

细菌 Cpx 信号转导系统的功能及调控机制研究进展

吴丽雯, 曾洁, 薛云新, 赵西林

厦门大学公共卫生学院, 分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室, 厦门 361102

摘要: Cpx (conjugative pilus expression) 双组分信号转导系统是革兰阴性细菌中一种复杂的包膜应激系统, 能感应从不同信号传输点传入的多种包膜信号。位于胞质中的反应调节子 CpxR 磷酸化后能够调节众多编码内外膜上相关蛋白基因的表达式。Cpx 系统的激活还能调节细菌对抗生素和酸等压力的抵抗性。本文介绍了 Cpx 系统的组成, 重点对 Cpx 系统的信号感应及调控机制进行综述, 以期对 Cpx 系统的调控网络及其调节细菌重要生理过程的研究提供参考依据。

关键词: Cpx 双组分系统; 包膜应激反应; 抗生素耐药; 酸应激

Progress on the function and regulatory mechanisms of bacterial Cpx signal transduction system

Liwen Wu, Jie Zeng, Yunxin Xue, Xilin Zhao

State Key Laboratory of Molecular Vaccinology and Molecular Diagnostics, School of Public Health, Xiamen University, Xiamen 361102, China

Abstract: The Cpx (conjugative pilus expression) two-component signal transduction system is a complex envelope stress response system in Gram-negative bacteria, which can sense a variety of extracellular stimuli that enter the signaling pathway at different points. The phosphorylation of the CpxR, the cytoplasmic cognate response regulator of the Cpx system, can lead to changes in the expression of genes encoding proteins involved in inner and outer membrane functions. Activation of the Cpx system contributes to bacterial resistance/tolerance to certain antibiotics and acidic stress. In this review, we summarize the composition, and the mechanisms of signal detection, and the transcriptional regulation of the Cpx system, with a goal to provide guidance for the study of the regulatory network of the Cpx system and its important regulatory roles in bacterial physiology.

Keywords: Cpx two-component system; envelope stress responses; antibiotic resistance; acid stress

收稿日期: 2021-06-10; 修回日期: 2021-07-14

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(编号: 81971905)和福建省海洋经济发展补助资金项目(编号: FJHJF-L-2019-4)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81971905), and Marine Economy Development Subsidy Foundation of Fujian Province of China (No. FJHJF-L-2019-4)]

作者简介: 吴丽雯, 在读硕士研究生, 专业方向: 公共卫生。E-mail: wlw6621@126.com

通讯作者: 赵西林, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 病原微生物与抗感染治疗。E-mail: zhaox5@xmu.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.21-208

网络出版时间: 2021/7/22 15:48:29

URI: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20210722.1138.001.html>

细菌在感染或定植过程中会遇到各种不利环境,例如肠道病原菌在肠道内需要承受各种压力,包括 pH 值、营养成分的变化以及其他细菌产物和有毒化合物的存在等。革兰阴性细菌的包膜是一个三层的隔室,由内膜(internal membrane, IM)、外膜(outer membrane, OM)和周质空间内的肽聚糖层(peptidoglycan, PG)组成^[1]。它是细菌细胞与环境之间的边界,维持着细胞的形状和完整性,也是营养物质和有害产物的运输场所。许多压力环境和抗菌剂会使细菌包膜发生损伤或缺陷,而细菌则通过包膜应激反应(envelope stress responses, ESRs)来感知、响应这些信号从而适应细胞内外环境的变化,维持包膜的功能和完整性。在革兰阴性细菌中已定义了五种 ESRs,包括 Cpx (conjugative pilus expression)、 σ^E (sigma factor)、Bae (bacterial adaptive response)、Rcs (regulator of capsule synthesis)和 Psp (phage shock protein)系统^[2]。当它们受到多种包膜压力诱导后,可以通过调控下游基因的转录来减轻包膜损害。其中 Cpx 是一个典型的双组分信号转导系统,能够响应各种可以引起细菌内膜及周质蛋白质错误折叠的包膜压力^[3]。

20 世纪 80 年代初, *cpxA* 基因首次被 McEwen 等^[4]发现。数年后,序列分析将 CpxA 鉴定为双组分系统中的传感蛋白^[5],同时 *cpxA* 上游的基因 *cpxR* 也被发现^[6]。在此之后对 Cpx 系统的研究逐渐深入,发现 Cpx 系统的激活可减轻包膜蛋白的错误折叠^[7],确立了其作为新型包膜应激反应的观点。90 年代至今的研究陆续表明, Cpx 系统能被数十种刺激诱导,包括错误折叠蛋白^[8]、碱性 pH^[9]、金属^[10,11]等。此外,一些作用于细胞膜的抗生素和抗菌肽在损害包膜后也可能会激活 Cpx 系统^[12,13]。由于这些刺激大多数都会导致蛋白质错误折叠,因此推测出一个信号转导模型,即错误折叠的包膜蛋白激活了 Cpx 系统,使得 CpxR 磷酸化后调控一些周质伴侣和蛋白酶的表达式上调,进而使这些错误折叠的蛋白质得到重新折叠或降解,最终减轻包膜的压力。近年来许多研究将注意力集中在 Cpx 反应调控内膜相关基因的表达上^[14],这些研究也为 Cpx 的一些调节表型提供了可能的解释,例如抗生素耐药性等。为了加深人们对这一重要调控系统的理解,本文将对 Cpx 系统的信号感应和转录调控机制进行综述。

1 Cpx 系统的组成

Cpx 系统是由位于细胞质中的反应调节器(response regulator, RR) CpxR 和细胞内膜上的传感器组氨酸激酶(histidine kinase, HK) CpxA 组成的双组分系统。位于细胞周质中的 CpxP 是一种辅助调节蛋白,既可作为该系统的负反馈调节剂,又可作为应激反应的效应子,因此也属于 Cpx 系统的一员^[15](图 1, A 和 B)。

感应激酶 CpxA 是 Cpx 双组分系统中的关键成分。CpxA 通常由两个跨膜结构域(two transmembrane domains, TMDs)、一个周质感受域(periplasmic sensory domain, PSD)和一个胞质传输域(transmitter domain)组成,同时具有激酶活性和磷酸酶活性^[16,17]。CpxR 是位于胞质中的反应调节子,包含一个天冬氨酸(D51)为磷酸化位点的 N 末端接收域(N-terminal receiver domain, REC)以及一个 C 末端效应域(C-terminal effector domain, trans_reg_C),该区域作为靶基因的转录调节子介导反应输出^[18]。在其磷酸化状态下,以 5'-GTAAA(n5)GTAAA-3'作为其共有识别序列与 DNA 结合^[19]。CpxR 的失活可通过 CpxA 的磷酸酶活性或 Ser/Thr 磷酸酶 PrpA 实现^[16,20]。Cpx 系统的第三种成分是周质辅助蛋白 CpxP 蛋白^[21], CpxP 是 Cpx 系统的负反馈调节剂^[22]。

2 Cpx 系统的信号感应

与许多双组分系统一样, Cpx 特定包膜应激信号的分子性质仍然是一个悬而未决的问题。当前 Cpx 信号转导中最有趣的话题之一是多重信号可以影响该通路,并在信号级联的不同检测点被感知。越来越多的研究表明,在 Cpx 系统中,至少有四种蛋白参与信号感知:外膜脂蛋白 NlpE、周质蛋白 CpxP、内膜 HK CpxA 和细胞质 RR CpxR(图 1C)。

2.1 Cpx 系统的信号激活机制

1995 年 Silhavy 等^[8]首次发现,脂蛋白 NlpE 的过量表达是影响大肠杆菌(*Escherichia coli*)野生型中完整 Cpx 信号级联的激活信号。至今已经识别出许多激活 Cpx 响应的信号,包括外环境变化如碱性

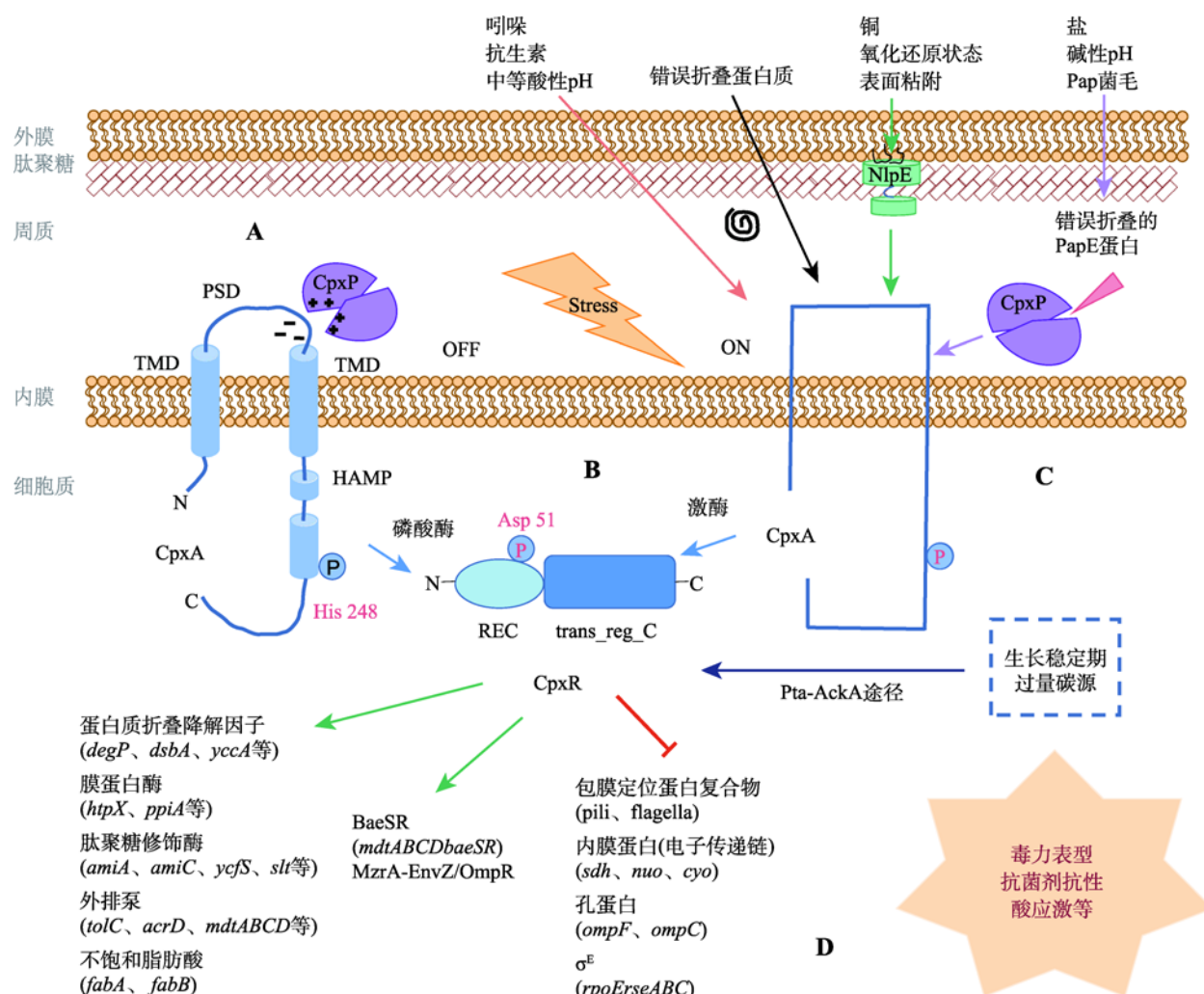


图1 Cpx 系统信号转导过程及其下游所调控的生命活动

Fig. 1 The signal transduction of the Cpx system and its regulated downstream life events

A: CpxA 及 CpxP 的结构及相互作用; B: CpxR 的结构; C: Cpx 系统感应压力信号; D: CpxR 调控网络

pH^[9]、中等酸性 pH^[23]、高渗透压^[24]、疏水表面的附着^[25]、外源毒性物质如哺乳动物肽聚糖识别蛋白^[13]、乙醇^[26]、正丁醇^[27]、吡啶^[28,29]、铜^[11]、氨基糖苷和β-内酰胺类抗生素^[12,30]、内源信号如错误折叠的菌毛蛋白过表达^[31,32]、膜磷脂比率改变^[33]、外排泵组件的缺失^[34]、生长及过量碳源^[35]、低 cAMP 水平^[36]等。尽管这些刺激信号的数量庞大且性质广泛，很难对其分子性质下结论，但人们一直认为错误折叠的蛋白质是包膜应激信号的重要部分，因为已证实大肠杆菌中一些受 Cpx 调控最强的基因编码了周质伴侣和蛋白水解因子^[37]，并且许多得到深入研究的激活条件都涉及在周质中直接或间接产生错误折叠或聚集的蛋白质。最近一些研究结果提示，Cpx 信

号通路可能会感应内膜上出现错误折叠蛋白时产生的内源性有毒分子，可能与先前确定的某些诱导 Cpx 途径的刺激信号有关^[34,38]，但该假说目前还有待证实。

2.2 Cpx 系统的信号传递机制

尽管上述刺激大多数会导致蛋白质错误折叠，但 Cpx 系统对特定信号的感知具有不同的机制。目前已经确定的 CpxA 辅助调节因子 CpxP 和 NlpE 都通过与 CpxA 的感知域(直接或间接)之间的交互来起作用，因此 CpxA 显然是包膜应激信号的枢纽。但是近年来，细胞质信号能够独立于 CpxA 来改变 Cpx 信号转导的证据也相继出现。

2.2.1 NlpE 激活 Cpx 系统

当大肠杆菌细胞粘附到疏水表面时,外膜脂蛋白 NlpE 能够作为辅助蛋白向 CpxA 传递信号,激活 Cpx 系统^[25]。X 射线晶体学显示 NlpE 蛋白是一个双桶状结构,N 端锚定在 OM 中,并且膜结合对 NlpE 的信号传递功能至关重要。基于此有人提出 OM 脂蛋白 NlpE 与 IM 上的 CpxA 相互作用的两种可能性^[39]:一种是,在表面粘附过程中,N 端结构域的构象变化可以使 C 末端结构域穿过周质与 IM 接触;另一种是,当周质蛋白折叠机制超负荷时,NlpE 无法正确折叠,从而阻碍了负责胞内脂蛋白转运的 Lol (localization of lipoprotein) 运输系统的识别,导致 NlpE 到达 IM 处,激活 Cpx 反应。最新研究数据显示^[40],当 NlpE 在 IM 上错误定位时,NlpE 的 C 末端结构域对于 Cpx 的激活是必不可少的,但只有 NlpE 的 N 末端域能与 CpxA 交互作用。此外,OM 锚定的 N 末端结构域似乎不可能跨越周质与 CpxA 形成复合物。现阶段不能排除 NlpE 和 CpxA 复合物中存在其他成分,需要进一步研究阐明 NlpE 的 N 末端域如何与 CpxA 交互作用。除了表面粘附之外,NlpE 也许可以检测到多种包膜成分,包括脂质、脂多糖或肽聚糖等^[39]。长链脂肪酸代谢影响大肠杆菌中二硫键的形成,并且此过程中产生的包膜信号(氧化还原状态)能够激活 Cpx 系统^[41],这可能是通过影响能够感知氧化还原状态的 NlpE 中二硫键的形成来诱导的^[40]。此外,Cpx 系统能够通过 NlpE 感应铜离子水平^[11],并且 NlpE N 末端的 CXXC 基序可能能够螯合铜离子^[39]。

2.2.2 CpxP 抑制 Cpx 系统

CpxP 还有一个功能就是参与信号传递。在包膜压力条件下,CpxP 被大量诱导,并且其作为 CpxA 负调节剂的活性消失^[42]。目前的研究表明,诸如碱性 pH 和高盐浓度等条件会导致 Cpx 系统活化,且有部分依赖于 CpxP^[24,43]。碱性 pH 可能引起 CpxP 构象发生轻微改变,使其无法精确地契合在 CpxA 的感受域内。高盐浓度则很可能是通过干扰 CpxP 正电内表面和 CpxA 负电感受域之间的极性作用来实现的。

德国柏林洪堡大学 Sabine Hunke 课题组提出,

CpxP 凹面正电荷表面可能与 CpxA 负电荷感受域相互作用,而错误折叠的 Pap-菌毛亚基暴露的疏水区可能通过与 CpxP 凸面的疏水区相互作用而使其远离 CpxA,CpxP 离开 CpxA 后与错误折叠蛋白结合形成复合体,成为 DegP 蛋白酶的底物^[24]。但在对副溶血性弧菌(*Haemophilus parahaemolyticus*)的研究中未能鉴定出 CpxA 感应域与 CpxP 蛋白之间的相互作用^[44],因此,两者相互作用机制还需要进一步研究。CpxP 可能与周质伴侣蛋白 Spy^[45]具有类似分子伴侣活性,但是还不清楚哪些配体可能与 CpxP 二聚体的相反电荷面结合。也可能存在另外的配体可以结合到 CpxA 和 CpxP 表面上形成三元信号复合物,或者 CpxP 能感知其他尚未被识别的信号。此外,CpxP 晶体结构中有锌的存在,也表明 CpxP 可能与金属结合^[43]。因此 CpxP 在金属感应和蛋白质折叠中的作用是未来研究的重要方向。

2.2.3 CpxA 的信号感应机制

组氨酸激酶 CpxA 是一个重要的信号枢纽。NlpE 和 CpxP 都需要 CpxA 的周质感受域来发挥诱导和抑制作用^[16,22]。CpxA 可能能够直接感应到一些错误折叠的包膜蛋白,但其性质尚未识别。大肠杆菌折叠缺陷麦芽糖结合蛋白 MalE219 突变在体外测定中能增加 CpxA 至 CpxR 的磷酸转移^[46],这支持了 CpxA 直接感知错误折叠蛋白的假说。CpxA 周质感受域可能感知到的信号还包括磷脂酰乙醇胺的消耗^[33]、吡啶^[28,29]、乙醇^[26]、正丁醇^[27]等影响细胞膜物理性质的相关因素^[47]。磷脂酰乙醇胺的消耗通过直接影响或改变细胞包膜成分间接激活 CpxA^[48]。但在大多数情况下,CpxA 依赖的信号感应可能涉及其他目前未知的辅助蛋白。最新的研究表明,在肠出血性大肠杆菌(*Enterohemorrhagic Escherichia coli*)中 CpxA 是神经递质 5-羟色胺的受体,5-羟色胺能够诱导 CpxA 去磷酸化,使 Cpx 系统失活^[49]。目前,副溶血性弧菌 CpxA 周质感受域(VpCpxA-peri)的晶体结构已解析^[44],并研究了其 Per-ARNT-SIM(PAS)域与 CpxP 的相互作用。加拿大 Tracy L. Raivio 课题组也解析了大肠杆菌 CpxA 感受域的结构,遗传分析表明 CpxA 感受域的突变几乎都能导致该通路的激活,这说明 CpxA 活性主要通过抑制性信号调控,并且认为重要的抑制信号传递在内膜附近发生^[50]。

但目前除了 CpxP 以外, CpxA 的抑制剂的性质仍然不确定。

2.2.4 CpxR 的信号感应机制

由于 CpxR 位于胞质, 与中央代谢产物相关的变化可以不通过 CpxA 直接影响 CpxR 靶标的表达。cAMP 水平降低^[36]和葡萄糖或丙酮酸过量^[35]分别诱导了 *degP* 和 *cpxP* 的表达。一项对 CpxR 信号整合途径的研究表明^[35], 在稳定期培养基 pH 不被碱化的条件下, 过量碳源可以使 CpxR 不依赖于 CpxA 而激活 *cpxP* 转录, 这是通过 Pta-AckA 途径发生的。但该研究结果不支持这种激活现象是由 Pta-AckA 途径的直接产物(乙酸盐、ATP 和乙酰辅酶 A)诱导的, 并且认为除了中间产物乙酰磷酸外, 该途径中可能存在其他的间接产物参与了 CpxR 的直接激活, 这或许与一些非同源 HK 有关。随后的研究证实了 CpxR 依赖于乙酰磷酸的磷酸化活性对于体外 *cpxP* 转录是必需的, 并且证明 RNA 聚合酶(RNA polymerase, RNAP)的乙酰化可以调节该转录过程^[51]。此外, 生长信号也可能依赖于 CpxA 和 Pta-AckA 两条通路诱导 CpxR 激活^[35]。尽管这些机制尚未完全阐明, 但很明显无需 CpxA 的参与, CpxR 就能够感应与生长和中枢代谢有关的信号。

3 Cpx 系统的转录调控机制

众所周知, 包膜应激信号是通过细菌双组分系统典型的磷酸转移途径传递的。在压力下, 组氨酸激酶 CpxA 磷酸化其自身保守的 His 残基以响应环境中的信号。随后, HK 的磷酸化基团被转移到 RR 反应调节子 CpxR 特定的 Asp 残基上。激活的 RR 通常通过调节基因表达来影响细胞生理的变化。目前认为 CpxR 的磷酸化水平主要取决于 CpxA 的磷酸激酶和磷酸酶的活性比值^[21], 这对于响应外部刺激的特定遗传反应和其持续时间都至关重要(图 1D)。

3.1 Cpx 系统的转录调控网络

3.1.1 Cpx 调控基因的功能分类

最初鉴定出的 Cpx 调控靶基因与包膜蛋白折叠和降解(例如 DegP、DsbA 和 PpiA)相关^[19]。后续研

究逐渐证实 Cpx 包膜应激反应具有更广泛的功能, 可以调控多种细胞功能分子的表达, 例如蛋白质易位基因(*secA*)、毒力基因(*mviM*)、氨基酸生物合成基因(*aroG* 和 *aroK*)、磷脂培养基因(*psd*)、DNA 代谢基因(*ung*)、铁储存和积累基因(*efeU* 和 *ftnB*)等^[52,53]。为了区分其靶基因功能, Price 等^[37]首先分析了大肠杆菌中 Cpx 系统的转录调控特性, 表明受调控最强的为编码包膜蛋白折叠相关蛋白的基因, 中度调控的基因功能涉及生物膜形成。随后更多的研究者在大肠杆菌^[14]、杜克嗜血杆菌(*Haemophilus ducreyi*)^[54]和霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)^[55]中分别使用转录组学等方法对 Cpx 调控子进行了详细研究。目前鉴定出的 Cpx 调节子成员主要分为几个功能类别, 包括包膜蛋白复合物、内膜相关蛋白、肽聚糖相关蛋白和其他细胞调节剂^[14,56]。许多研究已将 Cpx 系统与各种复杂的细胞过程相连, 如生物膜形成^[57]和细菌致病机制^[49,58]。

3.1.2 Cpx 系统与其他包膜应激系统的联系

作为包膜应激反应的一员, Cpx 系统与其他应激调节途径之间也存在联系。目前的研究显示, Cpx 应答与其他至少三个包膜应激反应直接相关。包括抑制编码 σ^E 的 *rpoErseABC* 操纵子的转录^[37,53]; 上调外排泵相关基因 *mdtABCDbaeSR* 和 *acrD* 以及 BaeSR 应激反应系统调节子的表达^[59]; 通过正向调控内膜定位的蛋白 MzrA 来提高其同源信号通路 EnvZ/OmpR 高渗透压响应系统的活性^[60]。Cpx 通路不仅通过调节其他调控通路的信号蛋白来建立连接, 其活性也受到其他应激反应的影响。这些调控途径之间相互联系从而形成一个广泛网络。

3.2 Cpx 系统激活后的压力调控

Cpx 系统在调节整体内膜相关过程中的作用以及与其他细胞调节网络的联系使其能够影响多种复杂的细菌行为。Cpx 反应对病原菌致病能力的影响仍是当前的研究热点, 除了对毒力的调控外, Cpx 系统也能够帮助细菌应对感染过程中会接触到的许多有毒物质或一些不利环境, 提高病原菌的抗胁迫能力。对 Cpx 依赖的压力适应调控机制进行研究, 将帮助人们更好地了解包膜应激系统的调节子功能, 发现更完整的调控网络。

3.2.1 Cpx 系统对抗生素耐药的调控

细菌接触到临床上使用的抗生素后会发生应激反应, 往往可能诱导耐药性的产生。包膜应激系统与抵抗抗生素的能力有关。Cpx 反应对氨基糖苷类药物耐药性的影响早在几十年前就被研究者观察到^[61,62], 随后与 β -内酰胺类药物耐药性的关联也得到证实^[12,63], 但目前的大部分研究并不支持 Cpx 在所有抗生素耐药性中的广泛作用。随着研究的深入, 在多种细菌中都观察到 Cpx 反应与多种抗生素的耐药性相关(表 1)。

Cpx 介导的多种基因调控可能通过增加多药耐药外排泵、维持外膜完整性、降低呼吸作用等方式赋予细菌耐药性。首先, Cpx 反应已被证明可以直接影响外排泵的表达来调节有毒分子进入细胞。大肠杆菌中 Cpx 激活通过增加 *tolC* 及 MDR 外排泵 *mdtABC* 和 *acrD* 的表达, 对多种抗生素产生耐药性^[66,76]。在鼠伤寒沙门氏菌中也证实, CpxR 可以被 Pta-Acka 途径生成的乙酰磷酸激活, 通过调节 AcrAD-TolC 和 AcrAB-TolC 外排泵的表达影响对 β -内酰胺和氨基糖苷类药物的抗性^[70]。霍乱弧菌和肺炎克雷伯菌等病原微生物的抗生素耐药性也与 Cpx 激活调节 MDR 外排泵表达有关^[63,69,74]。这表明, Cpx 反应对 MDR 外排泵的调控以及由此产生的抗生素的耐药性, 在远亲 γ -变形菌属中是保守的。

外膜通透性的改变可能会影响某些药物到达其

靶点的能力。Cpx 位点的突变会改变外膜结构, 并且调控 OmpF 和 OmpC 孔蛋白的产生^[14,77]。孔蛋白的下调可减少渗透, 降低对多种抗生素的敏感性。Cpx 激活后还可以通过增加细胞壁酰胺酶 AmiA 和 AmiC 的表达来恢复外膜完整性, 使细菌产生耐药性^[78]。最近在产气克雷伯菌的研究中发现, CpxA Y144N 突变激活 Cpx 反应, 导致 β -内酰胺酶基因 *ampC* 过表达, 从而引起对 β -内酰胺类药物的抗性。这可能与 Cpx 调节细胞壁修饰酶 Slt 的表达来调节适应性反应有关^[12]。但 Cpx 反应如何改变外膜完整性以增加对有毒化合物的抗性机制尚不清楚。

一种观点认为, 所有杀菌抗生素和其他有毒分子均通过涉及呼吸活动爆发的机制发挥其毒性作用, 这种机制最终导致有害的活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生, 从而杀死细胞^[79,80]。并且认为在抗生素存在的情况下, Cpx 反应是诱导细胞死亡的原因^[81]。随后有多个小组的研究反对了这一模型, 其结果证明了 Cpx 系统的激活不会导致对抗生素的应答而使得细胞死亡, 反而会导致耐药性增加^[14,64]。随后有研究发现敲除大肠杆菌 Cpx 系统后, 在不同抗生素的处理下一些过氧化物酶相关基因的表达量上调, 羟基自由基生成减少, 细菌存活率提高, 提示 Cpx 系统介导的细菌抗生素耐药与 ROS 相关, 但该研究中并未明确耐药与 Cpx 系统活性的关系^[82]。转录组数据发现, 在大肠杆菌中 Cpx 反应的激活导致编码琥珀酸和 NADH 脱氢酶(*sdh*、*nuo*、*ndh*)以及

表 1 不同细菌中 Cpx 系统介导的抗生素耐药性

Table 1 Antibiotic resistance mediated by the Cpx system in different bacterial species

细菌种类	抗生素耐药性	参考文献
大肠杆菌(<i>Escherichia coli</i>)	氨基糖苷类、 β -内酰胺类、杀菌肽聚糖、羟基脲、阳离子抗菌肽、细胞透膜肽(Cell penetrating peptide, CPP)	[13,14,64~67]
肠出血性大肠杆菌 O157:H7 (<i>Enterohaemorrhagic Escherichia coli</i> O157:H7)	磷霉素	[68]
肺炎克雷伯菌(<i>Klebsiella pneumoniae</i>)	β -内酰胺类、氯霉素、利福平、四环素、链霉素、红霉素	[63,69]
鼠伤寒沙门氏菌(<i>Salmonella typhimurium</i>)	氨基糖苷类、 β -内酰胺类	[70,71]
产气克雷伯氏菌(<i>Klebsiella aerogenes</i>)	β -内酰胺类	[12,72~74]
产气肠杆菌(<i>Enterobacter aerogenes</i>)		
铜绿假单胞菌(<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)		
霍乱弧菌(<i>Vibrio cholerae</i>)		
副猪嗜血杆菌(<i>Haemophilus parasuis</i>)	大环内酯类	[75]

编码电子传递链的细胞色素 *bo3* 氧化酶(*cyo*)基因转录水平降低。这些变化可能导致呼吸减少,也可以解释当 Cpx 反应被激活时观察到的一些抗生素耐药性,因为这些基因的突变都赋予了对氨基糖苷和羧基脲的耐药性^[14]。最近的研究表明,在鼠伤寒沙门氏菌中,ROS 的降低只能解释某一些 Cpx 系统的激活型突变体(如 JS*cpxA*₉₂₋₁₀₄)对氨基糖苷类的耐药性,在其他一些激活条件下无法观察到相关基因的转录改变^[70]。因此,在不同的 Cpx 激活条件下,是否存在一个与耐药性有关的共同因子,还有待探究。

Cpx 系统除了影响呼吸缺陷和外排泵表达外,对内膜蛋白水解的调节也可能引起氨基糖苷类耐药。Cpx 系统激活可能通过增加膜蛋白酶以及蛋白质折叠因子基因(*yccA*、*htpX*、*ppiA*、*spy* 等)的表达来降解翻译错误的膜蛋白,减少对细胞质膜的损伤,从而产生氨基糖苷耐药性^[70]。

3.2.2 Cpx 系统对酸应激的调控

一些肠道细菌在消化道定植过程中必须对抗酸性环境。大肠杆菌已经进化出不同的酸胁迫反应系统,包括对极端酸胁迫的耐酸反应(acid resistance, AR1~5)系统和对轻中度酸胁迫的耐酸反应(acid tolerance response, ATR)系统。早在 1998 年就有研究提出, Cpx 系统能够被碱性 pH 诱导^[21],但酸性环境与 Cpx 的关系还不清晰。直到近几年的蛋白质组学研究才提出,极端酸应激可能是 Cpx 系统新的负调控靶标^[56]。该研究发现在 Cpx 激活后,8 种与酸胁迫反应相关的蛋白丰度降低(*CydA*、*CydB*、*CadA*、*GadA*、*GadC*、*HdeA*、*HdeB* 和 *HdeD*)。证明了 Cpx 对 AR2 系统的抑制,导致在极端酸胁迫(pH 2.0)下生存能力下降。与之不同的是,最近发表的研究证明了在指数生长期,中等酸性的 pH 值也是 CpxA 的激活信号,并提出 Cpx 是一种新的 ATR 系统^[23]。pH 值的降低使 CpxA 磷酸化,通过激活 CpxR 提高不饱和脂肪酸 UFAs 合成基因的转录,使大肠杆菌在 pH 4.2 下正常生长。这是因为改变细菌膜脂肪酸组成有助于降低膜质子通透性和改善内部 pH 稳态,提高细菌对酸性环境的适应能力。这与蛋白质组学结果并不矛盾,因为 AR2 系统负责 pH 3.0 以下的保护, Cpx 介导的对 pH 3.0 以上指数期 AR2 的抑制可以保证该系统不会被不适当地诱导,以避免代谢负担。

此外, Cpx 增加细胞壁的稳定性的可能有助于保护大肠杆菌细胞免受酸胁迫^[56,78,83]。CpxA 也被证明可以与非同源反应调控因子 OmpR 进行串扰^[84],而 OmpR 本身也参与了大肠杆菌的酸胁迫反应。根据以上数据提出大肠杆菌 Cpx 系统参与酸应激调控的模型:在指数生长的大肠杆菌中, Cpx 系统被中等酸性 pH 激活,上调 UFAs 生物合成基因 *fabA* 和 *fabB*,以及细胞壁修饰基因 *ycfS*、*ycbB*、*dac*、*slt*、*amiA* 和 *amiC* 的转录,并抑制 AR2 系统基因。

4 结语与展望

目前清楚的是, Cpx 包膜应激系统可以通过 CpxA 依赖与非依赖形式,从多个检测点感应到多种类型的信号。磷酸化后的 CpxR 调控多种功能的靶基因表达,涉及编码包膜蛋白复合物、内膜蛋白、肽聚糖代谢酶的基因和一些转录因子等,同时与其他包膜应激系统相互联系,形成复杂、广泛的调控网络。最重要的是, Cpx 反应调节了许多病原体的毒力、抗生素抗性和酸应激等表型。尽管我们对 Cpx 信号整合过程和调控基因功能的了解越来越多,但仍有许多问题有待解决: CpxA 感应到的信号分子性质是什么? CpxA 与已知或未知的辅助蛋白之间的作用机制是什么? 是否存在其他直接激活 CpxR 的信号通路? Cpx 调控子中还未知的蛋白功能是什么,参与调节了何种表型? 是否存在一类受 Cpx 影响的共同因子,与所有抗生素抗性或者酸应激有关? 目前先进的技术有望帮助我们解决这些问题,进一步加深对 Cpx 反应调节细菌重要生命活动(包括致病、抵抗有毒物质和不利环境等)的理解。这可能帮助促进一些疫苗的开发^[85]以及解决抗生素耐药问题,如作为抗菌治疗的药物靶标;该系统在生物生产中也具有潜在的应用前景,如利用酸耐受的重组大肠杆菌进行有机酸的生产。总而言之,阐明 Cpx 系统信号整合和调控机制具有很大意义。

参考文献(References):

- [1] Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2(5): a000414. [DOI]

- [2] Ruiz N, Silhavy TJ. Sensing external stress: watchdogs of the *Escherichia coli* cell envelope. *Curr Opin Microbiol*, 2005, 8(2): 122–126. [DOI]
- [3] Hunke S, Keller R, Müller VS. Signal integration by the Cpx-envelope stress system. *FEMS Microbiol Lett*, 2012, 326(1): 12–22. [DOI]
- [4] McEwen J, Silverman P. Chromosomal mutations of *Escherichia coli* that alter expression of conjugative plasmid functions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980, 77(1): 513–517. [DOI]
- [5] Nixon BT, Ronson CW, Ausubel FM. Two-component regulatory systems responsive to environmental stimuli share strongly conserved domains with the nitrogen assimilation regulatory genes *ntxB* and *ntxC*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83(20): 7850–7854. [DOI]
- [6] Dong J, Iuchi S, Kwan HS, Lu Z, Lin EC. The deduced amino-acid sequence of the cloned *cpxR* gene suggests the protein is the cognate regulator for the membrane sensor, CpxA, in a two-component signal transduction system of *Escherichia coli*. *Gene*, 1993, 136(1–2): 227–230. [DOI]
- [7] Cosma CL, Danese PN, Carlson JH, Silhavy TJ, Snyder WB. Mutational activation of the Cpx signal transduction pathway of *Escherichia coli* suppresses the toxicity conferred by certain envelope-associated stresses. *Mol Microbiol*, 1995, 18(3): 491–505. [DOI]
- [8] Snyder WB, Davis LJ, Danese PN, Cosma CL, Silhavy TJ. Overproduction of NlpE, a new outer membrane lipoprotein, suppresses the toxicity of periplasmic LacZ by activation of the Cpx signal transduction pathway. *J Bacteriol*, 1995, 177(15): 4216–4223. [DOI]
- [9] Nakayama S, Watanabe H. Involvement of *cpxA*, a sensor of a two-component regulatory system, in the pH-dependent regulation of expression of *Shigella sonnei virF* gene. *J Bacteriol*, 1995, 177(17): 5062–5069. [DOI]
- [10] Lee LJ, Barrett JA, Poole RK. Genome-wide transcriptional response of chemostat-cultured *Escherichia coli* to zinc. *J Bacteriol*, 2005, 187(3): 1124–1134. [DOI]
- [11] Yamamoto K, Ishihama A. Characterization of copper-inducible promoters regulated by CpxA/CpxR in *Escherichia coli*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2006, 70(7): 1688–1695. [DOI]
- [12] Masi M, Pinet E, Pagès JM. Complex response of the CpxAR two-component system to β -Lactams on antibiotic resistance and envelope homeostasis in *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020, 64(6): e00291–e002920. [DOI]
- [13] Kashyap DR, Kuzma M, Kowalczyk DA, Gupta D, Dziarski R. Bactericidal peptidoglycan recognition protein induces oxidative stress in *Escherichia coli* through a block in respiratory chain and increase in central carbon catabolism. *Mol Microbiol*, 2017, 105(5): 755–776. [DOI]
- [14] Raivio TL, Leblanc SKD, Price NL. The *Escherichia coli* Cpx envelope stress response regulates genes of diverse function that impact antibiotic resistance and membrane integrity. *J Bacteriol*, 2013, 195(12): 2755–2767. [DOI]
- [15] Buelow DR, Raivio TL. Three (and more) component regulatory systems-auxiliary regulators of bacterial histidine kinases. *Mol Microbiol*, 2010, 75(3): 547–566. [DOI]
- [16] Raivio TL, Silhavy TJ. Transduction of envelope stress in *Escherichia coli* by the Cpx two-component system. *J Bacteriol*, 1997, 179(24): 7724–7733. [DOI]
- [17] Yamamoto K, Ishihama A. Transcriptional response of *Escherichia coli* to external copper. *Mol Microbiol*, 2005, 56(1): 215–227. [DOI]
- [18] MacRitchie DM, Buelow DR, Price NL, Raivio TL. Two-component signaling and gram negative envelope stress response systems. *Adv Exp Med Biol*, 2008, 631: 80–110. [DOI]
- [19] Pogliano J, Lynch AS, Belin D, Lin EC, Beckwith J. Regulation of *Escherichia coli* cell envelope proteins involved in protein folding and degradation by the Cpx two-component system. *Genes Dev*, 1997, 11(9): 1169–1182. [DOI]
- [20] Missiakas D, Raina S. Signal transduction pathways in response to protein misfolding in the extracytoplasmic compartments of *E. coli*: role of two new phosphoprotein phosphatases PrpA and PrpB. *EMBO J*, 1997, 16(7): 1670–1685. [DOI]
- [21] Danese PN, Silhavy TJ. CpxP, a stress-combative member of the Cpx regulon. *J Bacteriol*, 1998, 180(4): 831–839. [DOI]
- [22] Raivio TL, Popkin DL, Silhavy TJ. The Cpx envelope stress response is controlled by amplification and feedback inhibition. *J Bacteriol*, 1999, 181(17): 5263–5272. [DOI]
- [23] Xu Y, Zhao Z, Tong WH, Ding YM, Liu B, Shi YX, Wang JC, Sun SM, Liu M, Wang YH, Qi QS, Xian M, Zhao G. An acid-tolerance response system protecting exponentially growing *Escherichia coli*. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1496. [DOI]
- [24] Zhou XH, Keller R, Volkmer R, Krauss N, Scheerer P, Hunke S. Structural basis for two-component system inhibition and pilus sensing by the auxiliary CpxP protein. *J Biol Chem*, 2011, 286(11): 9805–9814. [DOI]

- [25] Otto K, Silhavy TJ. Surface sensing and adhesion of *Escherichia coli* controlled by the Cpx-signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(4): 2287–2292. [DOI]
- [26] Clarke EJ, Voigt CA. Characterization of combinatorial patterns generated by multiple two-component sensors in *E. coli* that respond to many stimuli. *Biotechnol Bioeng*, 2011, 108(3): 666–675. [DOI]
- [27] Rutherford BJ, Dahl RH, Price RE, Szmidt HL, Benke PI, Mukhopadhyay A, Keasling JD. Functional genomic study of exogenous n-butanol stress in *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76(6): 1935–1945. [DOI]
- [28] Kumar A, Sperandio V. Indole signaling at the host-microbiota-pathogen interface. *mBio*, 2019, 10(3): e01031–e010319. [DOI]
- [29] Wood TK, Lee J. Precedence for the role of indole with pathogens. *mBio*, 2019, 10(4): e01599–e015919. [DOI]
- [30] Kashyap DR, Wang MH, Liu LH, Boons GJ, Gupta D, Dziarski R. Peptidoglycan recognition proteins kill bacteria by activating protein-sensing two-component systems. *Nat Med*, 2011, 17(6): 676–683. [DOI]
- [31] Jones CH, Danese PN, Pinkner JS, Silhavy TJ, Hultgren SJ. The chaperone-assisted membrane release and folding pathway is sensed by two signal transduction systems. *EMBO J*, 1997, 16(21): 6394–6406. [DOI]
- [32] Nevesinjac AZ, Raivio TL. The Cpx envelope stress response affects expression of the type IV bundle-forming pili of enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 2005, 187(2): 672–686. [DOI]
- [33] Itou A, Matsumoto K, Hara H. Activation of the Cpx phosphorelay signal transduction system in acidic phospholipid-deficient *pgsA* mutant cells of *Escherichia coli*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 421(2): 296–300. [DOI]
- [34] Rinker SD, Trombley MP, Gu XP, Fortney KR, Bauer ME. Deletion of *mtrC* in *Haemophilus ducreyi* increases sensitivity to human antimicrobial peptides and activates the CpxRA regulon. *Infect Immun*, 2011, 79(6): 2324–2334. [DOI]
- [35] Wolfe AJ, Parikh N, Lima BP, Zemaitaitis B. Signal integration by the two-component signal transduction response regulator CpxR. *J Bacteriol*, 2008, 190(7): 2314–2322. [DOI]
- [36] Strozen TG, Langen GR, Howard SP. Adenylate cyclase mutations rescue the *degP* temperature-sensitive phenotype and induce the sigma E and Cpx extracytoplasmic stress regulons in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 2005, 187(18): 6309–6316. [DOI]
- [37] Price NL, Raivio TL. Characterization of the Cpx regulon in *Escherichia coli* strain MC4100. *J Bacteriol*, 2009, 191(6): 1798–1815. [DOI]
- [38] Rosner JL, Martin RG. 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. [DOI]
- [39] Hirano Y, Hossain MM, Takeda K, Tokuda H, Miki K. Structural studies of the Cpx pathway activator NlpE on the outer membrane of *Escherichia coli*. *Structure*, 2007, 15(8): 963–976. [DOI]
- [40] Delhay A, Laloux G, Collet JF. The lipoprotein NlpE is a Cpx sensor that serves as a sentinel for protein sorting and folding defects in the *Escherichia coli* envelope. *J Bacteriol*, 2019, 201(10): e00611–e00618. [DOI]
- [41] Jaswal K, Shrivastava M, Roy D, Agrawal S, Chaba R. Metabolism of long-chain fatty acids affects disulfide bond formation in *Escherichia coli* and activates envelope stress response pathways as a combat strategy. *PLoS Genet*, 2020, 16(10): e1009081. [DOI]
- [42] Tschauener K, Hörnschemeyer P, Müller VS, Hunke S. Dynamic interaction between the CpxA sensor kinase and the periplasmic accessory protein CpxP mediates signal recognition in *E. coli*. *PloS One*, 2014, 9(9): e107383. [DOI]
- [43] Thede GL, Arthur DC, Edwards RA, Buelow DR, Wong JL, Raivio TL, Glover JNM. Structure of the periplasmic stress response protein CpxP. *J Bacteriol*, 2011, 193(9): 2149–2157. [DOI]
- [44] Kwon E, Kim DY, Ngo TD, Gross CA, Gross JD, Kim KK. The crystal structure of the periplasmic domain of *Vibrio parahaemolyticus* CpxA. *Protein Sci*, 2012, 21(9): 1334–1343. [DOI]
- [45] Quan S, Koldewey P, Tapley T, Kirsch N, Ruane KM, Pfizenmaier J, Shi R, Hofmann S, Foit L, Ren GP, Jakob U, Xu ZH, Cygler M, Bardwell JCA. Genetic selection designed to stabilize proteins uncovers a chaperone called Spy. *Nat Struct Mol Biol*, 2011, 18(3): 262–269. [DOI]
- [46] Keller RF, Hunke S. Misfolded maltose binding protein MalE219 induces the CpxRA envelope stress response by stimulating phosphoryl transfer from CpxA to CpxR. *Res Microbiol*, 2009, 160(6): 396–400. [DOI]
- [47] Dombek KM, Ingram LO. Effects of ethanol on the *Escherichia coli* plasma membrane. *J Bacteriol*, 1984, 157(1): 233–239. [DOI]
- [48] Akiyama Y. Quality control of cytoplasmic membrane proteins in *Escherichia coli*. *J Biochem*, 2009, 146(4):

- 449–454. [DOI]
- [49] Kumar A, Russell RM, Pifer R, Menezes-Garcia Z, Cuesta S, Narayanan S, MacMillan JB, Sperandio V. The serotonin neurotransmitter modulates virulence of enteric pathogens. *Cell Host Microbe*, 2020, 28(1): 41–53.e48. [DOI]
- [50] Raivio TL. Everything old is new again: an update on current research on the Cpx envelope stress response. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(8): 1529–1541. [DOI]
- [51] Lima BP, Lennon CW, Ross W, Gourse RL, Wolfe AJ. *In vitro* evidence that RNA Polymerase acetylation and acetyl phosphate-dependent CpxR phosphorylation affect cpxP transcription regulation. *FEMS Microbiol Lett*, 2016, 363(5): fnw011. [DOI]
- [52] Cao JN, Woodhall MR, Alvarez J, Cartron ML, Andrews SC. EfeUOB (YcdNOB) is a tripartite, acid-induced and CpxAR-regulated, low-pH Fe²⁺ transporter that is cryptic in *Escherichia coli* K-12 but functional in *E. coli* O157: H7. *Mol Microbiol*, 2007, 65(4): 857–875. [DOI]
- [53] De Wulf P, McGuire AM, Liu XQ, Lin ECC. Genome-wide profiling of promoter recognition by the two-component response regulator CpxR-P in *Escherichia coli*. *J Biol Chem*, 2002, 277(29): 26652–26661. [DOI]
- [54] Gangaiah D, Zhang XJ, Fortney KR, Baker B, Liu YL, Munson RS, Spinola SM. Activation of CpxRA in *Haemophilus ducreyi* primarily inhibits the expression of its targets, including major virulence determinants. *J Bacteriol*, 2013, 195(15): 3486–3502. [DOI]
- [55] Acosta N, Pukatzki S, Raivio TL. The *Vibrio cholerae* Cpx envelope stress response senses and mediates adaptation to low iron. *J Bacteriol*, 2015, 197(2): 262–276. [DOI]
- [56] Surmann K, Ćudić E, Hammer E, Hunke S. Molecular and proteome analyses highlight the importance of the Cpx envelope stress system for acid stress and cell wall stability in *Escherichia coli*. *MicrobiologyOpen*, 2016, 5(4): 582–596. [DOI]
- [57] Dudin O, Geiselman J, Ogasawara H, Ishihama A, Lacour S. Repression of flagellar genes in exponential phase by CsgD and CpxR, two crucial modulators of *Escherichia coli* biofilm formation. *J Bacteriol*, 2014, 196(3): 707–715. [DOI]
- [58] De la Cruz MA, Perez-Morales D, Palacios IJ, Fernández-Mora M, Calva E, Bustamante VH. The two-component system CpxR/A represses the expression of *Salmonella* virulence genes by affecting the stability of the transcriptional regulator HilD. *Front Microbiol*, 2015, 6: 807. [DOI]
- [59] Hirakawa H, Inazumi Y, Masaki T, Hirata T, Yamaguchi A. Indole induces the expression of multidrug exporter genes in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*, 2005, 55(4): 1113–1126. [DOI]
- [60] Gerken H, Charlson ES, Cicirelli EM, Kenney LJ, Misra R. MzrA: a novel modulator of the EnvZ/OmpR two-component regulon. *Mol Microbiol*, 2009, 72(6): 1408–1422. [DOI]
- [61] Bryan LE, Van Den Elzen HM. Effects of membrane-energy mutations and cations on streptomycin and gentamicin accumulation by bacteria: a model for entry of streptomycin and gentamicin in susceptible and resistant bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*, 1977, 12(2): 163–177. [DOI]
- [62] Thorbjarnardóttir SH, Magnúsdóttir RA, Eggertsson G. Mutations determining generalized resistance to aminoglycoside antibiotics in *Escherichia coli*. *Mol Gen Genet*, 1978, 161(1): 89–98. [DOI]
- [63] Srinivasan VB, Vaidyanathan V, Mondal A, Rajamohan G. Role of the two component signal transduction system CpxAR in conferring cefepime and chloramphenicol resistance in *Klebsiella pneumoniae* NTUH-K2044. *PLoS One*, 2012, 7(4): e33777. [DOI]
- [64] Mahoney TF, Silhavy TJ. The Cpx stress response confers resistance to some, but not all, bactericidal antibiotics. *J Bacteriol*, 2013, 195(9): 1869–1874. [DOI]
- [65] Moreau PL. Protective role of the RpoE (σE) and Cpx envelope stress responses against gentamicin killing of nongrowing *Escherichia coli* incubated under aerobic, phosphate starvation conditions. *FEMS Microbiol Lett*, 2014, 357(2): 151–156. [DOI]
- [66] Weatherspoon-Griffin N, Yang DZ, Kong W, Hua ZC, Shi YX. The CpxR/CpxA two-component regulatory system up-regulates the multidrug resistance cascade to facilitate *Escherichia coli* resistance to a model antimicrobial peptide. *J Biol Chem*, 2014, 289(47): 32571–32582. [DOI]
- [67] Frimodt-Møller J, Koulouktsis A, Charbon G, Otterlei M, Nielsen PE, Løbner-Olesen A. Activation of the Cpx-envelope stress response system promotes tolerance to antibacterials delivered by arginine-rich peptides and aminoglycosides in *Escherichia coli*. *bioRxiv*, 2020, doi: 10.1101/2020.08.31.274910. [DOI]
- [68] Kurabayashi K, Hirakawa Y, Tanimoto K, Tomita H, Hirakawa H. Role of the CpxAR two-component signal transduction system in control of fosfomycin resistance and carbon substrate uptake. *J Bacteriol*, 2014, 196(2): 248–256. [DOI]
- [69] Srinivasan VB, Rajamohan G. KpnEF, a new member of

- the *Klebsiella pneumoniae* cell envelope stress response regulon, is an SMR-type efflux pump involved in broad-spectrum antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(9): 4449–4462. [DOI]
- [70] Jing WX, Liu J, Wu SS, Li XR, Liu YS. Role of *cpxA* mutations in the resistance to aminoglycosides and β -Lactams in *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. *Front Microbiol*, 2021, 12: 604079. [DOI]
- [71] Huang H, Sun YW, Yuan L, Pan YS, Gao YL, Ma CH, Hu GZ. Regulation of the two-component regulator CpxR on aminoglycosides and β -lactams resistance in *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. *Front Microbiol*, 2016, 7: 604. [DOI]
- [72] Philippe N, Maigre L, Santini S, Pinet E, Claverie JM, Davin-Régli AV, Pagès JM, Masi M. In vivo evolution of bacterial resistance in two cases of *Enterobacter aerogenes* infections during treatment with imipenem. *PloS One*, 2015, 10(9): e0138828. [DOI]
- [73] Yakhnina AA, McManus HR, Bernhardt TG. The cell wall amidase AmiB is essential for *Pseudomonas aeruginosa* cell division, drug resistance and viability. *Mol Microbiol*, 2015, 97(5): 957–973. [DOI]
- [74] Taylor DL, Bina XR, Slamti L, Waldor MK, Bina JE. Reciprocal regulation of resistance-nodulation-division efflux systems and the Cpx two-component system in *Vibrio cholerae*. *Infect Immun*, 2014, 82(7): 2980–2991. [DOI]
- [75] Cao Q, Feng FF, Wang H, Xu XJ, Chen HC, Cai XW, Wang XR. *Haemophilus parasuis* CpxRA two-component system confers bacterial tolerance to environmental stresses and macrolide resistance. *Microbiol Res*, 2018, 206: 177–185. [DOI]
- [76] Nishino K, Yamasaki S, Hayashi-Nishino M, Yamaguchi A. Effect of NlpE overproduction on multidrug resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(5): 2239–2243. [DOI]
- [77] Batchelor E, Walthers D, Kenney LJ, Goulian M. The *Escherichia coli* CpxA-CpxR envelope stress response system regulates expression of the porins *ompF* and *ompC*. *J Bacteriol*, 2005, 187(16): 5723–5731. [DOI]
- [78] Weatherspoon-Griffin N, Zhao G, Kong W, Kong Y, Morigen, Andrews-Polymenis H, McClelland M, Shi YX. The CpxR/CpxA two-component system up-regulates two Tat-dependent peptidoglycan amidases to confer bacterial resistance to antimicrobial peptide. *J Biol Chem*, 2011, 286(7): 5529–5539. [DOI]
- [79] Davies BW, Kohanski MA, Simmons LA, Winkler JA, Collins JJ, Walker GC. Hydroxyurea induces hydroxyl radical-mediated cell death in *Escherichia coli*. *Mol Cell*, 2009, 36(5): 845–860. [DOI]
- [80] Kohanski MA, Dwyer DJ, Hayete B, Lawrence CA, Collins JJ. A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell*, 2007, 130(5): 797–810. [DOI]
- [81] Kohanski MA, Dwyer DJ, Wierzbowski J, Cottarel G, Collins JJ. Mistranslation of membrane proteins and two-component system activation trigger antibiotic-mediated cell death. *Cell*, 2008, 135(4): 679–690. [DOI]
- [82] Song Y, Liu YL, Qu YL, Guo JY, Zheng JD, Wang XH. Cpx system on bacterial lethal stress. *J Harbin Med Univ*, 2017, 51(1): 13–16.
宋玉, 刘远莉, 曲艺林, 郭君玉, 郑嘉东, 王秀宏. Cpx 系统对细菌致死性应激的影响. 哈尔滨医科大学学报, 2017, 51(1): 13–16. [DOI]
- [83] Bernal-Cabas M, Ayala JA, Raivio TL. The Cpx envelope stress response modifies peptidoglycan cross-linking via the L,D-transpeptidase LdtD and the novel protein YgaU. *J Bacteriol*, 2015, 197(3): 603–614. [DOI]
- [84] Siryaporn A, Goulian M. Cross-talk suppression between the CpxA-CpxR and EnvZ-OmpR two-component systems in *E. coli*. *Mol Microbiol*, 2008, 70(2): 494–506. [DOI]
- [85] Matsuda K, Chaudhari AA, Lee JH. Evaluation of safety and protection efficacy on *cpxR* and *lon* deleted mutant of *Salmonella Gallinarum* as a live vaccine candidate for fowl typhoid. *Vaccine*, 2011, 29(4): 668–674. [DOI]

(责任编辑: 谢建平)