



## 和厚朴酚对大肠埃希氏菌生物被膜形成的抑制机制

张凯<sup>1</sup>, 陈菲<sup>1</sup>, 谷劲松<sup>2\*</sup>, 谢明杰<sup>1\*</sup>

1 辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁 大连 116081

2 济南大学生物科学与技术学院, 山东 济南 250022

张凯, 陈菲, 谷劲松, 谢明杰. 和厚朴酚对大肠埃希氏菌生物被膜形成的抑制机制. 微生物学报, 2022, 62(7): 2521–2529.

Zhang Kai, Chen Fei, Gu Jinsong, Xie Mingjie. Mechanism of honokiol in inhibiting *Escherichia coli* biofilm formation. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(7): 2521–2529.

**摘要:** 【目的】研究不同浓度的和厚朴酚(honokiol)抑制大肠埃希菌(*Escherichia coli*)的供试菌株 10389 生物被膜(biofilm, BF)形成的作用机制。【方法】用氯化三苯基四氮唑比色法(TTC)和四唑盐减低法(XTT)测定 honokiol 抑制 *E. coli* 10389 生物被膜形成的药物最低抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC)及其抑制作用与时间的关系; 通过 qRT-PCR 法检测不同浓度的 honokiol 对 *E. coli* 10389 生物被膜形成基因和群体感应系统相关基因表达量的影响; 通过生物发光法和 qRT-PCR 法检测亚-MIC honokiol 对 *E. coli* 10389 喹喏糖基硼酸二酯(AI-2)及其调控的与生物被膜形成相关的下游基因表达量的影响。【结果】Honokiol 能抑制 *E. coli* 10389 生物被膜的形成, 但不同浓度的 honokiol 抑制 *E. coli* 10389 BF 形成的作用机制不同。其中, 与对照组相比, MIC 的 honokiol 能使 *E. coli* 10389 BF 形成相关基因编码毒素(*hha*)和细菌酸性调节因子(*ariR*) mRNA 的表达量显著提高, 抗毒素(*ybaJ*)的 mRNA 表达量显著降低。亚-MIC 的 honokiol 则能抑制 *E. coli* 10389 分泌 AI-2 的量, 降低由其调控的与 BF 形成相关的下游基因的 mRNA 表达量。与对照组相比, 16  $\mu\text{g/mL}$  的 honokiol 可使荚膜异多糖酸基因 *mqsR*、类黏蛋白基因 *mcbR* 和鞭毛形成基因 *csrA*、*flhD*、*flhC* 和 *flic* 的 mRNA 表达量分别降低 65.21%、55.01%、73.16%、62.01%、60.30%和 59.71%。【结论】Honokiol 能抑制 *E. coli* 10389 BF 的形成, 但不同浓度的 honokiol 其抑制 *E. coli* 10389 BF 形成的作用机制不同。其中, MIC 的 honokiol 主要是通过影响 BF 形成的相关基因表达量来抑制 *E. coli* BF 的形成; 而亚-MIC 的 honokiol 则主要是通过抑制 Luxs/AI-2 系统的 AI-2 合成酶 *luxs* 基因的表达量, 降低 AI-2 的分

基金项目: 辽宁省教育厅科学研究一般项目(LJ2019010)

Supported by the Scientific Research Projects of the Education Department of Liaoning Province (LJ2019010)

\*Corresponding authors. Tel: +86-411-85827188; E-mail: XIE Mingjie, xmj1222@sina.com, GU Jinsong, chm-gujs@ujn.edu.cn

Received: 2 October 2021; Revised: 6 December 2021; Published online: 8 March 2022

泌量, 进而影响荚膜多糖、类黏蛋白和鞭毛等合成抑制 *E. coli* BF 的形成。

**关键词:** 大肠埃希菌; 生物被膜; 和厚朴酚

## Mechanism of honokiol in inhibiting *Escherichia coli* biofilm formation

ZHANG Kai<sup>1</sup>, CHEN Fei<sup>1</sup>, GU Jinsong<sup>2\*</sup>, XIE Mingjie<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> College of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian 116081, Liaoning, China

<sup>2</sup> College of Biological Science and Technology, University of Jinan, Jinan 250022, Shandong, China

**Abstract:** **[Objective]** To investigate the mechanism of honokiol at different concentration in inhibiting *Escherichia coli* 10389 biofilm (BF) formation. **[Methods]** We employed triphenyltetrazolium chloride (TTC) method to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of honokiol for the test strain and tetrazolium salt (XTT) reduction assay to investigate the influence of honokiol concentration on BF formation of the test strain and the influence over time. Through qRT-PCR, we examined the effect of honokiol concentration on the expression of genes related to BF formation and quorum sensing of the test strain. We detected the effect of honokiol at sub-MIC on the expression of furanosyl borate diester (AI-2) in *E. coli* 10389 and its regulated downstream genes associated with BF formation by bioluminescence and qRT-PCR. **[Results]** Honokiol inhibited the BF formation of *E. coli* 10389, but the mechanism was different for different concentration of honokiol. Among them, honokiol at MIC significantly increased the mRNA expression of toxin gene *hha* and bacterial acid regulator *ariR* involved in the BF formation of *E. coli* 10389 and significantly decreased the mRNA expression of toxin overexpression-modulating gene *ybaJ* compared with the control group. Honokiol at sub-MIC can suppress AI-2 secretion by *E. coli* 10389 and decrease the mRNA expression of its regulated downstream genes related to BF formation. Compared with the control, 16 µg/mL honokiol reduced the mRNA expression of colanic acid gene *mqsR*, mucoid gene *mcbR*, and flagellum formation-related genes *csrA*, *flhD*, *flhC*, and *flic* by 65.21%, 55.01%, 73.16%, 62.01%, 60.30%, and 59.71%, respectively. **[Conclusion]** Honokiol suppresses the BF formation of *E. coli* 10389, but the mechanism is different for honokiol of different concentration. Among them, honokiol at MIC mainly inhibits BF formation by affecting the expression of related genes, and honokiol at sub-MIC by suppressing the expression of the AI-2 synthase *luxS* gene of Luxs/AI-2 system, decreasing AI-2 secretion, and further influencing the synthesis of capsular polysaccharide, mucoid, and flagellin.

**Keywords:** *Escherichia coli*; biofilm; honokiol

细菌生物被膜(biofilm, BF)指细菌为适应外界环境, 粘附于非生物或活性组织表面, 分泌胞外基质并将菌体自身包裹其中而形成的特

定细胞群体。有研究表明, BF 的形成是造成病原菌持续性感染和细菌耐药的主要原因之一<sup>[1-4]</sup>。其中, 超过 80% 的细菌性疾病与细菌生

物被膜的形成有关<sup>[5-6]</sup>。据报道, *E. coli* BF 的形成受多种基因调控, 如编码毒素基因 *hha*、抗毒素基因 *ybaJ* 和细菌酸性调节因子基因 *ariR* 等<sup>[7]</sup>。和厚朴酚(honokiol)是我国传统中药厚朴的有效成分之一, 已有的研究结果显示, honokiol 对菌体 BF 的形成有一定的抑制和破坏作用<sup>[8-11]</sup>。大肠埃希菌(*Escherichia coli*) 10389 为能够形成 BF 的菌株, 本研究以该菌株为供试菌株, 系统研究不同浓度的 honokiol 抑制其 BF 形成的作用机制, 旨在为临床解决由 *E. coli* 引起的持续性感染提供理论依据和新的策略。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

#### 1.1.1 菌 种

供试菌株 *E. coli* 10389 购自中国工业微生物菌种保藏管理中心; 阴性对照菌株 *E. coli* DH5 $\alpha$  购自中国医学菌种保藏中心; 哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*) BB170 由济南大学生物科学与技术学院提供。

#### 1.1.2 实验药品

和厚朴酚、氯化三苯基四氮唑(TTC)购于上海生工生物工程有限公司; PCR 扩增及 real-time PCR 相关试剂等购于大连 TaKaRa 生物有限公司。

#### 1.1.3 主要实验设备

Multiskan FC 型酶标仪(Thermo 公司); PCR 仪(TTECHNE-512 型); 实时荧光定量 PCR 仪(TaKaRa TP800); 日立荧光光谱仪(Hitachi F-7000)。

### 1.2 Honokiol 对 *E. coli* 10389 BF 形成的抑制作用

氯化三苯基四氮唑(TTC)比色法<sup>[12]</sup>测定 honokiol 抑制供试菌株 BF 形成的最小抑菌浓度

(minimal inhibitory concentration, MIC)和最小杀菌浓度(minimal bactericidal concentration, MBC): 于 96 孔板中分别加入培养至对数期的菌悬液( $10^6$  CFU/mL)和不同浓度的 honokiol, 使药物的终浓度分别为 0、4、8、16、32、64 和 128  $\mu$ g/mL, 以不加药物的孔为空白对照组, 每组设置 5 个复孔。37  $^{\circ}$ C 下静置培养 24 h 后, 向每孔中分别加入 0.2% 的 TTC 并继续避光培养 4 h。培养结束后, 以没有红色还原物产生的最低浓度作为 MIC 浓度。从大于 MIC 的孔中, 分别吸取 20  $\mu$ L 分别涂布于 LB 固体培养基上, 37  $^{\circ}$ C 下培养 24 h。以没有菌落生长的最低药物浓度作为 MBC 浓度。实验重复 3 次。四唑盐(tetrazolium salt, XTT)减低法<sup>[13]</sup>测定不同的药物浓度和作用时间对供试菌株 BF 形成的影响: 在 96 孔板中加入培养至对数期的菌悬液( $10^6$  CFU/mL)和不同浓度的 honokiol (8、16、32  $\mu$ g/mL), 分别测定其在不同的作用时间对供试菌株 BF 形成的影响。以不含药物、只含菌体和培养基的孔为阴性对照组, 以不含菌体、只含培养基的孔为空白对照组, 每组设置 5 个重复孔。37  $^{\circ}$ C 下培养 24 h 后, 向每孔中分别加入 XTT-维生素 K<sub>3</sub> 溶液, 继续避光培养 2 h。然后利用酶标仪在 495 nm 波长处测定吸光度(OD), 并根据下列公式计算 honokiol 对供试菌株的相对抑制率(X)。实验重复 3 次。

$$X = \left[ 1 - \frac{OD_{\text{实验组}} - OD_{\text{空白对照组}}}{OD_{\text{阴性对照组}} - OD_{\text{空白对照组}}} \right] \times 100\% \quad (1)$$

### 1.3 Honokiol 对 *E. coli* BF 形成基因和群体感应(QS)系统基因表达量的影响

将培养至对数期的 *E. coli* 10389 菌悬液按 1% 接种量接种于 20 mL 含不同浓度 honokiol 的 LB 液体培养基中, 使 honokiol 的终浓度分别为 0、8、16 和 32  $\mu$ g/mL。于 37  $^{\circ}$ C 下培养 16 h 后离心收集菌体。再用试剂盒提取 *E. coli*

的总 RNA，两步反转法合成模板 cDNA。根据 GenBank 中 *E. coli* 10389 的基因序列，利用 Primer 5.0 PCR 引物设计软件设计 *E. coli* 10389 与生物被膜形成相关基因的引物，引物委托生工生物工程(上海)股份有限公司合成。采用 qRT-PCR 法以 *E. coli* 10389 16S rRNA 为内参基因检测基因表达量，所设计的引物见表 1。

#### 1.4 亚-MIC honokiol 对供试菌株 AI-2 分泌量的影响

AI-2 的测定采用 *V. harveyi* BB170 生物学发光法<sup>[14]</sup>。其原理是极少量的 *V. harveyi* BB170 可在含 AI-2 分子的培养基中诱发发光反应，其发光强度与 AI-2 的浓度成正比。具体的测定步骤：(1) 将培养至对数期的供试菌株和 *V.*

*harveyi* BB170 菌悬液离心，用 0.22 μm 的滤膜过滤后备用。(2) 将 *V. harveyi* BB170 滤液用 AB 培养基稀释至 5 000 倍，取 180 μL 置于不同的 EP 管中，再分别加入 20 μL 上述过滤后菌液，于 28 °C 培养 5 h 后利用多功能酶标仪(生物化学发光模式)检测 495 nm 处的吸光值。

#### 1.5 亚-MIC honokiol 对受 AI-2 调控的 BF 形成相关基因 mRNA 表达量的影响

按照 1.3 的方法检测亚-MIC honokiol 对 AI-2 调控的 BF 形成的相关基因表达量，引物见表 2。

#### 1.6 统计分析方法

实验数据均采用平均值±标准差。实验结果通过 SPSS 12.0 软件进行统计分析。

表 1 生物被膜形成相关基因 qRT-PCR 引物

Table 1 qRT-PCR primer for genes associated with biofilm formation

| Genes       | Forward primer (5'→3') | Reverse primer (5'→3')  | Product size/bp |
|-------------|------------------------|-------------------------|-----------------|
| 16S rRNA    | GCAACGCGAAGAACCTTACC   | GACACGAGCTGACGACAACC    | 112             |
| <i>hha</i>  | AATGCGTTTACGTCGTTGCC   | TTCATGGTCAATTTCGGCGAG   | 135             |
| <i>ybaJ</i> | CAATCATGGCTGGGTAAACGA  | CGCAGGATTCTCTTTCGTCG    | 265             |
| <i>ariR</i> | TCAGCAGTGTTAGGGCAGGC   | TCGCAACACGATTTCCAGTG    | 156             |
| <i>luxS</i> | TGCCGAACAAAGAAGTGATG   | CTTCGTTGCTGTTGATGCGTA   | 348             |
| <i>pfs</i>  | CCTGGCACCAACGTTGAAAG   | TGGCGCGTACGACAACAAAC    | 347             |
| <i>tnaA</i> | AAGATGCGATGGTGCCGATGG  | GCGATACGATAAGCCAGCCAGTC | 199             |

表 2 AI-2 相关基因 qRT-PCR 引物

Table 2 qRT-PCR primer for genes associated with AI-2 regulation-related genes

| Genes       | Forward primer (5'→3')   | Reverse primer (5'→3')   | Product size/bp |
|-------------|--------------------------|--------------------------|-----------------|
| 16S rRNA    | GCAACGCGAAGAACCTTACC     | GACACGAGCTGACGACAACC     | 112             |
| <i>mqsR</i> | CAATGCCGGGCAAGTTCGTA     | GGGTCTGTAAACATCCTGCCA    | 186             |
| <i>qseB</i> | ACAACACGTAGTGCCCTGTT     | TGGCCTGTAAACAAGCCTGGG    | 150             |
| <i>qseC</i> | TGTCTGGATGACCTCACCTGATGG | AACATAATCGGCAGTGCGACCAG  | 132             |
| <i>flhD</i> | CAACGTTAGCGGCACTGACT     | CGCCCAGGGTGATCAATTCC     | 96              |
| <i>flhC</i> | CGTTAGCGGCACTGACTCTTCC   | CTGAGTAATCGTCTGGTGGCTGTC | 98              |
| <i>fliC</i> | GTAACGCCAACGACGGTATCTCC  | TCAGTTCACGCACACGCTGTAAG  | 90              |
| <i>mcbR</i> | TTCTGTGCGACCTGCACAAGC    | AGCAATTCCTGGAGTCCGCAAG   | 156             |
| <i>csrA</i> | TCTGACTCGTCGAGTTGGTGAGAC | CGCCAATACGTACCTGGTTGCC   | 92              |

## 2 结果与分析

### 2.1 Honokiol 对供试菌株 BF 形成的抑制作用

实验结果显示, honokiol 对供试菌株 BF 形成的抑制作用与浓度和时间在一定范围内具有依赖关系, 其抑制 BF 形成的 MIC 和 MBC 分别为 32 和 64  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。其中, 8、16 和 32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 honokiol 对 BF 形成的抑制率分别为 51%、73%和 97% ( $P<0.01$ )(图 1)。MIC 的 honokiol 在 9 和 24 h 时对供试菌株 BF 形成的抑制率分别为 88%和 97% ( $P<0.01$ ); 亚-MIC 的 honokiol 对供试菌株 BF 形成的抑制作用在 9 h 时达到最大, 其中, 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  honokiol 在 9 h 对 BF 形成的抑制率为 75% ( $P<0.01$ )(图 2)。

### 2.2 Honokiol 对供试菌株 BF 形成相关基因表达量的影响

qRT-PCR 结果显示(图 3), 不同浓度的 honokiol 对 BF 形成相关基因的 mRNA 表达量的影响不同。其中, 与对照组相比, MIC 的 honokiol 可使 *hha* 和 *ariR* 的 mRNA 表达量分

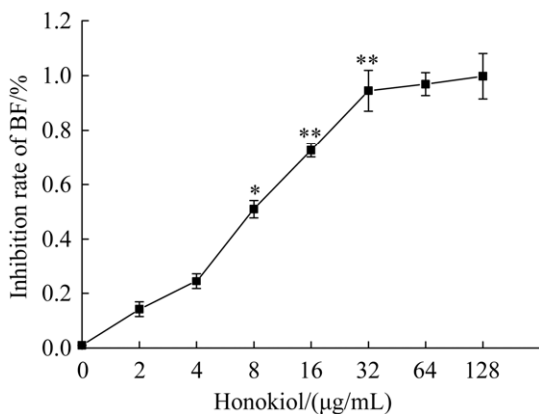


图 1 Honokiol 对 *E. coli* 10389 BF 形成的抑制作用

Figure 1 Inhibition of *E. coli* 10389 BF formation by honokiol. Compared with control group, \*:  $P<0.05$ , \*\*:  $P<0.01$ .

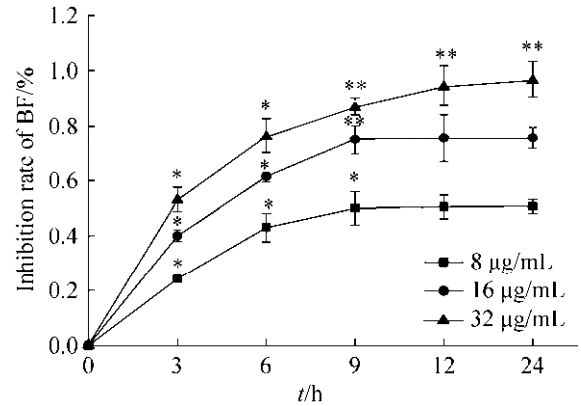


图 2 亚-MIC 和 MIC honokiol 抑制 *E. coli* 10389 BF 的形成过程

Figure 2 Inhibitory effect of MIC and sub-MIC honokiol on *E. coli* 10389 BF formation at different time. Compared with control group, \*:  $P<0.05$ , \*\*:  $P<0.01$ .

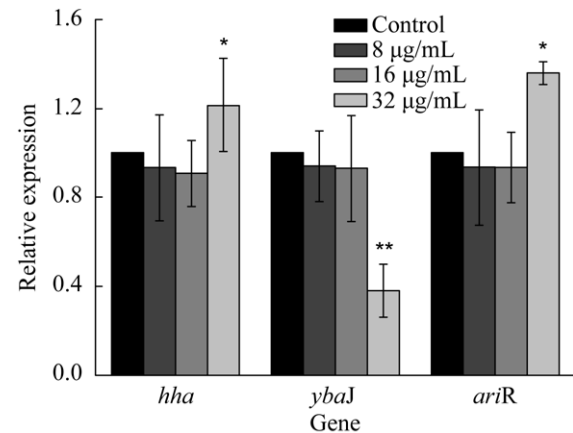


图 3 Honokiol 对 *E. coli* 10389 *hha*、*ybaJ* 和 *ariR* 基因表达的影响

Figure 3 Effects of honokiol on the expression of *hha*, *ybaJ* and *ariR* genes of *E. coli* 10389. Compared with control group, \*:  $P<0.05$ , \*\*:  $P<0.01$ .

别增加了 21.51%和 35.99% ( $P<0.05$ ), *ybaJ* 的 mRNA 表达量减少了 62.02% ( $P<0.01$ )。而亚-MIC 的 honokiol 对上述基因的表达量影响不大 ( $P>0.05$ )。

### 2.3 Honokiol 对供试菌株 QS 系统相关基因表达量的影响

qRT-PCR 结果显示(图 4), honokiol 能显著影响 *luxs* 的 mRNA 表达量。其中, 与对照组相比, 16 和 32  $\mu\text{g/mL}$  的 honokiol 可使 *luxs* mRNA 表达量均减少 50% ( $P < 0.01$ ), 但对 *pfs* 和 *tnaA* mRNA 表达量影响不大( $P > 0.05$ )。

### 2.4 Honokiol 抑制供试菌株 *luxs* mRNA 的表达量与作用时间的关系

qRT-PCR 结果显示(图 5), 亚-MIC 的 honokiol 在 0–9 h 内, 对 *luxs* mRNA 表达量的抑制作用在一定范围内与作用时间呈正相关。与对照组相比, 16  $\mu\text{g/mL}$  的 honokiol 在 9 h 时可使 *luxs* mRNA 表达量降低 51% ( $P < 0.05$ )。而 MIC honokiol 在 0–24 h 内对 *luxs* mRNA 表达量的影响均无明显变化( $P > 0.05$ )。鉴于 *luxs* 主要是通过 AI-2 来影响 BF 的形成, 本研究测定了亚-MIC honokiol 对供试菌株 AI-2 分泌量的影响。

### 2.5 亚-MIC Honokiol 对 AI-2 分泌量的影响

实验结果显示(图 6), 在 0–9 h, 亚-MIC honokiol 能显著抑制供试菌株的 AI-2 分泌量。

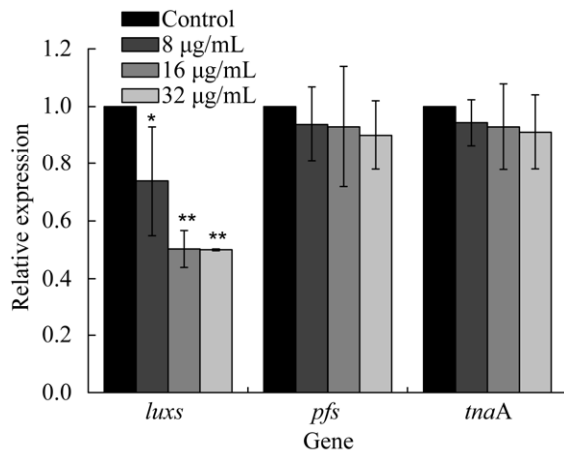


图 4 Honokiol 对 *E. coli* 10389 *luxs*、*pfs* 和 *tnaA* mRNA 表达量的影响

Figure 4 Effects of honokiol on the mRNA expression of *luxs*, *pfs* and *tnaA* of *E. coli* 10389. Compared with control group, \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ .

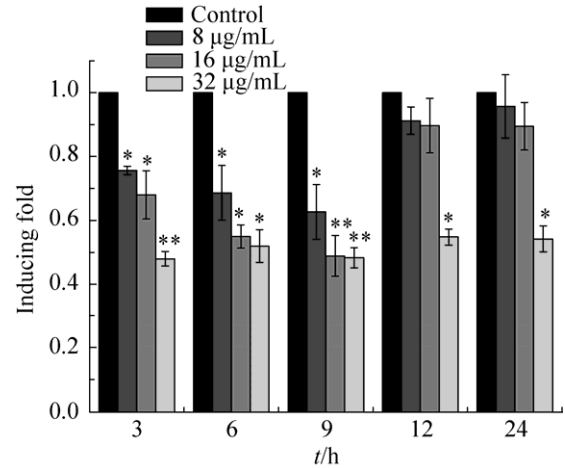


图 5 Honokiol 对 *E. coli* 10389 *luxs* 基因转录的影响

Figure 5 Effect of honokiol on *E. coli* 10389 *luxs* transcription. Compared with control group, \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ .

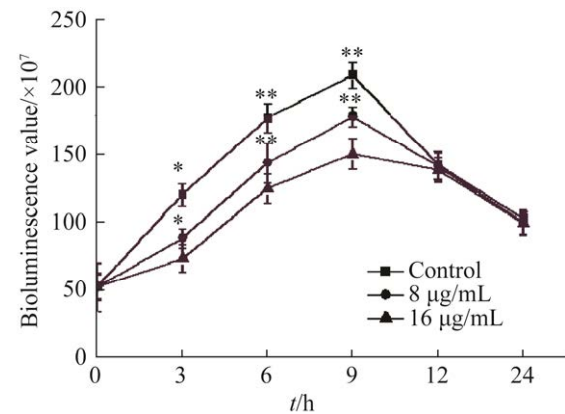


图 6 亚-MIC honokiol 对 *E. coli* 10389 AI-2 分泌量的影响

Figure 6 Effects of sub-MIC honokiol on *E. coli* 10389 AI-2 secretion. Compared with control group, \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ .

其中, 与对照组相比, 16  $\mu\text{g/mL}$  的 honokiol 在 9 h 时可使 AI-2 的分泌量减少 29.32% ( $P < 0.01$ )。

### 2.6 亚-MIC honokiol 对 AI-2 调控的 BF 形成相关基因的影响

qRT-PCR 结果显示(图 7), 亚-MIC honokiol 可显著抑制荚膜异多糖酸基因 *mqsR*、类黏蛋白基因 *mcbR*、鞭毛形成基因 *csrA*、*flhD*、*flhC*、

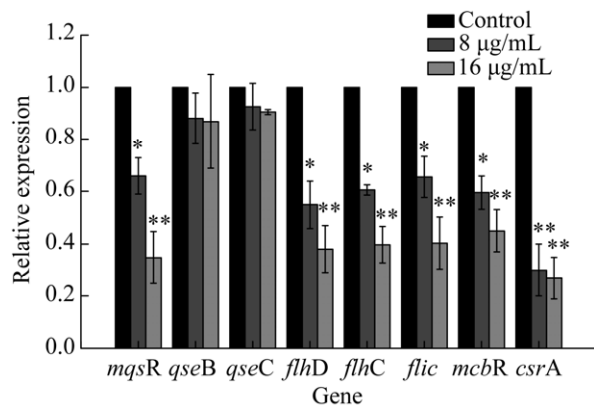


图7 亚-MIC Honokiol对AI-2调控BF形成下游相关基因的影响

Figure 7 Effects of sub-MIC Honokiol on the expression. Compared with control group, \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ .

*flic*的mRNA表达量且呈浓度剂量依赖,但对*qseB*、*qseC*的mRNA表达量无显著影响。其中,与对照组相比,16 µg/mL的honokiol可使*mqsR*、*mcbR*、*csrA*、*flhD*、*flhC*和*flic*的mRNA表达量分别降低65.21%、55.01%、73.16%、62.01%、60.30%和59.71% ( $P < 0.01$ )。

### 3 讨论与结论

细菌BF形成的分子机制极为复杂,与药物的浓度、BF形成阶段的相关基因和群体感应系统有关<sup>[15-18]</sup>。本研究结果显示,和厚朴酚对*E. coli* 10389 BF形成的抑制作用与药物浓度呈剂量依赖关系,且不同浓度的honokiol抑制BF形成的作用机制不同。

*hha*、*ybaJ*和*ariR*是与*E. coli* BF形成的相关基因,其中,*hha*能通过调节*E. coli*的卷曲菌毛基因和鞭毛基因等的表达影响细菌BF的定殖、粘附和聚集;*ybaJ*为抗毒素基因,可与*hha*调控合成的蛋白间的拮抗作用共同影响BF的形成<sup>[19]</sup>; *ariR*则可通过影响*yngB*蛋白的表达,降低细菌的运动性来影响BF的形成<sup>[20]</sup>。

本研究结果显示, MIC的honokiol可显著上调*hha*、*ariR*的mRNA表达量,降低*ybaJ*的mRNA表达量,但亚-MIC honokiol对上述基因基本无影响,表明MIC的honokiol主要是通过影响*hha*、*ybaJ*、*ariR*等与*E. coli* BF形成相关的基因表达量来发挥作用,而亚-MIC honokiol抑制*E. coli* BF的形成则是通过其他不同的途径。

近年来的研究表明, QS系统在细菌BF的形成过程中发挥重要的作用。*E. coli*的QS系统主要有I型(Luxs/AI-1)、II型(Luxs/AI-2)和indole系统。其中, Luxs/AI-2系统在*E. coli* BF的形成、成熟和散播过程中发挥着重要作用<sup>[21-23]</sup>。QS系统影响生物被膜的形成主要通过细菌分泌产生的自诱导信号分子(AI)进行调控。其中,*E. coli*不能合成分泌AI-1, AI-2的合成受Pfs(S-腺苷高半胱氨酸核酸酶)和Luxs(AI-2合成酶)2个限制酶调控,而indole的合成受indole合成酶基因*tnaA*调控<sup>[24-26]</sup>。本研究结果显示,亚-MIC和MIC honokiol均能抑制*luxs* mRNA表达量,但在不同时间范围内对*luxs*基因mRNA表达量影响不同,对*pfs*和*tnaA* mRNA表达量基本无影响。其中,亚-MIC的honokiol抑制AI-2的分泌量与*luxs* mRNA表达量的降低趋势一致,表明亚-MIC的honokiol可通过降低Luxs/AI-2系统中的*luxs* mRNA表达量,抑制AI-2的合成与分泌来影响*E. coli* BF的形成。已有的研究表明, AI-2影响*E. coli* BF形成的机制主要包括: AI-2分子进入细胞并磷酸化,调控*mqsR*基因的表达影响荚膜异多糖的合成;调控双组分调节系统基因(*qseBC*)或细菌全局性调控因子(*csrA*),以及通路中的相关基因(*flhDC*和*flic*等),影响鞭毛和群体感应等多种生理过程;调控转录因子(*mcbR*)的表达影响类黏蛋白的合成等<sup>[27]</sup>。本研究结果显示,亚-MIC的honokiol可显著抑制*mqsR*、*csrA*、*flhDC*、

*flic* 和 *mcbR* 的 mRNA 表达量, 但对 *qseBC* mRNA 的表达量无显著抑制作用。表明亚-MIC honokiol 主要是通过影响荚膜异多糖酸、类黏蛋白和鞭毛的合成抑制 *E. coli* BF 的形成。

综上所述, honokiol 能抑制 *E. coli* 10389 BF 的形成, 但不同浓度的 honokiol 抑制 *E. coli* 10389 BF 形成的作用机制不同。其中, MIC 的 honokiol 主要是通过影响 BF 形成的相关基因表达量来抑制 *E. coli* BF 的形成; 而亚-MIC 的 honokiol 则主要是通过抑制 Luxs/AI-2 系统的 *luxs* 基因的表达量, 降低 AI-2 的分泌量, 影响荚膜多糖、类黏蛋白和鞭毛等合成抑制 *E. coli* BF 的形成。

## 参考文献

- [1] 刘静聪, 方金玉, 朱军莉. 细菌生物被膜基质的研究进展. *微生物学报*, 2022, 62(1): 47–56.  
Liu JC, Fang JY, Zhu JL. A brief review of biofilm matrix in structured microbial communities. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(1): 47–56. (in Chinese)
- [2] Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice SA, Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(9): 563–575.
- [3] Bowen WH, Burne RA, Wu H, Koo H. Oral biofilms: pathogens, matrix, and polymicrobial interactions in microenvironments. *Trends in Microbiology*, 2018, 26(3): 229–242.
- [4] Gebreyohannes G, Nyerere A, Bii C, Sbhatu DB. Challenges of intervention, treatment, and antibiotic resistance of biofilm-forming microorganisms. *Heliyon*, 2019, 5(8): e02192.
- [5] Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2003, 2(2): 114–122.
- [6] Rasamiravaka T, Labtani Q, Duez P, El Jaziri M. The formation of biofilms by *Pseudomonas aeruginosa*: a review of the natural and synthetic compounds interfering with control mechanisms. *BioMed Research International*, 2015, 2015: 759348.
- [7] 涂春田, 汪洋, 易力, 王瑜欣, 刘宝宝, 宫胜龙. 信号分子调控细菌生物被膜形成的分子机制. *生物工程学报*, 2019, 35(4): 558–566.  
Tu CT, Wang Y, Yi L, Wang YX, Liu BB, Gong SL. Roles of signaling molecules in biofilm formation. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2019, 35(4): 558–566. (in Chinese)
- [8] 谭珍媛, 邓家刚, 张彤, 韦锦斌, 姚金霞, 韦海施. 中药厚朴现代药理研究进展. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(22): 228–234.  
Tan ZY, Deng JG, Zhang T, Wei JB, Yao JX, Wei HS. Research progress in modern pharmacology of *Magnolia officinalis*. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2020, 26(22): 228–234. (in Chinese)
- [9] 梁紫微. 和厚朴酚抗金黄色葡萄球菌磷壁酸诱导的氧化损伤与炎症反应研究. 吉林大学硕士学位论文, 2019.
- [10] 李龙. 和厚朴酚抗疱疹病毒的作用机制研究与 STAT3 在 MHV68 感染中的作用分析. 中国科学院大学博士学位论文, 2019.
- [11] 刘宗慧. 和厚朴酚抑制金黄色葡萄球菌  $\alpha$ -溶血素介导的 NLRP3 炎性小体的机制研究. 吉林大学硕士学位论文, 2018.
- [12] 黄梅, 罗俊, 沈建英. 双氢青蒿素与头孢呋辛对大肠杆菌的协同抗菌作用及机制研究. *中国中药杂志*, 2020, 45(12): 2975–2981.  
Huang M, Luo J, Shen JY. Synergistic antibacterial effect and mechanisms of dihydroartemisinin and cefuroxime in combination. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2020, 45(12): 2975–2981. (in Chinese)
- [13] 郭静, 孙静, 张晟, 颜正豪, 亓庆国. 白假丝酵母菌体外生物膜药敏性不同检测方法的比较. *中国微生物学杂志*, 2016, 28(4): 388–391, 395.  
Guo J, Sun J, Zhang S, Yan ZH, Qi QG. Different detection methods for antifungal susceptibility of *Saccharomyces albicans* biofilms *in vitro*. *Chinese Journal of Microecology*, 2016, 28(4): 388–391, 395. (in Chinese)
- [14] 荆雅玮. 布鲁菌 *sahH* 在甲硫氨酸代谢通路中的活性研究. 中国农业科学院硕士学位论文, 2018.
- [15] 王洪彬, 朱利霞, 于秀剑, 高桂生, 史秋梅, 吴同垒. 细菌生物被膜研究进展. *动物医学进展*, 2019, 40(9): 74–79.  
Wang HB, Zhu LX, Yu XJ, Gao GS, Shi QM, Wu TL.



- Progress on bacterial biofilm. *Progress in Veterinary Medicine*, 2019, 40(9): 74–79. (in Chinese)
- [16] 邹明明, 王文骏, 马晓彬, 丁甜, 刘东红. 细菌生物被膜的研究进展. *中国食品学报*, 2017, 17(7): 156–164.  
Zou MM, Wang WJ, Ma XB, Ding T, Liu DH. Research progress on bacterial biofilm. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2017, 17(7): 156–164. (in Chinese)
- [17] Recupido F, Toscano G, Tatè R, Petala M, Caserta S, Karapantsios TD, Guido S. The role of flow in bacterial biofilm morphology and wetting properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2020, 192: 111047.
- [18] Hughes G, Webber MA. Novel approaches to the treatment of bacterial biofilm infections. *British Journal of Pharmacology*, 2017, 174(14): 2237–2246.
- [19] 丁玉梅. 黑籽南瓜对枯萎病菌侵染的应答机制及NBS类抗病基因筛选. 西南大学博士学位论文, 2019.
- [20] 郑贤惠, 汪钰鸿, 张玥涛, 张玉琴, 陆聪, 李水红. 生物被膜与环二鸟苷酸信号系统. *生命的化学*, 2020, 40(12): 2162–2169.  
Zheng XH, Wang YH, Zhang YT, Zhang YQ, Lu C, Li SH. Biofilm and c-di-GMP-mediated signaling pathway. *Chemistry of Life*, 2020, 40(12): 2162–2169. (in Chinese)
- [21] 张丙周. 副猪嗜血杆菌 *luxS*/AI-2 群体感应系统研究. 华中农业大学博士学位论文, 2020.
- [22] 王一鸣. 丁香酚抑制猪源肺炎克雷伯菌 AI-2 信号分子和 MrkD 蛋白机制研究. 吉林农业大学博士学位论文, 2019.
- [23] 羊扬. 大肠杆菌I型群体感应功能研究. 扬州大学博士学位论文, 2014.
- [24] 夏凯. 巴氏醋杆菌耐酸性分子机制的研究. 浙江工商大学博士学位论文, 2020.
- [25] 鲍燕. 金黄色葡萄球菌 Pfs 的功能性研究及金葡萄感染的靶向性治疗. 中国科学技术大学博士学位论文, 2012.
- [26] 张勇, 王瑶, 陈士云. 群体感应信号分子AI-2研究进展. *中国生物工程杂志*, 2005, 25(9): 14–18.  
Zhang Y, Wang Y, Chen SY. Advances on quorum sensing AI-2 signal molecular. *Progress in Biotechnology*, 2005, 25(9): 14–18. (in Chinese)
- [27] 肖梦圆, 武瑞赟, 谭春明, 李平兰. 群体感应系统及其抑制剂对细菌生物被膜调控的研究进展. *食品科学*, 2020, 41(13): 227–234.  
Xiao MY, Wu RY, Tan CM, Li PL. Recent advances in understanding the role of quorum sensing system and quorum sensing inhibitors in regulating bacterial biofilm formation. *Food Science*, 2020, 41(13): 227–234. (in Chinese)

(本文责编 李磊)