42 卷 2 期
2002 年 4 月

微 生 物 学 报
Acta Microbiologica Sinica

Vol.42 No.2
April 2002

细菌的细胞程序性死亡*

胡 玮 李越中** 张禹清 吴斌辉
(山东大学生命学院微生物技术国家重点实验室 济南 250100)

Programmed Cell Death in Bacteria

Hu Wei Li Yuezhong Zhang Yuqing Wu Binhui
(*State Key Laboratory of Microbial Technology*, *Shandong University*, *Jinan* 250100, *China*)

关键词:细菌,细胞程序性死亡,群体分化
中图分类号:Q935 文献标识码:A 文章编号:0001-6209(2002)02-0255-04

细胞凋亡(apoptosis)也称为细胞程序性死亡(programmed cell death,PCD),是由细胞自身的程序性自杀机制激活的细胞死亡现象。在多细胞真核生物中,程序性的细胞死亡是由细胞表面的死亡受体介导,通过一系列的半胱氨酸蛋白酶(caspases)作用而启动[1],维系个体结构稳定、功能平衡和生长发育所必需的基本生物学过程。一般存在于个体的发育过程中,导致细胞功能和形态学上的改变,如蛋白质的水解、DNA 和 RNA 的降解、细胞的收缩,以及细胞碎裂形成凋亡小体(apoptotic bodies)等,并最终导致细胞的死亡[2]。在细菌中,个体的细胞或细胞群体在其生活周期中也存在着程序性死亡现象[3]。这是目前微生物学研究的一个新的着力点。

1 细菌细胞的程序性死亡现象

相比于高等真核生物,细菌细胞在自然环境中经常暴露于极端小环境的压力之下,如氧化压力、热冲击、渗透压力、pH 变化、干燥和 DNA 损伤物质等,因而其生命周期通常是由一个短暂的允许快速生长的营养充足期和长时间无法生长的饥饿期组成[4]。在环境压力的诱导下,细菌发生应激适应(stress adaptations),导致细胞的功能分化、死亡或者休眠。这一适应过程在不同的细菌类群中显示了很大的差异,一般主要包括程序性地重新安排基因表达,蛋白质的合成和水解,核糖体和 RNA 的降解,以及细胞体积显著减小等。

大部分的细菌在其整个生活史中仅以没有明显细胞分化或发育特征的单细胞形式生活。饥饿等不良条件可诱导一部分细胞发生死亡,与此同时另一部分细胞则进入抗逆的休眠状态。这类细菌的休眠细胞在形态上与营养细胞相似,没有明显变化。这方面著名的例子如革蓝氏阴性细菌的非可培养活细胞(noncultruable but viable bacteria)状态。目前已在许多不同的细菌中都发现了这一细胞状态,如埃希氏菌(*Escherichia*),弧菌(*Vibrio*),沙门氏菌(*Salmonella*),荚膜红细菌(*Rhodobacter capsulatus*),军团菌(*Legionella*),微球菌(*Micrococcus*),志贺氏菌(*Shigella*),气单胞菌(*Aeromonas*),弯曲杆菌(*Campylobacter*)等[5~8]。

另一类细菌在其生活史中存在较为明显的细胞分化行为,能够形成更为典型的休眠细胞——各种

* 国家自然科学基金(39870003,3007008)和教育部博士点基金、骨干教师基金资助
** 联系人:Tel:(0531)8564288,Fax:(0531)8565234,E-mail:lilab@sdu.edu.cn
作者简介:胡 玮(1977-),男,山东省沂南人,博士研究生,主要从事粘细菌次级代谢与分化发育的研究。
收稿日期:2001-03-12,修回日期:2001-08-13 © 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

分化的抗逆孢子,如芽孢杆菌(*Bacillus*)的内生孢子发育[9]、链霉菌(*Streptonmyces*)的气生菌丝形成和分生孢子分化[10]以及柄杆菌(*Caulobacter screus*)形成游动孢子[11]等。从营养细胞分化形成抗逆孢子的过程中,通常包含各种细胞的死亡现象。如芽孢杆菌在形成孢子时,母细胞在释放内生孢子之前可发生主动自溶,这是一个程序化的过程,对参与其中的各种作用因子近年来有较多研究[12]。Miguelez E M 等对于链霉菌的菌丝死亡现象进行了研究,从形态学角度对其程序化属性提供了有力的证据[13]。除形成休眠孢子外,细菌还可以分化形成其它功能性细胞,如腥蓝细菌(*Anabaena*)形成具有专一固氮功能的异形胞[14]和根瘤菌(*Rhizobium*)发育形成的类菌体[15]等。

在某些'高等'的原核生物如粘细菌(myxobacteria)的生活史中,细胞的分化发育行为是多细胞性的,显示出更接近于真核生物的程序性细胞死亡特征[16,17]。在满足营养物匮乏、高细胞浓度和固体介质的条件下,营养细胞在 Asg,Csg,Dst 和 Est 等发育信号因子(developmental signal factors)的作用下向各焦点(aggregation focus)有序聚集。聚集过程中,大部分的细胞(65% ~ 90%)程序性地发育自溶。聚集后的存活细胞有序排列形成子实体。子实体的柄和孢子囊壁的营养细胞分化为不具繁殖活性的结构细胞,而子实体内部的细胞则分化为抗逆性的粘孢子。

从以上的讨论看,细菌中的细胞程序性死亡过程是普遍存在的,是一种利他性(altruistic)的细胞死亡,最终为种群的其他细胞的存活和种群的延续提供条件。因此我们可以称之为细菌的群体分化(population-differentiation)[18],与真核生物的细胞凋亡在机制特征和细胞结构变化上很相似(表 1)。Hochman A 曾建议将这种现象称为原凋亡(proapoptosis),但该词在高等真核生物的凋亡研究中有其它含义[19],因此,称其为细菌细胞的程序性死亡更为适宜。

表 1 细菌细胞的程序性死亡和真核生物细胞调亡现象的比较*

比较类别	真核生物	细菌
程序性属性	有	有
引发的环境因素	营养缺乏,激素,底物等	营养缺乏,底物,刺激等
死亡的获益者	整个生物体	整个群体
物质基础	新蛋白质合成	新蛋白质合成
蛋白酶活性	有	有
细胞体积的变化	收缩	收缩
染色体 DNA 的变化	断裂	断裂
RNA 的变化	降解	降解
释放的颗粒	凋亡小体	噬菌体样颗粒
反应性氧	有	有
凋亡细胞的命运	通常可存活,但倾向于死亡	长时间存活,可被培养或死亡

* 摘引自文献[18]

2 细菌细胞程序性死亡的机制和功能

2.1 分化细胞的程序性死亡

在细菌中,种群中部分细胞的程序性死亡是一种保存种群的机制,是细胞的群体行为,也有人将其定义为一种超级个体(super-organism)的行为加以研究[20]。例如,腥蓝细菌或根瘤菌分化形成专一固氮的异形胞或类菌体,它们可将产物运输给周围其它不能催化固氮反应的细胞。这一分化导致异形胞或类菌体中许多对固氮不必需的细胞功能丧失,如异形胞的光合能力或类菌体的蛋白质合成能力等。更

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

为重要的是,这些分化过程是不可逆的。一旦非分化的腥蓝细菌获得了足量的固定化氮时,异形胞死亡;而根瘤菌的类菌体也会在衰老植物瘤体中死亡,留下存活的非分化细胞[14,15]。

在粘细菌的子实体结构发育过程中发生的细胞自溶也具有相似的功能。粘细菌细胞在聚集过程中发生的细胞程序性自溶与粘孢子的形成紧密相关。例如粘孢子表面 19kD 的 S 蛋白质身不具有信号肽序列,不能通过分泌释放到胞外。正是细胞的自溶释放了大量的 S 蛋白,并在粘孢子表面完成自组装,使得孢子可以顺利形成。子实体成熟后,包裹孢子的孢子囊壁和子囊柄主要起保护粘孢子的作用,也是由不能发生可逆分化且无繁殖功能的细胞构成的[21]。

枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)在生孢过程中,母细胞的死亡是由导致母细胞自溶的信号传导途径控制的。其中,促进生孢的 σ 因子 K 诱导了自溶素 CwlC 和 CwlH 的合成,但在此类 PCD 过程中存在的自溶素诱导剂尚未得到完全鉴定[3]。

2.2　非分化细胞的死亡

尽管对无明显细胞分化行为的细菌形成非可培养状态细胞的机制还不清楚,但已经得到证实的是:在环境因素作用下,细菌通过 PCD 过程阻止缺陷细胞(如损伤的细胞等)的继续分裂和胞间的信息传递,从而清除这些细胞;而在耐受性细胞中,PCD 机制则受到了限制,从而保证种群的存活[22]。

在大肠杆菌中,PCD 机制是由一个独特的基因系统所介导的。由于该系统导致细胞对"非必要的"遗传因子存在的依赖性,Yarmolisky 等称其为沉溺模元(addiction modules)[23]。该系统由两个基因组成,一个基因的产物是一个不稳定的抗毒素成分,另一个基因的产物是一个稳定的毒素蛋白。当细菌丢失含有沉溺模元的质粒时,由于不稳定的抗毒素蛋白比稳定的毒素蛋白降解得更快,细胞被选择性地杀死。宿主细胞除具有精细机制避免质粒丢失外,还可通过沉溺模元杀伤无质粒细菌,从而保证含有低拷贝数质粒的细胞的稳定存活。该基因系统开始只在低拷贝数质粒中发现,后来在大肠杆菌染色体上也发现了它的存在[24]。目前已发现的沉溺模元有两种,反义 RNA(anti-sense RNA)沉溺模元和蛋白质沉溺模元。

(1)反义 RNA 沉溺模元系统:其毒素蛋白是由一个稳定的 mRNA 翻译产生,而抗毒素成分则是一个较小的不稳定的反义 RNA 分子。此系统属于 hok/sok 家族。反义 RNA 能够阻止编码毒素分子的 mRNA 的翻译;但在无质粒细胞中,不稳定的反义 RNA 被降解,使得毒素蛋白表达并最终导致细胞死亡。

(2)蛋白质沉溺模元系统:两个基因的产物均为蛋白质,主要包括:F 质粒的 *ccd*AB,P1 质粒的 *kis*/*kid*,R100 质粒的 *pen*I/K,RK2/RP4 质粒的 *parDE* 和 P1 原噬菌体的 *phd-doc* 等。最近,人们又发现位于大肠杆菌 *rel*A 基因上游的 *maz*EF 座位也可以编码引发 PCD 的抗毒素/毒素系统[25]。

2.3　反应性氧

氧化压力是有氧生活所不能避免的,有氧环境也使得整个生命系统进化出适应性策略,成为细胞分化和衰老的促进因素。真核生物和细菌的细胞程序性死亡过程中都包含反应性氧(reactive oxygen),如过氧化物等产生的氧化代谢产物,并引发部分细胞发生凋亡。多细胞真核生物通过产生抗氧化剂如 Bcl-2 蛋白来抑制细胞凋亡[26]。同样地,在 G^- 细菌中,营养缺乏能够激活被称为饥饿基因的 *rpo*S(*kat*F)基因,它控制着 40 到 60 种蛋白质的合成,其中包括对细胞具有抗氧化保护功能的接触酶 HP Ⅱ和核酸外切酶Ⅲ。氧化压力也可以促进细菌在营养缺乏条件下形成可培养态细胞的过程;而且,当使用过氧化物酶缺失突变株时,这一过程更加显著。最近的研究表明,原核生物与真核生物在面临氧化压力时的表面有很多不同,即使是处于生长期或者稳定期等不同生长阶段的细菌细胞的反应也不尽相同[27]。

3　细菌细胞程序性死亡的研究前景展望

细胞的程序性死亡研究是一个令研究人员感兴趣的问题。细菌的细胞程序性死亡目的是为了在各种极端条件下延续种群,是细菌种群的细胞群体性行为。这方面的研究热点目前主要在单细胞细菌的多细胞行为[16]、致病菌的耐药性[28]、生物膜(biofilm)的形成[29]等方面。今后,关于细胞细胞程序性死亡

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

的研究在以下几个方面有可能得到新的发展:1)细菌的细胞程序性死亡对其种群生存的贡献及较为系统的机制阐明;2)粘细菌是生活在多细胞生物边缘的类群,其细胞程序性死亡的研究有可能得到令人振奋的结果;3)建立筛选抗耐药细菌药物的模型。抗生素的存在是形成细菌对抗生素的耐受性的重要原因之一,其结果有可能激活致病菌的 PCD 反应。因此,参与细菌 PCD 过程并且影响耐药性产生的基因是开发根除顽抗病菌药物的有效靶位;4)细胞程序性死亡在细菌与动植物相互关系中的作用;5)细菌的非可培养状态的详细机理和过程,仍有待于进一步的研究;6)自然条件下细菌群落形成生物膜的机制和防治。

致谢 感谢以色列 Tle Aviv 大学 Aylala Hochman 教授和 Hebrow 大学 Hanna Engelberg-Kulka 教授惠赠部分文献并讨论有关细菌细胞程序性死亡的现象和机制。

参 考 文 献

[1] Budd R C. *Curr Opin Immunol*, 2001, **13**:356~362.
[2] Cotter T G, Lennon S V, Glynn J G, *et al*. *Anticancer Res*, 1990, **10**:1153~1159.
[3] Lewis K. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2000, **64**:503~514.
[4] Kolter R, Siegle D A, Tormo A. *Annu Rev Microbiol*, 1993, **47**:855~874.
[5] Oliver J D, Nilsson L, Kjellenberg S. *Appl Environ Microbiol*, 1991, **57**:2640~2644.
[6] Turpin P E, Maycroft K A, Rowlands C l, *et al*. *J Appl Bacteriol*, 1993, **74**:421~427.
[7] Palmer C J, Tsai Y L, Paszko-Kolva C, *et al*. *Appl Environ Microbiol*, 1993, **59**:3618~3624.
[8] Hochman A, Figueredo A, Wall J D, *J Bacteriol*, 1992, **174**:3386~3391.
[9] Losick R, Stragier P. *Nature*, 1992, **355**:601~604.
[10] Chater K F. *Annu Rev Microbiol*, 1993, **47**:685~713.
[11] Newton A, Ohta N. *Curr Opin Cell Biol*, 1992, **4**:180~185.
[12] Nugroho F A, Yamamoto H, Kobayashi Y, *et al*. *J Bacteriol*, 1999, **181**:6230~6237.
[13] Miguelez E M, Hardisson C, Manzanal M B. *J Cell Biol*, 1999, **145**:515~525.
[14] Wolk C P. *Annu Rev Genet* 1996, **30**:59~78.
[15] Bergersen F J. The Biology of Nitrogen Fixation, New York: New York Press, 1974.
[16] Shimkets L J. *Annu Rev Microbiol* 1999, **53**:525~549.
[17] 周 璐,李越中,李 健.生物化学与生物物理进展,1999,**26**:544~547.
[18] Hochman A. *Crit Rev Microbiol*, 1997, **23**:207~214.
[19] Tao X J, Tilly K I, Maravei D V, *et al*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, **82**:2738~2746.
[20] Oleskin A V, Botvinko I V, Tsavkelova E A. *Mikrobiologiia*, 2000, **69**:309~327.
[21] Dworkin M. *Microbiol Rev*, 1996, **60**:70~102.
[22] Engelberg-Kulka H, Glaser G. *Annu Rev Microbiol*, 1999, **53**:43~70.
[23] Yarmolinsky M B. *Science*, 1995, **267**:836~837.
[24] Alzenman E, Engelberg-Kulka H, Glaser G. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**:6059~6063.
[25] Mittenhuber G. *J Mol Biol Biotechnol*, 1999, **1**:295~302.
[26] Hockenbery D M, Oltvai Z N, Yin X M, *et al*. Cell, 1993, 75:241~251.
[27] Sigler K, Chaloupka J, Brozmanova J, *et al*. *Folia Microbiol*, 1999, **44**:587~624.
[28] Ziebuhr W, Ohlsen K, Karch H, *et al*. *Cell Mol Life Sci* 1999, **56**:719~728.
[29] Watnick P, Kolter R. *J Bacteriol*. 2000, **182**:2675~2679.

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn