

·综述·

DOI:10.16605/j.cnki.1007-7847.2020.05.008

铜绿假单胞菌中VI型分泌系统及其参与铁离子转运机制的研究进展

王瑞营, 张娟, 王碧, 侯亚文, 吴斌艳, 扈会整*

(陕西省核工业二一五医院 检验科, 中国陕西 咸阳 712000)

摘要: 铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)是一种分布广泛的机会致病菌,临床上可引起急性或慢性感染。VI型分泌系统(type VI secretion system, T6SS)是铜绿假单胞菌中一种重要的分泌系统,不仅能分泌多种毒力蛋白至环境或真核细胞中,还能促进铜绿假单胞菌生物被膜的形成,在铜绿假单胞菌的致病性及耐药性中发挥重要作用。铜绿假单胞菌的T6SS不仅可以转运毒性蛋白,还能够参与金属离子的转运,从而解除自身的环境压力及生存竞争。本文主要针对铜绿假单胞菌中T6SS的结构组成、调控及其对铁离子的转运机制等方面的研究进行综述。

关键词: 铜绿假单胞菌; VI型分泌系统(T6SS); 结构; 调控; 铁离子

中图分类号: Q71

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2020)05-0404-06

Research Progress in the Type VI Secretion System of *Pseudomonas aeruginosa* and Mechanism of Its Participation in Transport of Iron Ions

WANG Rui-ying, ZHANG Juan, WANG Bi, HOU Ya-wen, WU Bin-yan,
HU Hui-zheng*

(Department of Clinical Laboratory, No. 215 Hospital of Shaanxi Nuclear Industry, Xiayang 712000, Shaanxi, China)

Abstract: *Pseudomonas aeruginosa* is a major opportunistic pathogen that can cause acute or chronic infection in clinic. The type VI secretion system (T6SS) is an important secretion system that secretes a variety of virulence proteins into environment or eukaryotic cells and promotes the formation of envelope in *P. aeruginosa*. T6SS plays an important role in the pathogenicity and drug resistance of *P. aeruginosa*. It can transport not only toxic proteins but also metal ions, thereby relieving the bacterial environmental pressure and survival competition. Herein, the structure, regulation and Fe ion transport mechanism of T6SS in *P. aeruginosa* are discussed.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*; type VI secretion system (T6SS); structure; regulation; iron ion

(*Life Science Research*, 2020, 24(5): 404~409)

细菌进化出多种结构与周围环境进行交流,分泌系统就是其中之一。利用分泌系统,细菌可以获得营养、向外部环境分泌毒力因子以及直接靶向真核细胞使其致病。到目前为止,人们已在细菌中发现9套分泌系统(T1SS~T9SS)^[1-2],2006年

由Pukatzki等^[3]研究小组命名的VI型分泌系统(type VI secretion system, T6SS)是近几年来研究较多的一种分泌系统。铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)包含进化上完全不同的3种基因簇H1-T6SS、H2-T6SS、H3-T6SS,这使铜绿假单胞菌成

收稿日期: 2019-11-21; 修回日期: 2020-03-08

作者简介: 王瑞营(1992—),女,河南南阳人,硕士,主要从事病原微生物耐药机制的研究; *通信作者: 扈会整(1977—),女,河北保定人,硕士,副主任检验师,主要从事临床微生物与临床用药研究, Tel: 029-32088152, E-mail: 1451637910@qq.com。

为研究 T6SS 的理想模式生物^[4-5]。

铜绿假单胞菌又称绿脓杆菌,是一种常见的人类机会致病菌,在人群中可以引起严重的急性和慢性感染^[6]。铜绿假单胞菌的易感人群主要有烧伤、经器官移植术、呼吸道感染等免疫力低下患者,尤其在囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)患者中,该菌感染是主要的致死原因^[7]。铜绿假单胞菌的特定生活方式使其对抗生素的抗性增加,给临床治疗带来很大困难。我院收集的数据显示,2016年9月至2019年8月铜绿假单胞菌耐碳青霉烯类抗生素的比率明显升高(表1)。T6SS在铜绿假单胞菌的致病过程中扮演了重要的角色,它通过复杂的类似噬菌体尾部结构的分泌装置分泌效应蛋白并将其直接注入宿主细胞内^[8],引起宿主细胞相应的病理性变化。鉴于T6SS在铜绿假单胞菌中的重要性,目前越来越多的科研人员致力于其致病性的研究,同时针对该系统的小分子抑制剂及疫苗的研发也为控制和预防铜绿假单胞菌的感染提供了新的治疗手段。本文结合最近几年铜绿假单胞菌中T6SS的最新研究成果及我们课题组的研究工作,阐述了T6SS的结构、调控及其参与铁离子的转运机制。

1 T6SS 的结构、装配及分泌

1.1 T6SS 的结构

研究指出,在所有测序的革兰氏阴性菌中,将近25%的细菌具有编码T6SS的基因簇,其中就包括铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)、霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)等^[9]。T6SS的基因簇在不同物种间的组成成分略有差异,但其13个保守基因的编码产物(TssA~TssM)是T6SS发挥正常功能所必需的,因此不同病原菌的T6SS在电子显微镜下具有相似的结构,它是一种复杂的收缩注射系统^[10-13]。根据功能的不同,铜绿假单胞菌中T6SS的结构蛋白大致可以分为三类。第一类是与跨膜结构相关的蛋白质,包括TssL、TssM及脂蛋白TssJ等,这些蛋白质相互作用形成横跨整个细胞膜的复合体;第二类是与类噬菌

体尾部结构相关的蛋白质,它们根据功能的不同又可以分为3组:1)噬菌体注射器样结构相关的蛋白质。该组蛋白质由溶血素共调节蛋白(hemolysin co-regulated protein, Hcp)和缬氨酸-甘氨酸重复蛋白(valine glycine repeat protein G, VgrG)组成,其中Hcp形成尾管结构(类似T4噬菌体尾管蛋白质gp19^[14]),VgrG形成细胞穿刺的尖端(与T4噬菌体尾部尖端蛋白质类似)。此外,Hcp-VgrG结构的末端还有一个类似针头的脯氨酸-丙氨酸-丙氨酸-精氨酸重复蛋白(proline-alanine-alanine-arginine, PAAR),使注射器样的结构更加稳定、尖锐^[15];2)噬菌体尾鞘样结构相关的蛋白质。该组蛋白质由TssB/TssC亚基组成,亚基与噬菌体蛋白质gp18高度相似,其在Hcp管的周围形成管鞘,通过管鞘的收缩将“注射器样结构”射至靶细胞表面,从而穿刺靶细胞的细胞膜,将效应蛋白注入胞内^[16];3)噬菌体基板样结构相关的蛋白质。该组蛋白质主要包括TssA、TssE、TssF、TssG和TssK等,形成与噬菌体gp25类似的基板样结构^[17];第三类是装置中负责能量供应的蛋白质,主要是ClpV(caseinolytic protease V)。ClpV是一种具有腺苷三磷酸酶(adenosine triphosphatase, ATPase)活性的保守成分,对Hcp、VgrG及其同源蛋白底物的分泌至关重要^[18]。T6SS的结构模型^[19]详见图1。

1.2 T6SS 的装配及分泌

T6SS是一种特殊的大分子蛋白质输出装置,目前一些研究认为T6SS中噬菌体样的注射装置可能是在一些外界因子(如竞争性菌、铁离子浓度、营养物质等)的刺激下被激活的,这样注射装置是如何装配的就显得尤为重要^[20]。有研究认为,T6SS注射装置被激活时,首先,TssM、TssL和TssJ形成跨膜结构,为接下来基板复合体的组装提供平台;其次,TssA、TssE、TssF、TssG和TssK形成基座部分,VgrG、PAAR及效应蛋白被招募到基座复合体上,从而稳定整个复合物;随后,Hcp蛋白以VgrG三聚体为聚合起点形成跨膜的尾管结构;最后,TssB-TssC随着Hcp管的延伸而聚合到其外围,从而完成整个装配过程^[19]。整个过程主要由ClpV

表1 2016—2019年我院铜绿假单胞菌的耐药率

Table 1 The drug resistance rates of *P. aeruginosa* in our hospital from 2016 to 2019

Time	Total strain number	<i>P. aeruginosa</i> number	Drug-resistant strain number (carbapenem-resistant)	Drug resistance rate/(%)
2016.09—2017.08	2 351	203	19	9.36
2017.09—2018.08	2 536	242	38	15.70
2018.09—2019.08	3 117	200	50	25.00

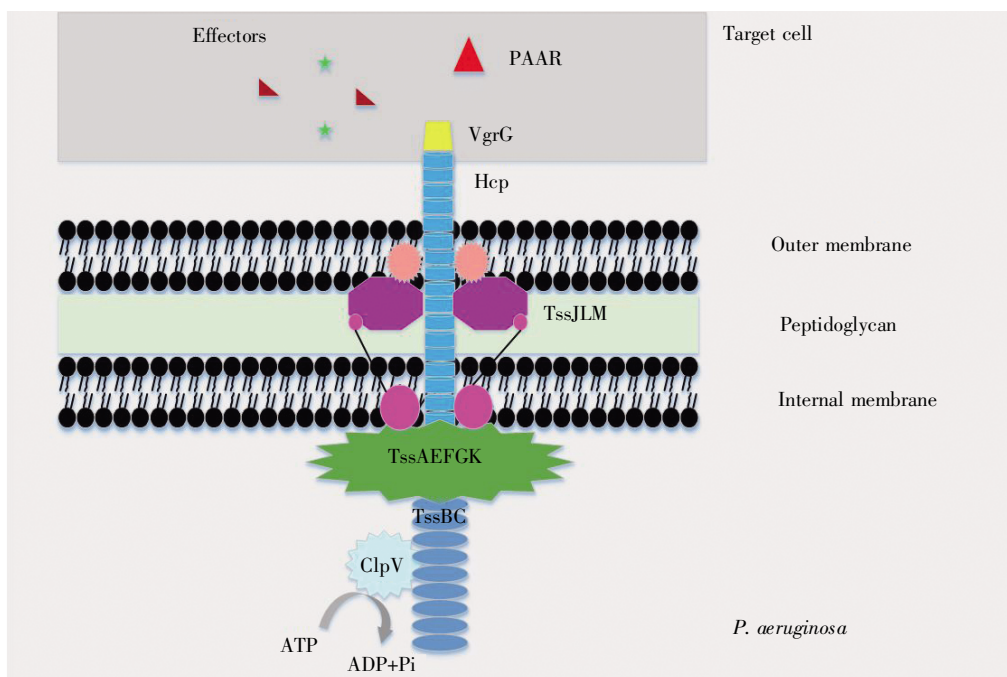


图1 T6SS的结构和机理示意图(改编自参考文献[19])

TssJLM 形成跨膜结构; TssAEFGK 形成基座; Hcp 形成尾管结构; TssBC 在 Hcp 管周围形成管鞘; VgrG-PAAR 形成穿刺尖端; ClpV 水解 ATP 为整个分泌装置供能。

Fig.1 Schematic representation of the structure and mechanism of the T6SS (adapted from reference [19])

TssJLM forms a transmembrane structure, TssAEFGK forms a base, Hcp forms a tail tube structure, TssBC forms a sheath around Hcp, VgrG-PAAR forms a puncture tip, and ClpV hydrolyzes ATP to power for the entire secretion system.

水解 ATP 提供能量。相关研究报道,铜绿假单胞菌中 T6SS 的分泌具有与噬菌体注射遗传物质类似的方式^[9]。利用 ClpV 水解 ATP 释放的能量,噬菌体样尾鞘结构收缩,引起 Hcp 管向细胞外延伸,使 VgrG-PAAR“针头”样结构刺穿靶细胞^[21],此时效应蛋白通过与 Hcp、VgrG 或 PAAR 特异性结合而被输送到靶细胞内^[22]。当一轮分泌过程完成后,ClpV 蛋白将部分尾鞘和 Hcp 管解聚,剩余未被注射的 Hcp 管状物和基座复合物则在下一轮注射过程中被持续利用^[19, 23]。

2 铜绿假单胞菌 T6SS 的调控

在铜绿假单胞菌中 T6SS 受到很多因素的调控,包括群体感应系统(quorum sensing system, QSS)、铁吸收调节蛋白(ferric uptake regulator, Fur)、RsmA (regulator of secondary metabolites A)等。

2.1 QS 系统对 T6SS 的调控

铜绿假单胞菌在转录水平上的表达受到 QS 系统的调节。铜绿假单胞菌 QS 系统至少包括 4 种子系统:外源信号酰基高丝氨酸内酯(acylhomoserine lactone, AHL)依赖的 *las* 系统和 *rhl* 系统;

烷基喹诺酮[2-alkyl-4(1H)-quinolone, AHQ]信号依赖的 *pqs* 系统;非核糖体肽合成酶基因簇 *amb-BCDE* 编码的 *iqs* 系统^[11, 24-25]。QS 系统的 *las* 系统、*rhl* 系统和 *pqs* 系统共同参与调控铜绿假单胞菌毒力因子的释放、生活方式的适应性改变等。已有研究表明 QS 系统能够调控铜绿假单胞菌中 T6SS 相关基因的表达,但对 3 种不同 T6SS 基因簇的调控存在一定的差异。Lesic 等^[26]研究发现, H1-T6SS 的基因表达受 *pqs* 系统转录调节因子 MvfR (multiple virulence factor regulator)和 *las* 系统转录调节因子 LasR (transcriptional regulator)的负调控;而 H2-T6SS 和 H3-T6SS 的基因表达受到 LasR 和 MvfR 的正向调控。此外,部分 H3-T6SS 的表达需要 MvfR 调节子的关键成分 PqsE (*Pseudomonas* quinolone signal E)参与,而 H2-T6SS 的表达不需要 PqsE^[27-28]。

2.2 Fur 对 T6SS 的调控

铁作为必需的微量营养素,对细菌的生长是必不可少的^[29],但当胞内的铁过量时,Fe²⁺在过氧化氢存在的条件下产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),破坏细胞的基本成分,而细菌可通过

Fur 调控菌体内铁离子代谢的平衡,因此 Fur 对细菌生长和防止铁毒性起重要作用^[30]。除了在调节铁稳态中的作用外, Fur 还参与细菌许多毒力基因的表达。铜绿假单胞菌 H2-T6SS 启动子区域存在两个 Fur 基因盒,当外界环境中有铁存在时, Fur 阻止 RNA 聚合酶与-10 区结合,从而抑制 H2-T6SS 相关基因的转录;当铁受限制时, H2-T6SS 基因受 Fur 的调控并表达,最终增强其对靶细胞的致病性^[31]。

2.3 RsmA 对 T6SS 的调控

双组分系统(two-component system, TCS)信号传导途径是细菌和古细菌中的主要信号传导机制,它们利用 TCS 途径来监测关键的外部 and 内部刺激(包括营养物水平、离子和气体浓度、温度、氧化还原状态和细胞密度等),并将这些信号转化为适应性反应。T6SS 分泌系统的分泌及相关毒力基因的表达由一对通过 GacSA-RsmY/Z-RsmA 级联通路作用的双组分传感器激酶 RetS (regulator of exopolysaccharide and type III secretion)和 LadS (lost adherence sensor)协同调节^[32], RsmA 作为此通路中的关键调控因子对铜绿假单胞菌的 T6SS 分泌及生物膜的形成具有负向调控作用,并与铜绿假单胞菌急性感染和慢性感染持续性相关的多种毒力表型密切相关^[33-34]。在这一调控过程中, LadS 引起通路的关键调控因子——游离的 RsmA 浓度降低, RetS 则发挥截然相反的调控作用。因此, RetS 和 LadS 能够分别通过 GacSA-RsmY/Z 对 RsmA 进行间接调控,进而影响铜绿假单胞菌 T6SS 的分泌。

3 T6SS 参与铁离子的转运

铁作为酶、调节蛋白和参与新陈代谢信号传导的蛋白质复合物的组分,在许多细菌的生命活动中发挥重要作用。金属离子可以通过被动扩散穿过细胞膜,但是革兰氏阴性菌必须通过主动运输系统将稀有的金属离子转运至细胞内,以满足细胞的需求^[35-36], T6SS 在其中就扮演了重要的角色。当受到外界刺激时,细菌通过 T6SS 分泌效应蛋白到细胞外,协助胞外的金属离子通过细胞外膜蛋白进入周质,再进一步通过内膜的转运蛋白运至胞内^[27, 37-38]。

Shen 等^[27]在缺铁培养基中筛选生长缺陷的铜绿假单胞菌突变株时发现, H3-T6SS 附近的 PA 2374 (*Pseudomonas aeruginosa* 2374)基因(也称

作 *tseF*)与已知的铁获取系统^[39-41]具有协同作用。然而 TseF 作为 T6SS 的底物,研究中并没有检测到其与铁离子之间的相互作用。那么,铜绿假单胞菌是否分泌了其他分子来参与铁离子的吸收?该研究团队通过蛋白质体外结合实验(pull down 实验)发现,谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)-TseF 蛋白可以与铜绿假单胞菌培养上清液中的某些分子相互作用,而且液相色谱-质谱(LC-MS)分析显示该分子为 PQS (*Pseudomonas* quinolone signal);敲除产生 PQS 信号相关的基因 *pqsA* 和 *pqsH* 后,突变体的上清液与 GST-TseF 蛋白不再有相互作用,证明 PQS 与 TseF 确实有相互作用;在进一步的生长实验中, *tseF* 的缺失使 Fe³⁺结合的 PQS (PQS-Fe³⁺)不能提供铜绿假单胞菌生长所需的铁,而 Fe³⁺的加入使 PQS 与 TseF 有更强的相互作用,说明 *tseF* 促进铜绿假单胞菌从 PQS-Fe³⁺中吸收铁。铜绿假单胞菌的外膜囊泡(outer membrane vesicle, OMV)含有大量 PQS 分子^[42],研究显示,从 $\Delta tseF$ 纯化出的 OMV 蛋白中存在 TseF,但 $\Delta tseF \Delta pqsH$ 不表达 TseF,这表明 TseF 与 OMV 的关联是以 PQS 依赖的方式发生的^[27]。这些结果表明,分泌的 TseF 被嵌入 OMV 中,再与铁结合的 PQS 相互作用,将金属离子转运至细胞表面的受体上。

铁离子是如何通过复合体进入细胞的?铜绿假单胞菌表面是否存在受体蛋白可以传递铁离子?相关研究采用 pull down 实验、质谱分析确定 TseF 与铁载体(Fe³⁺-pyochelin)受体同源性的 FptA^[43]和毒力有关的孔蛋白 OprF 均有相互作用^[27]。为了验证 TseF 的结合靶点, Shen 等^[27]创建了突变体菌株 PA $\Delta 3Fe \Delta tseF \Delta fptA \Delta oprF$,然而该突变体只有当 TseF 和其中一个受体蛋白同时表达时,才能利用 PQS-Fe³⁺作为唯一的铁源促进生长。

综上所述可知, TseF 作为 T6SS 的底物,通过与 PQS-Fe³⁺作用直接结合 OMV,随后与受体蛋白 FptA 和孔蛋白 OprF 相互作用,促进 Fe³⁺向细胞内输送^[27]。图 2 简单整理了铜绿假单胞菌中 T6SS 参与铁离子转运的机制。

目前,铜绿假单胞菌中关于 T6SS 参与其他金属离子转运的研究还没有被报道,但是已有研究发现在其他细菌中也存在类似的转运机制。在假结核耶尔森菌(*Yersinia pseudotuberculosis*)中,人们发现存在与铁载体类似的螯合化合物来转运 Zn²⁺,这一发现揭示了 T6SS 通过竞争基本物质和

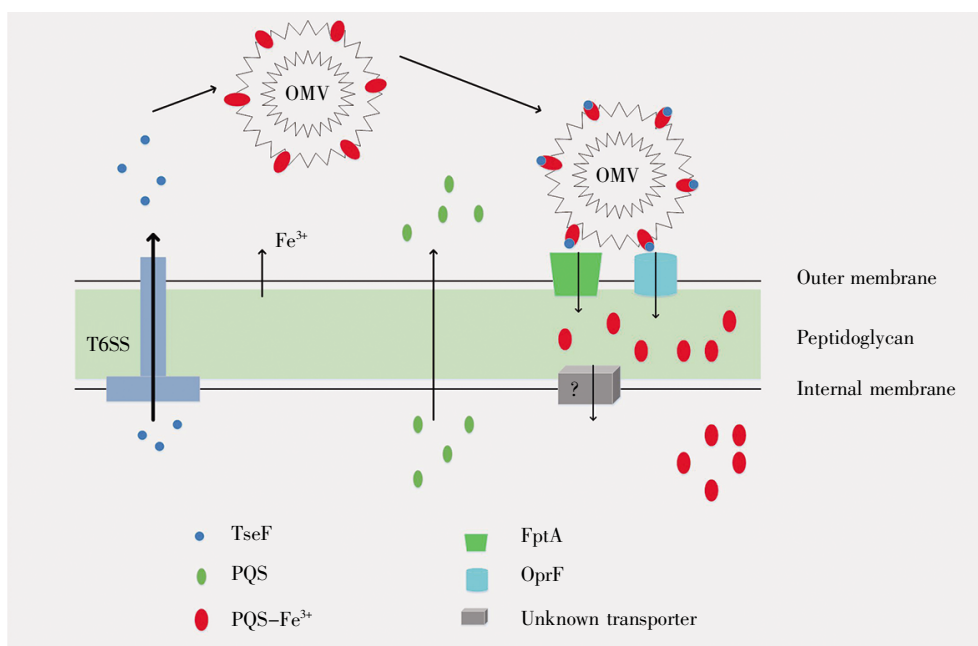


图 2 铜绿假单胞菌中 T6SS 参与铁离子转运的示意图(改编自参考文献[27])

TseF 通过 T6SS 分泌至胞外, 与含有 PQS-Fe³⁺ 的 OMV 结合, 随后细胞表面受体 FptA 或 OprF 对 TseF 进行识别, 进而促进铁向细胞内转运。

Fig.2 Schematic representation of T6SS involved in iron ion transport in *P. aeruginosa* (adapted from reference [27])

TseF is exported by T6SS and binds to OMV containing PQS-Fe³⁺. Recognition of TseF by the cell surface receptor FptA or OprF would facilitate the transport of iron into the cell.

减少 ROS 来增强细菌适应性方面的功能^[37]; 在伯克霍尔德菌(*Burkholderia thailandensis*)中, Shen 等^[37]提出了由 TonB 依赖性外膜转运蛋白 MnoT 和 T6SS 效应子 TseM 介导的 Mn²⁺跨外膜主动转运模型, 并发现 T6SS 对伯克霍尔德菌在氧化应激条件下的生存具有重要意义^[38], 这为我们进一步研究铜绿假单胞菌提供了参考。我们课题组前期利用蛋白质质谱技术对 H2-T6SS 的分泌组进行了分析, 结果显示 H2-T6SS 分泌 103 种蛋白质, 其中包括 Cu²⁺结合蛋白 Azu。为了探究 H2-T6SS 与 Cu²⁺之间的转运机制, 我们通过实验发现了 H2-T6SS 和 Azu 的转录调节子 CueR, 并揭示了在 CueR 的调控下 H2-T6SS 通过分泌效应因子 Azu 参与对 Cu²⁺的吸收。那么 Azu 是如何将 Cu²⁺转运至胞内的呢? 铜绿假单胞菌的外膜上也存在多种转运蛋白, 其是否也跟伯克霍尔德菌一样, 存在一种 TonB 依赖性外膜转运蛋白, 将 Cu²⁺转运至胞内? 相关问题还需要进一步研究。

4 小结与讨论

铜绿假单胞菌是一种能引起多部位慢性感染且难以用抗生素控制的机会致病菌, 拥有多种

致病机制和耐药机制。大量研究表明, 铜绿假单胞菌通过 T6SS 将毒力因子精准输送至宿主细胞是其致病的关键^[16-17, 19]。本文重点阐述了 T6SS 的结构组成、调控及其参与铁离子转运的机制, 总结了 T6SS 特殊的“注射器”结构不但可以分泌效应蛋白直接杀死竞争细胞, 还可以通过转运金属离子竞争必需营养物质^[18, 22, 44], 揭示了 T6SS 在铜绿假单胞菌致病力中的重要作用。

近几年, 铜绿假单胞菌的 T6SS 已成为微生物学领域的研究热点, 其结构和生物学功能研究已经取得了很大进展, 但是仍然有许多亟待解决的问题。例如: 铜绿假单胞菌中 T6SS 识别靶细胞的分子机制是什么? T6SS 是否可以通过效应物转运其他的金属离子或分子? 新的一项研究表明, 在铜绿假单胞菌中, T6SS 的效应物 TplE 通过与其同源免疫蛋白 TplEi 相互作用而防止自身中毒, 当在体外使用一种小分子化合物或肽作为 TplE-TplEi 的抑制剂时, 可诱导铜绿假单胞菌中毒和自溶^[45], 该发现为新型抗生素的研发提供了新方法。基于此, 我们可以试想在 T6SS 通过效应物转运金属离子的过程中是否也存在类似的作用方式。研究者可以从 T6SS 效应蛋白的结构入手, 结

合其活性位点,寻找与金属离子之间的关系,探寻其中隐藏的机制。另外,随着研究的不断深入,铜绿假单胞菌 T6SS 参与其他金属离子转运方面的研究也将取得突破性的进展,例如:其如何通过转运 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 等来适应进化过程中的复杂环境。这能为我们理解 T6SS 的不同功能及金属离子对铜绿假单胞菌的作用提供新的思路。

参考文献(References):

- [1] SATO K, NAITO M, YUKITAKE H, *et al.* A protein secretion system linked to bacteroidete gliding motility and pathogenesis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2010, 107(1): 276–281.
- [2] NAKAYAMA K. *Porphyromonas gingivalis* and related bacteria: from colonial pigmentation to the type IX secretion system and gliding motility[J]. Journal of Periodontal Research, 2014, 50(1): 1–8.
- [3] PUKATZKI S, MA A T, STURTEVANT D, *et al.* Identification of a conserved bacterial protein secretion system in *Vibrio cholerae* using the *Dictyostelium* host model system[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2006, 103(5): 1528–1533.
- [4] BLEVES S, VIARRE V, SALACHA R, *et al.* Protein secretion systems in *Pseudomonas aeruginosa*: a wealth of pathogenic weapons[J]. International Journal of Medical Microbiology, 2010, 300(8): 534–543.
- [5] SALIH O, PLANAMENTE S, STACH L. Atomic structure of type VI contractile sheath from *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Structure, 2017, 26(2): 329–336.
- [6] FRESCHI L, VINCENT A T, JEUKENS J. The *Pseudomonas aeruginosa* pan-genome provides new insights on its population structure, horizontal gene transfer, and pathogenicity[J]. Genome Biology and Evolution, 2019, 11(1): 109–120.
- [7] LA ROSA R, JOHANSEN H K, MOLIN S. Adapting to the airways: metabolic requirements of *Pseudomonas aeruginosa* during the infection of cystic fibrosis patients[J]. Metabolites, 2019, 9(10): 234.
- [8] MOUGOUS J D, CUFF M E, RAUNSER S. A virulence locus of *Pseudomonas aeruginosa* encodes a protein secretion apparatus[J]. Science, 2006, 312(5779): 1526–1530.
- [9] CHEN L, ZOU Y, SHE P, *et al.* Composition, function, and regulation of T6SS in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Microbiological Research, 2015, 172: 19–25.
- [10] 方雪瑶, 胡龙华, 杭亚平, 等. 铜绿假单胞菌VI型分泌系统的研究进展[J]. 中国生物工程杂志(FANG Xue-yao, HU Long-hua, HANG Ya-ping, *et al.* Research progress of type VI secretion system in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. China Biotechnology), 2018, 38(9): 88–93.
- [11] ZHAO K, DU L, LIN J. *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing and type VI secretion system can direct interspecific co-existence during evolution[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2287.
- [12] CHEN L, SONG N, LIU B, *et al.* Genome-wide identification and characterization of a superfamily of bacterial extracellular contractile injection systems[J]. Cell Reports, 2019, 29(2): 511–521.
- [13] BOYER F, FICHANT G, BERTHOD J, *et al.* Dissecting the bacterial type VI secretion system by a genome wide in silico analysis: what can be learned from available microbial genomic resources?[J]. BioMed Central Genomics, 2009, 10: 104.
- [14] LEIMAN P G, BASLER M, RAMAGOPAL U A, *et al.* Type VI secretion apparatus and phage tail-associated protein complexes share a common evolutionary origin[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2009, 106(11): 4154–4159.
- [15] CIANFANELLI F R, ALCOFORADO DINIZ J, GUO M, *et al.* VgrG and PAAR proteins define distinct versions of a functional type VI secretion system[J]. PLoS Pathogens, 2016, 12(6): e1005735.
- [16] BONEMANN G, PIETROSIUK A, MOGK A. Tubules and donuts: a type VI secretion story[J]. Molecular Microbiology, 2010, 76(4): 815–821.
- [17] BRUNET Y R, ZOUED A, BOYER F, *et al.* The type VI secretion TssEFGK-VgrG phage-like baseplate is recruited to the TssJLM membrane complex via multiple contacts and serves as assembly platform for tail tube/sheath polymerization [J]. PLoS Genetics, 2015, 11(10): e1005545.
- [18] WOOD T E, HOWARD S A, FORSTER A. The *Pseudomonas aeruginosa* T6SS delivers a periplasmic toxin that disrupts bacterial cell morphology[J]. Cell Reports, 2019, 29(1): 187–201.
- [19] CIANFANELLI F R, MONLEZUN L, COULTHURST S J. Aim, load, fire: the type VI secretion system, a bacterial nanopon[J]. Trends in Microbiology, 2016, 24(1): 51–62.
- [20] PLANAMENTE S, SALIH O, MANOLI E, *et al.* TssA forms a gp6-like ring attached to the type VI secretion sheath[J]. The EMBO Journal, 2016, 35(15): 1613–1627.
- [21] BASLER M, PILHOFER M, HENDERSON G P, *et al.* Type VI secretion requires a dynamic contractile phage tail-like structure[J]. Nature, 2012, 483(7388): 182–186.
- [22] WOOD T E, HOWARD S A, WETTSTADT S. PAAR proteins act as the ‘sorting hat’ of the type VI secretion system[J]. Microbiology, 2019, 165(11): 1203–1218.
- [23] VETTIGER A, BASLER M. Type VI secretion system substrates are transferred and reused among sister cells[J]. Cell, 2016, 167(1): 99–110.
- [24] LEE J, ZHANG L. The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Protein Cell, 2015, 6(1): 26–41.
- [25] LEE J, WU J, DENG Y, *et al.* A cell-cell communication signal integrates quorum sensing and stress response[J]. Nature Chemical Biology, 2013, 9(5): 339–343.
- [26] LESIC B, STARKEY M, HE J, *et al.* Quorum sensing differentially regulates *Pseudomonas aeruginosa* type VI secretion locus I and homologous loci II and III, which are required for pathogenesis[J]. Microbiology, 2009, 155(9): 2845–2855.
- [27] SHEN X, LIN J, ZHANG W, *et al.* A *Pseudomonas* T6SS effector recruits PQS-containing outer membrane vesicles for iron acquisition[J]. Nature Communications, 2017, 8: 14888.
- [28] PENA R T, BLASCO L, AMBRO A, *et al.* Relationship between quorum sensing and secretion systems[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1100.
- [29] DIAZ-OCHOA V E, JELLBAUER S, KLAUS S, *et al.* Transition metal ions at the crossroads of mucosal immunity and microbial pathogenesis[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2014, 4: 2.
- [30] ANDREWS S C, ROBINSON A K, RODRÍGUEZ-QUIÑONES F. Bacterial iron homeostasis[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2003, 27(2–3): 215–237.
- [31] SANA T G, HACHANI A, BUCIOR I, *et al.* The second type VI secretion system of *Pseudomonas aeruginosa* strain PA01 is regulated by quorum sensing and Fur and modulates internalization in epithelial cells[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2012, 287(32): 27095–27105.

- [26] 张青云, 傅俊江, 陈汉春. 上皮间质转化介导肿瘤转移的分子机制[J]. 生命科学研究(ZHANG Qing-yun, FU Jun-jiang, CHEN Han-chun. The molecular mechanism of epithelial-mesenchymal transition mediating tumor metastasis[J]. Life Science Research), 2018, 22(6): 503-510.
- [27] HEISKANEN T J, ILLMAN S A, LOHI J, *et al.* Epilysin (MMP-28) is deposited to the basolateral extracellular matrix of epithelial cells[J]. Matrix Biology, 2009, 28(2): 74-83.
- [28] JACOB A, PREKERIS R. The regulation of MMP targeting to invadopodia during cancer metastasis[J]. Frontiers in Cell Developmental Biology, 2015, 3: 4.
- [29] COLAK S, TEN D P. Targeting TGF- β signaling in cancer[J]. Trends in Cancer, 2017, 3(1): 56-71.
- [30] PAN Y B, ZHANG C H, WANG S Q, *et al.* Transforming growth factor beta induced (TGFBI) is a potential signature gene for mesenchymal subtype high-grade glioma[J]. Journal of Neuro-Oncology, 2018, 137(2): 395-407.
- [31] WANG X, CHEN X, SUN L, *et al.* The function of MMP-28/TGF- β induced cell apoptosis in human glioma cells[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2018, 16(4): 2867-2874.
- [32] DE PALMA M, BIZIATO D, PETROVA T V. Microenvironmental regulation of tumour angiogenesis[J]. Nature Reviews Cancer, 2017, 17(8): 457-474.
- [33] MEHNER C, HOCKLA A, MILLER E, *et al.* Tumor cell-produced matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) drives malignant progression and metastasis of basal-like triple negative breast cancer[J]. Oncotarget, 2014, 5(9): 2736-2749.
- [34] MEYER E, VOLLMER J Y, BOVER R, *et al.* Matrix metalloproteinases 9 and 10 inhibit protein kinase C-potentiased, p53-mediated apoptosis[J]. Cancer Research, 2005, 65(10): 4261-4272.
- [35] BERGERS G, BREKKEN R, MCMAHON G, *et al.* Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis[J]. Nature Cell Biology, 2000, 2(10): 737-744.
- [36] LITTLEPAGE L E, STERNLICHT M D, ROUGIER N, *et al.* Matrix metalloproteinases contribute distinct roles in neuroendocrine prostate carcinogenesis, metastasis, and angiogenesis progression[J]. Cancer Research, 2010, 70(6): 2224-2234.
- [37] ZHANG J, PAN Q, YAN W, *et al.* Overexpression of MMP21 and MMP28 is associated with gastric cancer progression and poor prognosis[J]. Oncology Letters, 2018, 15(5): 7776-7782.
- [38] BONUCCELLI G, CASTELLO-CROS R, CAPOZZA F, *et al.* The milk protein alpha-casein functions as a tumor suppressor via activation of STAT1 signaling, effectively preventing breast cancer tumor growth and metastasis[J]. Cell Cycle, 2012, 11(21): 3972-3982.
- [39] LEPARC A, HONVOH E, PIGAT N, *et al.* The membrane-associated form of alpha(s1)-casein interacts with cholesterol-rich detergent-resistant microdomains[J]. PLoS One, 2014, 9(12): e115903.
- [40] LAWICKI S, ZAJKOWSKA M, GLAZEWSKA E K, *et al.* Plasma levels and diagnostic utility of VEGF, MMP-2 and TIMP-2 in the diagnostics of breast cancer patients[J]. Biomarkers, 2017, 22(2): 157-164.
- [41] LORENC Z, WANICZEK D, LORENC-PODGORSKA K, *et al.* Profile of expression of genes encoding matrix metalloproteinase 9 (MMP9), matrix metalloproteinase 28 (MMP28) and TIMP metalloproteinase inhibitor 1 (TIMP1) in colorectal cancer: assessment of the role in diagnosis and prognostication[J]. Medical Science Monitor, 2017, 23: 1305-1311.
- [42] FOLGUERAS A R, PENDAS A M, SANCHEZ L M, *et al.* Matrix metalloproteinases in cancer: from new functions to improved inhibition strategies[J]. The International Journal of Developmental Biology, 2004, 48(5-6): 411-424.

(上接第 409 页)

- [32] GOODMAN A L, KULASEKARA B, RIETSCH A, *et al.* A signaling network reciprocally regulates genes associated with acute infection and chronic persistence in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Developmental Cell, 2004, 7(5): 745-754.
- [33] MOSCOSO J A, MIKKELSEN H, HEEB S, *et al.* The *Pseudomonas aeruginosa* sensor RetS switches type III and type VI secretion via c-di-GMP signalling[J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(12): 3128-3138.
- [34] ALLSOPP L P, WOOD T E, HOWARD S A, *et al.* RsmA and AmrZ orchestrate the assembly of all three type VI secretion systems in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2017, 114(29): 7707-7712.
- [35] SCHAIBLE U E, KAUFMANN S H. Iron and microbial infection[J]. Nature Reviews Microbiology, 2004, 2(12): 946-953.
- [36] FINNEY L A, O'HALLORAN T V. Transition metal speciation in the cell: insights from the chemistry of metal ion receptors[J]. Science, 2003, 300(5621): 931-936.
- [37] SHEN X, WANG T, SI M, *et al.* Type VI secretion system transports Zn²⁺ to combat multiple stresses and host immunity[J]. PLoS Pathogens, 2015, 11(7): e1005020.
- [38] SHEN X, SI M, ZHAO C, *et al.* Manganese scavenging and oxidative stress response mediated by type VI secretion system in *Burkholderia thailandensis*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2017, 114(11): E2233-E2242.
- [39] CORNELIS P. Iron uptake and metabolism in *Pseudomonads*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 86: 1637-1645.
- [40] CORNELIS P, BODILIS J. A survey of TonB-dependent receptors in fluorescent *Pseudomonas*[J]. Environmental Microbiology Reports, 2009, 1(4): 256-262.
- [41] CARTRON M L, MADDOCKS S, GILLINGHAM P, *et al.* Feo-transport of ferrous iron into bacteria[J]. Biometals, 2006, 19(2): 143-157.
- [42] SCHWECHHEIMER C, KUEHN M J. Outer-membrane vesicles from Gram-negative bacteria: biogenesis and functions[J]. Nature Reviews Microbiology, 2015, 13(10): 605-619.
- [43] ANKENBAUER R G, QUAN H N. FptA, the Fe(III)-pyochelin receptor of *Pseudomonas aeruginosa*: a phenolate siderophore receptor homologous to hydroxamate siderophore receptors[J]. Journal of Bacteriology, 1994, 176(2): 307-319.
- [44] GALLIQUE M, BOUTEILLER M, MERIEAU A. The type VI secretion system: a dynamic system for bacterial communication?[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1454.
- [45] CUI S, GAO X, MU Z, *et al.* Structure-based prototype peptides targeting the *Pseudomonas aeruginosa* type VI secretion system effector as a novel antibacterial strategy[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2017, 7: 411.