354–368. [DOI]
- [74] Newell PD, Yoshioka S, Hvorecny KL, Monds RD, O'Toole GA. Systematic analysis of diguanylate cyclases that promote biofilm formation by *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1. *J Bacteriol*, 2011, 193(18): 4685–4698. [DOI]
- [75] Monds RD, Newell PD, Gross RH, O'Toole GA. Phosphate-dependent modulation of c-di-GMP levels regulates *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1 biofilm formation by controlling secretion of the adhesin LapA. *Mol Microbiol*, 2007, 63(3): 656–679. [DOI]
- [76] Newell PD, Monds RD, O'Toole GA. 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. [DOI]
- [77] Newell PD, Boyd CD, Sondermann H, O'Toole GA, Rahme LG. A c-di-GMP effector system controls cell



- adhesion by inside-out signaling and surface protein cleavage. *PLoS Biol*, 2011, 9(2): e1000587. [DOI]
- [78] Waters CM, Lu WY, Rabinowitz JD, Bassler BL. Quorum sensing controls biofilm formation in *Vibrio cholerae* through modulation of cyclic di-GMP levels and repression of *vpsT*. *J Bacteriol*, 2008, 190(7): 2527–2536. [DOI]
- [79] Hammer BK, Bassler BL. Distinct sensory pathways in *Vibrio cholerae* El Tor and classical biotypes modulate cyclic dimeric GMP levels to control biofilm formation. *J Bacteriol*, 2009, 191(1): 169–177. [DOI]
- [80] Yamaguchi A, Nakashima R, Sakurai K. Structural basis of RND-type multidrug exporters. *Front Microbiol*, 2015, 6: 327. [DOI]
- [81] Sawada I, Maseda H, Nakae T, Uchiyama H, Nomura N. A quorum-sensing autoinducer enhances the *mexAB-oprM* efflux-pump expression without the MexR-mediated regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Immunol*, 2004, 48(5): 435–439. [DOI]
- [82] Maseda H, Sawada I, Saito K, Uchiyama H, Nakae T, Nomura N. Enhancement of the *mexAB-oprM* efflux pump expression by a quorum-sensing autoinducer and its cancellation by a regulator, MexT, of the *mexEF-oprN* efflux pump operon in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(4): 1320–1328. [DOI]
- [83] Chan YY, Chua KL. The *Burkholderia pseudomallei* BpeAB-OprB efflux pump: expression and impact on quorum sensing and virulence. *J Bacteriol*, 2005, 187(14): 4707–4719. [DOI]
- [84] Saurav K, Bar-Shalom R, Haber M, Burgsdorf I, Oliviero G, Costantino V, Morgenstern D, Steindler L. In search of alternative antibiotic drugs: quorum-quenching activity in sponges and their bacterial isolates. *Front Microbiol*, 2016, 7: 416. [DOI]
- [85] Dong YH, Wang LH, Xu JL, Zhang HB, Zhang XF, Zhang LH. Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an *N*-acyl homoserine lactonase. *Nature*, 2001, 411(6839): 813–817. [DOI]
- [86] Dong YH, Xu JL, Li XZ, Zhang LH. AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(7): 3526–3531. [DOI]
- [87] Dong YH, Wang LY, Zhang LH. Quorum-quenching microbial infections: mechanisms and implications. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2007, 362(1483): 1201–1211. [DOI]
- [88] Grandclément C, Tannières M, Moréra S, Dessaux Y, Faure D. Quorum quenching: role in nature and applied developments. *FEMS Microbiol Rev*, 2016, 40(1): 86–116. [DOI]
- [89] Truchado P, Giménez-Bastida JA, Larrosa M, Castro-Ibáñez I, Espín JC, Tomás-Barberán FA, García-Conesa MT, Allende A. Inhibition of quorum sensing (QS) in *Yersinia enterocolitica* by an orange extract rich in glycosylated flavanones. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(36): 8885–8894. [DOI]
- [90] Givskov M, de Nys R, Manefield M, Gram L, Maximilien R, Eberl L, Molin S, Steinberg PD, Kjelleberg S. Eukaryotic interference with homoserine lactone-mediated prokaryotic signalling. *J Bacteriol*, 1996, 178(22): 6618–6622. [DOI]
- [91] Manefield M, Rasmussen TB, Henzter M, Andersen JB, Steinberg P, Kjelleberg S, Givskov M. Halogenated furanones inhibit quorum sensing through accelerated LuxR turnover. *Microbiology*, 2002, 148(4): 1119–1127. [DOI]
- [92] Koch B, Liljefors T, Persson T, Nielsen J, Kjelleberg S, Givskov M. The LuxR receptor: the sites of interaction with quorum-sensing signals and inhibitors. *Microbiology*, 2005, 151(11): 3589–3602. [DOI]
- [93] Stevens AM, Queneau Y, Soullère L, von Bodman S, Doutheau A. Mechanisms and synthetic modulators of AHL-dependent gene regulation. *Chem Rev*, 2011, 111(1): 4–27. [DOI]
- [94] Smith KM, Bu YG, Suga H. Library screening for synthetic agonists and antagonists of a *Pseudomonas aeruginosa* autoinducer. *Chem Biol*, 2003, 10(6): 563–571. [DOI]
- [95] Muh U, Hare BJ, Duerkop BA, Schuster M, Hanzelka BL, Heim R, Olson ER, Greenberg EP. A structurally unrelated mimic of a *Pseudomonas aeruginosa* acyl-homoserine lactone quorum-sensing signal. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(45): 16948–16952. [DOI]
- [96] Kim W, Surette MG. Coordinated regulation of two independent cell-cell signaling systems and swarmer differentiation in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *J Bacteriol*, 2006, 188(2): 431–440. [DOI]
- [97] Schuster M, Greenberg EP. A network of networks: quorum-sensing gene regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Med Microbiol*, 2006, 296(2–3): 73–81. [DOI]

- [98] Cabrol S, Olliver A, Pier GB, Andremont A, Ruimy R. Transcription of quorum-sensing system genes in clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol*, 2003, 185(24): 7222–7230. [DOI]
- [99] D'Argenio DA, Wu MH, Hoffman LR, Kulasekara HD, Déziel E, Smith EE, Nguyen H, Ernst RK, Larson TJ, Spencer DH, Brittnacher M, Hayden HS, Selgrade S, Klausen M, Goodlett DR, Burns JL, Ramsey BW, Miller SI. Growth phenotypes of *Pseudomonas aeruginosa lasR* mutants adapted to the airways of cystic fibrosis patients. *Mol Microbiol*, 2007, 64(2): 512–533. [DOI]
- [100] Hoffman LR, Kulasekara HD, Emerson J, Houston LS, Burns JL, Ramsey BW, Miller SI. *Pseudomonas aeruginosa lasR* mutants are associated with cystic fibrosis lung disease progression. *J Cyst Fibros*, 2009, 8(1): 66–70. [DOI]
- [101] Tingpej P, Smith L, Rose B, Zhu H, Conibear T, Al Nassafi K, Manos J, Elkins M, Bye P, Willcox M, Bell S, Wainwright C, Harbour C. Phenotypic characterization of clonal and nonclonal *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from lungs of adults with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(6): 1697–1704. [DOI]
- [102] Zhu J, Beaber JW, Moré MI, Fuqua C, Eberhard A, Winans SC. Analogs of the autoinducer 3-oxooctanoyl-homoserine lactone strongly inhibit activity of the TraR protein of *Agrobacterium tumefaciens*. *J Bacteriol*, 1998, 180(20): 5398–5405. [DOI]
- [103] Rumbaugh KP, Griswold JA, Hamood AN. The role of quorum sensing in the in vivo virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbes Infect*, 2000, 2(14): 1721–1731. [DOI]
- [104] Foster KR, Parkinson K, Thompson CRL. What can microbial genetics teach sociobiology? *Trends Genet*, 2007, 23(2): 74–80. [DOI]
- [105] West SA, Griffin AS, Gardner A, Diggle SP. Social evolution theory for microorganisms. *Nat Rev Microbiol*, 2006, 4(8): 597–607. [DOI]
- [106] Dandekar AA, Chugani S, Greenberg EP. Bacterial quorum sensing and metabolic incentives to cooperate. *Science*, 2012, 338(6104): 264–266. [DOI]
- [107] Sandoz KM, Mitzimberg SM, Schuster M. Social cheating in *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(40): 15876–15881. [DOI]
- [108] Mellbye B, Schuster M. The sociomicrobiology of anti-virulence drug resistance: a proof of concept. *MBio*, 2011, 2(5): e00131-11. [DOI]
- [109] Henke JM, Bassler BL. Three parallel quorum-sensing systems regulate gene expression in *Vibrio harveyi*. *J Bacteriol*, 2004, 186(20): 6902–6914. [DOI]
- [110] Even-Tov E, Omer Bendori S, Valastyan J, Ke XB, Pollak S, Bareia T, Ben-Zion I, Bassler BL, Eldar A. Social evolution selects for redundancy in bacterial quorum sensing. *PLoS Biol*, 2016, 14(2): e1002386. [DOI]
- [111] Smith J, Van Dyken JD, Velicer GJ. Nonadaptive processes can create the appearance of facultative cheating in microbes. *Evolution*, 2014, 68(3): 816–826. [DOI]

(责任编辑: 刘钢)