



铜绿假单胞菌群体感应信号分子 PQS 的功能多样性研究进展

李盼欣, 成娟丽, 张恒, 林金水*

延安大学生命科学学院 陕西省红枣重点实验室, 陕西 延安 716000

李盼欣, 成娟丽, 张恒, 林金水. 铜绿假单胞菌群体感应信号分子 PQS 的功能多样性研究进展[J]. 微生物学报, 2023, 63(9): 3500-3519.

LI Panxin, CHENG Juanli, ZHANG Heng, LIN Jinshui. Research progress in functional diversity of quorum sensing signaling molecule PQS in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(9): 3500-3519.

摘要: 铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)是一种革兰氏阴性条件致病菌, 可对免疫功能低下或损伤的患者造成持续性感染。铜绿假单胞菌能成功感染离不开其自身产生的毒力因子, 而这些毒力因子大多数都受群体感应系统(quorum sensing, QS)调控。铜绿假单胞菌有 4 个 QS 系统, 分别为 *las* 系统、*rhl* 系统、*pqs* 系统和 *iqs* 系统。2-庚基-3-羟基-4-喹诺酮(*Pseudomonas* quinolone signal, PQS)作为铜绿假单胞菌 *pqs* 系统的信号分子, 不仅能够调控许多毒力因子的表达, 也能够影响一些微生物和宿主的多种生理过程。本文总结了 PQS 多种生物学功能, 如介导 QS 系统、调控生物被膜形成、介导外膜囊泡产生及铁摄取、调节宿主免疫活性、介导细胞毒性作用, 以及提供种群保护等。本文旨在突出铜绿假单胞菌 PQS 的功能多样性, 并为 PQS 新功能研究和抗菌药物的研发提供指导。

关键词: 铜绿假单胞菌; 群体感应; 2-庚基-3-羟基-4-喹诺酮; 生物学功能

资助项目: 国家自然科学基金(32070103, 31700031); 陕西省秦创原“科学家+工程师”队伍建设项目(2023KXJ-019); 陕西省“特支计划”区域发展人才项目(2020-44); 陕西省普通高等学校青年杰出人才支持计划项目(2018-111); 陕西高校青年创新团队(2022-943)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32070103, 31700031), the Qinchuang Yuan ‘Scientist+Engineer’ Team Construction Project of Shaanxi Province (2023KXJ-019), the Regional Development Talent Project of the ‘Special Support Plan’ of Shaanxi Province (2020-44), the Outstanding Young Talent Support Plan Project of the Higher Education Institutions of Shaanxi Province (2018-111), and the Youth Innovation Team of Shaanxi Universities (2022-943).

*Corresponding author. Tel: +86-911-2332030, E-mail: linjinshui@yau.edu.cn

Received: 2023-05-15; Accepted: 2023-07-20; Published online: 2023-07-24

Research progress in functional diversity of quorum sensing signaling molecule PQS in *Pseudomonas aeruginosa*

LI Panxin, CHENG Juanli, ZHANG Heng, LIN Jinshui*

Shaanxi Key Laboratory of Chinese Jujube, School of Life Sciences, Yan'an University, Yan'an 716000, Shaanxi, China

Abstract: *Pseudomonas aeruginosa* is a Gram-negative opportunistic pathogen that can cause persistent infection in immunocompromised patients. The infection of *P. aeruginosa* is dependent on its virulence factors, most of which are regulated by the quorum sensing (QS) system. *P. aeruginosa* has four QS systems: *las*, *rhl*, *pqs*, and *iqs*. The 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone (*Pseudomonas* quinolone signal, PQS), as a signal molecule in the *pqs* system of *P. aeruginosa*, can not only regulate the expression of diverse virulence factors but also affect a variety of physiological processes of microorganisms and hosts. This review summarizes the biological functions of PQS, such as mediating the QS system, regulating biofilm formation, mediating outer-membrane vesicle biogenesis, iron acquisition regulating host immune activities and cytotoxicity and providing population protection. The purpose of this review is to highlight the functional diversity of *P. aeruginosa* PQS and provide guidance for studying new PQS functions and developing antimicrobial agents.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*; quorum sensing; 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone; biological function

铜绿假单胞菌为革兰氏阴性条件致病菌,广泛存在于水和土壤中^[1]。它对免疫力受损或低下的患者具有很强的感染能力,如引起尿路感染、烧伤感染和囊性纤维化患者的肺部感染等,并占临床感染的10%–20%^[2-4]。铜绿假单胞菌之所以能成功感染宿主并导致反复感染,最主要的原因是在感染过程中产生多种毒力因子,包括弹性蛋白酶^[5]、碱性蛋白酶^[6]、氰化氢^[7]、外毒素A^[8]、鼠李糖脂^[9]和绿脓菌素^[10]等。然而,这些毒力因子的产生均受群体感应(quorum sensing, QS)系统的调控^[3,11]。

QS即微生物在生长过程中,由于群体密度不断增加,导致其生理和生化特性在不断变化,显示出少量菌体或单个菌体所不具备的特征,如生物发光、抗生素合成、生物被膜形成和毒力基

因表达等^[12-13]。在这个过程中,细菌通过产生并释放可扩散的信号分子(自动诱导剂)来感知群体密度,当群体密度达到一定阈值时,聚集的信号分子与相应的转录调节子结合而诱导各种靶基因的转录表达,从而调控细菌各种群体行为^[13]。铜绿假单胞菌存在4种QS系统,即*las*系统、*rhl*系统、*iqs*系统和*pqs*系统,它们相互调控形成了多层次复杂的网络状调控线路^[14](图1),控制着铜绿假单胞菌基因组中约12%基因的表达^[15-16]。*las*和*rhl*系统分别以N-(3-氧十二烷酰基)-L-高丝氨酸内酯[N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone, 3-oxo-C₁₂-HSL]和N-丁酰基-L-高丝氨酸内酯(N-butyryl-L-homoserine lactone, C₄-HSL)为信号分子,以LasR和RhIR为信号分子受体。LasR

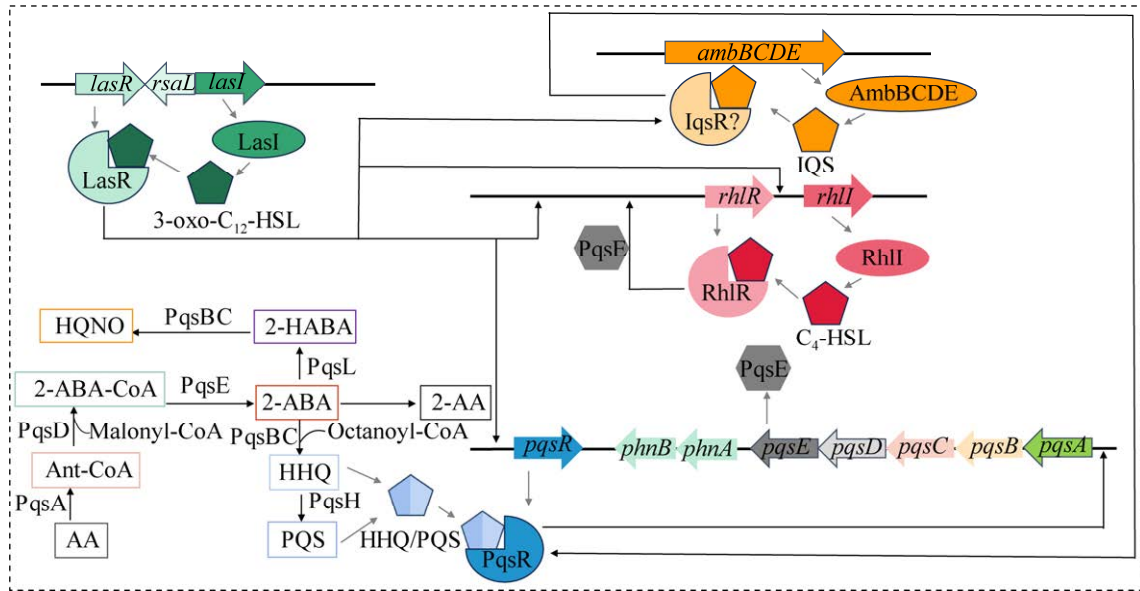


图1 铜绿假单胞菌的4个QS信号网络及其PQS介导QS系统的调控示意图

Figure 1 Schematic diagram of the four QS signaling networks in *Pseudomonas aeruginosa* and regulation of PQS mediated QS system. AA: Anthranilic acid; Ant-CoA: Anthraniloyl-coenzyme; 2-ABA-CoA: 2-aminobenzoylacetyl-coenzyme; 2-ABA: 2-aminobenzoylacetate; 2-HABA: 2-hydroxylaminobenzoylacetate; 2-AA: 2-aminoacetophenone; HHQ: 2-heptyl-4-quinolone; HQNO: 4-hydroxy-2-heptylquinoline-N-oxide; PQS: 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone. The gray arrow indicates biosynthesis and the black arrow indicates activation.

和 RhlR 在结合它们自身信号分子后均发生二聚化，这使它们能够与靶基因启动子中保守的 *las-rhl* 结合序列结合，从而促进靶基因转录^[16-17]。*iqs* 系统以 IQS 作为群体感应信号分子，其结构确定为 2-(2-羟基苯基)-噻唑-4-乙醛。参与 IQS 合成的基因是一个非核糖体肽合成酶基因簇 *ambBCDE*，在低磷条件下，*ambBCDE* 突变会导致 PQS (*Pseudomonas* quinolone signal，即 2-庚基-3-羟基-4-喹诺酮)及 C_4 -HSL 信号的产生减少，以及毒力因子如绿脓菌素、鼠李糖脂和弹性酶的产生减少^[18]。*pqs* 系统则主要通过 PQS 和 2-庚基-4-羟基喹啉 (2-heptyl-4-hydroxyquinoline, HHQ) 这 2 种信号分子起作用，且这 2 种信号分子均可与 LysR 型转录调节因子 PqsR 结合并形成 PqsR-PQS (或 PqsR-HHQ) 复合物，从而激活一些毒力基因的表达^[16-17]。PQS 除了通过与 PqsR 结合而发挥 QS 调控作用之外，还能以不依赖于 PqsR 的方式独立调控基因表达^[19]。此

外，PQS 还能与直接与细胞中其他数以百计的蛋白相结合，这暗示 PQS 可能通过这些靶标蛋白与胞内的多种关键代谢或毒力途径直接相互作用而发挥新的功能^[20-22]。

目前，尽管针对 PQS 的研究已经取得了巨大的进展，但对 PQS 多种确切功能缺少全面性的总结^[16]。本文将从 PQS 介导群体感应、生物被膜形成、外膜囊泡产生、铁离子摄取、宿主免疫、细胞毒性和提供种群保护等方面对 PQS 的功能进行综述。

1 PQS 介导群体感应作用

铜绿假单胞菌 PQS 系统中至少包含 5 个转录单元，其中 *pqsABCDE* (PA0996-PA1000) 操纵子、*phnAB* (PA1001-PA1002) 操纵子和 *pqsR* (PA1003) 基因位于同一基因座，并且 *pqsR* 的转录方向与 *phnAB* 操纵子相反，而 *pqsH* (PA2587) 和 *pqsL* (PA4190) 则位于染色体上的其他位点^[16,19,23]。它

们共同负责烷基喹诺酮(AQ)分子的生物合成。目前发现铜绿假单胞菌可以生产 50 多个 AQ 分子^[24], 主要包括 PQS、HHQ、2-壬基-4-喹啉醇 [(2-nonyl-4(1H)-quinolone, NHQ)]和 2-庚基-4-羟基喹啉-N-氧化物 (2-heptyl-4-hydroxyquino-N-oxide, HQNO)^[25]。其中 PQS 信号分子在调节毒力因子方面非常重要^[26]。在铜绿假单胞菌中, PQS 的生物合成开始于邻氨基苯甲酸向 HHQ 的转换, 这种转换是由五个基因操纵子 *pqsABCDE* 中编码的酶而介导^[27]。邻氨基苯甲酸(anthranilic acid, AA)通过 PqsA 转化为邻氨基苯甲酰-CoA (anthraniloyl-coenzyme, Ant-CoA)。以 Ant-CoA 和丙二酰-CoA (malonyl-coenzyme A, Malonyl-coA) 为底物在 PqsD 作用下缩合形成 2-氨基苯甲酰乙酰-CoA (2-aminobenzoylacetyl-coenzyme, 2-ABA-CoA)。2-ABA-CoA 经 PqsE 的硫酯酶活性水解后, 得到 2-氨基苯甲酰乙酸(2-aminobenzoylacetate, 2-ABA), 以 2-ABA 和辛酰-CoA (octanoyl-coenzyme A, Octanoyl-coA)为底物在 PqsBC 二聚体的作用下缩合形成 HHQ, HHQ 在好氧条件下经 PqsH 催化羟基化而形成 PQS^[28-30]。除此之外, 2-ABA 经过脱羧反应可以生成 2-氨基-1-苯乙酮 (2-aminoacetophenone, 2-AA)^[31], 或者 PqsL 使用还原黄素将 2-ABA 转化为 2-羟氨基苯甲酰乙酸酯 (2-hydroxylaminobenzoylacetate, 2-HABA), 2-HABA 与 PqsBC 作用下一起合成 HQNO (图 1)^[31]。在 *pqsABCDE* 操纵子中, PqsA、PqsB 或 PqsD 的失活完全阻断了铜绿假单胞菌中 HHQ 和 PQS 的生物合成以及 PQS 调节毒力因子表达^[32], 因此, 这些酶被认为是 PQS 信号淬灭最有希望的靶标^[32]。虽然 PqsE 具有硫酯酶活性, 且负责将 2-ABA-CoA 水解成 2-ABA^[19]。然而, PqsE 突变后并不影响 AQ 的生物合成^[19], 表明细胞内还有其他硫酯酶(例如 TesB 硫酯酶)在此过程中起作用^[33]。

在 PQS 系统中, 受体 PqsR 是一种 LysR 型转录调节因子, HHQ 和 PQS 两种信号分子均为 PqsR 的配体, 一旦 PqsR 与其配体结合, 它能够通过与位于 *pqsA* 转录起始位点上游-45 bp 处的 LysR 结合盒 TTCGGACTCCGAA 结合来激活并诱导 *pqsABCDE* 和 *phnAB* 操纵子的转录, 从而提高 AQ 水平并产生正反馈环调节^[16,23,27]。据报道, 在 *pqsR* 突变株中发现弹性蛋白酶, 胞外蛋白和绿脓菌素的生成量显著减少, 并且无法检测到 AQ 分子, 因此 *pqsR* 突变体对动植物的致病能力明显下降^[16,27,34]。虽然 PqsR 是 PQS 或 HHQ 信号转导所必需的, 但是 PqsR-PQS (或 PqsR-HHQ)复合物在细胞内却仅有唯一一个结合靶标, 即 *pqsA* 的启动子区域^[18], 暗示 PqsR-PQS (或 PqsR-HHQ)复合物仅调控自身合成基因簇 *pqsABCDE-phnAB* 的表达。然而, 最近研究人员用染色质免疫共沉淀测序(ChIP-seq)技术从铜绿假单胞菌基因组中筛选到除 *pqsA* 启动子区之外 35 个能够被 PqsR 直接结合的基因位点, 这些基因位点牵涉到对蛋白分泌系统、鼠李糖脂的生物合成、铁摄取、细胞代谢、小分子转运、翻译、氧化应激反应和其他群体感应系统等的表达调控^[15-16]。这表明 PqsR 可以以不依赖于配体(PQS 或 HHQ)的方式独立发挥基因表达调控作用。同样, 除了与 PqsR 形成 PqsR-PQS 复合体调控自身合成基因簇的表达外, PQS 也具有以不依赖于 PqsR 的方式独立发挥调控基因表达的作用^[19]。通过外源添加 PQS 转录组分析发现, 细胞中有 179 个基因的表达以不依赖于 PqsR 的方式受 PQS 的控制^[19]。除此之外, 研究发现在 AQ 合成基因簇中除了产生 PqsR 和 PQS/HHQ 具有调控基因表达的功能之外, 通过在产生 AQ 缺陷的 *pqsA* 突变体中过表达 *pqsE* 发现有 145 个基因表达上调^[19], 并且在缺失 PqsR 和 PQS 的情况下, PqsE 仍然可以激活受 PQS 调

控的,如绿脓菌素、氰化氢、鼠李糖脂和几丁质酶等毒力因子相关编码基因的表达^[23]。这些研究表明 PqsE 也具有独立地调控基因表达的作用。那么 PqsE 是通过什么机制发挥调控作用呢?最近研究发现, PqsE 可以合成一种未被鉴定的配体,该配体以 RhIR 为受体,从而通过 RhIR 调控下游基因的表达^[34]。同时, PqsE 是铜绿假单胞菌 RhIR 依赖的 QS 调控系统发挥功能所必需的^[35]。然而,正如 PqsE 的硫酯酶活性对于 AQ 的合成可有可无一样,它这种调控功能也不依赖于其硫酯酶的酶活性,因为这种酶抑制剂不影响 PqsE 调控功能^[33],暗示 PqsE 是完全独立于 PQS 系统的。综上可以得出以下结论:(1) PqsR-PQS (或 PqsR-HHQ)复合物仅直接调控自身合成基因簇 *pqsABCDE-phnAB* 的表达;(2) PQS 或者 PqsR 都可以以独立的方式调控基因表达;(3) 由于 PQS 直接调控 *pqsE* 的表达,所以 PQS 能够间接通过 PqsE 影响 RhIR 依赖的 QS 系统。因此, PQS 所扮演的是一种非典型的 QS 信号分子的角色。

2 PQS 影响生物被膜的形成

铜绿假单胞菌的生物被膜主要是由胞外多糖、蛋白质、脂质和胞外 DNA (eDNA)等生物大分子组成的细菌群落结构,其形成可以帮助铜绿假单胞菌对抗抗菌药物并产生耐药性从而造成临床上的持续性感染^[36-37]。目前, Cao 等^[38]通过高光谱拉曼成像技术证实了 PQS 在铜绿假单胞菌生物被膜的三维结构中广泛存在,并且 Jia 等^[39]也通过该技术发现了铜绿假单胞菌静态生物被膜中 PQS 的丰度极高。那么 PQS 在生物被膜形成中扮演哪种角色呢?事实上,已有众多研究表明铜绿假单胞菌 PQS 影响生物被膜的形成^[40-41]。缺失突变 PQS 生物合成基因会使铜绿假单胞菌形成缺陷的生物被膜,即不能形成野生菌成熟生

物被膜所特有的蘑菇状结构,同时使其生物被膜的分散能力明显减弱,且这种表型可以通过遗传互补或外源添加 PQS 而恢复^[42]。此外, *pqs* 突变不仅能导致铜绿假单胞菌生物被膜发育缺陷,其生物被膜中 eDNA 也出现缺陷^[43]。事实上, eDNA 有助于细菌黏附、聚集和生物被膜的成熟,因而 PQS 还能够通过促进铜绿假单胞菌 eDNA 的释放,进而促进生物被膜形成^[44]。值得注意的是, PQS 促进铜绿假单胞菌 eDNA 释放有多种途径(图 1): (1) PQS 诱导铜绿假单胞菌前噬菌体的激活,从而导致细胞裂解并将 eDNA 释放到生物被膜中^[43]。(2) 受 PQS 信号控制的 HQNO 会使细菌发生自溶并释放出大量 eDNA 而导致铜绿假单胞菌生物被膜生物量的增加^[45]。(3) PQS 的助氧化活性提高了铜绿假单胞菌对过氧化物和不同抗生素的敏感性,引起细胞裂解和 eDNA 的释放^[36,46-47]。(4) 在生长后期, PQS 对铜绿假单胞菌具有自我毒性作用,从而会导致细胞裂解释放 eDNA^[46]。此外, PQS 调控合成的绿脓菌素是促进生物被膜成熟的重要因子^[10],它也可通过诱导铜绿假单胞菌的裂解来促进 eDNA 释放,同时绿脓菌素还能与 eDNA 相互作用,使菌液的黏度增加,进一步加速生物被膜基质的物理化学相互作用,从而促进铜绿假单胞菌生物被膜形成^[44,48]。因此, PQS 对铜绿假单胞菌生物被膜形成、结构发育和分散等具有重要作用。

PQS 除了能够影响铜绿假单胞菌生物被膜形成外,也能够影响烟曲霉生物被膜的形成^[41]。Reen 等^[49]人通过研究发现 100 $\mu\text{mol/L}$ PQS 能够显著抑制烟曲霉生物被膜的形成。共聚焦显微镜分析结果表明,经 PQS 处理的烟曲霉细胞被锁定在孢子形态中,菌丝发育受到抑制,导致形成生物被膜的生物量明显减少^[49]。此外, Nazik 等^[41]研究表明 PQS 在不同铁浓度的培养条件下对烟曲霉生物被膜形成的影响。结果显示,在低铁培

养条件下, 外源添加 PQS 浓度达到 12 $\mu\text{mol/L}$ 时会显著抑制烟曲霉生物被膜的形成^[41], 同时当外源添加 PQS 浓度达到 6 $\mu\text{mol/L}$ 时能完全抑制烟曲霉已形成生物被膜的代谢活性^[41]。此外, 不产生铁载体的烟曲霉突变株 ΔsidA , 其生物被膜对 PQS 的敏感性是野生菌的 6 倍, 并且 ΔsidA 突变株对 PQS 这种强敏感现象可被外加 Fe^{3+} 所逆转^[41]。这些结果表明了在高铁环境中, PQS 能够显著抑制烟曲霉生物被膜形成和已形成生物被膜的代谢活性, 并且这种抑制作用是通过 PQS 螯合 Fe^{3+} 来实现的。然而在高铁培养条件下, PQS 却促进了烟曲霉生物被膜形成。研究发现与单独添加 Fe^{3+} 相比, PQS 与 Fe^{3+} 联合使用显著促进了烟曲霉生物被膜的形成和代谢活性^[41]。综上所述, PQS 能调控烟曲霉生物被膜形成并且其调控方式受铁的影响(图 2)。

3 PQS 介导细胞外膜囊泡的产生

在铜绿假单胞菌中, PQS 是疏水性分子且在水中的溶解度仅约为 1 mg/L ($\sim 5 \mu\text{mol/L}$)^[16]。那么 PQS 在胞外亲水环境中是如何运输呢? Mashburn 等^[50]发现存在于胞外的外膜囊泡(out-membrane vesicle, OMV)可以运输高度疏水性的 PQS。据报道, 在由铜绿假单胞菌 PA14 所

产生的 PQS 约有 80% 存在于 OMV 中^[51-52], OMV 中 PQS 不仅具有生物活性, 而且可以恢复 PQS 缺陷型突变体中毒力因子的产生^[51-52]。PQS 定位在 OMV 上的过程如下: PQS 可以镶嵌于细胞外膜上并促使外膜弯曲而促进 OMV 的产生, 并且成为 OMV 膜上的组成成分, 随 OMV 一起移动^[50-51]。因此, 在 PQS 缺陷型突变体 *pqsA* 和 *pqsH* 中, OMV 的产生显著降低, 而外源添加低浓度的 PQS, 可以使 *pqsA* 和 *pqsH* 突变体产生 OMV 的能力恢复到野生水平^[42,53]。此外, 存在于生物被膜中的 OMV 也与 PQS 有关。Cooke 等^[54]通过实验表明, 当铜绿假单胞菌中 PQS 合成量减少时, 也会损害生物被膜中 OMV 的产生。然而, PQS 在生物合成过程中是需要氧气参与的, 在缺氧条件下, 铜绿假单胞菌会持续显示出较低水平的 OMV^[16,29]。同样, 外膜蛋白 OprF 也可以通过调节 PQS 的生成从而影响 OMV 的产生^[55]。这些工作支持了以下观点: 在没有 PQS 的情况下, 铜绿假单胞菌 OMV 的产生会大大减少, 即 PQS 可诱导铜绿假单胞菌 OMV 的生物发生。此外, 外源添加 PQS 不仅可作为其他革兰氏阴性细菌形成 OMV 的诱导因子^[56-57], 而且还可以诱导革兰氏阳性细菌甚至红细胞产生 OMV^[58-59]。这些发现表明, PQS 诱导 OMV 的生物发生不是通

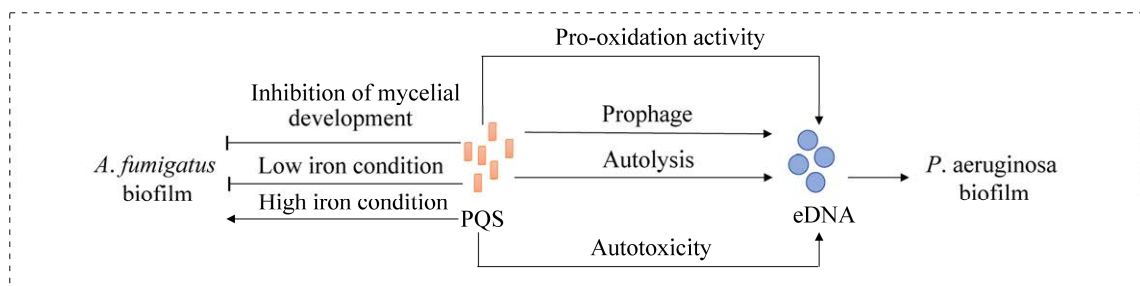


图 2 PQS 影响铜绿假单胞菌及烟曲霉生物被膜形成的示意图

Figure 2 Schematic diagram of PQS affecting the biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Aspergillus fumigatus*. The black arrow indicates activation, the black T-line indicates inhibition.

过信号传导机制或通过诱导涉及蛋白质从头合成的级联反应而起作用,可能是一个完全独立的过程^[60]。从这些最初观察中, Schertzer 和 Whiteley 根据 PQS 对外膜的生物物理影响提出了 OMV 生物发生模型,即双分子层-耦合模型^[58]。

该双分子层-耦合模型纯粹从生物物理角度描述了 PQS 诱导铜绿假单胞菌 OMV 生物发生的过程^[58,60]。该模型显示 PQS 首先与外膜上脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的类脂 A 组分(主要为酰基链和 4'-磷酸)发生强烈地相互作用,从而刺激 LPS 形成脂质体样结构^[61],引起外膜弯曲并最终导致 OMV 产生^[58]。特别是,由于 PQS 通过与脂类 A 相互作用而降低 LPS 流动性并进一步整合进外膜的外层,从而促进外膜扩张并因此引起外膜弯曲(图 3)^[51]。这个过程首先是 PQS 通过与 LPS 中 4'-磷酸基团结合的二价阳离子(Mg^{2+} 和 Ca^{2+})相互作用^[14],而破坏 LPS 分子之间 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 盐桥并使 LPS 不稳定^[58-59];接着,

LPS 和 PQS 之间的阴离子相互排斥作用会在 PQS 积累的部位诱导外膜弯曲,从而形成 OMV^[58-59]。这个模型详细说明了在没有外界胁迫的情况下 PQS 诱导 OMV 产生的一般机制。相反,另外一些研究却表明,不管是在胁迫还是在非胁迫条件下, PQS 对液体培养中铜绿假单胞菌 OMV 的产生是非必需的^[62-63]。对此, Florez 等^[60]研究揭示铜绿假单胞菌 OMV 在无外界胁迫下的生物发生机制,发现 PQS 的分泌影响 OMV 的生物发生,可能有助于解释这些研究之间的矛盾^[60]。他们首先提出假设,即 PQS 必须分泌出细胞外才能促进 OMV 的生物发生。为了检验这一假说并研究 PQS 分泌对 OMV 产生的影响,他们首先检测了铜绿假单胞菌实验室菌株(PA14 和 PAO1)和临床分离菌株中 PQS 的合成和分泌以及 OMV 的产生。他们发现 PA14 和 PAO1 之间 PQS 分泌存在显著差异与 OMV 的产生密切相关。通过细胞组分分离分析表明,强

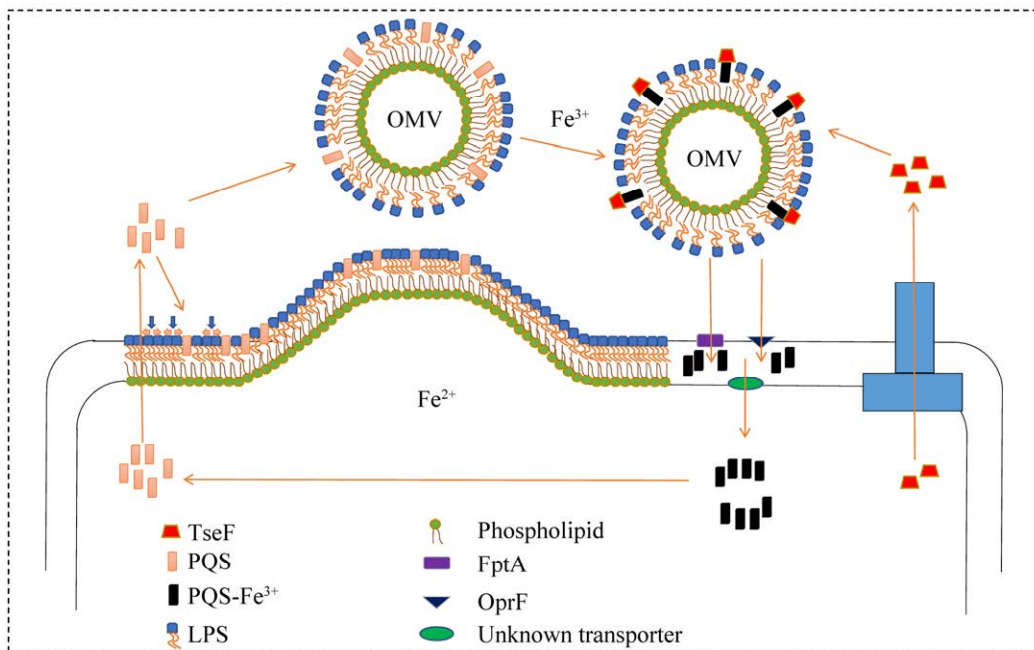


图 3 PQS 介导铜绿假单胞菌外膜囊泡的产生以及参与铁摄取的示意图

Figure 3 Schematic diagram of PQS mediating *Pseudomonas aeruginosa* outer-membrane vesicle biogenesis and iron acquisition. The arrows in the figure represent the information flow.

OMV 产生者(PA14)和弱 OMV 产生者(PAO1)的 PQS 在膜上分布是显著不同的。在不能有效分泌 PQS 的弱 OMV 产生者中,大多数 PQS 存在于内膜,而在强 OMV 产生者的内膜中仅发现少量 PQS。尽管如此,两种类型 OMV 产生者的生长速率相似,产生 PQS 数量也相似,这表明 PQS 的空间分布决定了 OMV 的产生数量。研究人员还发现,随着时间推移,每个菌株中 PQS 在内外膜上的分布是稳定的,但这种分布会随着生长培养基的改变而发生改变,从而使 OMV 的产生也发生相应地变化^[49]。该研究证明了 PQS 在内外膜上的分布与 OMV 生物发生之间存在直接地相关性。因此,通过调节 PQS 的定位,研究人员可以控制 OMV 的产生^[49]。不仅如此,在铜绿假单胞菌中由 PQS 介导产生 OMV 还与生物被膜的分散有关。Adam 等研究表明 OMV 可以作为一种新型调节剂来分散生物被膜^[42,54]。他们发现 PQS 诱导 OMV 产生在生物被膜形成过程中是高度动态的。与附着和成熟阶段的生物被膜相比,PQS 和 OMV 的产生量在生物被膜分散过程中显著提高,并且在 *pqsA* 突变体和 *pqsH* 突变体中,生物被膜的分散能力显著降低,而通过遗传互补或者外源添加 PQS 则可以挽救这种表型^[42,54]。此外,OMV 可以主动降解胞外蛋白质、脂质和 DNA^[42,54]。因此可以在生物被膜分散过程中提高 PQS 诱导的 OMV 的产生,通过调控生物被膜基质成分的降解来促进生物被膜分散。总之,PQS 具有通过其非 QS 信号作用介导 OMV 产生的功能。

4 PQS 参与铁摄取

PQS 除了作为群体感应信号分子外,还具有铁(Fe^{3+})螯合活性,可以促进铁饥饿相关基的表达^[16,23,64]。通过对铜绿假单胞菌应答外源添加 40 $\mu\text{mol/L}$ PQS 的转录组分析发现,有 66 个与铁

饥饿相关的基因表达上调^[65],其中包括铁载体 pyoverdine 和 pyochelin 生物合成的相关基因^[27]。铜绿假单胞菌 PQS 大约有 60%结合在细胞膜上^[66-67]。在富铁条件下,铜绿假单胞菌细胞膜上的 PQS 会由于吸附 Fe^{3+} 而使细胞变成粉红色^[68]。据推测,这一作用使铜绿假单胞菌能在铁丰富的环境中将 Fe^{3+} 存储在细胞表面,当环境改变时可为细胞提供铁源以应对缺铁的不利环境^[66]。此外,当 *pqsR* 突变后,在 LB 培养基中外源添加 PQS 可以使 *pqsA* 和 *pqsR* 的表达上升^[19]。对此合理的解释可能是因为 PQS 的铁螯合活性降低了 LB 培养基中有效铁水平,触发了铁饥饿反应,从而通过独立于 PqsR 的其他调控途径激活了 *pqsA* 和 *pqsR*。另外,最近研究发现 PQS 可以调节烟曲霉对铁的反应^[27,41]。Chatterjee 等^[27]研究表明 PQS 可能在烟曲霉铁响应中起双重作用。在富铁环境中,PQS 以烟曲霉铁载体依赖的方式促进烟曲霉的生长,而在低铁环境中,PQS 却通过其铁螯合活性螯合环境中的铁从而抑制烟曲霉的生长^[27,41]。因此,铜绿假单胞菌的 PQS 可能作为一种铁捕获剂而储存 PQS-Fe^{3+} 在细胞膜上, PQS-Fe^{3+} 上的铁可被其他铁载体间接转运到自身或其他细胞内^[68-69]。虽然这是一个有趣的解释,但可能还不够充分^[66]。例如,Rampioni 等^[70]揭示铜绿假单胞菌铁载体相关基因的表达也强烈依赖于 PqsE,表明 PQS 的铁捕获作用并不能完全控制铁载体相关基因的表达。Hazan 等^[71]的研究显示当铁与 PQS 结合时,铁可能通过降低 PQS 活性,从而抵消 PQS 介导的基因表达调控的能力。此外,在缺铁培养基中,添加 PQS-Fe^{3+} 与添加 FeCl_3 的效果类似,它们均能有效促进铁载体缺失突变体 $\Delta\text{pvdD}\Delta\text{pchEF}$ 的生长^[66]。铜绿假单胞菌还表达血红素、亚铁和柠檬酸铁摄取系统,其中任何一种铁摄取系统都可以根据生长条件来介导铁的吸收^[72]。此外,只

要存在还原剂,新鉴定的铜绿假单胞菌金属载体 pseudopaline 也可能从被还原的 PQS-Fe³⁺中摄取亚铁^[73-74]。然而,如果 PQS-Fe³⁺仅仅扮演铁捕获剂的角色,将铁传递给铁载体依赖的铁摄取系统很可能不会有促进生长的作用。因此,作为细胞膜上的铁捕获与储存剂,PQS 也可能作为铁载体直接将铁转运至胞内。

之前,本题组报道了铜绿假单胞菌 PAO1 可以以 TseF 介导的方式直接摄取 PQS-Fe³⁺ (图 3)^[64],同时突变三套主要铁摄取系统(pyoverdine 介导的铁摄取系统、pyochelin 介导的铁摄取系统以及介导二价铁摄取的 Feo 系统)的铜绿假单胞菌突变株 PAΔ3Fe 仍然能够在限铁培养基中生长,这暗示铜绿假单胞菌中还存在其他未被鉴定的铁摄取系统。为此,以 PAΔ3Fe 作为出发菌株通过转座子突变体库筛选,鉴定到铜绿假单胞菌第 3 套 VI 型分泌系统(H3-T6SS)基因簇内部的 1 个基因 tseF 突变后在限铁培养基中显示出明显的生长缺陷表型。通过蛋白分泌试验和 GST Pull-down 试验证实 TseF 是 H3-T6SS 的效应蛋白。为了进一步探究 TseF 在铜绿假单胞菌中参与铁摄取的作用机制,该研究首先通过 Native-PAGE 迁移试验、LC-MS、PQS 亲和探针结合试验、fat Western blotting、等温滴定量热法(isothermal titration calorimetry, ITC)试验和生长曲线试验等多种手段发现 TseF 专一性地结合具有铁螯合活性的胞外信号分子 PQS 并介导细胞对 PQS-Fe³⁺的摄取。随后,再通过 GST pull-down 和生长曲线等试验发现 TseF 分别与 pyochelin-Fe³⁺受体蛋白 FptA 和孔蛋白 OprF 直接互作,并确定 TseF 在细胞铁摄取中的作用是作为 PQS-Fe³⁺与受体 FptA 或 OprF 之间的纽带而介导 PQS-Fe³⁺通过受体 FptA 或 OprF 进入细胞。蛋白外膜囊泡 OMV 定位试验和外源添加 OMV 的生长曲线试验等手段进一步发现分泌的

TseF 通过与 PQS-Fe³⁺结合而随同 PQS-Fe³⁺一起定位在 OMV 上,并通过 OMV 将 TseF-PQS-Fe³⁺复合物运输到细胞表面与其受体结合。由此推测在限铁条件下铜绿假单胞菌 H3-T6SS 分泌的 TseF 蛋白通过与 PQS-Fe³⁺结合而随同 PQS-Fe³⁺一起定位在 OMV 上,并通过 OMV 将 TseF-PQS-Fe³⁺复合物运输到细胞表面与其受体 FptA 或 OprF 结合而介导 PQS-Fe³⁺通过受体 FptA 或 OprF 进入细胞的铁摄取机制^[64]。然而,该铁摄取系统的工作效率比较低^[64],这或许与 PQS 还有另一种选择,即将铁传递给其他铁载体而实现更高效铁摄取过程有关。此外,该研究还显示 PQS-Fe³⁺和 pyochelin-Fe³⁺共用外膜受体 FptA^[64]。故 PQS-Fe³⁺很可能也与 pyochelin-Fe³⁺共用内膜转运蛋白。因此,PQS 除了能帮助其他铁载体获得铁外,其本身也具有铁载体的功能。与在限铁培养条件下 PQS 与 H3-T6SS/TseF 协同作用显示出铁载体的功能相比,通过 LC-MS、蛋白组学分析、电子顺磁共振(EPR)波谱分析、lacZ 转录融合、氧化胁迫和 ROS 分析,发现在富铁培养条件下 H3-T6SS 不仅通过上调 Dps 等储铁蛋白的表达降低胞内游离 Fe²⁺水平,还通过抑制 PQS 的合成,协同增强铜绿假单胞菌对 H₂O₂ 胁迫的抗性^[75]。这些结果表明,PQS 与 H3-T6SS/TseF 通过调节胞内铁稳态在铜绿假单胞菌的环境适应性方面发挥着重要的作用。

5 PQS 调节宿主免疫反应

对 PQS 在铜绿假单胞菌致病机制中的功能研究主要集中在其调节毒力因子产生方面^[16]。然而,与 3-oxo-C12-HSL 可以抑制由脂多糖(LPS)刺激引起的巨噬细胞分泌白介素 12 (interleukin-12, IL-12)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor-α, TNF-α)并消除 T 细胞增殖^[72,76]的表型类似,PQS 也可通过发挥宿主的免疫调节作用直接作用于

宿主细胞^[77](图 4)。通过 J774A.1 小鼠巨噬细胞模型分析发现 PQS 可调节与免疫反应和细胞因子生成的几个关键基因的表达^[78]。Abdalla 等^[79]也证明了这一点, 他们发现 PQS 体外处理能增加肺上皮细胞中活性氧(reactive oxygen species, ROS)的生成并通过抑制 Nrf2 途径从而抑制肺细胞系中血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1)蛋白的表达水平。其他课题组还证实了 PQS 处理能抑制由伴刀豆球蛋白 A 刺激引起的人外周血单核细胞 (human peripheral blood mononuclear cell, hPBMC) 的细胞增殖和白细胞介素 12 的释放^[80]。此外, 当浓度超过 10 $\mu\text{mol/L}$ PQS 刺激后, PQS 可以促使 TNF- α 从 hPBMC 中释放出来, 反之, PQS 在低浓度(1–5 $\mu\text{mol/L}$) 时可以抑制 TNF- α 产生^[80]。同时, PQS 处理阻碍了 LPS 刺激引起的骨髓源性树突状细胞产生白细胞介素 12, 从而降低了 T 细胞的增殖能力和自

适应免疫防御抗菌活性^[81]。此外, PQS 可以通过阻止核转录因子 κB (nuclear transcription factor- κB , NF- κB)与其靶 DNA 的结合而抑制 NF- κB 活性及其靶基因的表达, 从而下调宿主先天免疫系统的活性^[82-83]。PQS 还可以激活气道上皮苦味觉受体(taste family 2 bitter receptor proteins, T2Rs)进而刺激 T2R 介导的免疫反应^[84]。最近研究显示 PQS 还可通过上调炎症小体传感器 NLRC4 (a type of nucleotide-binding domain-like receptor NLR)和半胱氨酸蛋白酶 Caspase1, 以及下调 NLRP3 (a type of nucleotide-binding domain-like receptor NLR)和白细胞介素 -1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)等炎症相关蛋白的表达来激活炎症小体进而调节巨噬细胞的炎症反应^[85]。此外该研究还发现 PQS 能上调人巨噬细胞中白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、TNF- α 和干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)等促炎细胞因子表达,

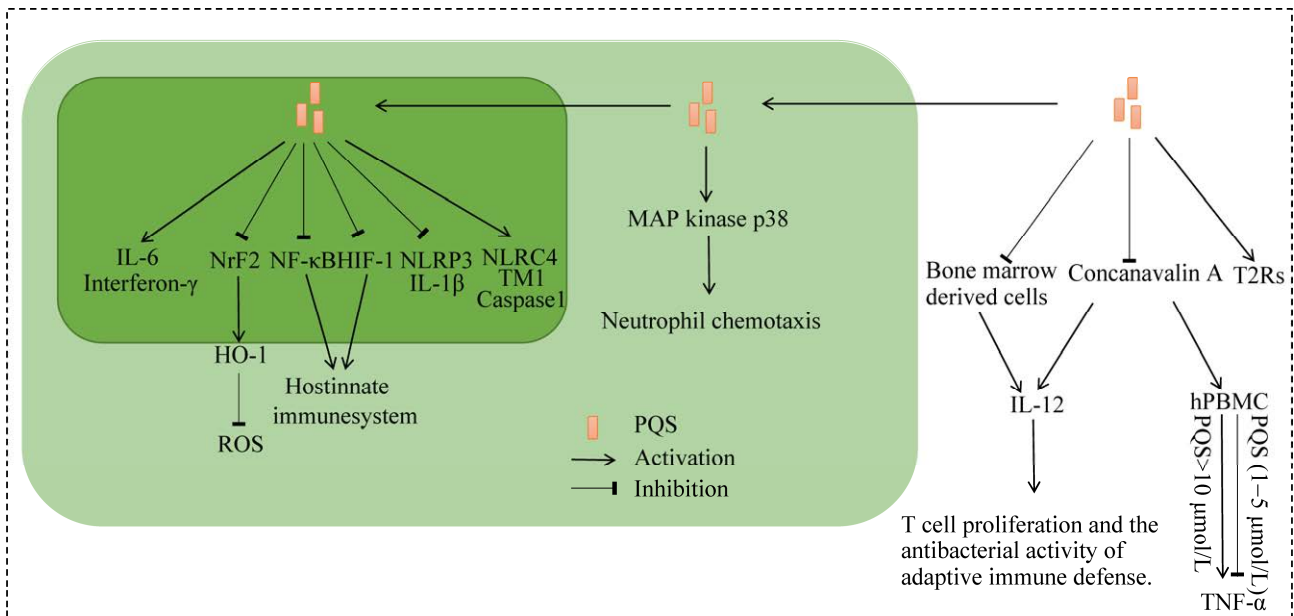


图 4 PQS 介导宿主免疫活性的调控示意图

Figure 4 Schematic diagram of PQS mediated host immune activity. ROS: Reactive oxygen species; Nrf2: Transcription factor Nrf2; HO-1: Heme oxygenase-1; NF- κB : Nuclear transcription factor- κB ; HIF-1: Hypoxia-inducible factor 1; IL-1 β , NLRC4 and Caspase1: Inflammation-related genes; T2Rs: Taste family 2 bitter receptor protein; IL-12: Interleukin 12; hPBMC: Human peripheral blood mononuclear cells; TNF- α : Tumor necrosis factor α . The black arrow indicates activation, the black T-line indicates inhibition.

从而促进铜绿假单胞菌感染巨噬细胞^[85]。而 PQS 通过刺激 IL-6 细胞因子的产生,还能通过调节细胞凋亡调控基因的表达来诱导骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 发生凋亡^[86]。缺氧诱导因子 1 (hypoxia inducible factor-1, HIF-1) 是细胞对游离氧水平非常敏感的转录因子, PQS 可通过诱导 26S 蛋白酶体蛋白水解途径降解 HIF-1 α 蛋白来抑制 HIF-1 α 的积累,从而干扰 HIF-1 信号途径^[83]。PQS 也被发现可以通过激活 MAP 激酶 p38 活性而增强中性粒细胞的趋化性,但却不会影响中性粒细胞的吞噬能力和生存能力^[87]。总而言之,这些研究表明了 PQS 在整个感染过程中对宿主免疫反应的异常调节发挥着关键的作用。因此, PQS 可能通过抑制不同宿主的免疫功能而帮助铜绿假单胞菌能在宿主中更好地生存下来。

6 PQS 介导细胞毒性

众所周知,在 4-喹诺酮家族中, PQS 及其众多成员都具有抗微生物活性^[88-89]。因而, PQS 具有浓度依赖性的毒性作用^[16,46,66,90](图 5)。在有氧条件下,外源添加 PQS 于铁充足或铁缺乏的培养基中都可以导致铜绿假单胞菌的生长延迟期被延长并且降低了其生长速率^[64,91]。PQS 对细菌生长的影响不同于抗生素,后者以抑菌或杀菌的方式起作用,而 PQS 则导致细菌生长变慢^[92]。潜在机制可能是 PQS 会耗尽培养基中的铁或引起氧化胁迫作用。有研究表明,当外源添加 PQS 于铁缺乏的培养基中时,与野生型菌株相比,无法产生铁载体的铜绿假单胞菌突变体的生长受到了极大抑制,但是当外源添加 PQS-Fe³⁺ 或 FeCl₃ 可以恢复其生长,消除这种抑制作用^[66]。Toyofuku 等^[92]结果表明,在培养基中添加铁会

致使 PQS 抑制能力显著降低,表明铁螯合活性可能与 PQS 抑制作用的大小有关。这些数据表明,铁的可得性在这种生长抑制中具有举足轻重的作用,这可能是由于 PQS 的铁螯合活性所致。同样,铁会通过生成铁-药物复合物降低某些药物(包括四环素)的临床疗效^[93]。因此,铁可能会通过形成 PQS-Fe³⁺ 沉淀物而抑制 PQS 的功能。在这一点上,很难确定添加铁解除 PQS 对细胞的生长抑制作用,是由于补充铁使培养基从缺铁状态变成富铁状态,还是由于铁与 PQS 形成沉淀而降低 PQS 的毒性^[92]。据报道,生长受 PQS 抑制的细菌与产生铁载体的细菌之间没有相关性,这与是否产生铁载体决定了细菌对 PQS 的敏感性的假设背道而驰^[92]。因此,其他因素可能才是造成细菌对 PQS 敏感的原因。

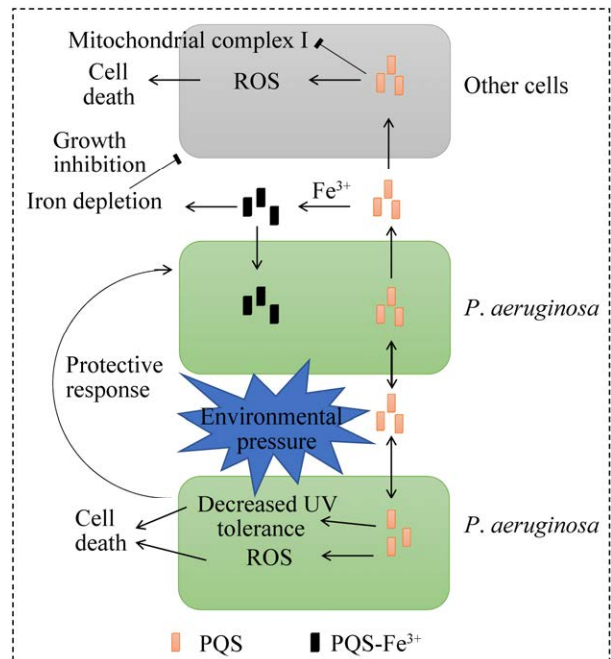


图 5 PQS 介导细胞毒性的调控示意图

Figure 5 Schematic diagram of regulation of PQS mediated cytotoxicity. The black arrow indicates activation, the black T-line indicates inhibition.

抗菌药物常见的细胞杀伤机制在于诱导细胞产生羟基自由基($\cdot\text{OH}$)^[94-95], 与之相类似, PQS 也可以诱导 ROS 的产生并导致对铜绿假单胞菌自身的毒性作用^[46-47,96]。在真核生物中, PQS 可以促进巨噬细胞和肺上皮细胞中的氧化胁迫^[79]。红色的 PQS- Fe^{3+} 复合物赋予铜绿假单胞菌对秀丽隐杆线虫造成“红色死亡”的致死表型^[97]。此外, Szamosvári 等^[98]研究发现 5 $\mu\text{mol/L}$ 的 PQS 能显著抑制卡他莫拉氏菌和脑膜炎奈瑟氏球菌的生长, 其机制可能是 PQS 通过靶向抑制细胞的能量代谢, 从而导致细胞 ATP 库的快速耗尽。同时, PQS 使铜绿假单胞菌对紫外线-A (Ultraviolet-A, UV-A)的辐射更加敏感, 可能起内源性光敏剂的作用^[96]。PQS 对 UVA 的吸收会导致其自身的光降解以及单线态氧和超氧阴离子的产生, 从而在 UVA 辐射下增加对生物靶标的氧化损伤, 使铜绿假单胞菌与肠道细菌相比对 UVA 的敏感性更高^[96]。此外, PQS 已被证明可通过促进细胞的凋亡来为群体中的某些细胞提供保护, 从而在铜绿假单胞菌种群中起到平衡生长和死亡的作用^[47]。因此, 当铜绿假单胞菌与竞争性微生物一起培养时, PQS 对微生物生长的抑制作用可能会调节微生物群落的结构并赋予铜绿假单胞菌在群落中的生存优势。

PQS 介导的细胞毒性作用尽管在表型上的已有很多描述, 但其作用机制依然不清楚, 特别是 PQS 在细胞中的作用靶标还未被确定。最近, Rieger 等^[99]研究表明 PQS 对 HeLa 和 A549 细胞的线粒体呼吸有毒害作用, 它可以专一性抑制呼吸链的复合物 I。体外分析显示, PQS 在复合物 I 的 I_Q 位点对泛醌有部分竞争性抑制作用^[99]。该研究提示 PQS 可能通过靶向抑制细胞的呼吸链而对细胞产生毒性。当然仍需更多试验证据来证明该结论, 特别是在原核细胞里面。

7 PQS 提供种群保护

群游(*swarming*)是细胞利用鞭毛和表面活性剂以多细胞群的形式在固体表面移动的一种群体行为^[100]。对于铜绿假单胞菌来说, 群游表现为从接种部位向外运动形成具有卷须状形态的菌苔^[101]。事实上, 鼠李糖脂和 3-(3-羟基烷氧基)烷酸[3-(3-hydroxyalkanoyloxy) alkanolic acid, HAAS]能调节铜绿假单胞菌成群卷须之间的排斥和吸引, 是种群发生群游运动的必需因子^[102]。然而, 当铜绿假单胞菌种群应对噬菌体和抗生素的环境胁迫时, 鼠李糖脂和 HAAS 并不是调节各亚群之间产生排斥和吸引作用以及引起群游运动改变的原因, 而 PQS 可以作为一种应激信号排斥铜绿假单胞菌健康亚群远离噬菌体和抗生素从而使整个种群遭受这些逆境的伤害降到最低^[103]。在受噬菌体感染的铜绿假单胞菌亚群中, PQS 生物合成基因 *pqsA*、*pqsB* 和 *pqsH* 的表达显著高于未被感染的亚群, 且 PQS 可以通过已被噬菌体感染的亚群所诱导并释放^[103]。重要的是, PQS 的释放抑制了未感染铜绿假单胞菌亚群的群游运动, 从而排斥其接近感染区域, 降低了噬菌体感染扩散到整个种群其他区域的可能性(图 6)^[103]。经抗生素处理的铜绿假单胞菌应激反应与噬菌体感染相类似。庆大霉素处理后抑制了种群的群游运动, 并导致未处理的健康亚群边缘被排斥。而在 *pqsH* 缺失的菌株中这种排斥作用消失了, 表明抗生素诱导的群体运动排斥作用依赖于 PQS^[103]。此外, PQS 合成基因 *pqsA* 的转录水平在庆大霉素处理后被显著诱导^[103]。并且通过对经抗生素处理的铜绿假单胞菌排斥区域的琼脂提取物进行质谱分析后检测到了 PQS 的存在^[103]。这些结果表明庆大霉素处理抑制了铜绿假单胞菌种群发生群游运动, 且 PQS

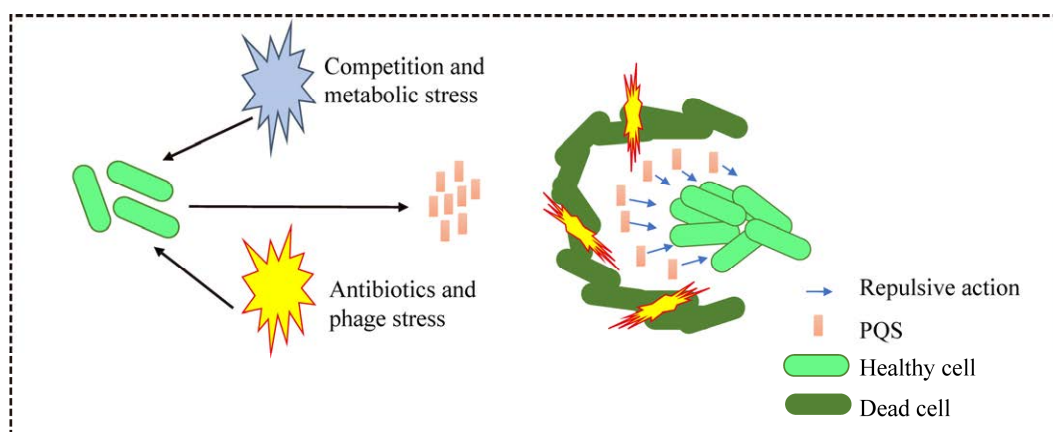


图 6 PQS 帮助铜绿假单胞菌应对环境胁迫并提供种群保护的示意图

Figure 6 Schematic diagram of PQS helping *Pseudomonas aeruginosa* respond to environmental stress and provide population protection. The black arrow indicates activation.

的分泌和扩散能被庆大霉素处理所诱导,以驱离未经处理的铜绿假单胞菌健康亚群避开暴露于庆大霉素的应激亚群,从而逃避庆大霉素的杀伤作用(图 6)。为了更清楚地了解抗生素压力胁迫下 PQS 介导铜绿假单胞菌的应激反应, Morales-Soto 等^[104]使用共聚焦拉曼显微镜监测了抗生素处理引起铜绿假单胞菌 PQS 产生的表型反应和空间分布特性。结果显示,在未经妥布霉素处理的铜绿假单胞菌群体中, PQS 主要分布在群体中心;而经高剂量的妥布霉素处理后, PQS 则主要集中在靠近妥布霉素的群体边缘区域。这表明当铜绿假单胞菌种群应对妥布霉素胁迫时, PQS 在群体中空间分布会发生明显改变,即在妥布霉素存在的情况下, PQS 的产量会在铜绿假单胞菌种群应对妥布霉素的胁迫时增加,从而保护其他未受妥布霉素处理区域的铜绿假单胞菌亚群免受妥布霉素的毒害作用。PQS 的这种特性与其作为铜绿假单胞菌重要的胁迫响应信号密切相关^[46,101,105],因为多种环境胁迫都能诱导铜绿假单胞菌 PQS 的产生。Cao 等^[106]利用化学成像技术揭示了大肠杆菌存在时的竞

争压力能够促进铜绿假单胞菌 PQS 的产生。当铜绿假单胞菌和大肠杆菌以彼此相距 12 mm 的距离接种在含 0.7%琼脂的 FAB-葡萄糖半固体琼脂培养基上共同培养时,使用高光谱拉曼成像技术评估了铜绿假单胞菌 PQS 信号分子的时空分布。结果显示,相比于铜绿假单胞菌单独培养 96 h 后才能检测到 PQS,与大肠杆菌共培养则使铜绿假单胞菌 PQS 产生的时间提早到 48 h,说明大肠杆菌的存在能更早地诱导铜绿假单胞菌产生 PQS^[106]。随后,研究人员先将铜绿假单胞菌接种于在含 0.5%琼脂的 FAB-葡萄糖半固体培养基上培养 18 h,然后再将大肠杆菌的无细胞上清液滴在铜绿假单胞菌生长区域的边缘,只需继续培养 6 h 就能检测到 PQS 开始产生^[106]。因此,大肠杆菌无细胞上清液能高效诱导铜绿假单胞菌产生 PQS,甚至比与大肠杆菌共培养对铜绿假单胞菌 PQS 产生的刺激作用更快速。与大肠杆菌相类似,金黄色葡萄球菌的无细胞上清液也能够快速诱导铜绿假单胞菌产生 PQS^[106]。这些结果说明其他细菌对铜绿假单胞菌施加的竞争压力能够诱导铜绿假单胞菌产生 PQS,并且

铜绿假单胞菌与其他细菌之间的直接接触不是诱导铜绿假单胞菌产生 PQS 的必需条件, 因为其他细菌的无细胞上清液中包含的可溶性因子足以诱导 PQS 的产生, 而 Horspool 和 Schertzer 等最近的研究结果或许能够解释这些现象。他们的研究显示大肠杆菌的无细胞上清液能够刺激铜绿假单胞菌 OMVs 的产生, 而 OMVs 是 PQS 的主要递送载体^[53]。因此, 其他细菌的无细胞上清液可能通过刺激铜绿假单胞菌 OMVs 的产生而诱导 PQS 的产生。此外, 除了生长竞争压力外, Cao 等^[106]还分析了营养限制引起的代谢压力对铜绿假单胞菌 PQS 产生的影响。当铜绿假单胞菌以 12 mmol/L 的葡萄糖为碳源培养时, PQS 在铜绿假单胞菌生长 96 h 后才能被检测到。然而, 当葡萄糖浓度降低到 6 mmol/L 时, PQS 提早到铜绿假单胞菌培养 48 h 就能被检测到。因此, 营养限制引起的代谢压力也能够促进铜绿假单胞菌 PQS 的产生。综上, 对于铜绿假单胞菌来说, 其他细菌存在的生长竞争压力和营养限制引起的代谢压力都能够诱导 PQS 的产生。总而言之, 铜绿假单胞菌 PQS 的产生与其种群应对环境压力之间存在密切关系, 即在环境胁迫的刺激下, 铜绿假单胞菌能够利用自身群体产生 PQS 并形成空间差异分布的这一特性, 帮助菌群应对各种环境胁迫, 从而有利于整个群体的生存。

8 结论

铜绿假单胞菌的 PQS 系统已被广泛研究, 虽然大部分的研究工作都集中在 PQS 作为信号分子介导的群体感应方面, 但也有很多研究发现了 PQS 非信号分子方面的功能, 如 PQS 能够影响铜绿假单胞菌及烟曲霉生物被膜的形成, 参与铜绿假单胞菌外膜囊泡的生物发生和铁摄取, 调

控宿主的免疫反应, 介导细胞毒性和提供种群保护等。PQS 的产生可能会帮助铜绿假单胞菌获取营养, 有利于铜绿假单胞菌应对各种环境胁迫, 从而造成严重的致病性及持续感染。因此, 铜绿假单胞菌 PQS 介导的群体感应似乎并不是其主要功能, 相反它所扮演的角色更类似于化学生态学中化感作用的化感物质。本综述通过对铜绿假单胞菌 PQS 的功能总结, 有助于人们更系统和清楚地了解 PQS 在铜绿假单胞菌致病、耐药和环境适应方面的作用, 为最终针对 PQS 靶点而寻找解决铜绿假单胞菌多重耐药及持续感染等方法提供思路。此外, 我们推测 PQS 可能还具有许多未知的功能, 需要更多的研究去探索。

参考文献

- [1] MIELKO KA, JABŁOŃSKI SJ, MILCZEWSKA J, SANDS D, ŁUKASZEWICZ M, MŁYNARZ P. Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2019, 35(11): 178.
- [2] WHEATLEY RM, CABALLERO JD, van der SCHALK TE, DE WINTER FHR, SHAW LP, KAPEL N, RECANATINI C, TIMBERMONT L, KLUYTMANS J, ESSER M, LACOMA A, PRAT-AYMERICH C, OLIVER A, KUMAR-SINGH S, MALHOTRA-KUMAR S, CRAIG MACLEAN R. Gut to lung translocation and antibiotic mediated selection shape the dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* in an ICU patient[J]. Nature Communications, 2022, 13(1): 6523.
- [3] GHANEM SM, ABD EL-BAKY RM, ABOUREHAB MAS, FADL GFM, GAMIL NGFM. Prevalence of quorum sensing and virulence factor genes among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients suffering from different infections and their association with antimicrobial resistance[J]. Infection and Drug Resistance, 2023, 16: 2371-2385.
- [4] AZAM MW, KHAN AU. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Drug Discovery Today, 2019, 24(1): 350-359.

- [5] ZUPETIC J, PEÑALOZA HF, BAIN W, HULVER M, METTUS R, JORTH P, DOI Y, BOMBERGER J, PILEWSKI J, NOURAIE M, LEE JS. Elastase activity from *Pseudomonas aeruginosa* respiratory isolates and ICU mortality[J]. *Chest*, 2021, 160(5): 1624-1633.
- [6] MATEU-BORRÁS M, ZAMORANO L, GONZÁLEZ-ALSINA A, SÁNCHEZ-DIENER I, DOMÉNECH-SÁNCHEZ A, OLIVER A, ALBERTÍ S. Molecular analysis of the contribution of alkaline protease A and elastase B to the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2022, 11: 816356.
- [7] LÉTOFFÉ S, WU YZ, DARCH SE, BELOIN C, WHITELEY M, TOUQUI L, GHIGO JM. *Pseudomonas aeruginosa* production of hydrogen cyanide leads to airborne control of *Staphylococcus aureus* growth in biofilm and *in vivo* lung environments[J]. *mBio*, 2022, 13(5): e0215422.
- [8] MORGAN RN, SALEH SE, FARRAG HA, ABOSHANAB KM. New insights on *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A-based immunotoxins in targeted cancer therapeutic delivery[J]. *Therapeutic Delivery*, 2023, 14(1): 31-60.
- [9] TWIGG MS, ADU SA, SUGIYAMA S, MARCHANT R, BANAT IM. Mono-rhamnolipid biosurfactants synthesized by *Pseudomonas aeruginosa* detrimentally affect colorectal cancer cells[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(12): 2799.
- [10] DÍAZ-PÉREZ SP, SOLIS CS, LÓPEZ-BUCIO JS, VALDEZ ALARCÓN JJ, VILLEGAS J, REYES-DE LA CRUZ H, CAMPOS-GARCIA J. Pathogenesis in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilm-associated is dependent on the pyoverdine and pyocyanin siderophores by quorum sensing modulation[J]. *Microbial Ecology*, 2023, 86(1): 727-741.
- [11] SMITH P, SCHUSTER M. Antiactivators prevent self-sensing in *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2022, 119(25): e2201242119.
- [12] NEALSON KH, PLATT T, HASTINGS JW. Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system[J]. *Journal of Bacteriology*, 1970, 104(1): 313-322.
- [13] MARKUS V, PAUL AA, TERALı K, ÖZER N, MARKS RS, GOLBERG K, KUSHMARO A. Conversations in the gut: the role of quorum sensing in normobiosis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(4): 3722.
- [14] MENG XF, AHATOR SD, ZHANG LH. Molecular mechanisms of phosphate stress activation of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing systems[J]. *mSphere*, 2020, 5(2): e00119-e00120.
- [15] LIN JS, CHENG JL. Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* and its relationship to biofilm development[M]//ACS Symposium Series. Washington, DC: American Chemical Society, 2019: 1-16.
- [16] LIN JS, CHENG JL, WANG Y, SHEN XH. The *Pseudomonas* quinolone signal (PQS): not just for quorum sensing anymore[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2018, 8: 230.
- [17] KOSTYLEV M, KIM DY, SMALLEY NE, SALUKHE I, GREENBERG EP, DANDEKAR AA. Evolution of the *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing hierarchy[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(14): 7027-7032.
- [18] LEE J, ZHANG LH. The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Protein & Cell*, 2015, 6(1): 26-41.
- [19] RAMPIONI G, FALCONE M, HEEB S, FRANGIPANI E, FLETCHER MP, DUBERN JF, VISCA P, LEONI L, CÁMARA M, WILLIAMS P. Unravelling the genome-wide contributions of specific 2-alkyl-4-quinolones and PqsE to quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *PLoS Pathogens*, 2016, 12(11): e1006029.
- [20] HODGKINSON JT, GROSS J, BAKER YR, SPRING DR, WELCH M. A new *Pseudomonas* quinolone signal (PQS) binding partner: MexG[J]. *Chemical Science*, 2016, 7(4): 2553-2562.
- [21] BAKER YR, HODGKINSON JT, FLOREA BI, ALZA E, GALLOWAY WRJD, GRIMM L, GEDDIS SM, OVERKLEEFTHS, WELCH M, SPRING DR. Identification of new quorum sensing autoinducer binding partners in *Pseudomonas aeruginosa* using photoaffinity probes[J]. *Chemical Science*, 2017, 8(11): 7403-7411.
- [22] DANDELA R, MANTIN D, CRAVATT BF, RAYO J, MEIJLER MM. Proteome-wide mapping of PQS-interacting proteins in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Chemical Science*, 2018, 9(8): 2290-2294.
- [23] GARCÍA-REYES S, SOBERÓN-CHÁVEZ G, COCOTL-YANEZ M. The third quorum-sensing system of *Pseudomonas aeruginosa*: *Pseudomonas* quinolone signal and the enigmatic PqsE protein[J]. *Journal of Medical Microbiology*, 2020, 69(1): 25-34.

- [24] MICHALET S, ALLARD PM, COMMUN C, NGOC VTN, NOUWADE K, GIOIA B, DIJOUX-FRANCA MG, WOLFENDER JL, DOLÉANS-JORDHEIM A. Alkyl-Quinolones derivatives as potential biomarkers for *Pseudomonas aeruginosa* infection chronicity in Cystic Fibrosis[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 20722.
- [25] ZAIN NMM, WEBB K, STEWART I, HALLIDAY N, BARRETT DA, NASH EF, WHITEHOUSE JL, HONEYBOURNE D, SMYTH AR, FORRESTER DL, KNOX AJ, WILLIAMS P, FOGARTY A, CÁMARA M, BRUCE KD, BARR HL. 2-Alkyl-4-quinolone quorum sensing molecules are biomarkers for culture-independent *Pseudomonas aeruginosa* burden in adults with cystic fibrosis[J]. Journal of Medical Microbiology, 2021, 70(10): 001420.
- [26] WANG SW, FENG YQ, HAN XF, CAI XY, YANG L, LIU CL, SHEN LX. Inhibition of virulence factors and biofilm formation by wogonin attenuates pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 via targeting pqs quorum-sensing system[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(23): 12699.
- [27] CHATTERJEE P, SASS G, SWIETNICKI W, STEVENS DA. Review of potential *Pseudomonas* weaponry, relevant to the *Pseudomonas-Aspergillus* interplay, for the mycology community[J]. Journal of Fungi, 2020, 6(2): 81.
- [28] COLEMAN JP, McKNIGHT SL, FARROW JM 3rd, LINDSEY CA, PESCI EC. *Pseudomonas aeruginosa* PqsA is an anthranilate-coenzyme A ligase[J]. Journal of Bacteriology, 2008, 190(4): 1247-1255.
- [29] SCHERTZER JW, BROWN SA, WHITELEY M. Oxygen levels rapidly modulate *Pseudomonas aeruginosa* social behaviours via substrate limitation of PqsH[J]. Molecular Microbiology, 2010, 77(6): 1527-1538.
- [30] DULCEY CE, DEKIMPE V, FAUVELLE DA, MILOT S, GROLEAU MC, DOUCET N, RAHME LG, LÉPINE F, DÉZIEL E. The end of an old hypothesis: the *Pseudomonas* signaling molecules 4-hydroxy-2-alkylquinolines derive from fatty acids, not 3-ketofatty acids[J]. Chemistry & Biology, 2013, 20(12): 1481-1491.
- [31] DREES SL, ERNST S, BELVISO BD, JAGMANN N, HENNECKE U, FETZNER S. PqsL uses reduced flavin to produce 2-hydroxylaminobenzoylacetate, a preferred PqsBC substrate in alkyl quinolone biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2018, 293(24): 9345-9357.
- [32] SENEROVIC L, MORIC I, MILIVOJEVIC D, OPSENICA D. Nature-inspired synthetic analogues of quorum sensing signaling molecules as novel therapeutics against *Pseudomonas aeruginosa* infections[M]//Biodiversity and Biomedicine. Amsterdam: Elsevier, 2020: 497-523.
- [33] DREES SL, FETZNER S. PqsE of *Pseudomonas aeruginosa* acts as pathway-specific thioesterase in the biosynthesis of alkylquinolone signaling molecules[J]. Chemistry & Biology, 2015, 22(5): 611-618.
- [34] MUKHERJEE S, MOUSTAFA DA, STERGIOULA V, SMITH CD, GOLDBERG JB, BASSLER BL. The PqsE and RhlR proteins are an autoinducer synthase-receptor pair that control virulence and biofilm development in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(40): E9411-E9418.
- [35] GROLEAU MC, de OLIVEIRA PEREIRA T, DEKIMPE V, DÉZIEL E. PqsE is essential for RhlR-dependent quorum sensing regulation in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. mSystems, 2020, 5(3): e00194-20.
- [36] 王帅涛, 高倩倩, 成娟丽, 林金水. 铜绿假单胞菌生物被膜组成及其受群体感应系统和 c-di-GMP 调控的研究进展[J]. 微生物学报, 2021, 61(5): 1106-1122.
WANG ST, GAO QQ, CHENG JL, LIN JS. Research progress on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm composition of and its regulation by quorum sensing system and c-di-GMP[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021, 61(5): 1106-1122 (in Chinese).
- [37] YIN R, CHENG JL, WANG JY, LI PX, LIN JS. Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infectious biofilms: challenges and strategies[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 955286.
- [38] CAO TY, WEAVER AA, BAEK S, JIA J, SHROUT JD, BOHN PW. Depth distributions of signaling molecules in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms mapped by confocal Raman microscopy[J]. The Journal of Chemical Physics, 2021, 154(20): 204201.
- [39] JIA J, PARMAR D, ELLIS JF, CAO TY, CUTRI AR, SHROUT JD, SWEEDLER JV, BOHN PW. Effect of micro-patterned mucin on quinolone and rhamnolipid profiles of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* under antibiotic stress[J]. ACS Infectious Diseases, 2023, 9(1): 150-161.
- [40] SOH EYC, SMITH F, GIMENEZ MR, YANG L, VEJBORG RM, FLETCHER M, HALLIDAY N, BLEVES S, HEEB S, CÁMARA M, GIVSKOV M,

- HARDIE KR, TOLKER-NIELSEN T, IZE B, WILLIAMS P. Disruption of the *Pseudomonas aeruginosa* Tat system perturbs PQS-dependent quorum sensing and biofilm maturation through lack of the Rieske cytochrome bc1 sub-unit[J]. *PLoS Pathogens*, 2021, 17(8): e1009425.
- [41] NAZIK H, SASS G, ANSARI SR, ERTEKIN R, HAAS H, DÉZIEL E, STEVENS DA. Novel intermicrobial molecular interaction: *Pseudomonas aeruginosa* Quinolone Signal (PQS) modulates *Aspergillus fumigatus* response to iron[J]. *Microbiology*, 2020, 166(1): 44-55.
- [42] COOKE AC, FLOREZ C, DUNSHEE EB, LIEBER AD, TERRY ML, LIGHT CJ, SCHERTZER JW. *Pseudomonas* quinolone signal-induced outer membrane vesicles enhance biofilm dispersion in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *mSphere*, 2020, 5(6): e01109-e01120.
- [43] ALLESEN-HOLM M, BARKEN KB, YANG L, KLAUSEN M, WEBB JS, KJELLEBERG S, MOLIN S, GIVSKOV M, TOLKER-NIELSEN T. A characterization of DNA release in *Pseudomonas aeruginosa* cultures and biofilms[J]. *Molecular Microbiology*, 2006, 59(4): 1114-1128.
- [44] SARKAR S. Release mechanisms and molecular interactions of *Pseudomonas aeruginosa* extracellular DNA[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(15): 6549-6564.
- [45] HAZAN R, QUE YA, MAURA D, STROBEL B, MAJCHERCZYK PA, HOPPER LR, WILBUR DJ, HREHA TN, BARQUERA B, RAHME LG. Auto poisoning of the respiratory chain by a quorum-sensing-regulated molecule favors biofilm formation and antibiotic tolerance[J]. *Current Biology*, 2016, 26(2): 195-206.
- [46] HÄUSSLER S, BECKER T. The *Pseudomonas* quinolone signal (PQS) balances life and death in *Pseudomonas aeruginosa* populations[J]. *PLoS Pathogens*, 2008, 4(9): e1000166.
- [47] NGUYEN D, JOSHI-DATAR A, LEPINE F, BAUERLE E, OLAKANMI O, BEER K, MCKAY G, SIEHNEL R, SCHAFHAUSER J, WANG Y, BRITIGAN BE, SINGH PK. Active starvation responses mediate antibiotic tolerance in biofilms and nutrient-limited bacteria[J]. *Science*, 2011, 334(6058): 982-986.
- [48] SKARIYACHAN S, SRIDHAR VS, PACKIRISAMY S, KUMARGOWDA ST, CHALLAPILLI SB. Recent perspectives on the molecular basis of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and approaches for treatment and biofilm dispersal[J]. *Folia Microbiologica*, 2018, 63(4): 413-432.
- [49] REEN FJ, PHELAN JP, WOODS DF, SHANAHAN R, CANO R, CLARKE S, McGLACKEN GP, O'GARA F. Harnessing bacterial signals for suppression of biofilm formation in the nosocomial fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 2074.
- [50] MASHBURN LM, WHITELEY M. Membrane vesicles traffic signals and facilitate group activities in a prokaryote[J]. *Nature*, 2005, 437(7057): 422-425.
- [51] MASHBURN-WARREN L, HOWE J, GARIDEL P, RICHTER W, STEINIGER F, ROESSLE M, BRANDENBURG K, WHITELEY M. Interaction of quorum signals with outer membrane lipids: insights into prokaryotic membrane vesicle formation[J]. *Molecular Microbiology*, 2008, 69(2): 491-502.
- [52] BALA AJ, KUMAR L, CHHIBBER S, HARJAI K. Augmentation of virulence related traits of *pqs* mutants by *Pseudomonas* quinolone signal through membrane vesicles[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2015, 55(5): 566-578.
- [53] HORSPOOL AM, SCHERTZER JW. Reciprocal cross-species induction of outer membrane vesicle biogenesis via secreted factors[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 9873.
- [54] COOKE AC, NELLO AV, ERNST RK, SCHERTZER JW. Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm membrane vesicles supports multiple mechanisms of biogenesis[J]. *PLoS One*, 2019, 14(2): e0212275.
- [55] MAYEUX G, GAYET L, LIGUORI L, ODIER M, MARTIN DK, CORTÈS S, SCHAACK B, LENORMAND JL. Cell-free expression of the outer membrane protein OprF of *Pseudomonas aeruginosa* for vaccine purposes[J]. *Life Science Alliance*, 2021, 4(6): e202000958.
- [56] AVILA-CALDERÓN ED, RUIZ-PALMA MDS, AGUILERA-ARREOLA MG, VELÁZQUEZ-GUADARRAMA N, RUIZ EA, GOMEZ-LUNAR Z, WITONSKY S, CONTRERAS-RODRÍGUEZ A. Outer membrane vesicles of gram-negative bacteria: an outlook on biogenesis[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 557902.

- [57] KIM JY, SUH JW, KANG JS, KIM SB, YOON YK, SOHN JW. Gram-negative bacteria's outer membrane vesicles[J]. *Infection & Chemotherapy*, 2023, 55(1): 1.
- [58] SCHERTZER JW, WHITELEY M. A bilayer-couple model of bacterial outer membrane vesicle biogenesis[J]. *mBio*, 2012, 3(2): e00297-11.
- [59] TASHIRO Y, ICHIKAWA S, NAKAJIMA-KAMBE T, UCHIYAMA H, NOMURA N. *Pseudomonas* quinolone signal affects membrane vesicle production in not only gram-negative but also gram-positive bacteria[J]. *Microbes and Environments*, 2010, 25(2): 120-125.
- [60] FLOREZ C, RAAB JE, COOKE AC, SCHERTZER JW. Membrane distribution of the *Pseudomonas* quinolone signal modulates outer membrane vesicle production in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *mBio*, 2017, 8(4): e01034-e01017.
- [61] GAO LY, van der VEEN S. Role of outer membrane vesicles in bacterial physiology and host cell interactions[J]. *Infectious Microbes and Diseases*, 2020, 2(1): 3-9.
- [62] ARRANZ SAN MARTÍN A, DREES SL, FETZNER S. A PQS-cleaving quorum quenching enzyme targets extracellular membrane vesicles of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(11): 1656.
- [63] MACDONALD IA, KUEHN MJ. Stress-induced outer membrane vesicle production by *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2013, 195(13): 2971-2981.
- [64] LIN JS, ZHANG WP, CHENG JL, YANG X, ZHU KX, WANG Y, WEI GH, QIAN PY, LUO ZQ, SHEN XH. A *Pseudomonas* T6SS effector recruits PQS-containing outer membrane vesicles for iron acquisition[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 14888.
- [65] BREDEBRUCH F, GEFFERS R, NIMTZ M, BUER J, HAUSSLER S. The *Pseudomonas aeruginosa* quinolone signal (PQS) has an iron-chelating activity[J]. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(8): 1318-1329.
- [66] DIGGLE SP, MATTHIJS S, WRIGHT VJ, FLETCHER MP, CHHABRA SR, LAMONT IL, KONG XL, HIDER RC, CORNELIS P, CÁMARA M, WILLIAMS P. The *Pseudomonas aeruginosa* 4-quinolone signal molecules HHQ and PQS play multifunctional roles in quorum sensing and iron entrapment[J]. *Chemistry & Biology*, 2007, 14(1): 87-96.
- [67] LI A, SCHERTZER JW, YONG X. Molecular conformation affects the interaction of the *Pseudomonas* quinolone signal with the bacterial outer membrane[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2019, 294(4): 1089-1094.
- [68] ROYT PW, HONEYCHUCK RV, PANT RR, ROGERS ML, ASHER LV, LLOYD JR, CARLOS WE, BELKIN HE, PATWARDHAN S. Iron- and 4-hydroxy-2-alkylquinoline-containing periplasmic inclusion bodies of *Pseudomonas aeruginosa*: a chemical analysis[J]. *Bioorganic Chemistry*, 2007, 35(2): 175-188.
- [69] ROYT PW, HONEYCHUCK RV, RAVICH V, PONNALURI P, PANNELL LK, BUYER JS, CHANDHOKE V, STALICK WM, DeSESSO LC, DONOHUE S, GHEI R, RELYEA JD, RUIZ R. 4-hydroxy-2-nonylquinoline: a novel iron *Chelator* isolated from a bacterial cell membrane[J]. *Bioorganic Chemistry*, 2001, 29(6): 387-397.
- [70] RAMPIONI G, PUSTELNY C, FLETCHER MP, WRIGHT VJ, BRUCE M, RUMBAUGH KP, HEEB S, CÁMARA M, WILLIAMS P. Transcriptomic analysis reveals a global alkyl-quinolone-independent regulatory role for PqsE in facilitating the environmental adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to plant and animal hosts[J]. *Environmental Microbiology*, 2010: 1659-1673.
- [71] HAZAN R, HE JX, XIAO GP, DEKIMPE V, APIDIANAKIS Y, LESIC B, ASTRAKAS C, DÉZIEL E, LÉPINE F, RAHME LG. Homeostatic interplay between bacterial cell-cell signaling and iron in virulence[J]. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(3): e1000810.
- [72] TATEDA K, ISHII Y, HORIKAWA M, MATSUMOTO T, MIYAIRI S, PECHERE JC, STANDIFORD TJ, ISHIGURO M, YAMAGUCHI K. The *Pseudomonas aeruginosa* autoinducer N-3-oxododecanoyl homoserine lactone accelerates apoptosis in macrophages and neutrophils[J]. *Infection and Immunity*, 2003, 71(10): 5785-5793.
- [73] LHOSPICE S, GOMEZ NO, OUERDANE L, BRUTESCO C, GHSSEIN G, HAJJAR C, LIRATNI A, WANG SL, RICHAUD P, BLEVES S, BALL G, BOREZÉE-DURANT E, LOBINSKI R, PIGNOL D, ARNOUX P, VOULHOX R. *Pseudomonas aeruginosa* zinc uptake in chelating environment is primarily mediated by the metallophore pseudopaline[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 17132.
- [74] MASTROPASQUA MC, D'ORAZIO M, CERASI M, PACELLO F, GISMONTI A, CANINI A, CANUTI L, CONSALVO A, CIAVARDELLI D, CHIRULLO B, PASQUALI P, BATTISTONI A. Growth of *Pseudomonas aeruginosa* in zinc poor environments is promoted by a nicotianamine-related metallophore[J]. *Molecular Microbiology*, 2017, 106(4): 543-561.

- [75] LIN JS, YANG JS, CHENG JL, ZHANG WP, YANG X, DING W, ZHANG H, WANG Y, SHEN XH. *Pseudomonas aeruginosa* H3-T6SS combats H₂O₂ stress by diminishing the amount of intracellular unincorporated iron in a dps-dependent manner and inhibiting the synthesis of PQS[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(2): 1614.
- [76] LIU YC, HUSSAIN F, NEGM O, PAIVA AC, HALLIDAY N, DUBERN JF, SINGH S, MUNTAKA S, WHELDON L, LUCKETT J, TIGHE P, BOSQUILLON C, WILLIAMS P, CÁMARA M, MARTÍNEZ-POMARES L. Contribution of the alkylquinolone quorum-sensing system to the interaction of *Pseudomonas aeruginosa* with bronchial epithelial cells[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 3018.
- [77] OGBECHI J, HUANG YS, CLANCHY FIL, PANTAZI E, TOPPING LM, DARLINGTON LG, WILLIAMS RO, STONE TW. Modulation of immune cell function,IDO expression and kynurenine production by the quorum sensor 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone (PQS)[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 1001956.
- [78] KIM K, KIM SH, LÉPINE F, CHO YH, LEE GR. Global gene expression analysis on the target genes of PQS and HHQ in J774A.1 monocyte/macrophage cells[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2010, 49(4): 174-180.
- [79] ABDALLA MY, HOKE T, SERAVALLI J, SWITZER BL, BAVITZ M, FLIEGE JD, MURPHY PJ, BRITIGAN BE. *Pseudomonas* quinolone signal induces oxidative stress and inhibits heme oxygenase-1 expression in lung epithelial cells[J]. *Infection and Immunity*, 2017, 85(9): e00176-17.
- [80] HOOI DSW, BYCROFT BW, CHHABRA SR, WILLIAMS P, PRITCHARD DI. Differential immune modulatory activity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signal molecules[J]. *Infection and Immunity*, 2004, 72(11): 6463-6470.
- [81] SKINDERSOE ME, ZEUTHEN LH, BRIX S, FINK LN, LAZENBY J, WHITTALL C, WILLIAMS P, DIGGLE SP, FROEKIAER H, COOLEY M, GIVSKOV M. *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signal molecules interfere with dendritic cell-induced T-cell proliferation[J]. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2009, 55(3): 335-345.
- [82] KIM K, KIM YU, KOH BH, HWANG SS, KIM SH, LÉPINE F, CHO YH, LEE GR. HHQ and PQS, two *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing molecules, down-regulate the innate immune responses through the nuclear factor-kappaB pathway[J]. *Immunology*, 2010, 129(4): 578-588.
- [83] LEGENDRE C, REEN FJ, MOOIJ MJ, MCGLACKEN GP, ADAMS C, O'GARA F. *Pseudomonas aeruginosa* Alkyl quinolones repress hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) signaling through HIF-1 α degradation[J]. *Infection and Immunity*, 2012, 80(11): 3985-3992.
- [84] FREUND JR, MANSFIELD CJ, DOGHRAMJI LJ, ADAPPA ND, PALMER JN, KENNEDY DW, REED DR, JIANG PH, LEE RJ. Activation of airway epithelial bitter taste receptors by *Pseudomonas aeruginosa* quinolones modulates calcium, cyclic-AMP, and nitric oxide signaling[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2018, 293(25): 9824-9840.
- [85] KUSHWAHA A, KUMAR V, AGARWAL V. *Pseudomonas* quinolone signal induces organelle stress and dysregulates inflammation in human macrophages[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2023, 1867(2): 130269.
- [86] HOLBAN AM, BLEOTU C, CHIFIRIUC MC, BEZIRTZOGLU E, LAZAR V. Role of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing (QS) molecules on the viability and cytokine profile of human mesenchymal stem cells[J]. *Virulence*, 2014, 5(2): 303-310.
- [87] HÄNSCH GM, PRIOR B, BRENNER-WEISS G, OBST U, OVERHAGE J. The *Pseudomonas* quinolone signal (PQS) stimulates chemotaxis of polymorphonuclear neutrophils[J]. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*, 2014, 12(1): 21-26.
- [88] MURRAY EJ, DUBERN JF, CHAN WC, CHHABRA SR, WILLIAMS P. A *Pseudomonas aeruginosa* PQS quorum-sensing system inhibitor with anti-staphylococcal activity sensitizes polymicrobial biofilms to tobramycin[J]. *Cell Chemical Biology*, 2022, 29(7): 1187-1199.e6.
- [89] SAALIM M, VILLEGAS-MORENO J, CLARK BR. Bacterial alkyl-4-quinolones: discovery, structural diversity and biological properties[J]. *Molecules*, 2020, 25(23): 5689.
- [90] DIGGLE SP, WINZER K, CHHABRA SR, WORRALL KE, CÁMARA M, WILLIAMS P. The *Pseudomonas aeruginosa* quinolone signal molecule overcomes the cell density-dependency of the quorum sensing hierarchy, regulates rhl-dependent genes at the onset of stationary phase and can be produced in the absence of LasR[J]. *Molecular Microbiology*, 2003, 50(1): 29-43.

- [91] ADAMIAK JW, JHAWAR V, BONIFAY V, CHANDLER CE, LEUS IV, ERNST RK, SCHWEIZER HP, ZGURSKAYA HI. Loss of RND-type multidrug efflux pumps triggers iron starvation and lipid A modifications in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2021, 65(10): e0059221.
- [92] TOYOFUKU M, NAKAJIMA-KAMBE T, UCHIYAMA H, NOMURA N. The effect of a cell-to-cell communication molecule, *Pseudomonas* quinolone signal (PQS), produced by *P. aeruginosa* on other bacterial species[J]. *Microbes and Environments*, 2010, 25(1): 1-7.
- [93] SASTRY AV, DILLON N, ANAND A, POUDEL S, HEFNER Y, XU SB, SZUBIN R, FEIST AM, NIZET V, PALSSON B. Machine learning of bacterial transcriptomes reveals responses underlying differential antibiotic susceptibility[J]. *mSphere*, 2021, 6(4): e0044321.
- [94] ZHU Y, TANG YF, RUAN Z, DAI YL, LI ZH, LIN ZY, ZHAO SS, CHENG L, SUN BH, ZENG M, ZHU JX, ZHAO RB, LU BB, LONG HT. Mg(OH)₂ nanoparticles enhance the antibacterial activities of macrophages by activating the reactive oxygen species[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2021, 109(11): 2369-2380.
- [95] TIAN Y, CAI R, YUE TL, GAO ZP, YUAN YH, WANG ZL. Application of nanostructures as antimicrobials in the control of foodborne pathogen[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, 62(14): 3951-3968.
- [96] PEZZONI M, MEICHTRY M, PIZARRO RA, COSTA CS. Role of the *Pseudomonas* quinolone signal (PQS) in sensitising *Pseudomonas aeruginosa* to UVA radiation[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2015, 142: 129-140.
- [97] ZABORIN A, ROMANOWSKI K, GERDES S, HOLBROOK C, LEPINE F, LONG J, POROYKO V, DIGGLE SP, WILKE A, RIGHETTI K, MOROZOVA I, BABROWSKI T, LIU DC, ZABORINA O, ALVERDY JC. Red death in *Caenorhabditis elegans* caused by *Pseudomonas aeruginosa* PAO1[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(15): 6327-6332.
- [98] SZAMOSVÁRI D, SCHUHMACHER T, HAUCK CR, BÖTTCHER T. A thiochromenone antibiotic derived from the *Pseudomonas* quinolone signal selectively targets the Gram-negative pathogen *Moraxella catarrhalis*[J]. *Chemical Science*, 2019, 10(27): 6624-6628.
- [99] RIEGER B, THIERBACH S, OMMER M, DIENHART FSV, FETZNER S, BUSCH KB. *Pseudomonas* Quinolone Signal molecule PQS behaves like a B Class inhibitor at the I_Q site of mitochondrial complex I[J]. *FASEB BioAdvances*, 2020, 2(3): 188-202.
- [100] ZEGADŁO K, GIEROŃ M, ŻARNOWIEC P, DURLIK-POPIŃSKA K, KRĘCISZ B, KACA W, CZERWONKA G. Bacterial motility and its role in skin and wound infections[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(2): 1707.
- [101] van KESSEL JC. PQS signaling for more than a quorum: the collective stress response protects healthy *Pseudomonas aeruginosa* populations[J]. *Journal of Bacteriology*, 2019, 201(23): e00568-19.
- [102] CAIAZZA NC, SHANKS RMQ, O'TOOLE GA. Rhamnolipids modulate swarming motility patterns of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(21): 7351-7361.
- [103] BRU JL, RAWSON B, TRINH C, WHITESON K, HØYLAND-KROGHSBO NM, SIRYAPORN A. PQS produced by the *Pseudomonas aeruginosa* stress response repels swarms away from bacteriophage and antibiotics[J]. *Journal of Bacteriology*, 2019, 201(23): e00383-e00319.
- [104] MORALES-SOTO N, DUNHAM SJB, BAIG NF, ELLIS JF, MADUKOMA CS, BOHN PW, SWEEDLER JV, SHROUT JD. Spatially dependent alkyl quinolone signaling responses to antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* swarms[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2018, 293(24): 9544-9552.
- [105] 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[J]. *Nature Chemical Biology*, 2013, 9(5): 339-343.
- [106] CAO TY, SWEEDLER JV, BOHN PW, SHROUT JD. Spatiotemporal distribution of *Pseudomonas aeruginosa* alkyl quinolones under metabolic and competitive stress[J]. *mSphere*, 2020, 5(4): e00426-20.