

- ential pattern of cytokine expression by macrophages infected in vitro with different Mycobacterium tuberculosis genotypes[J]. Clin Exp Immunol, 2005, 140(3): 443-449.
- [14] 黄家禹, 赵岩, 宋秀宇, 等. TNF- α 和脂多糖刺激结核病患者树突状细胞成熟效果比较[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(1): 9.
- [15] Rocha-Ramirez LM, Estrada-Garcia I, Lopez-Marin LM, et al. Mycobacterium tuberculosis lipids regulate cytokines, TLR-2/4 and MHC class II expression in human macrophages[J]. Tuberculosis (Edinb), 2008, 88(3): 212-220.
- [16] Rios-Barrera VA, Campos-Pena V, Aguilar-Leon D, et al. Macrophage and T lymphocyte apoptosis during experimental pulmonary tuberculosis; their relationship to mycobacterial virulence [J]. Eur J Immunol, 2006, 36(2): 345-353.
- [17] Park YK, Shin S, Ryu S, et al. Comparison of drug resistance genotypes between Beijing and non-Beijing family strains of Mycobacterium tuberculosis in Korea[J]. Microbiol Methods, 2005, 63(2): 1165-1172.
- [18] Lasunskaja E, Ribeiro SC, Manicheva O, et al. Emerging multidrug resistant Mycobacterium tuberculosis strains of the Beijing genotype circulating in Russia express a pattern of biological properties associated with enhanced virulence[J]. Microbes and Infection, 2010, 12(6): 467-475.
- [19] Marais BJ, Victor TC, Hesselning AC, et al. Beijing and Haarlem genotypes are overrepresented among children with drug-resistant tuberculosis in the Western Cape Province of South Africa[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(10): 3539-3543.
- [20] Mokrousov I, Otten T, Vyazovaya A, et al. PCR-based methodology for detecting multidrug-resistant strains of Mycobacterium tuberculosis Beijing family circulating in Russia[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2003, 22(6): 342-348.
- [21] Prammananan T, Cheunoy W, Taechamahapun D, et al. Distribution of rpoB mutations among multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis (MDR-TB) strains from Thailand and development of a rapid method for mutation detection[J]. Clin Microbiol Infect, 2008, 14(5): 446-453.
- [22] Mokrousov I, Otten T, Vyshnevskiy B, et al. Detection of embB306 mutations in ethambutol-susceptible clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis from Northwestern Russia: implications for genotypic resistance testing[J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(10): 3810-3813.
- [23] Parwati I, van Crevel R, van Soolingen D. Possible underlying mechanisms for successful emergence of the Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype strains Lancet[J]. Infectious Diseases, 2010, 10(2): 103-111.
- [24] Rad ME, Bifani P, Martin C, et al. Mutations in putative mutator genes of Mycobacterium tuberculosis strains of the W-Beijing family [J]. Emerg Infect Dis, 2003, 9(7): 838-845.
- [25] Moreland NJ, Charlier C, Dingley AJ, et al. Making sense of a missense mutation; characterization of MutT2, a Nudix hydrolase from Mycobacterium tuberculosis, and the G58R mutant encoded in W-Beijing strains of M[J]. Tuberculosis Biochemistry, 2009, 48(4): 699-708.
- [26] van Crevel R, Parwati I, Sahiratmadja E, et al. Infection with Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype strains is associated with polymorphisms in SLC11A1/NRAMP1 in Indonesian patients with tuberculosis[J]. J Infect Dis, 2009, 200(11): 1671-1674.

(收稿日期: 2011-08-11)

• 综 述 •

干细胞移植治疗下肢缺血性疾病的研究进展

邢 帅¹综述, 陈剑秋²△审校

(天津医科大学第二医院: 1. 普外科实验室; 2. 外科 300211)

关键词: 骨髓; 干细胞移植; 下肢缺血疾病

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 01. 024

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)01-0055-04

近年来,随着人口老龄化的进程及人们饮食结构的变化,以动脉粥样硬化闭塞症、糖尿病足和血栓闭塞性脉管炎为主的下肢缺血性疾病发病率在中国逐年上升^[1]。其主要表现为周围动脉的闭塞,约 30% 发生在髂动脉,70% 位于股、腘以及远动脉,单纯小腿动脉病变者仅占 15%。在严重下肢缺血患者中,10%~30% 患者于半年内死亡,25%~35% 的患者需高位截肢^[2]。此类患者多伴有体弱、高龄,下肢动脉血管常表现为主干动脉及其终末支全段或大部分的严重狭窄或闭塞,血管流出道的条件很差,患者无法接受动脉搭桥或支架植入,临床医师多盼望能有效解决远端流出道不理想的问题,将其作为血管外科基本课题之一^[3]。而自体干细胞在一定诱导条件下可分化成为血管性内皮细胞,可促进局部血管再生,使缺血部位生成新的毛细血管网,形成较为丰富的侧支循环,形成远侧肢体的流出道,达到治疗下肢缺血的目的,近几年来得到广泛关注

和应用。

1 干细胞治疗下肢缺血性疾病的基础研究

2003 年 Tepper 等^[4]阐述血管新生有两种方式,血管生成和血管形成,前者是指通过血管内皮细胞迁移、增殖,在原有的血管上以出芽的方式生长出新的血管;后者是指在原来没有血管系统的情况下,通过内皮祖细胞和造血干细胞的分化和相互作用产生新的血管。细胞参与血管形成的机制主要有两个方面,一是通过归巢、整合于受损的血管丛,进而直接分化、成熟为新血管;二是能直接分泌血管内皮生长因子(VEGF)等细胞因子,通过旁分泌的方式促进局部缺血组织的血管新生,其准确的作用机制尚不完全清楚。目前的基础研究主要限于单纯的干细胞移植和联合基因治疗的干细胞移植。前者主要分为单个核细胞(MNC)移植、骨髓间充质干细胞(MSCs)移植、内皮祖细胞(EPCs)移植三大类。MNC 包括骨髓造血系细胞、

△ 通讯作者, E-mail: chenchunchenqiu@yahoo.com.cn.

MSCs、EPCs、成纤维细胞、成骨细胞等多种细胞系,其中 MSCs 和 EPCs 可分泌多种成血管生长因子,其胞膜上的跨膜蛋白分为 CD34⁺ 和 CD34⁻。在干细胞移植中主要采用 CD34⁺ 细胞作为移植细胞,虽然 CD34⁻ 细胞也能够在体内表现出多分化潜能,但 CD34⁻ 细胞无论在数量还是在分化质量上都不如 CD34⁺ 细胞^[5]。近年来研究表明,人脐带血、成人外周血及骨髓中均存在 EPCs,而且人脐带血与外周血中的 EPCs 均来源于骨髓^[6]。Peichve 等^[7]通过一系列的动物实验,复制了家兔及小鼠后肢缺血的模型,局部注射体外扩增的 EPCs,证实了使用 EPCs 有助于新血管的形成。Rauscher 等^[8]延续此模型,并做了对照实验,将患有明显肢体缺血病变小鼠的骨髓干细胞和未患病的小鼠的 MSCs 都注射到患有高胆固醇血症的小鼠体内,发现后者更能阻止血管闭塞、肢体缺血的发生。国内陈晓春等^[9]实验结果提示,移植的骨髓干细胞可归巢到损伤血管内膜表面,参与新生内膜的形成,加重血管成形术后再狭窄程度。有研究通过免疫组化结合荧光原位杂交的方法,观察了位性别错配的骨髓移植患者的冠状动脉尸检标本,第一次在人尸检标本中证实骨髓干细胞参与动脉粥样硬化的发生和新生血管内膜的形成^[10-11]。近年来,国内外学者已经认识到缺血造成的一切后果均可通过侧支循环的建立和血管的新生得到代偿,这为干细胞移植治疗下肢缺血提供了临床理论基础。

2 自体外周血干细胞(PBSC)移植治疗下肢缺血的临床应用

近年来,随着细胞因子研究深入及血液细胞分离机在临床广泛应用,使动员骨髓中的造血干细胞进入外周血循环,并进行分离纯化成为可能。外周血干细胞移植(PB SCT)是使用动员剂将造血干细胞从骨髓中释放到外周血,再通过血细胞分离机从循环血中收集造血干细胞进行移植。移植前需向患者皮下注射粒细胞集落刺激因子(G-CSF),通过化学驱动因子增加外周造血干细胞和祖细胞数量,使骨髓干细胞充分动员到外周血循环中。目前较为常用移植方法为^[12]:G-CSF 450~600 μg/d,皮下注射,连用 5 d,每天监测外周血白细胞总数、心电图等。为防止因高白细胞血症引起的心脑血管意外或血栓形成,在干细胞动员的同时给予低分子肝素钙 5 000 U/d,皮下注射,每天监测外周血白细胞总数及临床症状变化,流式细胞仪监测采集前后 CD34⁺ 细胞数。第 6 天用血细胞分离机采集单个核细胞,将采集的约 100 mL 单个核细胞制成悬液,每条肢体移植的单核细胞数约(1~3)×10⁹ 个。患者行静脉麻醉,将采集的外周血干细胞悬液按 3 cm×3 cm 间距进行缺血肢体肌间分层注射,移植入缺血肢体肌肉内,3~6 个月后可观察新生血管状况。此方法简单、方便、经济,即使无效也不会像下肢远端搭桥手术失败一样破坏原本不足的侧支循环。移植后,造血功能恢复快,无道德伦理争议,所以,PB SCT 将成为临床医师治疗缺血性疾病的一种新手段^[13]。主要适用于已有缺血性静息痛、溃疡、坏疽的 Fontaine 分期的 III~IV 期且下肢远端没有动脉流出道的患者,也可用于年老体弱者,虽有良好流出道但不能耐受搭桥手术的患者。PB SCT 的缺点在于很难像血管搭桥一样立即见效,目前对于干细胞动员和移植是否能引发肿瘤的问题尚未完全明确,缺乏移植后的长期随访观察,全方面安全问题必须得到密切关注。

3 自体骨髓干细胞(BMSC)移植治疗下肢缺血的临床应用

自体骨髓干细胞极强的自我更新能力及多向分化潜能,是治疗下肢缺血性疾病的希望所在^[14]。2002 年 Tateishi-Yuyama 等^[15]在国际上首次报道了自体骨髓干细胞移植治疗下肢缺血性疾病的研究,接受自体骨髓单个核细胞移植治疗的 43

例下肢动脉缺血性疾病患者均获得了满意的疗效,且未发现任何明显的移植相关不良反应。骨髓干细胞采集前必须完善与麻醉的相关检查,包括血液生化、ECG、X 线片等。目前,临床较为规范的操作方法包括^[16-17]:术前骨髓评估,以排除血液病;术前一晚于皮下注射 G-CSF 300 U 进行骨髓干细胞动员;骨穿双侧髂前上棘抽取患者骨髓血约 300 mL,与 PBS 液 1:1 混匀叠加到等量密度分离液中,2 500 r/min 密度梯度离心制备单个核细胞悬液,计数细胞总量并测定 CD34⁺ 细胞含量;在连续硬膜外麻醉下行缺血肢体大腿中、下段及小腿前、后、外肌群,肌肉注射,每次注射 0.8~1.0 mL,间隔 1 cm,多点穿刺注射;采髓后予止痛、消炎治疗,之后可以从冷感、麻木感、踝趾指数、经皮氧分压、血管造影、间歇性跛行距离、溃疡面积、截肢平面的变化等来评估移植效果。大部分患者需要多次移植接种,才能取得较好的效果,治疗周期为 3 个月至 1 年。与 PB-SCT 相比,自体骨髓干细胞移植所采细胞更原始、操作更简单、费用更低。但骨髓采集创伤较大,对患者要求高,有些患者因痛苦和恐惧而难以接受。目前,首都医科大学宣武医院应用小剂量 G-CSF 进行 2~3 d 骨髓动员,只需 200 mL 左右骨髓即可明显增加疗效,且保证患者安全,降低心、脑血管并发症。Leone 等^[18]阐明了缺血部位骨髓干细胞发挥募集作用的机制,更加肯定了这种疗法。

4 脐血干细胞(UCB)移植治疗下肢缺血的基础研究与临床应用

UCB 因其来源丰富、制备便利且免疫原性较低已成为可供临床移植用 MSCs 和 EPCs 的重要替代来源,正日益受到国内外学者的重视,也是这 2 年逐渐开展起来的新技术。脐带血和骨髓中所含 CD34⁺ 细胞的百分比差异无统计学意义,分别为(1.0±0.3)%和(1.08±0.4)%,但在质量上却有差异,成人外周血 CD34⁺CD38⁺和 CD34⁺CD33⁻ 在 UCB 中的 CD34⁺ 细胞中的比例都明显高于骨髓,而且脐血 CD34⁺CD38⁺ 细胞的增殖分化能力高于骨髓,尤其加入各种细胞因子后,混合集落形成单位(CFU-GEMM)、红系造血祖细胞(BFU-E)集落数都明显高于骨髓,也高于成人外周血^[19],这是 UCB 在理论方面的优势,Kim 等 2006 年首先报道了应用 UCB 治疗 Buerger's 的成功案例。国内于 2009 年 3 月采用新生儿的脐带血成功地治疗了 1 例 74 岁的糖尿病下肢缺血男性患者,治疗后取得明显效果。由于罹患下肢缺血性疾病的多为中老年人,很少有患者保留有自体 UCB,目前临床使用的 UCB 基本都是异体的,移植到那些有正常骨髓功能的患者会导致免疫性移植物抗宿主反应,这样就极大限制了其大范围临床应用。

5 干细胞联合细胞因子移植治疗下肢缺血的临床应用

由于用来移植的干细胞数量有限,如何利用有限的干细胞更好促进下肢血管新生,人们进行了干细胞与细胞因子联合应用的研究。G-CSF、VEGF 及其受体、成纤维细胞生长因子(FGF)、IL-8 和促进血管形成的细胞因子等能动员骨髓释放 EPCs 进入外周血。Kaoru 等^[20]已经证实,干细胞分泌的细胞因子不足以促进血管新生,而是刺激骨骼肌细胞分泌足够的细胞因子促进血管新生,其中 IL-1β 是重要的细胞因子,但目前细胞因子对干细胞移植准确的作用机制尚不清楚。目前临床常用的细胞因子包括 VEGF、b-成纤维生长因子(bFGF)、IL-8、血小板衍生生长因子(PDGF)、转化生长因子 β(TGF-β)等和其他促进血管形成的细胞因子,其中 VEGF 是目前已发现的众多血管生成性调节因子中促血管生成效应最强的内皮细胞特异的生长因子,深受科研人员及临床医师的青睐。除了

VEGF,最近有学者进行干细胞与碱性成纤维细胞生长因子或血管形成素-1 联用的研究,均证实能进一步促进下肢血管新生,提高组织的血流供应^[21]。另外,将 eNOS 基因转入干细胞后再移植较单纯干细胞移植能更有效地促进内皮修复,防止内膜增生。Jun 等^[22]曾报道 1 例患有糖尿病性坏疽的患者,自体外周血干细胞与碱性成纤维细胞生长因子局部移植后,溃疡愈合,6 个月内无新溃疡出现,能正常行走。但是目前对于哪些细胞成分组合能够最大限度地发挥促血管新生的作用还未完全明确,有待进一步研究。

6 干细胞移植疗效评价及展望

最近国内外开展干细胞移植治疗肢体缺血性疾病的临床研究,取得了一定成绩,有着良好的治疗效果,见表 1。动脉缺血性疾病是进行性发展的,综合治疗是目前行之有效的办法,干细胞移植治疗下肢缺血性疾病是在原有治疗基础上的一种补

充,互不排斥。目前干细胞的临床应用还处于初级阶段,有很多的问题亟待解决,其中包括免疫排斥、肿瘤生长问题以及干细胞动员过程中发生意外的可能性。下肢缺血性疾病患者中绝大多数为中、老年,易患糖尿病、高血压、高血脂,为心脑血管疾病的高发人群,移植实施过程中更容易发生意外。今后的研究方向应致力于:明确干细胞定向迁移及分化的相关机制,能够实施人工干预^[23];制定移植的最佳适应证及明确其禁忌证;寻找最佳移植时机、具体移植方式、移植数量以及细胞种类;联合细胞因子进行干细胞移植,提高移植细胞分化成血管的效率;实施大规模、前瞻性、双盲及随机临床实验明确细胞移植的疗效、远期的安全性;在移植的同时进行基因治疗。相信不久的将来是干细胞移植、基因治疗、细胞因子与常规治疗方法结合的治疗,这必将为下肢缺血性疾病康复带来新的希望。

表 1 国内外临床开展干细胞移植治疗下肢缺血性疾病的疗效

文献	n	移植方法	踝肱指数		跛行距离	TepO ₂	
			治疗前	治疗后		前	后
杨镛等 ^[24]	39	PBSC	0.4±0.2	0.7±0.1	平均延长	150.00±41.10 m	26.7±6.4
			P<0.05		36.3±9.3		
曾昭凡和唐新华 ^[25]	40	BMSC	P>0.05		显著延长		
Ruiz-Salmeron 等 ^[26]	20	BMSC	0.46±0.19	0.81±0.19	—	↑40.60±18.30 mm Hg	
			0.34±0.19	0.69±0.18		↑46.00±10.00 mm Hg	
Gabriel 等 ^[27]	10	EPCs	P<0.05				
Moriya 等 ^[11]			—		显著提高		
张海君等 ^[28]	42	PBSC		显著延长	—		
	11	BMSC		显著延长			

影像学:动脉造影均显示缺血肢体新生侧支血管明显增加动脉造影毛细血管密度明显增加。—:无数据。

参考文献

[1] 王会梅,高荣芳,吕金波.中西医结合治疗下肢动脉硬化性闭塞症 65 例[J].中国中西医结合外科杂志,2007,13(4):398.

[2] Ozkan U, Oguzkurt L, Tercan F. Atherosclerotic risk factors and segmental distribution in symptomatic peripheral artery disease [J]. Vasc Interv Radiol, 2009, 20(4): 437-441.

[3] Gandini R, Volpi T, Pipitone V, et al. Intraluminal recanalization of long infrainguinal chronic total occlusions using the crosser system [J]. J Endovasc Ther, 2009, 16(1): 23-27.

[4] Tepper OM, Galiano RD, Kalka C, et al. endothelial progenitor cells: the promise of vascular stem cells for plastic surgery [J]. Plast Reconstr Surg, 2003, 1(11): 846-854.

[5] Donnelly DS, Zelerman D, Sharkis S, et al. Functional activity of murine CD34⁺ and CD34⁻ hematopoietic stem cell populations [J]. Exp Hematol, 1999, 27(5): 788-796.

[6] Hur J, Yoon CH, Kim HS, et al. Characterization of es of endothelial progenitor cells and their different contributions yoneova [J]. Atheroscler Thromb Vasc Boil, 2004, 24(2): 288-293.

[7] Peichve M, Naiyer AJ, Pereira D, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circlating human cd34⁺ cells identifies a population of functional endothelial precursors [J]. Blood, 2000, 95(3): 952-958.

[8] Rauscher FM, Goldschmidt-Clermont PJ, Davis BH, et al. Aging progenitor cell exhaustion and atherosclerosis [J]. Circulation, 2003, 10(8): 457-463.

[9] 陈晓春,单鸿伟,瞿海龙,等.骨髓间充质干细胞移植加重大鼠主动脉血管成形术后再狭窄程度[J].中华心血管病杂志,2007,35(9):802-806.

[10] Lawall H, Bramlage P, Amann B. Stem cell and progenitor cell therapy in peripheral artery disease. A critical appraisal [J]. Thromb Haemost, 2010, 103(4): 696-709.

[11] Moriya J, Minamino T, Tateno K, et al. Long-term outcome of therapeutic neovascularization using peripheral blood mononuclear cells for limb ischemia [J]. Circ Cardiovasc Interv, 2009, 2(3): 245-254.

[12] 初建华,申瑞娟,宋达琳,等.干细胞移植在糖尿病足治疗中的应用[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,20(8):2351-2353.

[13] Sasaki K, Imaizumi T. Effect of autologous bone-marrow cell transplantation on ischemic ulcer in patients with Buerger's disease [J]. Circulation Journal, 2008, 72(4): 685-686.

[14] 谷涌泉,郭连瑞,张建.自体干细胞移植治疗下肢缺血[J].临床外科杂志,2006,14(5):318-320.

[15] Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial [J]. Lancet, 2002, 360(9331): 427-435.

[16] 吕晓霞,尹至,金星.自体骨髓干细胞移植对老年下肢缺血性疾病的疗效[J].中国老年学杂志,2009,9(29):2161-2163.

[17] 王兵,兴华.自体骨髓干细胞移植治疗下肢动脉硬化闭塞[J].医

药论坛杂志, 2010, 31(1): 51-52.

- [18] Leone AM, Valgimigli M, Giannico MB, et al. From bone marrow to the arterial wall: the ongoing tale of endothelial progenitor cells [J]. *Eur Heart J*, 2009, 30(8): 890-899.
- [19] Gluckman E, Rocha V. History of the clinical use of umbilical cord blood hematopoietic cells[J]. *Cytotherapy*, 2005, 7(3): 219-227.
- [20] Kaoru T, Tohru M, Haruhiro T, et al. Critical roles of muscle-secreted angiogenic factors in therapeutic neovascularization [J]. *Circulation Research*, 2006, 98(9): 1194-1202.
- [21] Jeon O, Kang SW, Lim HW, et al. Synergistic effect of sustained delivery of basic fibroblast growth factor and bone marrow mononuclear cell transplantation on angiogenesis in mouse ischemic limbs[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(8): 161-172.
- [22] Jun A, Hideya T, Kaori I, et al. Successful treatment of diabetic gangrene with topical application of a mixture of peripheral blood mononuclear cells and basic fibroblast growth factor[J]. *Journal of Dermatology*, 2006, 33(5): 349-352.
- [23] Rufaihah AJ, Haider HK, Heng BC, et al. Therapeutic angiogenesis by transplantation of human embryonic stem cell-derived CD133⁺ endothelial progenitor cells for cardiac repair[J]. *Regen*

Med, 2010, 5(2): 231-244.

- [24] 杨楠, 陆平, 何晓明, 等. 人自体干细胞移植在重症肢体缺血血流重建中的疗效与评价[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2009, 16(2): 115-118.
- [25] 曾昭凡, 唐新华. 自体骨髓干细胞移植治疗下肢慢性缺血性疾病的疗效观察[J]. *中国普通外科杂志*, 2010, 19(6): 646-650.
- [26] Ruiz-Salmeron, Cuesta-Diaz, Constantino-Bermejo, et al. Angiographic demonstration of neoangiogenesis after intra-arterial infusion of autologous bone marrow mononuclear cells in diabetic patients with critical limb ischemia [J]. *Cell Transplantation*, 2010, 6(2): 14-17.
- [27] Gabriel P, Lasala, Jose A, et al. Combination stem cell therapy for the treatment of severe limb ischemia: safety and efficacy analysis [J]. *Angiology*, 2010, 61(6): 551-556.
- [28] 张海君, 谷涌泉, 郭连瑞, 等. 自体骨髓干细胞移植治疗重症糖尿病足的效果 11 例报告[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(33): 116-118.

(收稿日期: 2011-09-08)

• 综 述 •

细菌群体感应及其研究进展

郭 静¹, 李慕岩¹, 孙 朋¹, 刘 涛¹, 王 雀¹综述, 邓少丽²审校

(1. 第三军医大学学员旅十三队, 重庆 400038; 2. 第三军医大学大坪医院检验科, 重庆 400042)

关键词: 细菌; 群体感应; 信息交流

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 01. 025

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)01-0058-03

细菌利用信号分子感知周围环境中自身或其他细菌的细胞群体密度的变化, 并且信号分子随着群体密度的增加而增加。当群体密度达到一定阈值时, 信号分子将启动菌体中特定基因的表达, 改变和协调细胞之间的行为, 呈现某种生理特性, 从而实现单个细菌无法完成的某些生理功能^[1]。

1 群体感应系统的发现

长期以来, 人们一直认为仅在多细胞生物中存在着细胞与细胞之间的信息交流, 细菌则是单纯地以单个细胞的生存方式存在于环境中。20 世纪 70 年代, Neelson 在海洋细菌费氏弧菌(曾用名 *Vibrio fischeri*) 和夏威夷弧菌 (*Vibrio haverlyi*) 中发现了由群体感应控制的生物发光现象^[2]。费氏弧菌 (*P. fischeri*) 与一些海洋鱼类 (如 *Euprymna scolopes*, *Monocentris japonicus*) 共生, 为其提供光亮。其光线的强度与动物发光组织中 *P. fischeri* 的群体密度密切相关, 即该生物发光现象由群体感应系统调控, 且仅出现在细菌处于高密度生长的情况下。在实验室诱导的细菌发光实验过程中, 通过增加液体培养基降低细菌的细胞密度可终止细菌发光。信号分子调控 *P. fischeri* 的密度依赖型发光过程仅在鱼类的特定发光器官中发光, 而在海洋中游离的 *P. fischeri* 却不发光。究其原因主要有两点, 一是宿主发光器官丰富的营养促进了 *P. fischeri* 高密度生长; 二是细菌分泌的信号分子在狭小的宿主发光器官中达到了一定的浓度, 足以达到细菌检测能力水平^[3]。随后研究证实, 在细菌中, 无论革兰阳性菌还是革兰阴性菌, 都存在着细胞间的信息交流^[1-2]。

2 群体感应系统的类型及各类型的作用机制

群体感应系统是一个细胞与细胞在种内或者种间, 通过化学信号分子彼此感知、交流、相互协调的系统, 包括信号的产生、识别、传递和响应等环节。按其存在的细菌类型不同, 可分为革兰阴性菌群体感应系统、革兰阳性菌群体感应系统、杂合型群体感应系统、种间群体感应系统。按群体感应系统内调节蛋白的组成不同, 又可分为 *LuxI/LuxR* 型群体调节系统、*LasR/LasI* 型群体调节系统、*RhlI/RhlR* 型群体调节系统等多种类型。

2.1 革兰阴性菌的群体感应系统 革兰阴性菌中, 除了哈氏弧菌 (*V. harveyi*), 其余大部分细菌的群体效应都与费氏弧菌中由 *LuxI/LuxR* 蛋白调控的群体感应系统相似, 称 *LuxI/LuxR* 型群体调节系统, 由信号分子、*LuxI* 和 *LuxR* 蛋白 3 部分组成^[4]。革兰阴性菌通常使用 N-酰基高丝氨酸内酯类化合物 (AHL) 作为信号分子。*LuxI* 型蛋白是最广泛的一类 AHL 合成酶, 其氨基端保守性残基为酶活性中心, 而羧基端保守性氨基酸序列为酰基载体蛋白 (ACP) 的特异结合位点。*LuxR* 型蛋白位于细胞质中, 含约 250 个氨基酸, 两个功能域, 氨基端 AHL 的结合区域, 羧基端为 DNA 结合位点, 负责识别信号分子并激活下游靶基因的转录。该系统发挥效应时, 由 *LuxI*-acetyl-HSL 合成酶催化脂肪酸代谢途径中的酰基-酰基载体蛋白的酰基侧链与 S-腺苷甲硫氨酸中的高丝氨酸 (SAM) 部分结合形成氨基键, 并进一步内酯化而合成 AHL。AHL 分子都含有一个高丝氨酸内酯环, 不同的 AHL 分子含有不同的酰化支