



## 群体感应信号分子对免疫系统的影响\*

马文敏<sup>1)</sup> 陈轩岐<sup>2)</sup> 马红霞<sup>1,3)</sup> 张文慧<sup>1)</sup> 孔令聪<sup>2)</sup> 周昱伽<sup>1)</sup> 胡元元<sup>4)</sup> 贾宇<sup>1,3)\*\*</sup>

<sup>1)</sup> 吉林农业大学生命科学学院, 长春 130118; <sup>2)</sup> 吉林农业大学动物医学院, 长春 130118;

<sup>3)</sup> 吉林农业大学生物反应器与药物开发教育部工程研究中心, 长春 130118; <sup>4)</sup> 浙江可明生物医药有限公司, 绍兴 312500)

**摘要** 近年来, 宿主导向的抗菌药物研发逐步成为抗感染领域的热点。通过研究宿主和病原菌的相互作用机制, 发现免疫系统是宿主导向抗菌药物的关键靶点之一。在以细菌为首的微生物种群中存在一种通讯交流系统, 称为群体感应系统, 其主要用于调整多微生物群落结构并协调群体行为。当微生物分泌的群体感应信号分子达到阈值浓度时, 激活了群体感应系统并引起微生物整体基因表达变化。除了对微生物自身密度的调控外, 群体感应信号分子还可以作为病原微生物与宿主之间的纽带进入宿主免疫系统并发挥作用, 在影响免疫细胞形态结构、细胞因子分泌以及诱导细胞凋亡等方面导致宿主免疫损伤, 造成宿主免疫功能失常。因此以宿主免疫系统为作用靶点, 以群体感应信号分子为目标开发抗菌药物, 可以有效抑制病原菌对宿主免疫功能的侵袭并协助宿主抗菌。本文对重要群体感应信号分子引发的宿主免疫应答反应机制进行综述, 深入探究宿主导向抗菌药物的可能作用靶点, 以期预防或治疗病原体感染以及相关药物研发提供新方向。

**关键词** 群体感应系统, 群体感应信号分子, 免疫应答, 免疫细胞

**中图分类号** Q7, Q93, R392.1

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2024.0014

自然界中存在着丰富的微生物种群, 它们与机体在漫长的生存斗争中相生相克, 其中大多数病原微生物会接触并侵袭宿主。在以细菌为首的微生物种群中存在一种叫做群体感应 (quorum sensing, QS) 的自诱导调控系统, 其分泌的 QS 信号分子可以实现微生物的种内、种间或者跨界交流。QS 信号分子与微生物细胞密度调控相关, 当信号分子达到一定阈值浓度后能够引起下游基因的表达, 从而调节微生物的生物被膜形成或产生毒力强弱等行为。根据 QS 信号分子的结构特点及其菌株特异性可将其分为以下两大类。一类是细菌分泌的 QS 信号分子: a. 由革兰氏阴性细菌分泌的酰基高丝氨酸内酯类 (acyl-homoserine lactones, AHLs) 分子; b. 由革兰氏阳性细菌分泌的寡肽类 (autoinducing peptides, AIP) 分子; c. 在革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌中都存在的环状呋喃酮类分子, 又称为 AI-2; d. 细菌分泌的其他 QS 信号分子, 包括扩散信号因子 (diffusible signaling factor, DSF)、AI-3 等。另一类是真菌分泌的 QS 信号分子: a. 酿酒酵母分泌的芳香醇类化合物苯乙醇 (PheOH) 和色氨

酸; b. 白假丝酵母菌分泌的倍半萜类化合物法尼醇; c. 新型隐球菌分泌的泛酸和 Qsp1 肽; d. 尖孢镰刀菌分泌的  $\alpha$  信息素; e. 真菌分泌的其他类型 QS 信号分子, 包括氧脂素、2-甲基 1-丁醇、 $\gamma$ -丁内酯、环状倍半萜<sup>[1]</sup> 等。这些 QS 信号分子对病原微生物自身的作用已被广泛研究, 近来发现, 除调控微生物自身细胞密度外, 其对宿主免疫系统功能也有一定影响, 主要通过干扰宿主免疫系统正常运行, 导致宿主免疫系统功能受损进而推动疾病发展, 但是相关报道不多。关于 QS 信号分子如何触发宿主免疫应答, 其中机制如何, 以及宿主细胞能否通过免疫应答功能抵御感染, 这些问题还有待于深入研究。本文对重要 QS 信号分子引发的宿主免疫应答反应的机制进行综述, 以期为主导向的抗菌药物研发及抗菌策略的制定提供思路。

\* 吉林省自然科学基金 (20230101199JC) 资助项目。

\*\* 通讯联系人。

Tel: 15904313670, E-mail: jiayu@jlau.edu.cn

收稿日期: 2024-01-09, 接受日期: 2024-04-24

## 1 QS信号分子对天然免疫应答的影响

### 1.1 AHLs类QS信号分子

AHLs是革兰氏阴性菌的主要QS信号，不同菌株的AHLs母核结构一致，只是其酰基侧链的长度各不相同。铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa*) 是引起医院感染的重要病原体之一，具有易定植、易变异和多耐药的特点，因此临床治疗非常困难。*P. aeruginosa* 的AHLs为N-(3-氧代十二烷酰基)高丝氨酸内酯(3-oxo-C12-HSL)，针对该分子展开的研究最为广泛。3-oxo-C12-HSL由LasI蛋白合成，通过主动运输出入细胞，当其达到阈浓度时与受体蛋白LasR结合，激活外毒素A、弹性蛋白酶等毒力因子的表达<sup>[2]</sup>增加菌株毒力；与此同时，3-oxo-C12-HSL作用于宿主免疫细胞，通过影响细胞因子的分泌、改变细胞形态或者诱导细胞凋亡等方式，使菌株逃避宿主免疫系统的“捕捉”。下面以3-oxo-C12-HSL为代表讨论AHLs类QS信号分子对宿主天然免疫应答的作用。

#### 1.1.1 AHLs对巨噬细胞功能的影响

##### a. AHLs影响巨噬细胞分泌细胞因子

3-oxo-C12-HSL能影响巨噬细胞分泌细胞因子(表1)，促炎细胞因子分泌水平的减少以及抗炎细胞因子分泌水平的增加削弱了免疫系统的敏感性，加速细菌对宿主免疫系统的侵袭。Glucksam-Galnoy等<sup>[3]</sup>发现，经细菌内毒素脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)作用后的小鼠巨噬细胞RAW 264.7，添加3-oxo-C12-HSL能够抑制细胞肿瘤坏死因子 $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )的分泌，同时上调抗炎细胞因子白介素(interleukin, IL)-10的水平，还能够增强受LPS激活的核因子 $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)结合DNA的水平，进而延长p38丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)的磷酸化作用时间(图1)。Bortolotti等<sup>[4]</sup>的研究也表明，3-oxo-C12-HSL能够抑制巨噬细胞产生IL-12和TNF- $\alpha$ (图1)。除此之外，3-oxo-C12-HSL能够与味觉系统中的磷脂分子形成复合物进而改变巨噬细胞分泌细胞因子的水平，Gaida等<sup>[5]</sup>研究发现，3-oxo-C12-HSL与苦味受体38(TAS2R38)结合后，诱导巨噬细胞的IL-8水平升高(图1)。Coquant等<sup>[6]</sup>通过质谱分析技术在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者粪便中发现一种新的AHLs:3-oxo-C12:2-HSL。3-oxo-C12:2-HSL可以特

异性地阻碍JAK1和STAT1的磷酸化，从而阻止由LPS和 $\gamma$ 干扰素(interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )诱导的RAW 264.7细胞JAK-STAT信号通路激活，减少促炎细胞因子IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 的分泌，同时增加抗炎细胞因子IL-10的分泌，发挥抗炎作用(图2)。目前治疗IBD的药物针对一种或多种细胞因子(如TNF)，通过口服小分子抑制剂特异性或非特异性抑制JAK通路发挥作用。然而，JAK抑制剂的临床试验导致了严重的不良反应<sup>[7]</sup>，或许新的IBD治疗方法可以针对JAK蛋白。上述研究已经表明，AHLs可通过特异性抑制JAK-STAT信号通路发挥抗炎作用，以及激活苦味受体通路发挥促炎作用。如果以AHLs结构为母核或以苦味素受体为靶点进行抗炎药物的开发来治疗IBD，或许可避免常规药物因靶点过多导致的不良反应。

##### b. AHLs通过诱导细胞凋亡削弱宿主免疫

3-oxo-C12-HSL及其类似物具有促进巨噬细胞凋亡的作用，侧链上羰基是否为3位取代，侧链长度是否大于10个碳原子决定了其诱导细胞凋亡的能力<sup>[8-9]</sup>。Rumbaugh等<sup>[10]</sup>发现，3-oxo-C12-HSL在结构和功能上与哺乳动物脂类激素相似，具有脂溶性和膜通透性，可以结合细胞膜受体从而将信号传递到细胞内，也可以直接自由扩散跨过细胞膜与细胞核受体结合。Song等<sup>[8]</sup>研究发现，3-oxo-C12-HSL破坏了细胞膜上的脂筏结构，迫使TNFR1自发转移到脂筏外，激活caspase8-caspase3轴介导的RAW 264.7细胞凋亡(图1)。此外，Horikawa等<sup>[9]</sup>研究发现，3-oxo-C12-HSL类似物也可以诱导巨噬细胞系U937及P388D1凋亡。医院不动杆菌分泌的N-3-羟基十二烷基-dl-高丝氨酸内酯(OH-dDHL)也具有促进细胞凋亡的作用，其主要通过内质网和线粒体介导的途径触发骨髓来源的巨噬细胞凋亡<sup>[11]</sup>。OH-dDHL通过内质网应激跨膜蛋白(IRE1、ATF6a p50)聚集诱导Ca<sup>2+</sup>外排和caspase12激活，并通过活性氧(ROS)的产生诱导线粒体功能障碍，导致细胞色素c泄漏，最终导致巨噬细胞凋亡。通过以上研究结果可知，AHLs类QS信号分子促进巨噬细胞凋亡与其自身的脂溶性相关，当它们进入大多数巨噬细胞内改变细胞结构时，促凋亡机制随即启动。

除了促进细胞凋亡以外，3-oxo-C12-HSL分子还被证明具有改变巨噬细胞形态的作用。Holm等<sup>[12]</sup>研究表明，水甘油通道蛋白AQP9的表达和分布与巨噬细胞的运动和吞噬有关，而且

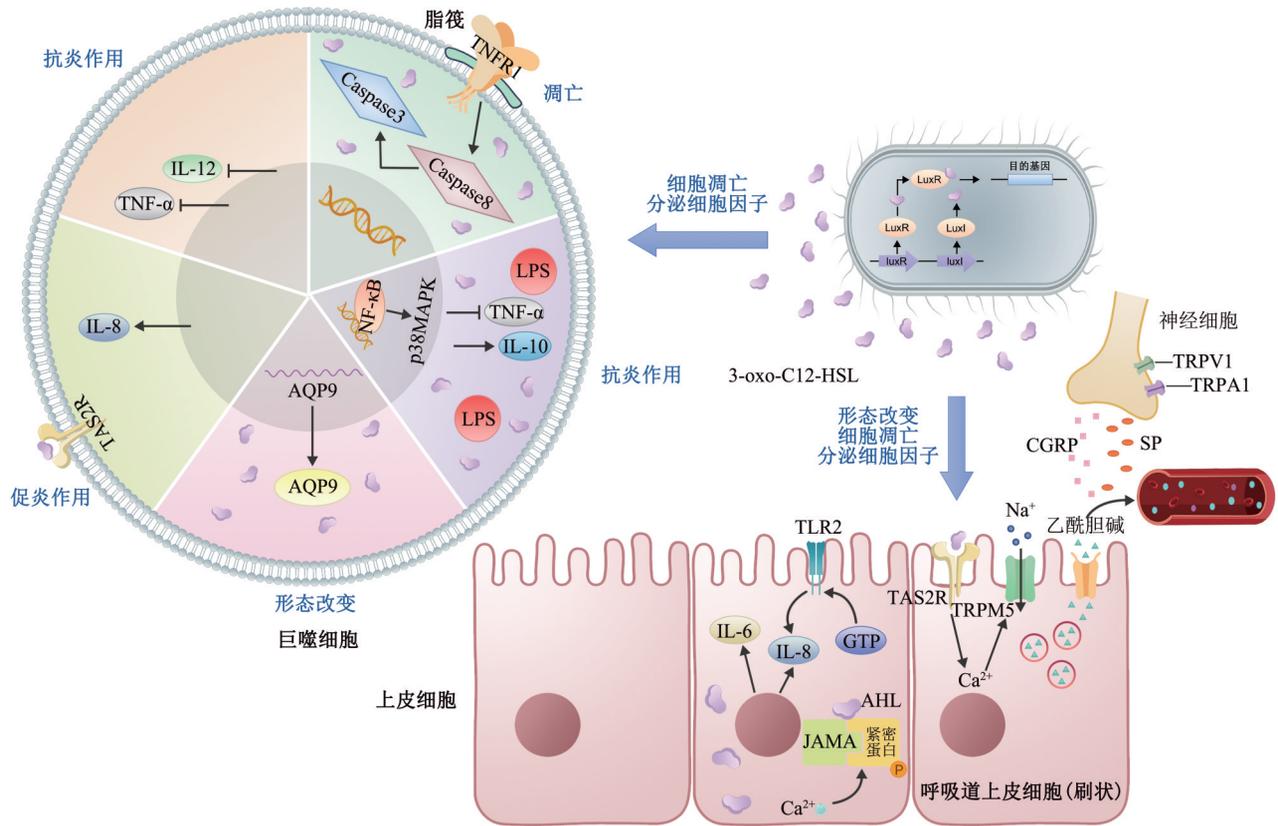


Fig. 1 Effect of QS molecule AHLs in bacterial quorum sensing system on immune cell function  
 图1 细菌群体感应系统信号分子AHLs对免疫细胞功能的影响

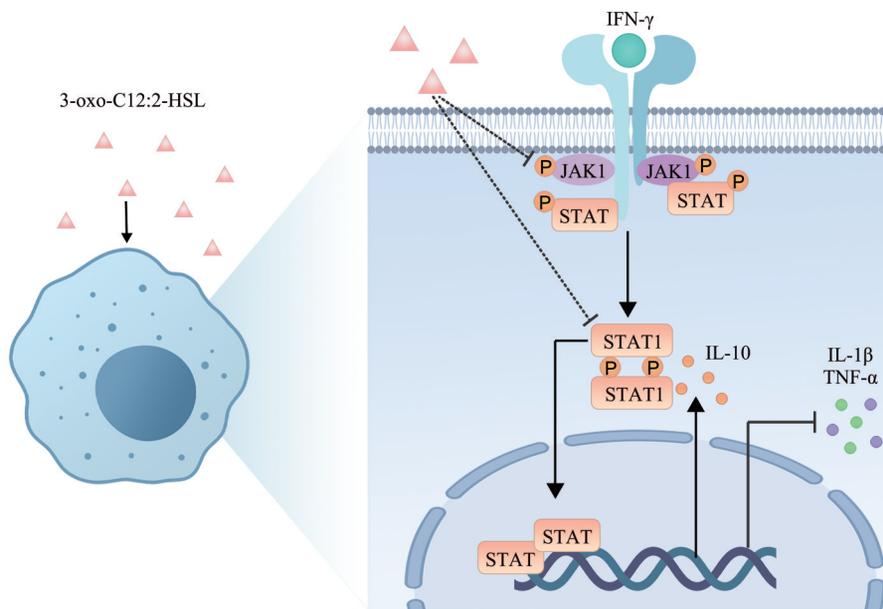


Fig. 2 The QS molecule 3-oxo-C12:2-HSL inhibits the JAK-STAT signaling pathway in macrophage  
 图2 信号分子3-oxo-C12:2-HSL抑制巨噬细胞内JAK-STAT信号通路

3-oxo-C12-HSL 能够通过上调巨噬细胞 AQP9 编码基因在 mRNA 和蛋白质水平的表达 (图1), 增加其表面积和体积, 进而影响巨噬细胞的正常功能。

另外, 3-oxo-C12-HSL 分子在使菌株毒力增强的同时还会降低免疫细胞活性。Banerji 等<sup>[13]</sup> 发现, 3-oxo-C12-HSL 增强了化脓性链球菌在小鼠巨噬细胞以及在正常人血清中的存活率, 其中增强菌株在小鼠巨噬细胞的存活率是通过增加菌株对溶菌酶和酸性环境的抗性实现。蒋栋磊等<sup>[14]</sup> 选择革兰氏阴性菌主要的 5 种 AHLs (C4-HSL、C6-HSL、C8-HSL、C10-HSL、3-oxo-C12-HSL) 分别作用于小鼠巨噬细胞 Ana-1 和 RAW 264.7, 发现 5 种 AHLs 均能造成巨噬细胞活力下降, 这一结果证明多种 AHLs 类型在降低巨噬细胞活力方面存在共性。

c. 巨噬细胞表达对氧磷酶降解 AHLs

针对 3-oxo-C12-HSL 信号分子, 巨噬细胞表达 Ca<sup>2+</sup> 依赖性的内酯酶对氧磷酶 (PON) 2 来使其降解。对氧磷酶家族包括 PON1、PON2 和 PON3。PON2 是一类能够降低活性氧水平并降解 3-oxo-C12-HSL 的 Ca<sup>2+</sup> 依赖性内酯酶, 是一种免疫调节剂类似物<sup>[15]</sup>, 在促进肿瘤细胞凋亡和治疗 1 型糖尿病<sup>[16]</sup> 方面都具有潜在价值, 还能够在诱导上皮细胞迁移时促进伤口愈合。

Devarajan 等<sup>[17]</sup> 发现, PON2 不仅可以水解 3-oxo-C12-HSL 信号分子, 还能诱导磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/AKT) 信号通路激活巨噬细胞的吞噬作用 (图3), 加速病原体清除的进程。Parween 等<sup>[18]</sup> 在大肠杆菌中表达出高内酯酶活性的人源 PON2, 发现其能够显著减少耻垢分枝杆菌的生物被膜形成。Estin 等<sup>[19]</sup> 证明, 人巨噬细胞 PON1 也能够降解 3-oxo-C12-HSL 信号分子。除了 PON 之外, 耿亚飞等<sup>[20]</sup> 发现, 一种免疫调节剂——木犀草素, 其在浓度为 100 μmol/L 时能够抑制 3-oxo-C12-HSL 合成以及巨噬细胞的过度炎症反应。近些年随着对抗菌药物的深度开发, 更多的 QS 信号抑制剂被发掘出来<sup>[21]</sup>, 它们主要作用于菌株, 通过阻断 QS 信号分子合成、促进 QS 信号分子降解以及降低或抑制 QS 信号分子的受体蛋白活性几种途径阻止信号分子转导, 使得菌株毒力降低, 或者降低菌群的耐药能力以解决细菌感染问题。但是这些药物对机体中的多种菌株都有作用, 可能会影响益生菌的功能。而针对宿主开发药物, 例如促进宿主细胞降解 QS 信号分子的 PON1/PON2 激动剂等, 为解决这一问题提供了新的方向。

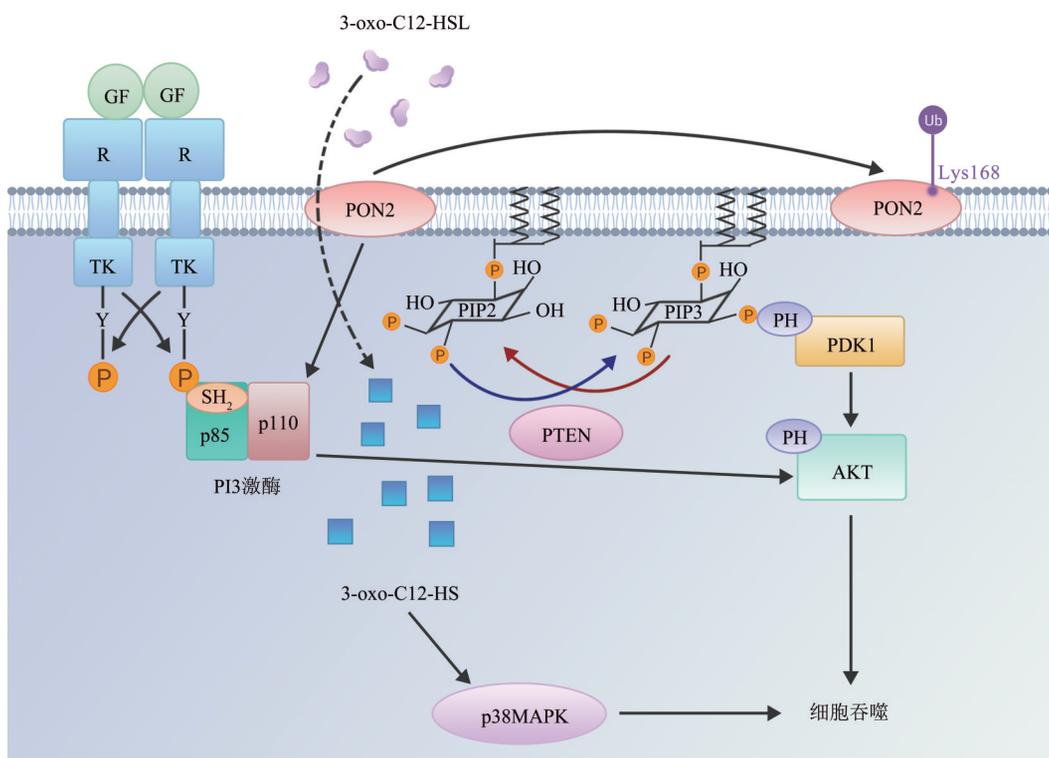


Fig. 3 Paraoxonase 2 hydrolyzes QS molecules and induces the PI3K/AKT signaling pathway

图3 PON2水解QS信号分子并诱导PI3K/AKT信号通路

### 1.1.2 AHLs对上皮细胞功能的影响

#### a. AHLs破坏细胞形态并促进细胞凋亡

皮肤和黏膜是机体免疫第一道防线, 上皮细胞位于皮肤或腔道表层以阻止外来颗粒扩散到宿主黏膜。除巨噬细胞之外, 上皮细胞是受 3-oxo-C12-HSL 分子影响较大的一类免疫细胞。AHLs 自身的脂溶性在针对巨噬细胞和上皮细胞的侵袭时都发挥重要作用。细胞外基质和细胞间连接是上皮细胞的生理屏障主要组成部分, 细胞间连接包括紧密连接、间隙连接和黏附连接等。Losa 等<sup>[22]</sup>发现, 3-oxo-C12-HSL 会改变非极化呼吸道上皮细胞的形态和间隙连接, 细胞形态的改变使得上皮细胞功能失常, 免疫能力下降的同时削弱了抗细菌感染能力。已有研究表明, AHLs 能够增强细菌对宿主上皮细胞的黏附能力, 添加 3-oxo-C12-HSL 信号分子后的细菌对猪小肠上皮细胞 IPEC-J2<sup>[23]</sup>、宫颈癌上皮细胞 HeLa 等黏附侵袭能力均增强, 另外 Nesse 等<sup>[24]</sup>发现, 在野生鼠伤寒沙门氏菌培养基中添加 C6-HSL 和 C8-HSL 比缺乏 *sdiA* 基因 (编码 AHLs 的受体) 的突变菌株侵袭上皮细胞能力更强。

AHLs 能够影响上皮细胞内多种  $\text{Ca}^{2+}$  参与的信号通路。Kumar 等<sup>[25]</sup>研究发现, 3-oxo-C12-HSL 通过诱导上皮细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  信号传导增强了细胞通透性, 该分子进一步与磷酸化的紧密连接蛋白以及连接黏附分子 1 (JAM-1 或 JAM-A) 形成紧密蛋白复合物 (图 1), 最终抑制上皮细胞间隙连接形成从而破坏上皮屏障。另外有研究表明, AHLs 对上皮细胞的促凋亡作用也与细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  信号通路有关<sup>[26]</sup>, 使用阻止  $\text{Ca}^{2+}$  进入内质网的化合物——毒胡萝卜素, 预处理细胞 10 min 即可以减少细胞凋亡。研究人员发现, 信号分子 3-oxo-C12-HSL 在促进肿瘤细胞凋亡方面也具有重要作用, 它可以改变前列腺癌细胞骨架蛋白结构从而影响上皮细胞的生长和迁移, 而且对非癌细胞不起作用<sup>[27]</sup>, 还能够使恶性人乳腺癌细胞生存率下降, 同样对非恶性细胞没有影响, 但是并非所有上皮细胞都对 AHLs 敏感, 例如人极化的上皮细胞<sup>[22]</sup>, 这种由 AHLs 引发的细胞特异性凋亡可能作为治疗癌症的一种新策略。

#### b. AHLs 影响上皮细胞分泌细胞因子

受到 AHLs 分子刺激的上皮细胞也会合成和分泌细胞因子, 产生促炎或者抗炎的效果 (表 1)。Hu 等<sup>[28]</sup>研究表明, 3-oxo-C12-HSL 刺激上调人角膜上皮细胞 (HCECs) 的 IL-6、IL-8 等细胞因子的

表达水平 (图 1), 但当 Toll 样受体 2 (TLR2) 被特异性阻断或沉默时, IL-8 的表达即被抑制。Karlsson 等<sup>[29]</sup>研究发现, 3-oxo-C12-HSL 可以通过促进 GTP 酶激活蛋白的表达从而活化 TLR2 增加 IL-8 的分泌释放 (图 1), 导致炎症反应加剧。在早期痤疮患者体内也存在 TLR2 受体识别病原菌, 促进 NF- $\kappa$ B 信号通路分泌细胞因子 IL-8 的情况<sup>[30]</sup>, 或许 TLR2 受体造成的炎症反应级联激活, 在细菌 QS 与感染宿主之间起到了重要作用。另外 Landman 等<sup>[31]</sup>研究发现, 3-oxo-C12:2-HSL 信号分子, 对受到 IL- $\beta$  或 IL-1 $\beta$  刺激的肠上皮细胞 Caco-2/TC7 具有抗炎作用, 可使细胞因子 IL-8 分泌减少, 而且该信号分子对促炎因子诱导的紧密连接破坏具有抑制作用<sup>[32]</sup>, 能够有效恢复肠道屏障。此外, 3-oxo-C12-HSL 能够刺激呼吸道刷状细胞产生保护性的神经源性炎症<sup>[33]</sup>, 该信号与苦味受体 (TASR105 和 TASR108) 结合, 激活 PLC $\beta$ 2 使内质网释放  $\text{Ca}^{2+}$ , 进一步激活 TRPM5 介导的乙酰胆碱 (ACh) 释放, ACh 通过旁分泌途径作用于感觉神经, 使其向血管释放降钙素基因相关肽和促炎性神经肽 P 物质 (图 1), 最后使血管舒张并募集中性粒细胞产生炎症反应。

### 1.2 群体感应信号分子 AI-2

不同种属的细菌存在一种通用的 QS 信号分子 AI-2。最早的研究发现, 该信号能够调控哈维弧菌 (*Vibrio harveyi*, *V. harveyi*) 生物发光。在 *V. harveyi* 中, 甲基供体 S-腺苷甲硫氨酸 (SAM) 经多步酶促反应产生 4,5-二羟基-2,3-戊二酮 (4,5-dihydroxy-2,3-pentanedione, DPD), 最终水合形成 DPD 硼酸酯, 即 AI-2。Taga 等<sup>[34]</sup>研究表明, DPD 在生理状态并不稳定, 主要以异构体、水合物及硼酸分子结合物等形式存在。AI-2 信号分子能够调控细菌的多种生理功能, 如毒力基因表达<sup>[35]</sup>及生物膜形成<sup>[36]</sup>等。尽管也有学者研究该信号与宿主天然免疫系统的相互作用, 但仍处于起步阶段, 目前相关研究主要聚焦于 AI-2 对皮肤屏障功能的影响方面。

Zargar 等<sup>[37]</sup>研究结果表明, AI-2 分子具有抑制人结肠上皮细胞炎症的作用。非致病大肠杆菌分泌的 AI-2 作用于人结肠细胞系 HCT-8 细胞后, 激活 NF- $\kappa$ B 介导的信号通路, 使 IL-8 的 mRNA 表达迅速上调, 24 h 后 NOD 样受体信号通路的负反馈途径被激活 (图 4), IL-8 的 (mRNA、蛋白质) 表达显著下降。Wen 等<sup>[38]</sup>研究表明, AI-2 对幽门螺

杆菌感染的胃上皮细胞 (AGS) 起到抗炎作用, 可能有助于菌株在宿主胃内的长期持续存在。AI-2 一方面降低黏附素的表达以减少细菌对 AGS 细胞的黏附, 另一方面降低 AGS 细胞中 NF- $\kappa$ B 的激活和 IL-8 的表达, 从而减弱炎症反应。这样类似的 AI-2 缓解炎症反应的情况不止一例。Ji 等 [39] 发现, 外源性 AI-2 能部分逆转坏死性小肠结肠炎 (necrotizing enterocolitis, NEC) 模型小鼠肠道菌群紊乱并减少炎症反应, 使其生存时间显著延长。与模型组相比, AI-2 给药组小鼠的肠组织中 TLR4 蛋白、NF- $\kappa$ B 蛋白和促炎因子 (IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$ ) 的表达均降低, 抗炎因子 IL-10 的表达升高。AI-2 改变了 NEC 小鼠组织内炎症因子的水平, 但 AI-2 最终减少 NEC 模型小鼠的肠道炎症是否与抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路相关还需要进一步研究。上述研究表明, 部分 AI-2 及其类似物对受到细菌侵袭的上皮细胞有益, 尤其对受到细菌感染的胃肠道上皮细胞作用更显著, 主要表现为增强细胞屏障以及促进细胞抗炎因子分泌等, 这一发现可为肠胃感染疾病的治疗开辟新方向。

当然 AI-2 信号分子也可以损伤免疫细胞, 比如具核梭杆菌产生的 AI-2 能够激活巨噬细胞 RAW 264.7 并且诱导炎症蛋白 (TNFSF9、PTGS2 和 IL-1 $\beta$ ) 的表达 [40], 产生炎症反应, TNFSF9 是 AI-2 诱导后差异表达最显著的蛋白质, 同时它还参与调节胰腺癌组织中的免疫细胞浸润。与此同时, 已有研究发现了一些 AI-2 信号的抑制剂, 它们既能够抑制细菌的毒力表型, 又能提高宿主细胞的免疫水平。例如, 黄芩苷 [41] 可通过降低禽致病性大肠杆菌 AI-2 的分泌水平, 使抗炎细胞因子 IL-4 分泌水平上调, 同时抑制 NF- $\kappa$ B 通路的激活和促炎细胞因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  的分泌水平, 乳杆菌属 (唾液乳杆菌、约氏乳杆菌、罗伊氏乳杆菌、卷曲乳杆菌和加氏乳杆菌) 能够减少空肠弯曲菌的 AI-2 分泌, 并且增强巨噬细胞对空肠弯曲菌的吞噬作用, 同时增加了巨噬细胞中 IFN- $\gamma$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-12 p40、IL-10 和趋化因子 CXCL12 的表达 [42]。现有的药物在筛选策略上往往只针对降低病原菌的致病力 [43], 或提高宿主细胞的免疫水平, 因此寻找兼顾这两者的药物尤为重要。

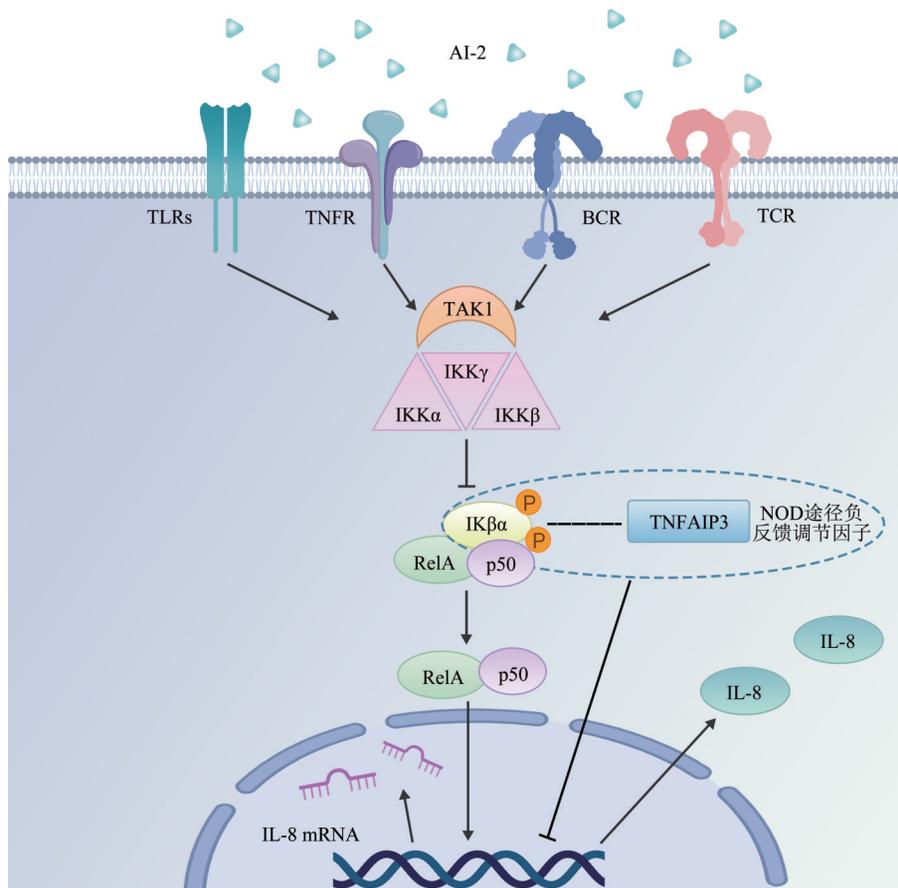


Fig. 4 The QS molecule AI-2 stimulates the cell signaling pathway of human colon cell line HCT-8  
图4 QS信号分子AI-2刺激人结肠细胞系HCT-8细胞信号通路

## 2 QS信号分子对获得性免疫应答的影响

获得性免疫应答是生物体经抗原刺激产生的针对性防御手段, 在应答过程中淋巴细胞、树突细胞(DC)、肥大细胞等免疫细胞各司其职, 共同维持机体内环境稳态。目前, 越来越多的学者开始探索3-oxo-C12-HSL影响获得性免疫应答功能的机制, 接下来将从不同免疫细胞的角度分别叙述。

### 2.1 AHLs对淋巴细胞的影响

淋巴细胞是一类来自骨髓多能造血干细胞的免疫细胞, 主要包括T细胞、B细胞和自然杀伤(NK)细胞。T细胞根据表面分子的不同又分为CD4<sup>+</sup>T (TH) 细胞与CD8<sup>+</sup>T (Tc与Ts) 细胞, CD4<sup>+</sup>T细胞辅助机体触发炎症免疫, CD8<sup>+</sup>T细胞能够杀伤和抑制病原体<sup>[44]</sup>。目前关于AHLs类信号分子对淋巴细胞作用的研究, 主要以3-oxo-C12-HSL分子为主。Luiz de Freitas等<sup>[45]</sup>研究发现, 3-oxo-C12-HSL会降低大蜡螟血液淋巴细胞对肠炎沙门氏菌的杀伤作用。另外有研究表明, 10 μmol/L 3-oxo-C12-HSL会增加大鼠的胸腺细胞中锌离子和过氧离子的浓度, 同时诱导谷胱甘肽氧化并释放锌离子(图5), 导致细胞损伤及凋亡<sup>[46]</sup>, 另外3-oxo-C12-HSL分子还被证明可以通过线粒体途径诱导人急性T淋巴细胞白血病细胞系(Jurkat)凋亡<sup>[47]</sup>, 研究表明, 线粒体内的电子传递链(ETC)复合物的三种蛋白质(琥珀酸辅酶a连接酶、琥珀酸脱氢酶组装因子2和细胞色素c氧化酶)在

3-oxo-C12-HSL处理后都呈现出下调趋势, 因此其促凋亡机制或许是通过减少人结肠腺癌细胞内线粒体的呼吸和能量转换而导致的线粒体功能紊乱。此外Song等<sup>[8]</sup>研究发现, 3-oxo-C12-HSL能诱导B细胞淋巴瘤细胞(A20)、小鼠T淋巴瘤细胞EL4以及CD4<sup>+</sup>T细胞凋亡, 但是泛半胱天冬酶抑制剂Z-VAD、半胱天冬酶3抑制剂Z-DEVD和半胱天冬酶8抑制剂Z-IETD能够降低该分子的细胞毒性。

除了促进细胞凋亡之外, 3-oxo-C12-HSL在影响细胞因子分泌方面的作用也很突出。Bao等<sup>[48]</sup>研究证实, 3-oxo-C12-HSL能激活T细胞产生IFN-γ, 从而潜在促进免疫应答, 或者以剂量依赖的方式增加淋巴细胞中TLR2的表达, 100 μmol/L 3-oxo-C12-HSL作用最显著。Li等<sup>[49]</sup>研究表明, 3-oxo-C12-HSL能够促进调节性T细胞的诱导, 并增加IL-10和转化生长因子β(TGF-β)的产生, 减少IFN-γ和IL-12 p70的产生(表1)。还有研究表明, 3-oxo-C12-HSL可抑制T细胞增殖<sup>[16]</sup>并且调节B细胞产生抗体, 这些研究结果都与淋巴细胞分泌细胞因子相关。机体内的淋巴组织携带各类淋巴结遍布全身, 与血管共同维持体内循环, 是人体重要的免疫器官, 现有的研究表明, 一旦淋巴细胞受到3-oxo-C12-HSL的侵袭, 可能会引起细胞因子分泌的改变甚至细胞凋亡, 最终抑制宿主细胞免疫应答, 但是目前关于预防及治疗3-oxo-C12-HSL分子损伤免疫细胞导致机体免疫应答失常的研究鲜有报道。

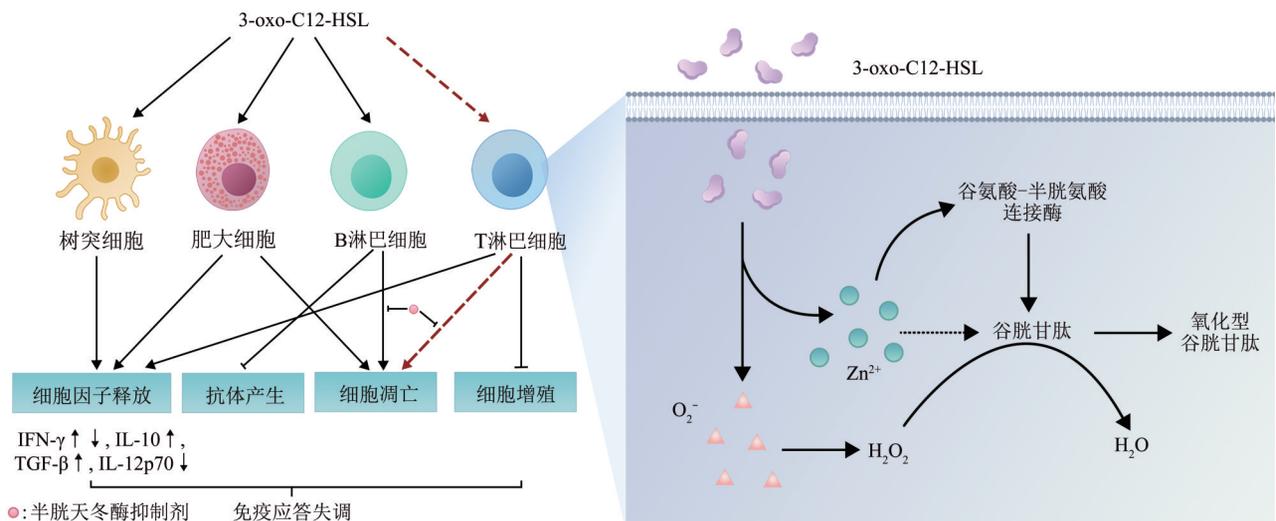


Fig. 5 Effect of the QS molecule 3-oxo-C12-HSL on the adaptive immune system

图5 QS信号分子3-oxo-C12-HSL对获得性免疫系统的影响

## 2.2 AHLs对其他免疫细胞的影响

DC是获得性免疫应答中重要的抗原递呈细胞,其具有调节免疫反应以及分泌细胞因子等功能。DC在机体淋巴器官及表皮系统中都有分布,例如肠道和皮肤等。已有研究表明,向受LPS刺激的小鼠DC中外源添加3-oxo-C12-HSL,使得促炎细胞因子如IL-12<sup>[50]</sup>和IFN- $\gamma$ 表达下调,但抗炎细胞因子IL-10表达增加<sup>[49]</sup>(表1)。Shalek等<sup>[51]</sup>研究发现,DC中存在QS机制,而IL-10就是调节DC群体密度的信号分子,IL-10浓度的增加会向其他DC发出信号,随后共同降低其促炎细胞因子的基因表达,此外,3-oxo-C12-HSL对鼠树突细胞DC2.4(人类DC)具有促凋亡作用。

除了DC之外,免疫系统中还存在一种组织细胞——肥大细胞,它是可以介导I型超敏反应的重要免疫调节细胞,可以分泌多种细胞因子,主要分布在皮肤及内脏黏膜下的微血管周围。研究发现,3-oxo-C12-HSL能通过Ca<sup>2+</sup>信号触发线粒体功能受损以诱导肥大细胞细胞凋亡<sup>[52]</sup>。此外Khambati等<sup>[53]</sup>研究发现,3-oxo-C12-HSL能够抑制肥大细胞发生免疫应答反应时的细胞因子分泌(表1)。

可见,AHLs信号的作用范围比预想更广泛,除了作用于DC细胞可促进抗炎因子的表达之外,诱导肥大细胞凋亡的情况也存在,因此,针对该信号的靶细胞特异性及其作用机制是后续研究的重要问题。

Table 1 QS molecules affect the secretion of cytokines by immune cells

表1 QS信号分子影响免疫细胞分泌细胞因子

信号分子种类	免疫类型	靶细胞	细胞因子分泌	对机体免疫应答的影响	参考文献
3-oxo-C12-HSL	天然	受脂多糖作用的	TNF- $\alpha$ 下调	抗炎作用	[3]
3-oxo-C12:2-HSL	免疫	巨噬细胞 (RAW 264.7)	IL-10上调		[6]
3-oxo-C12-HSL		巨噬细胞 (RAW 264.7)	TNF- $\alpha$ 、IL-12下调		[4]
		巨噬细胞 (U937)	IL-8上调	促炎作用	[5]
		人角膜上皮细胞	IL-6、IL-8上调	促炎作用	[28]
3-oxo-C12:2-HSL		受IL- $\beta$ 刺激的肠上皮细胞 (Caco-2/TC7)	IL-8下调	抗炎作用	[31]
AI-2	天然	巨噬细胞 (RAW 264.7)	IL-1 $\beta$ 上调	促炎作用	[40]
	免疫	结肠细胞 (HCT-8)	IL-8上调	抗炎作用	[37]
		胃上皮细胞	NF- $\kappa$ B、IL-8下调		[38]
3-oxo-C12-HSL	获得性免疫	T淋巴细胞	IFN- $\gamma$ 上调	促炎作用	[48]
		调节性T细胞	IL-10、TGF- $\beta$ 上调	抗炎作用	[49]
			IFN- $\gamma$ 、IL-12 p70下调		
		受脂多糖刺激的树突细胞	IFN- $\gamma$ 、IL-12下调		[50]
			IL-10上调		
		受脂多糖刺激的肥大细胞	TNF- $\alpha$ 、IL-6下调		[53]

## 3 其他

### 3.1 QS信号分子与植物免疫

植物能利用其特有的免疫系统对病原菌产生抗性,从而抵抗病原菌入侵,有研究表明,QS信号分子可对其抗性产生一定影响。细菌分泌AHLs诱导植物系统获得性抗性的生物防治行为被称为AHL-启动<sup>[54]</sup>,但细菌产生的不同酰基链长度AHLs对植物抗性的影响不同,例如恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)产生的C4-HSL能够增强番茄对赤星病菌(*Alternaria alternata*)的抗性,因

为AHLs系统性诱导了水杨酸和乙烯依赖的防御基因表达。Liu等<sup>[55]</sup>研究表明,C8-HSL预处理可以使拟南芥对植物病原菌——丁香假单胞菌(*PstDC3000*)产生抗性,在*PstDC3000*攻毒后,C8-HSL处理的植株表现出过氧化物酶、苯丙氨酸氨解酶和超氧化物歧化酶等防御相关酶的活性增加。另外发现,C8-HSL对坏死性胡萝卜软腐果胶杆菌胡萝卜亚种(*Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum*, *Pcc*)也具有抗性<sup>[56]</sup>,C8-HSL在白莱和拟南芥幼苗中诱导吲哚乙酸(IAA)积累和生长素响应基因*DR5*、*SAUR*的表达,当IAA在拟南

芥和白菜根系达到 10  $\mu\text{mol/L}$  时, 激活了植物体内的茉莉酸 (JA) 途径, 从而增强了自身对 *Pcc* 的抗性, 这一结果表明, JA 途径与生长素途径协同参与了 AHL-启动。除了对植物抗性的影响, 有研究发现, 短链 QS 信号分子在植物获取营养成分的过程里也起到不可忽视的作用, 比如 Joseph 等<sup>[57]</sup> 研究发现, 短链 AHLs 刺激菜豆叶片能够增强蒸腾作用进而获得磷等营养物质, 以及在模式生物拟南芥根系中添加 C4-HSL 会增加胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度 (图 6), 提高植物耐盐性<sup>[58]</sup> 等。

长链 AHLs 使植物获得抗性而产生影响的例子, 最常见的是信号分子 3-oxo-C14-HSL 的相关研究。草木樨中华根瘤菌 (*Sinorhizobium meliloti*) 产生的 3-oxo-C14-HSL 接种于植物宿主后, 增强了宿主对真菌病原体的抗性, 其诱导抗性机制被证明依赖于脂氧化物和水杨酸<sup>[59]</sup>。另外 Adss 等<sup>[60]</sup> 研究发现, 接种 3-oxo-C14-HSL 后培养的大豆植株, 根系受根线虫入侵显著减少, 当在第 3、7、15 天后再次刺激时, 实验组大豆植株根系中的根线虫依然比对照组少, 这一结果说明, 植物存在“免疫刺激”, 而一种植物体内同时拥有多种 AHLs, 因此协调 AHLs 的联合反应极为重要。Duan 等<sup>[61]</sup> 通过对植物体内的 JA 及其代谢物含量分析发现, 在拟南芥防御过程中, 茉莉酸盐对 AHLs 混合物的诱导起到重要作用, 这意味着 JA 途径激活参与了 AHL-启动, 但根据对 Sanchez-Mahecha 等<sup>[62]</sup> 所做的研究分析, 不同的 AHLs 在植物体内的信号干扰通过诱导不同的植物途径而实现, 这种干扰最终影响植物与微生物的相互作用, 使得植物抗感染能力增强。因此在研究不同 AHLs 组合的作用机制时, 还应该考虑植物体内多方面的植物途径影响。

在植物与病原微生物长期协同进化的过程中, 植物逐渐形成了先天免疫系统, 该系统感知“非我”分子并迅速产生一系列的防卫反应, 从而阻止病原微生物的侵染。野油菜黄单胞杆菌 (*Xanthomonas campestris*, *Xcc*) 的 QS 信号分子为 DSF, 其可在拟南芥、本氏烟草和水稻等植物中引起天然免疫应答<sup>[63]</sup>, 而细菌的胞外多糖 (extracellular polysaccharide, EPS) 黄芪胶能够抑制其产生作用 (图 6)。DSF 能够在较低浓度 ( $\leq 10 \mu\text{mol/L}$ ) 的条件下参与植物细胞壁防御的启动, 影响由植物识别微生物相关分子模式 (MAMP) 介导的 MAMP 触发的免疫 (MTI); 继而随着 *Xcc* 细胞数量的不断增加, DSF 的产量也随

之增加 ( $\geq 20 \mu\text{mol/L}$ ), 这时 DSF 会诱导植物出现早期防御反应 (胼胝质沉积、活性氧迸发、防御基因表达等); 当 *Xcc* 在植物体内继续增长至产生高浓度水平 DSF (50~100  $\mu\text{mol/L}$ ) 时, EPS 产量进一步增加。EPS 是一种由 DSF 正向调节的毒力相关因子, 高水平 EPS 可以抑制由 DSF 引起的植物防御反应, 包括早期过敏性坏死 (hyper sensitive response, HR) 样症状。Ma 等<sup>[64]</sup> 发现, DSF 能够通过减少植物 I 型形成蛋白 (formin) 的聚集, 从而破坏微丝骨架调控的植物免疫, 其主要是通过提高植物纤维素的产生从而减少成蛋白的聚集, 进一步破坏肌动蛋白成核, 最终改变植物细胞中肌动蛋白重排含量以促进植物免疫应答。除此之外, DSF 还能够逆转细菌诱导的拟南芥气孔关闭, 研究表明, 这一变化可能依赖于 MPK3 信号通路<sup>[65]</sup>。

### 3.2 其他 QS 信号分子与宿主免疫

除细菌之外, 真菌也会分泌其特定的 QS 信号分子影响宿主免疫系统。白念珠菌 (*Candida albicans*) 的 QS 信号分子为法尼醇。法尼醇能够激活中性粒细胞和单核细胞增强炎症反应 (图 6), 另外还具有增加白念珠菌侵染巨噬细胞的能力<sup>[66]</sup>, 使巨噬细胞 IL-12 p40 亚基和 IL-12 p70 亚基的表达下调; 法尼醇还可以通过抑制 T 淋巴细胞中 IFN- $\gamma$  和 IL-5 的产生<sup>[67]</sup>, 从而抵抗或削弱宿主免疫。对于其他免疫细胞, Leonhardt 等<sup>[66]</sup> 研究表明, 法尼醇除了激活宿主天然免疫, 还会抑制宿主获得性免疫。例如, 法尼醇能够同时促进单核细胞 (CD86、HLA-DR) 和中性粒细胞 (CD66b、CD11b) 表面活化标志物的表达, 以及细胞活性氧迸发和促炎细胞因子 TNF- $\alpha$  的释放, 以此激活细胞炎症反应 (图 6), 但这种情况不增加宿主对白念珠菌的摄取和杀伤。此外, 法尼醇还具有破坏单核细胞分化为未成熟 DC (iDC) 的能力, 以及通过调节细胞迁移行为和细胞因子释放, 削弱 DC 诱导 T 细胞增殖的能力。转录组分析结果显示, 在单核细胞向 iDC 分化的过程中, 法尼醇诱导了粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 受体 CSF2R 的下调和效应分子表达的改变。与此同时, Vivas 等<sup>[68]</sup> 也发现, 法尼醇通过调节核受体 (PPAR $\gamma$ 、RAR $\alpha$ 、p38 MAPK) 增加了呈递糖蛋白 CD1d 的表达, 从而削弱 DC 活化某些 T 细胞亚群的能力, 使白念珠菌克服 DC 介导的免疫反应 (图 6)。多发性硬化症 (MS) 是由免疫功能异常引起的疾病, 病理研究中常用自身免疫性脑脊髓炎 (EAE) 小鼠作为实验对象, 近来

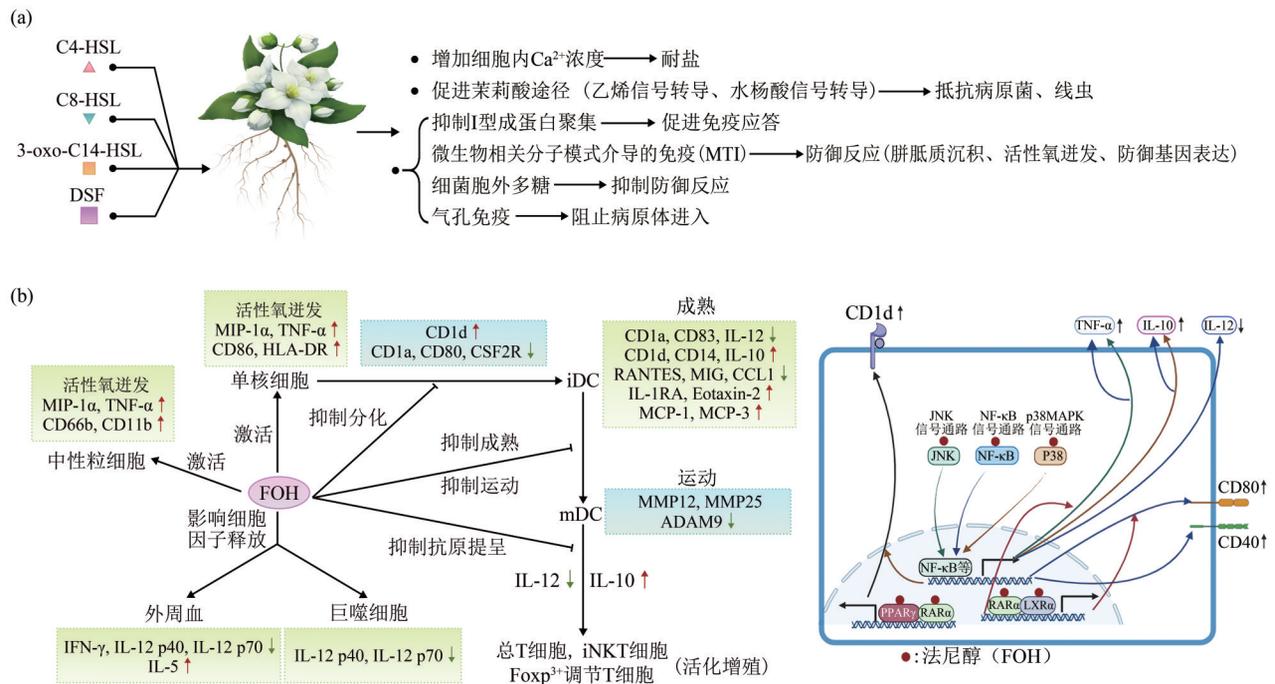


Fig. 6 QS molecules and plant immunity ( a ) and antifungal immunity ( b )

图6 QS信号分子与植物免疫 ( a ) 和抗真菌免疫 ( b )

Sell等<sup>[69]</sup>发现,法尼醇对EAE小鼠具有保护作用,灌胃给予法尼醇后显著降低了80% EAE小鼠的疾病严重程度,而且将小鼠发病时间延后2 d。此外,经法尼醇治疗后,EAE小鼠脊髓中的单核细胞-巨噬细胞、DC和CD4<sup>+</sup>T细胞的脊髓浸润减少,且肠道微生物组成也发生了改变,即厚壁菌门对拟杆菌门的比值下降。这一研究结果意味着法尼醇对MS患者的保护作用可能与其调节肠道菌群能力有关。

除以上叙述的QS信号分子之外,还有一些影响宿主免疫的QS信号分子,比如*P. aeruginosa*产生的另一种群体感应分子2-氨基苯乙酮(2-AA)同样具有抑制宿主免疫反应并且调节宿主代谢的作用。2-AA导致体内和体外免疫细胞因子组蛋白乙酰化的改变,从而诱导宿主免疫细胞重编程,这种宿主表观遗传重编程抑制了宿主对暴露于2-AA或其他不相关病原体相关分子的反应,这一发现也是首例QS分子调节宿主表观基因组的研究<sup>[70]</sup>。另外一种光合细菌——沼泽红假单胞菌(*Rhodospseudomonas palustris*),其分泌的QS信号分子,对香豆酰高丝氨酸内酯(pC-HSL),能够提高植物对烟草花叶病毒(TMV)感染的抗性<sup>[71]</sup>。

## 4 总结与展望

宿主导向的抗菌治疗策略就是减弱病原菌与宿主的相互作用、直接促进以及协助宿主抗菌。以抑制QS信号分子为目标,干扰细菌和宿主细胞相互作用,开发抗菌药物正是基于这一理念。从20世纪60年代,Tomasz等<sup>[72]</sup>在肺炎链球菌中发现了第一个QS信号分子到今天,对群体感应的研究从微生物间的相互作用,逐渐扩展到微生物/QS信号分子与宿主细胞间的相互作用。*P. aeruginosa*是临床上最常见的条件致病菌之一,科研工作者对*P. aeruginosa*的AHLs类信号分子3-oxo-C12-HSL开展了丰富的研究,其对宿主免疫应答的影响包括调节免疫细胞分泌炎症因子的水平、破坏免疫细胞紧密连接结构、引起免疫细胞凋亡等。AHLs类分子中的内酯环结构使其具有脂溶性,从而有利于通过细胞膜进入宿主免疫细胞,发挥相应的作用,开发能够专属性破坏该内酯环结构的化合物,从宿主角度来看是个很好的选择。

关于QS信号分子AI-2与宿主免疫的相关研究较少,基于已有研究发现,AI-2对胃肠道上皮细胞具有抗炎作用<sup>[36-38]</sup>,在针对肠胃感染疾病治疗时有

一定应用潜力。此外,许多非感染性疾病,包括肥胖、自闭症、肠应激等与拟杆菌门和厚壁菌门的相对丰度有关, Thompson 等<sup>[73]</sup>发现, AI-2 能够调节宿主肠道菌群中厚壁菌门细菌与拟杆菌门细菌的比例,促进机体维持健康的肠道菌群,有助于调节免疫细胞的活动和维护黏膜屏障。因此,可以利用 AI-2 “定制”肠道微生物组成以治疗肠道菌群失衡,或者通过改造 AI-2 分子结构,操纵细菌成为益生菌,以抑制致病菌的毒力或生长,更好地抵抗感染和疾病。近来 Medina-Rodriguez 等<sup>[74]</sup>研究发现, AI-2 信号还与神经系统的抑郁情绪形成有关,其主要依赖辅助性 T 细胞 17 (Th17) 增加小鼠对抑郁样行为的易感性,对此展开研究或许能够发掘治疗抑郁症的药物。但是目前 AI-2 信号在应用上还存在一定瓶颈,其价格较高,且稳定性较差,给相关研究带来了阻碍,因此如何开发高产量的 AI-2 制备方法或通过化学修饰提高 AI-2 的稳定性,是迫切需要解决的问题。

综上,本文探讨了 QS 信号分子对宿主免疫应答系统的影响,发现其作用与自身的结构和浓度以及免疫细胞的种类密切相关。但其具体作用靶点仅有脂筏结构及对氧磷酶等有限几个,还有待于进一步开发。另外,本课题组在筛选 QS 抑制剂时发现传统的筛选方式主要针对细菌靶点,导致作用于宿主靶点的 QS 抑制剂被错过(未发表数据),因此亟需开发宿主导向的 QS 抑制剂筛选模型。目前,耐药菌株的不断出现,以及抗生素的开发困境,使研究人员开始聚焦于宿主免疫系统和 QS 信号分子之间的相互作用规律,基于靶点研发潜在的宿主导向抗菌药物,并且合理设计出靶向性强和副作用低的抗菌药物分子结构,是未来治疗耐药病原菌感染的重要方向。

### 参 考 文 献

- [1] Tian X, Ding H, Ke W, *et al.* Quorum sensing in fungal species. *Annu Rev Microbiol*, 2021, **75**: 449-469
- [2] Tashiro Y, Yawata Y, Toyofuku M, *et al.* Interspecies interaction between *Pseudomonas aeruginosa* and other microorganisms. *Microbes Environ*, 2013, **28**(1): 13-24
- [3] Glucksam-Galnoy Y, Sananes R, Silberstein N, *et al.* The bacterial quorum-sensing signal molecule N-3-oxo-dodecanoyl-L-homoserine lactone reciprocally modulates pro- and anti-inflammatory cytokines in activated macrophages. *J Immunol*, 2013, **191**(1): 337-344
- [4] Bortolotti D, LeMaout J, Trapella C, *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing molecule N- (3-oxododecanoyl) -L-homoserine-lactone induces HLA-G expression in human immune cells. *Infect Immun*, 2015, **83**(10): 3918-3925
- [5] Gaida M M, Dapunt U, Hänsch G M. Sensing developing biofilms: the bitter receptor T2R38 on myeloid cells. *Pathog Dis*, 2016, **74**(3): ftw004
- [6] Coquant G, Aguanno D, Brot L, *et al.* 3-oxo-C12: 2-HSL, quorum sensing molecule from human intestinal microbiota, inhibits pro-inflammatory pathways in immune cells *via* bitter taste receptors. *Sci Rep*, 2022, **12**(1): 9440
- [7] Salas A, Hernandez-Rocha C, Duijvestein M, *et al.* JAK-STAT pathway targeting for the treatment of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, **17**(6): 323-337
- [8] Song D, Meng J, Cheng J, *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing metabolite induces host immune cell death through cell surface lipid domain dissolution. *Nat Microbiol*, 2019, **4**(1): 97-111
- [9] Horikawa M, Tateda K, Tuzuki E, *et al.* Synthesis of *Pseudomonas* quorum-sensing autoinducer analogs and structural entities required for induction of apoptosis in macrophages. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, **16**(8): 2130-2133
- [10] Rumbaugh K P. Convergence of hormones and autoinducers at the host/pathogen interface. *Anal Bioanal Chem*, 2007, **387**(2): 425-435
- [11] Woo K, Kim D H, Oh M H, *et al.* N-3-hydroxy dodecanoyl-DL-homoserine lactone (OH-dDHL) triggers apoptosis of bone marrow-derived macrophages through the ER- and mitochondria-mediated pathways. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(14): 7565
- [12] Holm A, Magnusson K E, Vikström E. *Pseudomonas aeruginosa* N-3-oxo-dodecanoyl-homoserine lactone elicits changes in cell volume, morphology, and aqp9 characteristics in macrophages. *Front Cell Infect Microbiol*, 2016, **6**: 32
- [13] Banerji R, Saroj S D. Exposure to acyl homoserine lactone enhances survival of streptococcus pyogenes in murine macrophages. *Microb Ecol*, 2022, **84**(4): 1256-1263
- [14] 蒋栋磊, 刘延, 葛攀玮, 等. 酰化高丝氨酸内酯对巨噬细胞模型影响初探. *食品工业科技*, 2017, **38**(24): 227-230, 237
- [14] Jiang D L, Liu Y, Ge P W, *et al.* *Sci Technol Food Ind*, 2017, **38**(24): 227-230, 237
- [15] Jadhav G P, Chhabra S R, Telford G, *et al.* Immunosuppressive but non-LasR-inducing analogues of the *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing molecule N- (3-oxododecanoyl) -l-homoserine lactone. *J Med Chem*, 2011, **54**(9): 3348-3359
- [16] Gaisford W, Pritchard D I, Cooke A. OdDHL inhibits T cell subset differentiation and delays diabetes onset in NOD mice. *Clin Vaccine Immunol*, 2011, **18**(8): 1213-1220
- [17] Devarajan A, Bourquard N, Grijalva V R, *et al.* Role of PON2 in innate immune response in an acute infection model. *Mol Genet Metab*, 2013, **110**(3): 362-370
- [18] Parween F, Yadav P, Singh K, *et al.* Production of highly soluble native human paraoxonase 2 with potential anti-biofilm property. *Prep Biochem Biotechnol*, 2023, **53**(5): 465-474
- [19] Estin M L, Stoltz D A, Zabner J. Paraoxonase 1, quorum sensing, and *P. aeruginosa* infection: a novel model. *Adv Exp Med Biol*,

- 2010, **660**: 183-193
- [20] 耿亚飞. 木犀草素对铜绿假单胞菌的群体感应抑制及免疫调节机制研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021
- Geng Y F. Study on Quorum Sensing Inhibition and Immune Regulation Mechanism of Luteolin Against *Pseudomonas aeruginosa* [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021
- [21] Zhong L, Ravichandran V, Zhang N, *et al.* Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing by natural products: virtual screening, evaluation and biomolecular interactions. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(6): 2190
- [22] Losa D, Köhler T, Bacchetta M, *et al.* Airway epithelial cell integrity protects from cytotoxicity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signals. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2015, **53**(2): 265-275
- [23] 刘云. 细菌群体感应信号分子3OC<sub>12</sub>-HSL对仔猪小肠上皮细胞IPEC-J2的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2017
- Liu Y. Effect of Bacterial Quorum Sensing Signal Molecule 3OC<sub>12</sub>-HSL on Small Intestinal Epithelial Cell IPEC-J2 in Piglets[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2017
- [24] Nesse L L, Berg K, Vestby L K, *et al.* *Salmonella typhimurium* invasion of HEP-2 epithelial cells *in vitro* is increased by N-acylhomoserine lactone quorum sensing signals. *Acta Vet Scand*, 2011, **53**(1): 44
- [25] Kumar S R, Bryan J N, Eaton A M, *et al.* Differential modulation of transcription factors and cytoskeletal proteins in prostate carcinoma cells by a bacterial lactone. *Biomed Res Int*, 2018, **2018**: 6430504
- [26] Tao S, Xiong Y, Han D, *et al.* N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone disrupts intestinal epithelial barrier through triggering apoptosis and collapsing extracellular matrix and tight junction. *J Cell Physiol*, 2021, **236**(8): 5771-5784
- [27] Balhouse B N, Patterson L, Schmelz E M, *et al.* N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone interactions in the breast tumor microenvironment: implications for breast cancer viability and proliferation *in vitro*. *PLoS One*, 2017, **12**(7): e0180372
- [28] Hu R, Yuan K, Zhou J, *et al.* Influence of *Pseudomonas autoinducer* N-3-oxododecanoyl homoserine lactone on human corneal epithelial cells. *Exp Biol Med*, 2021, **246**(4): 426-435
- [29] Karlsson T, Turkina M V, Yakymenko O, *et al.* The *Pseudomonas aeruginosa* N-acylhomoserine lactone quorum sensing molecules target IQGAP1 and modulate epithelial cell migration. *PLoS Pathog*, 2012, **8**(10): e1002953
- [30] Galimberti R L, Vacas A S, Bollea Garlatti M L, *et al.* The role of interleukin-1 $\beta$  in pyoderma gangrenosum. *JAAD Case Rep*, 2016, **2**(5): 366-368
- [31] Landman C, Grill J P, Mallet J M, *et al.* Inter-kingdom effect on epithelial cells of the N-Acyl homoserine lactone 3-oxo-C12: 2, a major quorum-sensing molecule from gut microbiota. *PLoS One*, 2018, **13**(8): e0202587
- [32] Aguanno D, Coquant G, Postal B G, *et al.* The intestinal quorum sensing 3-oxo-C12: 2 acyl homoserine lactone limits cytokine-induced tight junction disruption. *Tissue Barriers*, 2020, **8**(4): 1832877
- [33] Hollenhorst M I, Nandigama R, Evers S B, *et al.* Bitter taste signaling in tracheal epithelial brush cells elicits innate immune responses to bacterial infection. *J Clin Invest*, 2022, **132**(13): e150951
- [34] Taga M E, Xavier K B. Methods for analysis of bacterial autoinducer-2 production. *Curr Protoc Microbiol*, 2011, **Chapter 1**: Unit1C.1
- [35] Lee K W, Jie H, Kim S, *et al.* Effect of luxS encoding a synthase of quorum-sensing signal molecule AI-2 of *Vibrio vulnificus* on mouse gut microbiome. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2022, **106**(9/10): 3721-3734
- [36] Deng Z, Hou K, Valencak T G, *et al.* AI-2/LuxS quorum sensing system promotes biofilm formation of lactobacillus rhamnosus GG and enhances the resistance to enterotoxigenic *Escherichia coli* in germ-free zebrafish. *Microbiol Spectr*, 2022, **10**(4): e0061022
- [37] Zargar A, Quan D N, Carter K K, *et al.* Bacterial secretions of nonpathogenic *Escherichia coli* elicit inflammatory pathways: a closer investigation of interkingdom signaling. *mBio*, 2015, **6**(2): e00025
- [38] Wen Y, Huang H, Tang T, *et al.* AI-2 represses CagA expression and bacterial adhesion, attenuating the *Helicobacter pylori*-induced inflammatory response of gastric epithelial cells. *Helicobacter*, 2021, **26**(2): e12778
- [39] Ji Y C, Sun Q, Fu C Y, *et al.* Exogenous autoinducer-2 rescues intestinal dysbiosis and intestinal inflammation in a neonatal mouse necrotizing enterocolitis model. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, **11**: 694395
- [40] Wu J, Wang Y, Jiang Z. Immune induction identified by TMT proteomics analysis in *Fusobacterium nucleatum* autoinducer-2 treated macrophages. *Expert Rev Proteomics*, 2020, **17**(2): 175-185
- [41] Peng L Y, Yuan M, Wu Z M, *et al.* Anti-bacterial activity of baicalin against APEC through inhibition of quorum sensing and inflammatory responses. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 4063
- [42] Taha-Abdelaziz K, Astill J, Kulkarni R R, *et al.* *In vitro* assessment of immunomodulatory and anti-*Campylobacter* activities of probiotic lactobacilli. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 17903
- [43] Yehuda A, Malach E, Vanunu Ofri S, *et al.* The quorum-sensing peptidic inhibitor rescues host immune system eradication: a novel infectivity mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2023, **120**(35): e2301045120
- [44] 苟登群, 张鹭, 徐元锂, 等. 中性粒细胞与淋巴细胞比值和红细胞分布宽度作为衰弱潜在生物标志物的范围综述. *中国全科医学*, 2023, **26**(17): 2169-2175
- Gou D Q, Zhang L, Xu Y L, *et al.* *Chin Gen Pract*, 2023, **26**(17): 2169-2175
- [45] Luiz de Freitas L, Pereira da Silva F, Fernandes K M, *et al.* The virulence of *Salmonella Enteritidis* in *Galleria mellonella* is improved by N-dodecanoyl-homoserine lactone. *Microb Pathog*, 2021, **152**: 104730
- [46] Nishimura-Danjobara Y, Oyama K, Kanemaru K, *et al.* N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine-lactone, a quorum sensing

- molecule, affects cellular content of nonprotein thiol content in rat lymphocytes: its relation with intracellular Zn<sup>2+</sup>. *Chem Biol Interact*, 2018, **280**: 28-32
- [47] Josephson H, Ntzouni M, Skoglund C, *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* N-3-oxo-dodecanoyl-homoserine lactone impacts mitochondrial networks morphology, energetics, and proteome in host cells. *Front Microbiol*, 2020, **11**: 1069
- [48] Bao L, Yu J, Zhong H, *et al.* Expression of toll-like receptors in T lymphocytes stimulated with N- (3-oxododecanoyl) -L-homoserine lactone from *Pseudomonas aeruginosa*. *APMIS*, 2017, **125**(6): 553-557
- [49] Li Y, Zhou H, Zhang Y, *et al.* N-3-(oxododecanoyl)-L-homoserine lactone promotes the induction of regulatory T-cells by preventing human dendritic cell maturation. *Exp Biol Med*, 2015, **240**(7): 896-903
- [50] Zhang X, Liu Y, Lu Y, *et al.* N-3-(oxododecanoyl)-L-homoserine lactone suppresses dendritic cell maturation by upregulating the long noncoding RNA NR1R. *J Biosci*, 2021, **46**: 65
- [51] Shalek A K, Satija R, Shuga J, *et al.* Single-cell RNA-seq reveals dynamic paracrine control of cellular variation. *Nature*, 2014, **510**(7505): 363-369
- [52] Singh P K, Yadav V K, Kalia M, *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing molecule N- (3-oxo-dodecanoyl) -L-homoserine lactone triggers mitochondrial dysfunction and apoptosis in neutrophils through calcium signaling. *Med Microbiol Immunol*, 2019, **208**(6): 855-868
- [53] Khambati I, Han S, Pijnenburg D, *et al.* The bacterial quorum-sensing molecule, N-3-oxo-dodecanoyl-L-homoserine lactone, inhibits mediator release and chemotaxis of murine mast cells. *Inflamm Res*, 2017, **66**(3): 259-268
- [54] Schuhegger R, Ihring A, Gantner S, *et al.* Induction of systemic resistance in tomato by N-acyl-L-homoserine lactone-producing rhizosphere bacteria. *Plant Cell Environ*, 2006, **29**(5): 909-918
- [55] Liu F, Zhao Q, Jia Z, *et al.* N-3-oxo-octanoyl-homoserine lactone-mediated priming of resistance to *Pseudomonas syringae* requires the salicylic acid signaling pathway in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol*, 2020, **20**(1): 38
- [56] Liu F, Zhao Q, Jia Z, *et al.* N-3-oxo-octanoyl homoserine lactone primes plant resistance against necrotrophic pathogen *Pectobacterium carotovorum* by coordinating jasmonic acid and auxin-signaling pathways. *Front Plant Sci*, 2022, **13**: 886268
- [57] Joseph C M, Phillips D A. Metabolites from soil bacteria affect plant water relations. *Plant Physiol Biochem*, 2003, **41**(2): 189-192
- [58] Zhao Q, Zhang C, Jia Z, *et al.* Involvement of calmodulin in regulation of primary root elongation by N-3-oxo-hexanoyl homoserine lactone in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci*, 2014, **5**: 807
- [59] Schenk S T, Schikora A. AHL-priming functions *via* oxylipin and salicylic acid. *Front Plant Sci*, 2015, **5**: 784
- [60] Adss S, Liu B, Beerhues L, *et al.* Priming soybean cv. primus leads to successful systemic defense against the root-lesion nematode, *Pratylenchus penetrans*. *Front Plant Sci*, 2021, **12**: 651943
- [61] Duan Y, Han M, Grimm M, *et al.* Combination of bacterial N-acyl homoserine lactones primes *Arabidopsis* defenses *via* jasmonate metabolism. *Plant Physiol*, 2023, **191**(3): 2027-2044
- [62] Sanchez-Mahecha O, Klink S, Heinen R, *et al.* Impaired microbial N-acyl homoserine lactone signalling increases plant resistance to aphids across variable abiotic and biotic environments. *Plant Cell Environ*, 2022, **45**(10): 3052-3069
- [63] Kakkar A, Nizampatnam N R, Kondreddy A, *et al.* Xanthomonas campestris cell-cell signalling molecule DSF (diffusible signal factor) elicits innate immunity in plants and is suppressed by the exopolysaccharide xanthan. *J Exp Bot*, 2015, **66**(21): 6697-6714
- [64] Ma Z, Liu X, Nath S, *et al.* Formin nanoclustering-mediated actin assembly during plant flagellin and DSF signaling. *Cell Rep*, 2021, **34**(13): 108884
- [65] Gudesblat G E, Torres P S, Vojnov A A. *Xanthomonas campestris* overcomes *Arabidopsis stomatal* innate immunity through a DSF cell-to-cell signal-regulated virulence factor. *Plant Physiol*, 2009, **149**(2): 1017-1027
- [66] Leonhardt I, Spielberg S, Weber M, *et al.* The fungal quorum-sensing molecule farnesol activates innate immune cells but suppresses cellular adaptive immunity. *mBio*, 2015, **6**(2): e00143
- [67] Navarathna D H M L P, Nickerson K W, Duhamel G E, *et al.* Exogenous farnesol interferes with the normal progression of cytokine expression during candidiasis in a mouse model. *Infect Immun*, 2007, **75**(8): 4006-4011
- [68] Vivas W, Leonhardt I, Hünig K, *et al.* Multiple signaling pathways involved in human dendritic cell maturation are affected by the fungal quorum-sensing molecule farnesol. *J Immunol*, 2019, **203**(11): 2959-2969
- [69] Sell L B, Ramelow C C, Kohl H M, *et al.* Farnesol induces protection against murine CNS inflammatory demyelination and modifies gut microbiome. *Clin Immunol*, 2022, **235**: 108766
- [70] Bandyopadhyaya A, Tsurumi A, Maura D, *et al.* A quorum-sensing signal promotes host tolerance training through HDAC1-mediated epigenetic reprogramming. *Nat Microbiol*, 2016, **1**: 16174
- [71] Du X, Huang R, Zhang Z, *et al.* *Rhodospseudomonas palustris* quorum sensing molecule *p* C-HSL induces systemic resistance to TMV infection *via* upregulation of *NbSIPK/NbWIPK* expressions in *Nicotiana benthamiana*. *Phytopathology*, 2021, **111**(3): 500-508
- [72] Tomasz A. Control of the competent state in *Pneumococcus* by a hormone-like cell product: an example for a new type of regulatory mechanism in bacteria. *Nature*, 1965, **208**(5006): 155-159
- [73] Thompson J A, Oliveira R A, Xavier K B. Chemical conversations in the gut microbiota. *Gut Microbes*, 2016, **7**(2): 163-170
- [74] Medina-Rodriguez E M, Madorma D, O'Connor G, *et al.* Identification of a signaling mechanism by which the microbiome regulates Th17 cell-mediated depressive-like behaviors in mice. *Am J Psychiatry*, 2020, **177**(10): 974-990

## Effects of Quorum Sensing Molecules on The Immune System \*

MA Wen-Min<sup>1)</sup>, CHEN Xuan-Qi<sup>2)</sup>, MA Hong-Xia<sup>1,3)</sup>, ZHANG Wen-Hui<sup>1)</sup>, KONG Ling-Cong<sup>2)</sup>,  
ZHOU Yu-Jia<sup>1)</sup>, HU Yuan-Yuan<sup>4)</sup>, JIA Yu<sup>1,3)</sup>\*\*

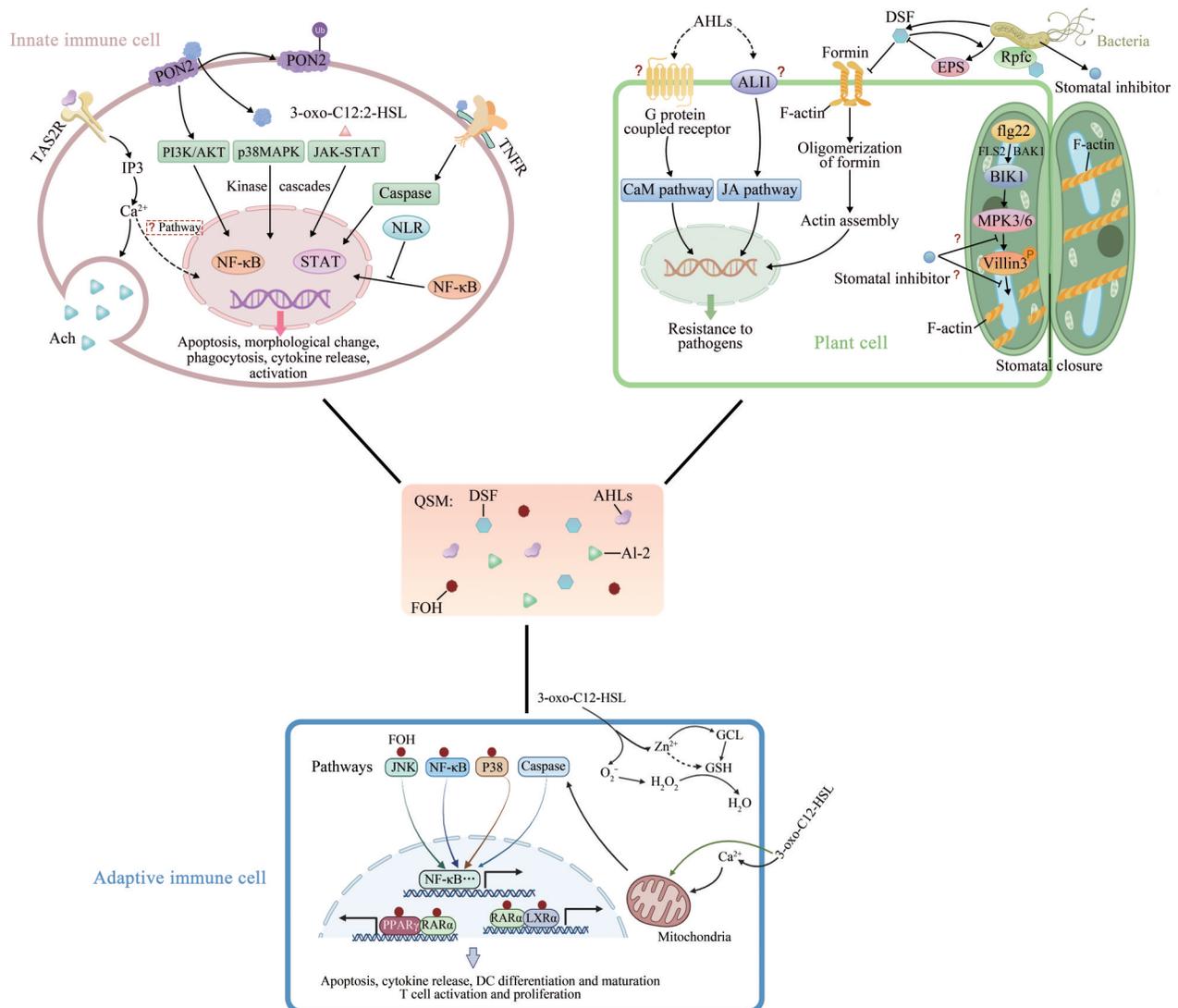
<sup>1)</sup>College of Life Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

<sup>2)</sup>College of Veterinary Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

<sup>3)</sup>Engineering Research Center of Bioreactor and Pharmaceutical Development, Ministry of Education, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

<sup>4)</sup>Zhejiang Keming Biopharmaceutical Co., LTD, Shaoxing 312500, China)

### Graphical abstract



\* This work was supported by a grant from Natural Science Foundation of Jilin Province (20230101199JC).

\*\* Corresponding author.

Tel: 86-15904313670, E-mail: jiayu@jlau.edu.cn

Received: January 9, 2024 Accepted: April 24, 2024

**Abstract** In recent years, the development of host-acting antibacterial compounds has gradually become a hotspot in the field of anti-infection. Through research on the interaction mechanism between hosts and pathogenic bacteria, it has been found that the immune system is one of the key targets of host-acting antibacterial compounds. There is a communication system called the quorum sensing system in microorganisms, which mainly adjusts the structure of multi-microbial community and coordinates the group behavior. When the quorum sensing molecules secreted by microorganisms reach a threshold concentration, the quorum sensing system is activated and the overall gene expression of the microorganism is changed. In addition to regulating the density of microorganisms, quorum sensing molecules can also act as a link between pathogenic microorganisms and hosts, entering the host immune system and playing a role in affecting the morphological structure of immune cells, secreting cytokines, and inducing apoptosis, leading to host immune injury and causing host immune dysfunction. The key mechanism of 3-oxo-C12-HSL and other acyl-homoserine lactone (AHL) molecules in the innate immune system has been extensively studied. The lipid solubility allows AHLs to pass through the plasma membrane of host immune cells easily and induce dissolution of lipid domains. Then, it acts through signaling pathways such as p38MAPK and JAK-STAT, further influencing the immune cell's defense response to bacteria and potentially leading to cell apoptosis. Additionally, the human lactonase paraoxonase 2, which can degrade 3-oxo-C12-HSL, has been found in macrophage. It acts as an immune regulator that promotes macrophage phagocytosis of pathogens and is hypothesized to have the ability to reduce bacterial resistance. The mechanism of quorum sensing molecules in the adaptive immune system is less studied, the current results suggest that 3-oxo-C12-HSL is closely related to the mitochondrial pathway in host immune cells. For example, 3-oxo-C12-HSL induces apoptosis of Jurkat cells by inhibiting the expression of three mitochondrial electron transport chain proteins; it can also trigger mitochondrial dysfunction and induce mast cell apoptosis through  $\text{Ca}^{2+}$  signaling. Among the quorum sensing molecules, the AHLs have the greatest impact on plant immune system. The different effects on plant resistance depends on the chain lengths of acyl groups in bacterial-produced AHLs. Short-chain AHLs (C4-HSL and C8-HSL) induce plant resistance to pathogenic bacteria mainly through the auxin pathway and jasmonic acid pathway. Long-chain AHL (3-oxo-C14-HSL) is commonly used in hosts against fungal pathogens by inducing stomata defense responses, and the reaction process is related to salicylic acid. Diffusible signal factor molecules also interfere with the stomatal immunity caused by pathogens. It may act through the formin nanoclustering-mediated actin assembly and MPK3 pathway to inhibit the innate immunity of *Arabidopsis*. In summary, AHLs induced different plant pathways and affects the plant-bacteria interactions to trigger plant immunity. As a quorum sensing molecule of fungi, farnesol has similar effects on host immunity as AHLs, such as stimulating cytokine secretion and activating an inflammatory response. It also plays a unique role on dendritic cell differentiation and maturation. In addition, studies have found that farnesol has a protective effect on autoimmune encephalomyelitis, which may be related to its effect on the composition of intestinal microorganisms of the host. Therefore, targeting the host immune system and quorum sensing molecules to develop antibacterial compounds can effectively inhibit the invasion of pathogens and subserve the host to resist the influence of pathogenic bacteria. This article will review the mechanism of host immune responses triggered by important quorum sensing molecules, aiming to explore the targets of host-acting antibacterial compounds and provide new directions for the prevention or treatment of causative infectious sources and the development of related drugs.

**Key words** quorum sensing system, quorum sensing molecules, immune response, immune cells

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2024.0014