

群体感应系统在细菌生物被膜耐药性形成中的调控机制

胡昌俊 综述, 李德辉, 朱良苗 审校(重庆市开县人民医院检验科 405400)

【关键词】 群体感应; 生物被膜; 细菌耐药

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.04.038 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)04-0520-02

细菌群体感应系统是存在于细菌个体间、实现信息传递的一种普遍机制,通过细菌胞体合成、分泌信号分子(又称为自诱导分子)控制整个细菌种群群体的行为,当细菌分泌的信号分子浓度达到一定阈值时,即可启动信号传递、调控某些特定基因的表达,最终实现对整个群体适应功能的调节^[1]。根据信号分子的不同,细菌群体感应系统分为三种类型:一类主要存在于革兰阴性菌中,以酰基高丝氨酸内酯(AHL)类物质为信号分子;另一类主要存在于革兰阳性菌中,以寡肽类蛋白为信号分子;第三类存在于革兰阴性菌与革兰阳性菌中,以喹啉酰肼二酯为信号分子^[2]。

研究发现,群体感应系统可调控细菌的诸多功能,如病原菌的生理活性、毒性、耐药性及生物被膜的形成等^[3]。生物被膜是指黏附于机体黏膜或生物材料表面、由细菌分泌的藻酸盐多聚糖包裹菌体形成的被膜状生物群体。80%的人类细菌感染性疾病与生物被膜相关。由于生物被膜具有极强的耐药性和免疫逃逸能力,感染了生物被膜的机体与生物医学材料,即使应用成百倍正常治疗剂量的抗菌药物也难以清除^[4]。群体感应系统对生物被膜耐药性的调控作用主要表现为:群体感应系统首先调节细菌生物被膜的生成,再由生成的生物被膜保护细菌免受抗菌药物攻击,最终导致对抗菌药物的广泛耐药。

1 群体感应系统调节生物被膜的形成

在细菌生物被膜形成过程中,群体感应系统发挥了重要的调节作用。研究证实,在铜绿假单胞菌(PA)基因组中,有 300 多个基因受群体感应系统的调控,其中包括形成生物被膜的相关基因^[5]。在对生物被膜的调控中,群体感应系统是以不同途径实现的。

1.1 对革兰阴性菌的调控 群体感应系统对革兰阴性细菌生物被膜形成的调节主要通过 AHL 信号分子与其相应的受体结合,再由受体激活相关的转录子,合成胞外藻酸盐多聚糖,生成生物被膜^[2]。

PA 野生株形成的生物被膜高度结构化、较厚,但从临床分离获得的不产生 AHL 信号分子的群体感应系统缺陷株,在非生物表面则不能形成生物被膜。虽然群体感应系统 LasR 受体变异株能够形成生物被膜,但其结构简单。阿奇霉素可抑制 PA 群体感应系统,形成相对较薄的生物被膜^[6]。相反,群体感应降解基因 *aiiA* 编码的 AHL 酶可打开信号分子 AHL 的内酯环,干扰群体感应系统,最终影响 PA 生物被膜的生成^[7]。

有研究显示,革兰阴性菌群体感应系统调节生物被膜形成是通过环二聚体鸟苷(C-di-GMP)分子通路来实现的^[8]。细菌通过激活不同的群体感应系统通路使胞内形成不同的 C-di-GMP 分子浓度,最终通过不同 C-di-GMP 的分子浓度调控细菌生成不同结构的生物被膜。

1.2 对革兰阳性菌的调控 群体感应系统在革兰阳性细菌生物被膜形成中的调节作用是利用细胞自身分泌的寡肽类物质作为信号传导分子。寡肽类物质被修饰后可识别双组分感应蛋白,通过感应蛋白的磷酸化及去磷酸化对相关目的基因的表

达进行调控,进而调节细胞群体生物被膜的形成。

研究发现,不同的革兰阳性菌种,群体感应系统的调节途径也各不相同^[9]。在葡萄球菌属中,是高度保守的 WalK/WalR(也称 YycG/YycF)双组分系统,而在链球菌属中,是组氨酸蛋白激酶和调节响应蛋白双组分系统,对菌群生物被膜的形成具有直接调节作用。此外,在革兰阳性菌中,还存在着一些因子调节着生物被膜的形成。其中, RNA 核酸聚合酶 III (RNA III)能利于金黄色葡萄球菌群体形成成熟的生物被膜,但是 RNA III 蛋白抑制肽则明显抑制其生物被膜的形成^[10]。而在表皮葡萄球菌中,群体感应系统相关的调节子 SarA 与生物被膜密切相关,是其调节生物被膜生成的正调节因子^[11]。

然而,也有生物被膜形成调控机制研究显示,发现革兰阴性杆菌的 AHL 分子能干扰金黄色葡萄球菌群体感应系统及生物被膜的形成,同时发现 PA 生物被膜及其群体感应系统的 AHL 分子能被大肠埃希菌代谢物吡啶所移植^[12]。这表明不同种类的细菌间存在相互抑制或竞争的现象,可能也与群体感应系统的调控作用密切相关。

2 生物被膜的耐药机制

一般认为,细菌生物被膜可通过渗透限制机制、营养限制机制和耐药表型机制介导细菌耐药^[13]。

2.1 渗透限制机制 生物被膜的藻酸盐多聚糖所构成的分子屏障和电荷屏障(大多带负电荷)可阻止或延缓抗菌药物的渗入。如哌拉西林、亚胺培南、氧氟沙星和环丙沙星对生物被膜的穿透力仅为浮游菌的 50%。氨基糖苷类抗菌药物带有正电荷,容易被生物被膜内带负电荷的藻酸盐聚合物吸附,而阻挡其渗透,并且固定在生物被膜基质中的一些抗菌药物水解酶可促进灭活进入生物被膜的抗菌药物^[14-15]。同时,生物被膜的结构存在一定程度的不均一性,而这也是导致生物被膜渗透性差异的原因之一。由于渗透性差异的存在,环境中的信号分子、营养物质、代谢产物等物质由表及里形成浓度梯度,从而使生物被膜群体的生理活性及耐药水平也呈现不均一性。这种生理及耐药的不均一性使生物被膜细菌群体中无论哪个代谢环节受到抗菌药物的攻击,都会有部分其他细菌个体存活下来,这也是细菌“重建家园”的重要策略^[16]。

2.2 营养限制机制 生物被膜的渗透限制使细菌的营养物质不易通过生物被膜层,致使生物被膜内层细菌缺乏营养,生长速度也随之减慢,此时细菌所处的这种状态也称为饥饿状态。而且,目前大多数抗菌药物都很难杀灭处于饥饿状态的细菌群体。现已证实生物被膜中的细菌,在低代谢、低氧浓度环境中可形成高度耐药性^[17]。Desai 等^[18]比较了处于对数生长期到稳定期等不同阶段的浮游菌和生物被膜耐药性的差别,发现二者的耐药性均随生长速度的减慢而增强;尽管生物被膜耐药性是浮游菌的 15 倍,但二者的耐药性均在稳定期时达最高水平。当运用抗菌药物治疗时,生物被膜表层细菌能被率先杀死,而对内层细菌的影响不大。当抗菌药物停用后,存活的细菌个体会利用死亡细菌作为营养成分进行繁殖,只需要数小时即可恢复原有的感染力与侵袭性,从而导致临床上反复发作的慢性

感染。

2.3 耐药表型机制 研究发现,处于生物被膜和浮游两种状态下的 PA,其基因表达水平与生理特性存在差异,且两者间的差异具有相关性,提示在生物被膜状态下出现了特有的基因表达模式,这种生物被膜特有的表型与耐药性直接相关^[19]。生物被膜由藻酸盐多聚糖物质所构成,通常任何引起生物被膜组成改变的因素都会造成耐药性的变异。例如藻酸盐调节子 *mucA* 基因突变失活的临床分离株,其表型从非黏液型转变为黏液型,生成大量多聚糖使其菌体能够更为牢固地结合组织黏膜,不易被抗菌药物所清除。在 PA 中,调节蛋白 *PvrR* 在浮游和生物被膜生长方式转换中发挥着关键作用,在生物被膜中,*PvrR* 可促进胞外多聚糖的生成而使细菌表现为高度耐药。同样,在 PA 野生株中,在生物被膜状态有两个明显高表达的基因簇,即 *pel* 基因簇和 *psl* 基因簇,而这种高表达造成细菌胞外多聚糖产量增加,形成对妥布霉素的高度耐药。此外,在丁香假单胞菌中,开放读码框 *orf3* 突变直接形成对氨基西林和氯霉素的高度耐药,也可能与其对胞外多聚糖的调节作用相关。

3 小 结

综上所述,群体感应系统在细菌生物被膜形成及其耐药性产生的过程中发挥了重要作用。目前,关于细菌群体感应系统对生物被膜耐药性调控机制的研究已取得了一定进展。然而,群体感应系统与耐药性相关性研究还面临着很多挑战,例如群体感应系统是如何启动和调节生物被膜耐药性的靶基因,不同菌株生物被膜内的群体感应信号是如何交叉和交流的等等。因此,深入研究细菌群体感应系统及其对生物被膜的调控机制,有助于理解生物被膜及其耐药性的产生机制,为临床抗感染治疗、控制细菌耐药性及抗菌药物的研究提供新的思路和策略。

参考文献

[1] Darch SE, West SA, Winzer K, et al. Density-dependent fitness benefits in quorum-sensing bacterial populations [J]. PNAS, 2012, 21(109): 8259-8263.

[2] Atkinson S, Williams P. Quorum sensing and social networking in the microbial world [J]. J R Soc Interface, 2009, 6(40): 959-978.

[3] Rutherford ST, Bassler BL. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2013, 3(5): 1-26.

[4] Raquel GM, Michael DW, Pradeep KS, et al. Pseudomonas aeruginosa acquires biofilm-like properties within air way epithelial cells [J]. Infect Immun, 2005, 73 (12): 8298-8305.

[5] Singh BN, Singh HB, Singh A, et al. Lagerstroemia speciosa fruit extract modulates quorum sensing-controlled virulence factor production and biofilm formation in Pseudomonas aeruginosa [J]. Microbiology, 2012, 2(158): 529-538.

[6] Hoffmann N, Lee B, Hentzer M, et al. Azithromycin blocks quorum sensing and alginate polymer formation and increases the sensitivity to serum and stationary-growth-phase killing of Pseudomonas aeruginosa and attenuates chronic P. aeruginosa lung infection in Cfr-/- Mice [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(10): 3677-3687.

[7] Wopperer J, Cardona ST, Huber B, et al. A quorum-quenching approach to investigate the conservation of quorum-sensing-regulated functions within the Burkholderia cepacia complex [J]. Appl Environ Microbiol, 2006, 72(2): 1579-1587.

[8] Sisti F, Ha DG, O'Toole GA, et al. Cyclic-di-GMP signaling regulates motility and biofilm formation in Bordetella bronchiseptica [J]. Microbiology, 2013, 5(159): 869-879.

[9] Dubrac S, Boneca IG, Poupel O, et al. New insights into the WalK/WalR (YycG/YycF) essential signal transduction pathway reveal a major role in controlling cell wall metabolism and biofilm formation in Staphylococcus aureus [J]. J Bacteriol, 2007, 189(22): 8257-8269.

[10] Coelho LR, Souza RR, Ferreira FA, et al. agr RNA III divergently regulates glucose-induced biofilm formation in clinical isolates of Staphylococcus aureus [J]. Microbiology, 2008, 154(11): 3480-3490.

[11] Tamber S, Cheung AL. Sar Z promotes the expression of virulence factors and represses biofilm formation by modulating SarA and agr in Staphylococcus aureus [J]. Infect Immun, 2009, 77(1): 419-428.

[12] Chu W, Zere TR, Weber MM, et al. Indole production promotes Escherichia coli mixed-culture growth with Pseudomonas aeruginosa by inhibiting quorum signaling [J]. Appl Environ Microbiol, 2012, 2(78): 411-419.

[13] Anderson GG, O'Toole GA. Innate and induced resistance mechanisms of bacterial biofilms [J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2008, 322(1): 85-105.

[14] Hoiby N, Johansen KH, Moser C, et al. Pseudomonas aeruginosa and the in vitro and in vivo biofilm mode of growth [J]. Microbes Infect, 2001, 3(1): 23-35.

[15] Qazi S, Middleton B, Muharram SH, et al. N-Acylhomoserine Lactones antagonize virulence gene expression and quorum sensing in Staphylococcus aureus [J]. Infect Immun, 2006, 74(2): 910-919.

[16] Muranaka LS, Takita MA, Olivato JC, et al. Global expression profile of biofilm resistance to antimicrobial compounds in the plant-pathogenic bacterium Xylella fastidiosa reveals evidence of persister cells [J]. J Bacteriol, 2012, 17(194): 4561-4569.

[17] Stewart PS. Mini-review: convection around biofilms [J]. Biofouling, 2012, 28(2): 187-198.

[18] Desai M, Buhler T, Weller PH, et al. Increasing resistance of planktonic and biofilm cultures of Burkholderia cepacia to ciprofloxacin and ceftazidime during exponential growth [J]. J Antimicrob Chemother, 1998, 42(2): 153-160.

[19] Beaudoin T, Zhang L, Hinz AJ, et al. The biofilm-specific antibiotic resistance gene *ndvB* is important for expression of ethanol oxidation genes in Pseudomonas aeruginosa biofilms [J]. J Bacteriol, 2012, 12(194): 3128-3136.