

## 综述

## 铁代谢体系影响抗生素杀菌作用的研究进展

冯锦芝 姚文晔 刘俊坚 薛云新 王岱\*

(分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室, 厦门大学, 厦门 361102)

**摘要:** 传统研究认为不同种类的抗生素有其各自不同的杀菌途径, 然而近年人们发现了一条抗生素杀菌的共用通路, 那就是当细菌细胞受到抗生素致死性刺激时, 呼吸链代谢异常产生大量活性氧簇 (ROS), 而铁离子对ROS介导的杀菌至关重要。本文参阅近年来国内外研究结果, 介绍了铁吸收、储存和利用有关的细菌铁代谢系统及其调控机制, 重点讨论铁离子的调控及其与抗生素介导的ROS形成的相互作用关系。对于细菌耐药机制的研究与寻找新型药物作用靶点, 探索有效控制手段和开发新药有重要意义。

**关键词:** 铁代谢; 抗生素; ROS

中图分类号: R978.1 文献标志码: A

DOI:10.13461/j.cnki.cja.005732

**Advances in bacterial iron homeostasis and antibiotics killing mechanism**

Feng Jin-zhi, Yao Wen-ye, Liu Jun-jian, Xue Yun-xin and Wang Dai

(State Key Laboratory of Molecular Vaccinology and Molecular Diagnostics, Xiamen University, Xiamen 361102)

**Abstract** Previous research suggested that different antibiotics kill bacteria via various targets or mechanisms. However, recent study indicated that a common mechanism might be shared by most bactericidal antibiotics. When bacteria suffered lethal stress by antibiotics, reactive oxygen species (ROS) was induced by abnormal respiratory chain reaction in which iron played a key role. By reviewing current research progress regarding antibiotic resistance and iron related proteins in bacteria, including the iron absorbing, storage and consumption system in bacteria, this paper will mainly discuss the possible linkage/interaction between the regulation of ferrous ion and ROS induced by antibiotics. This common bacterial killing mechanism will have a significant impact on the future research for drug-resistance, drug target screening, infection controlling and novel drug design.

**Key words** Iron homeostasis; Antibiotics; ROS

抗生素的广泛应用是医学史上的重大里程碑之一, 不仅从传染性疾病手中挽救了千百万生命, 还为外科手术等现代医学治疗手段的安全实施保驾护航。然而, 细菌对抗生素耐药性的产生与不断积累严重威胁抗生素的疗效, 如果我们不能很快扭转细菌耐药性的快速增长趋势, 我们很快就会步入无药

可用的所谓“后抗生素时代”。由于细菌死后不可再生、不再突变, 增强抗生素的杀菌效果可以快速降低细菌总量, 减少耐药突变菌产生的机会, 帮助预防和控制耐药性的产生<sup>[1]</sup>。

传统研究表明, 抗生素主要通过抑制细菌细胞壁的合成、破坏细菌细胞膜、干扰细菌蛋白质的合

收稿日期: 2015-11-10

基金项目: 国家自然科学基金(No. 81473251/ 81301474 / 31370166); 福建省自然科学基金(No. 2014J01139/2015J01345);

国家重点基础研究发展计划(973计划)前期研究专项(No. 2014CB560710)。

作者简介: 冯锦芝, 女, 生于1989年, 在读硕士研究生, 研究方向: 细菌耐药与抗生素杀菌, E-mail: yifjz@sina.com

\*通讯作者, E-mail: daiwang@xmu.edu.cn

成以及抑制细菌核酸的转录与复制来杀菌抑菌。尽管不同种类的抗生素有其各自特异的杀菌途径,但近年研究发现几大类抗生素通过ROS作用的一个共同杀菌通路:当细菌受到抗生素的致死性威胁时会产生一系列刺激信号,这些信号刺激产生能够引起细胞氧化性损伤的活性氧簇(ROS),ROS是生物体内与氧化代谢有关的含氧活性分子的总称,主要包括超氧阴离子( $O_2^{\cdot-}$ )、过氧化氢( $H_2O_2$ )、羟基自由基( $\cdot OH$ )等。ROS破坏铁硫簇释放大量游离二价铁参与Fenton反应,产生大量的羟自由基,它们会引起细胞DNA损伤、脂质过氧化、蛋白质等生物大分子的降解,最终导致细胞的死亡<sup>[2]</sup>。可见,铁硫簇的破坏、铁离子的浓度失衡是导致羟自由基生成以及细胞死亡的关键因素,而胞内铁离子浓度本身则受到细菌铁代谢系统的精密调控,这种全局调控能够确保铁吸收、储存和利用与胞外铁供应相适应,从而确保胞内游离铁离子浓度低于有害浓度。因此细菌铁代谢体系的正常运作与抗生素介导的ROS杀菌极有可能密切相关。

## 1 细菌铁代谢系统

铁,是地壳中含量第二的常见过渡金属,在生物体中具有至关重要的作用,包括作为辅基与蛋白质结合参与到生物体各个生命过程中,如:光合作用,固氮作用,呼吸作用,TCA循环,氧传递等过程。在自然界中铁存在两种常见价态,为还原态二价铁( $Fe^{2+}$ )和氧化态三价铁( $Fe^{3+}$ ),这使得铁可以通过价态转换参与电子传递链的电子传递过程。虽然铁对于几乎所有的有机体来说都是必需组分,但铁在体内的利用却因其毒性和可溶性的问题受到限制,大部分细菌能够利用多种不同的铁代谢系统来解决这些问题,使它们能够在一定范围内达到高效的铁平衡。细菌铁代谢的四大平衡策略包括:①存在能够从周围环境中高效摄取各种价态铁离子的铁转运载体;②存在胞内储铁系统,当外界铁供应不足时作为可利用的胞内铁源;③参与氧化还原压力系统的构成(比如铁诱导的活性氧簇的降解;对氧化还原引起损伤的修复);④一个全局性的铁代谢反馈调节系统,这个系统能根据铁供应控制铁相关蛋白的表达。

铁代谢调节系统是铁依赖性的,这种调控能够确保铁吸收、储存和利用与铁的可利用率相适应,最终确保胞内游离铁离子浓度低于有害浓度。细菌铁代谢系统可大致分为几个部分:铁吸收系统、铁储存系统与铁离子调控的基因表达系统。在这个系

统中,高亲和力的铁载体从胞外运输各种价态铁供给细胞利用;铁储存蛋白能够将胞内多余的铁储存以减少胞内游离二价铁;全局调控蛋白则根据外源铁供给调节胞内铁相关蛋白的表达。

### 1.1 细菌铁吸收系统

根据生长环境的不同,每个大肠埃希菌中约含有 $10^5\sim 10^6$ 个铁原子,细菌在最佳生长状态(CFU: $10^9$ )下满足生长的铁离子需求量浓度为 $10^{-7}\sim 10^{-5}$ mol/L,而三价铁离子在PH值为7的环境下的溶解度为 $10^{-17}$ mol/L,细菌会通过相应策略来协调三价铁的低溶解度与自身铁需求量间的铁浓度差值,这个系统采取的策略包括<sup>[3]</sup>:

- (1)减低外界PH值以提高三价铁的溶解度;
- (2)还原三价铁为溶解度相对高的二价铁;
- (3)利用相关三价铁螯合物作为吸收介质。

形成螯合物和还原途径是细菌利用铁的主要方法,细菌合成并分泌高效的胞外三价铁螯合物即siderophores(铁载体)以在转运前螯合铁离子。在革兰阴性菌中,在细胞间质膜电势差驱动、能量转换系统TonB-ExbB-ExbD介导下,特定的外膜受体得以利用铁载体复合物。细胞间质结合蛋白在外膜蛋白与细胞间质铁受体ATP结合蛋白簇间来回穿梭转运铁载体,以此来传递铁载体至细胞质中供胞内使用。在革兰阳性菌中,因为没有细胞外膜则不存在外膜蛋白与TonB-ExbB-ExbD系统,它们会利用另外一种结合蛋白依赖型的ABC通透酶来使铁载体进入细胞质供胞内使用<sup>[4]</sup>,这种ABC通透酶与革兰阴性菌中的ABC通透酶的不同之处在于,革兰阳性菌中的ABC通透酶缺少一个用于连接外膜的外表层脂蛋白链。

### 1.2 细菌铁储存系统

铁储存蛋白是普遍存在的能够储铁以及解毒的蛋白体,在细菌中主要存在3种铁储存蛋白:在原核生物与真核生物中同时存在的原始型铁储存蛋白Ftn(ferritin);只在细菌内存在的铁储存蛋白Bfr(bacterioferritin),与只在原核生物中存在的铁储存蛋白Dps(DNA-bind protein of starved cells)。尽管3种不同类型的铁储存蛋白在进化上属于截然不同的蛋白家族,但是它们在结构和功能上又存在许多共同之处,其中最重要的是它们都具有相似的分子结构。它们由24或12个相同或相似的亚基组成一个外形近似球状体的蛋白外壳,其内部是中空结构具有铁储存功能。二十四亚基结构组成的Ftn与Bfr(~500kDa)能够储存2000~3000个铁原子,相对而言体积较小的

十二亚基结构的Dps蛋白(~250kDa)则可以储存接近500个铁原子<sup>[5]</sup>。

铁储存蛋白接收溶解度相对较高的二价铁,并将其转化为三价铁储存在自己的中空结构中,这个氧化的步骤由其中空结构内的特殊位点催化而成。对于Ftn与Bfr来说,这个过程在每个亚基结构中央区域的“铁氧化酶中心”完成。配对的亚铁离子被氧气氧化形成oxo-bridged的双三价铁中间体。形成的三价铁离子随后会转移到铁储存蛋白中心,并根据磷酸盐的有无形成非定型的磷酸盐或水合氧化铁。在Dps中,铁氧化酶的残基是非保守序列,并且以截然不同的方式完成铁氧化过程,不产生能够损伤细胞的羟自由基<sup>[6]</sup>。既往研究表明,在许多其他物种中,铁储存蛋白相关基因缺失的会导致其对氧化应激压力敏感性增加。当处于有限的外源铁环境下时,许多细菌能够利用铁储存蛋白中存放的胞内铁帮助自身生长。

### 1.2.1 Ftn(Ferritins)

Ferritin包括的两种铁储存蛋白为FtnA和FtnB。有研究表明FtnA的主要功能是,在细菌生长的对数中后期累积大量的铁原子作为细菌内主要的胞内铁来源,以保证细菌后期生长所需。Hossein等<sup>[7]</sup>的研究表明,将大肠埃希菌 $ftnA$ 的缺陷型菌株在含有充足铁的培养基中培养至对数期后移至低铁环境,它与野生型相比存在明显的生存缺陷,并且胞内铁含量也有约50%的减少,这些实验结果说明了 $ftnA$ 在铁储存以及细菌生长过程中的重要作用。结构研究表明FtnA和FtnB中存在的A、B位点(A-site and B-site)是铁氧化还原中心,对于铁的快速氧化具有重要功能。在这个双铁氧化中心附近存在一个保守的酪氨酸位点,它可以作为单电子储存器来促进二价铁的氧化<sup>[8]</sup>。研究发现,在FtnA上存在多种铁氧化途径,他们可以使用氧气或过氧化氢作为氧化剂,当二价铁与分子氧以 $Fe(II)/O_2 \sim 3:1$ 化学计量反应时,氧气的还原产物过氧化氢会以的 $2:1 Fe(II)/H_2O_2$ 的化学计量消耗<sup>[9]</sup>。

现阶段关于FtnB的研究较少,其中在鼠伤寒沙门菌的相关研究中表明,在铁缺乏的情况下表达的FtnB的主要功能有<sup>[10]</sup>:修复含有顺乌头酸酶的铁硫簇的氧化损伤;对于鼠伤寒沙门菌的毒力至关重要。

### 1.2.2 Bfr(Bacterioferritins)

Bfr是一种血红素结合型的二十四亚基复合物,据推测Bfr可能作为合成血红素基团的胞内铁源,而

这种血红素基团正是由与 $bfrA$ 和 $bfrB$ 基因相邻的 $kat$ 基因编码的过氧化氢酶的组成部分,然而没有证据表明Bfr能直接参与氧化应激反应<sup>[11]</sup>。通常细菌中的血红素是原卟啉IX,在 $E. coli$ 中Bfr的血红素基团能够通过电子传递促进铁核心的形成,同时降低铁氧化速率<sup>[12]</sup>,但目前研究发现不含血红素的Bfr依然能发挥其储铁功能。

尽管在细菌中,Bfr比Ftn更加常见,可是关于这类铁蛋白的生理功能仍未知。大多数细菌中的 $bfr$ 基因都与编码铁硫簇中铁氧化还原蛋白的 $bfd$ 基因相关。

### 1.2.3 Dps (DNA-bind protein of starved cells)

1992年,十二亚基复合物Dps在大肠埃希菌中被首次发现,这种营养缺乏型细胞中的DNA结合蛋白能够保护暴露于严峻环境下的细胞。Dps蛋白能够结合DNA、储存胞内多余游离铁并且具有特殊的铁氧化活性。有研究表明,在生长至平台期大肠埃希菌中的Dps蛋白在受到 $\sigma^s$ 的激发后,能够与DNA非特异性结合保护其免受活性氧损伤<sup>[13]</sup>;同时也有研究表明,它更倾向于利用 $H_2O_2$ 而不是 $O_2$ 作为它的氧化剂,并且氧化产物中不含有羟自由基,这说明Dps蛋白的储铁过程不通过Fenton反应完成,所以不会产生对DNA有严重损伤的羟自由基进而保护细胞<sup>[6]</sup>,这是Dps蛋白与其他铁储存蛋白的不同之处。Arnold等<sup>[14]</sup>证明,携带二价铁的Dps蛋白会通过DNA上的电荷传递明显降低氧化剂RP对DNA的氧化损伤。

### 1.3 细菌铁调控的基因表达系统

在细菌的铁代谢系统中,存在一个广泛作用的铁调控因子 $fur$ (ferric-uptake regulator protein), $fur$ 在细菌的生长和侵染过程中起着重要作用。在缺失 $fur$ 的情况下,铁的吸收、利用的失衡都会导致胞内的游离铁离子浓度过高。细菌中大多数与铁吸收相关的基因上游都有一个保守的Fur结合位点(Fur-Box),在铁充足的条件下,Fur蛋白结合 $Fe^{2+}$ 形成二聚物后结合到Fur-Box上,从而调控相关基因的转录。Fur蛋白根据胞内铁的有效浓度来调节细菌的铁代谢<sup>[15]</sup>。

两个17kDa亚基组成的同型二聚体Fur控制着大肠埃希菌中超过90种铁相关基因的表达,根据铁供应情况,细菌会通过Fur来调节铁代谢。Troxel等<sup>[16]</sup>的研究表明在厌氧条件下,鼠伤寒沙门菌的 $fur$ 缺陷型菌株中FtnB和 $hmpA$ (黄素血红蛋白:对NO起解毒作用)的表达会下调,而且Fur对于MnSOD(胞质超氧化物歧化酶)及FeSOD的活化也至关重要。Fur会与它的协阻抑物 $Fe^{2+}$ 共同下调相关基因的转录水平,并且

在缺乏 $\text{Fe}^{2+}$ 的情况下可以解除这种负调控。在体外实验中,每个Fur的亚基都可以结合一个亚铁离子与一个其他的相关金属离子,尽管这些金属离子在体内的浓度都不足以产生生理水平上的交互反应,但Fur与金属离子的结合可以使其对DNA亲和力提高1000倍。Fur的亚基可以分成两部分,氨基端的DNA结合域与羧基端的DNA结合域,通常认为组氨酸丰富的羧基端是介导二聚作用并结合 $\text{Fe}^{2+}$ 形成共聚物的关键区域<sup>[17]</sup>。

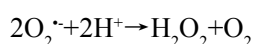
在细菌生长的对数期,Fur蛋白在每个大肠埃希菌中的表达数量能达到5000个,到了平台期这个数量还可以翻一倍<sup>[18]</sup>。Fur还有一个功能是作为亚铁离子的缓冲成分,在理想情况下,Fur对于亚铁离子的亲和力会根据生理条件下胞内游离亚铁离子水平波动而变化,以达到根据环境铁供应情况调控胞内铁吸收、储存、利用等全局调控的目的。

## 2 铁蛋白与抗生素杀菌机制之间的关联

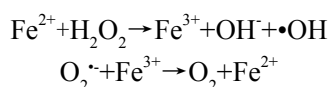
### 2.1 铁与氧化还原机制

尽管对于细菌来说保持生长期铁离子供应是十分重要的,但是保证它们的胞内铁离子水平在一个安全无毒范围下也同样重要,这样可以使胞内铁不过度地与活性氧簇发生反应。分子氧的还原态派生物是有氧新陈代谢的自然产物,而部分活性氧簇正是来源于此,超氧化物和过氧化物作为氧的单电子或双电子还原产物,一般只具备中等的生理学活性。但在过多的氧化压力刺激下或是当游离亚铁离子过多时往往会破坏这个平衡态,生成对细胞具有高度氧化压力的产物,最终造成对细胞的伤害。

铁原子大范围的氧化还原电势与易得失电子的特性使得它们具有一定的毒性。一方面分子氧经 $\text{Fe}^{2+}$ 得到一个电子还原成超氧自由基 $\text{O}_2^{\cdot-}$ ,活跃的超氧自由基能接受其他电子和两个质子形成过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ ),超氧化物和过氧化氢均是分子氧不完全还原反应的副产物,它们间的平衡是通过超氧化物歧化酶调节的。

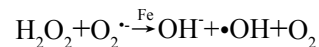


另一方面来说,亚铁离子能与过氧化氢通过fenton反应生成异常活跃同时有害的羟自由基( $\cdot\text{OH}$ ),与此同时,超氧自由基 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 将三价铁还原为二价铁。



以上产生了氢氧根、羟自由基和分子氧的反应

就是Habei-Weiss反应,这个反应只有在诸如铁等氧化还原催化剂的存在下才发生。反应式如下:



综合来说,铁离子经历了从二价铁氧化为三价铁,再由三价铁还原为二价铁的过程。在这个过程中,铁离子并非作为底物消耗而是起到电子传递的作用。分子氧接受电子后不完全反应生成一系列超氧化物与过氧化氢,同时这个反应的副产物还包括了能够攻击毒害DNA的羟自由基。

### 2.2 抗生素杀菌与氧化还原机制

传统研究认为,不同种类的抗生素有其不同的杀菌机制,其中最为重要的药物特异性杀菌机制有如下5种:①抑制细胞壁的合成。细胞壁合成的抑制会导致细菌细胞破裂死亡,以这种方式作用的抗菌药物主要是 $\beta$ -内酰胺类抗生素。②与细胞膜相互作用。一些抗菌素与细胞膜相互作用影响膜的渗透性,这对细菌具有致命的作用,以这种方式作用的抗生素有多粘菌素和短杆菌素等。③干扰蛋白质的合成。蛋白质的合成受阻意味着细胞存活所必需的酶不能被合成,干扰蛋白质合成的抗生素包括福霉素(放线菌素)类、氨基糖苷类等。④抑制核酸的转录。核酸的转录抑制主要是通过影响DNA复制当中的一些限速酶的活性来起作用的,如:利福平通过特异性抑制DNA依赖型RNA聚合酶,阻碍mRNA合成来抑菌杀菌。⑤抑制核酸的复制。如:喹诺酮类抗生素是通过抑制DNA解旋酶和DNA拓扑异构酶IV,毒化二者与DNA形成的反应中间体,在药物-酶-DNA三联复合物中累积DNA断裂,最终抑制DNA合成,释放DNA断裂双链来杀死细胞。

在Koutsolioutsou等<sup>[19]</sup>的研究中发现,SoxRS调节子的激活会引发*Salmonella*对多种抗生素的耐药性,这是最早关于氧化压力与抗生素作用的相关研究,随后也有此类研究发现抗生素作用下细胞的氧化压力水平提高。然而ROS与细胞死亡之间的直接联系并不明确,直至Collins团队<sup>[20]</sup>通过检测抗生素作用下HPF在胞内氧化水平的提高确认胞内羟自由基水平的大幅提升,同时,经过硫脲(羟自由基清除剂)、ROS清除剂、Bip(铁离子螯合剂)的处理使羟自由基水平和细胞死亡程度降低等试验,首次明确证明ROS的产生与抗生素杀菌之间的关联。同时也有其他研究证明,过氧化氢酶/过氧化物酶的缺失突变菌株对3大类抗生素造成的致死性刺激更加敏感<sup>[21]</sup>,再次证实ROS与抗生素杀菌作用之间的联系。

近年越来越多的证据表明, 不同种类抗生药的存在均可引起细菌胞内氧化压力升高, ROS过量产生, 最终导致细菌细胞死亡<sup>[22]</sup>。这些抗生素包括: 喹诺酮类抗生素(作用靶位是拓扑异构酶)、氨基糖苷类抗生素(作用靶位是核糖体)、 $\beta$ -内酰胺类(作用靶位是肽聚糖合成)。无论用革兰阴性杆菌(大肠埃希菌)和革兰阳性球菌(金黄色葡萄球菌)测试, 所有三类抗生素都能诱导细菌细胞产生大量羟自由基。正常情况下, 细胞内ROS的产生和清除是平衡的, 随着ROS的过量产生或受其它环境胁迫时, 细胞中的氧化还原平衡即偏向氧化的一边, 此种不平衡的状态就会形成氧化压力(oxidativestress)<sup>[23]</sup>。ROS处于较不稳定的状态时, 其反应活性较非自由基高, 易与其它分子发生反应, 造成细胞膜脂质过氧化、蛋白质及DNA的伤害, 其中以DNA的伤害后果最为严重。

其实, 由抗生素杀菌刺激生成的羟自由基是细胞氧化性损伤的副产物, 这一系列的过程中包括了三羧酸循环, NADH的瞬时消耗, 铁硫簇的破坏以及Fenton反应产生的大量羟自由基。在大肠埃希菌中, 若将联吡啶与硫脲共用减少胞内游离铁与羟自由基, 可以减少抗生素对细胞的伤害<sup>[24]</sup>。细菌内还存在着一些比如RecA-lexA等能够被DNA损伤反应或受阻的DNA复制激活的蛋白系统, 这些蛋白系统组成了细菌羟自由基损伤修复系统, 主要的几大类抗生素均可以通过靶向这些系统来增强自身的杀菌。由此可见, ROS杀菌是以几大类抗生素共同的氧化还原系统为靶标对细菌进行杀菌作用, 尚未有研究表明显示, 在抗生素压力下, ROS的产生与拓扑异构酶、核糖体、肽聚糖合成等抑制之间的存在特异性联系。

### 2.3 铁蛋白、氧化还原机制与抗生素杀菌

在抗生素压力作用下ROS在胞内大量累积, 细菌本身的氧化还原平衡被破坏, 产生大量超氧化物与过氧化物。过氧化氢与亚铁离子作为底物参与Fenton反应, 一旦胞内的游离铁或过氧化氢浓度过高, 则会通过促进胞内的Fenton反应大量产生能够毒害细胞的羟自由基。由于铁相关蛋白可以影响胞内游离铁水平及铁离子价态, 因此调控铁相关蛋白能够使得细胞免受潜在有毒的游离铁和游离自由基的攻击, 从而改变抗生素杀菌效力。Pellicciari<sup>[25]</sup>研究发现, 在幽门螺杆菌中, 处于高铁或氧化应激压力刺激下, Fur会通过构型的改变来调节下游相关基因的表达, 降低胞内游离铁的浓度从而减少铁介导的氧

化损伤。

细菌的促旋酶抑制剂(包括人工合成的喹诺酮类药物以及原生的蛋白毒素CcdB等)能够打破铁调节平衡, 促进对细胞有毒害作用的活性氧簇的产生, 进而利用胞内铁离子与铁氧化还原反应生成能够引发细胞死亡的羟自由基。当细菌在高铁环境下生长时, 细菌对氧化还原剂表现出的更高敏感性; 同样的, 大肠埃希菌超氧化物歧化酶突变菌株造成的损伤也可以通过提高胞内铁螯合剂浓度来弥补。铁负调节蛋白相关基因*fur*的敲除也会提高细菌对氧化剂的敏感性, 并且通过铁螯合剂, *tonB*基因突变或是过表达铁储存蛋白FtnA来阻止胞内游离铁离子浓度的上调时, 细菌对氧化剂的敏感性回复至原来的水平<sup>[26]</sup>。大肠埃希菌的*fur*突变菌株对于氧化应激反应的超敏性状也可能是胞内游离铁离子浓度升高导致的直接结果, 而回补突变则说明胞内的游离铁离子浓度与胞内的氧化还原反应直接相关。

在一种对氧化损伤有较强的耐受性脆弱拟杆菌的研究中发现, 当环境氧气或铁浓度升高时这种菌*bfr*的mRNA水平升高, 而在*bfr*的缺陷型中, 脆弱拟杆菌会表现出明显的氧化耐受能力下降<sup>[27]</sup>。Pandey等<sup>[28]</sup>的研究表明, 由结核分枝杆菌*bfrB*基因缺陷导致的胞内铁失衡会使其在宿主内的存活率下降, 并且表现出对抗生素的超敏性状。另外, 在研究中发现FtnA在*C. Jejuni*和*H. Pylori*中也存在储铁功能, 并对氧化还原压力具有一定解毒作用。也有报道指出, 在氧化还原压力下, FtnA可以清除受损的铁硫簇所产生的游离铁, 并且促进在正常生理条件下分裂的铁硫簇的重新形成, 从而减少羟基自由基的产生<sup>[29]</sup>。在其它微生物中也存在类似现象, 解脲支原体储铁蛋白uuferritin可以通过铁氧化功能减少Fenton反应产生的羟自由基<sup>[30]</sup>。

特定的抗生素基于其各自的杀菌特性也对氧化还原通路有不同的影响。喹诺酮类抗生素杀灭大肠埃希菌时, 诱导氧自由基的形成, 使细菌死亡<sup>[31]</sup>。含氧自由基的过氧化物可通过歧化反应生成过氧化氢, 而过氧化氢在 $Fe^{2+}$ 作用下通过Fenton反应再转变为羟自由基, 生成的羟自由基能够损伤蛋白质、DNA和脂类等物质, 促使细菌死亡<sup>[21]</sup>。有研究发现, 加入铁螯合剂后, 杀菌类抗生素(氨苄西林、卡那霉素和诺氟沙星)的杀菌效力降低, 细菌中羟自由基也减少, 而抑菌类抗生素(氯霉素、壮观霉素、四环素、利福平和红霉素)的抑制效果和羟基自由基

生成水平没有变化。而影响这些抗生素杀菌作用的铁主要来源于细菌胞内的铁，和外源铁关系不大。可见，在ROS形成过程中铁离子起到重要作用，它参与由超氧阴离子到过氧化氢再到羟自由基的催化反应，而过多的羟自由基能够损伤细胞，因此，过多的铁离子往往对细胞具有毒性。一项在*Pseudomonas putida*中的研究发现，三价铁的还原酶可以通过Fenton反应加速抗生素介导的细胞死亡，还原态NADH水平的调整与铁离子螯合剂的使用都会影响抗生素的杀菌效果，敲除三价铁还原酶的菌株可以表现出更高的耐药性，而过表达这个基因则可以增强抗生素介导的杀菌

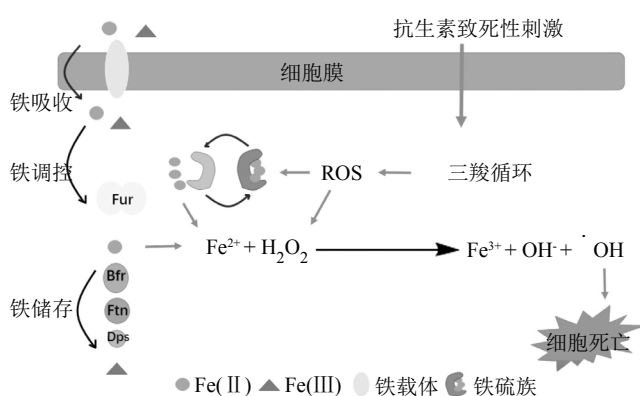


图1 铁代谢体系与抗生素ROS杀菌通路相互作用示意图

Fig. 1 Bacterial iron homeostasis and antibiotics ROS killing mechanism

作用，以上都可以说明铁平衡对抗生素作用下的ROS杀菌作用有重要影响<sup>[32]</sup>(图1)。

### 3 展望

虽然根据以往报道，铁相关蛋白的缺失对抗生素杀菌效果有一定影响，但基于细菌铁平衡系统的复杂性，细菌铁蛋白体系如何影响抗生素杀菌及细菌胞内的氧化还原反应相关机制并不明确。然而，鉴于铁离子在细菌代谢、氧化还原呼吸链及电子传递中始终发挥着至关重要的作用，寻找合适的细菌铁相关蛋白作为有应用前景的抗生素增强剂作用靶点有很强的实际意义。

致谢：感谢厦门大学分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室提供的研究平台，感谢厦门大学公共卫生学院病原微生物与抗感染治疗课题组全体成员提供的帮助！

### 参考文献

[1] 冯晶晶, 王小万, 靖瑞峰. 控制抗生素滥用的国际经验及

启示[J]. 中国抗生素杂志, 2014, 39(1): 14-18.

- [2] Zhao X, Drlica K. Reactive oxygen species and the bacterial response to lethal stress[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2014, 21: 1-6.
- [3] Andrews S C, Robinson A K, Rodríguez-Quñones F. Bacterial iron homeostasis[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2003, 27(2-3): 215-237.
- [4] Koster W. ABC transporter-mediated uptake of iron, siderophores, heme and vitamin B12[J]. *Res Microbiol*, 2001, 152(3-4): 291-301.
- [5] Andrews S C. Iron storage in bacteria[J]. *Adv Microb Physiol*, 1998, 40: 281-351.
- [6] Zhao G, Ceci P, Ilari A, et al. Iron and hydrogen peroxide detoxification properties of DNA-binding protein from starved cells. A ferritin-like DNA-binding protein of *Escherichia coli*[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(31): 27689-27696.
- [7] Abdul-tehrani H, Hudson A J, Hudson A J. Ferritin mutants of *Escherichia coli* are iron deficient[J]. *J Bacteriology*, 1999, 181(5): 1415-1428.
- [8] Ebrahimi K H, Hagedoorn P L, Hagen W R. A conserved tyrosine in ferritin is a molecular capacitor[J]. *Chembiochem*, 2013, 14(9): 1123-1133.
- [9] Bou-Abdallah F, Yang H, Awomolo A, et al. Functionality of the three-site ferroxidase center of *Escherichia coli* bacterial ferritin (EcFtnA)[J]. *Biochemistry*, 2014, 53(3): 483-495.
- [10] Velayudhan J, Castor M, Richardson A, et al. The role of ferritins in the physiology of *Salmonella enterica* sv. Typhimurium: a unique role for ferritin B in iron-sulphur cluster repair and virulence[J]. *Mol Microbiol*, 2007, 63(5): 1495-1507.
- [11] Ma J F, Ochsner U A, Klotz M G, et al. Bacterioferritin A modulates catalase A (KatA) activity and resistance to hydrogen peroxide in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *J Bacteriol*, 1999, 181(12): 3730-3742.
- [12] Wong S G, Abdulqadir R, Le Brun N E, et al. Fe-haem bound to *Escherichia coli* bacterioferritin accelerates iron core formation by an electron transfer mechanism[J]. *Biochem J*, 2012, 444(3): 553-560.
- [13] Almiron M, Link A J, Furlong D, et al. A novel DNA-binding protein with regulatory and protective roles in starved *Escherichia coli*[J]. *Genes Dev*, 1992, 6(12B): 2646-2654.
- [14] Arnold A R, Barton J K. DNA protection by the bacterial ferritin Dps via DNA charge transport[J]. *J Am Chem Soc*,

- 2013, 135(42): 15726-15729.
- [15] Bagg A, Neilands J B. Ferric uptake regulation protein acts as a repressor, employing iron (II) as a cofactor to bind the operator of an iron transport operon in *Escherichia coli*[J]. *Biochemistry*, 1987, 26(17): 5471-5477.
- [16] Troxell B, Fink R C, Porwollik S, *et al.* The Fur regulon in anaerobically grown *Salmonella enterica* sv. *typhimurium*: identification of new Fur targets[J]. *BMC Microbiol*, 2011, 11: 236.
- [17] Stojiljkovic I, Hantke K. Functional domains of the *Escherichia coli* ferric uptake regulator protein (Fur)[J]. *Mol Gen Genet*, 1995, 247(2): 199-205.
- [18] Zheng M, Doan B, Schneider T D, *et al.* OxyR and SoxRS regulation of fur[J]. *J Bacteriol*, 1999, 181(15): 4639-4643.
- [19] Koutsolioutsou A, Martins E A, White D G, *et al.* A soxRS-constitutive mutation contributing to antibiotic resistance in a clinical isolate of *Salmonella enterica*(*Serovar typhimurium*)[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001, 45(1): 38-43.
- [20] Kohanski M A, Dwyer D J, Hayete B, *et al.* A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics[J]. *Cell*, 2007, 130(5): 797-810.
- [21] Wang X, Zhao X. Contribution of oxidative damage to antimicrobial lethality[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(4): 1395-1402.
- [22] Mosel M, Li L P, Drlica K, *et al.* Superoxide-mediated protection of *Escherichia coli* from antimicrobials[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(11): 5755-5759.
- [23] 张亚妮, 段康民. 活性氧在细菌耐抗生素机制中的作用[J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(9): 1129-1131.
- [24] Liu Y, Liu X, Qu Y, *et al.* Inhibitors of reactive oxygen species accumulation delay and/or reduce the lethality of several antistaphylococcal agents[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(11): 6048-6050.
- [25] Pellicciari S, Vannini A, Roncarati D, *et al.* The allosteric behavior of Fur mediates oxidative stress signal transduction in *Helicobacter pylori*[J]. *Front Microbiol*, 2015, 6: 840.
- [26] Touati D, Jacques M, Tardat B, *et al.* Lethal oxidative damage and mutagenesis are generated by iron in delta fur mutants of *Escherichia coli*: protective role of superoxide dismutase[J]. *J Bacteriol*, 1995, 177(9): 2305-2314.
- [27] Gauss G H, Reott M A, Rocha E R, *et al.* Characterization of the *Bacteroides fragilis* bfr gene product identifies a bacterial DPS-like protein and suggests evolutionary links in the ferritin superfamily[J]. *J Bacteriol*, 2012, 194(1): 15-27.
- [28] Pandey R, Rodriguez G M. A ferritin mutant of *Mycobacterium tuberculosis* is highly susceptible to killing by antibiotics and is unable to establish a chronic infection in mice[J]. *Infect Immun*, 2012, 80(10): 3650-3659.
- [29] Bitoun J P, Wu G, Ding H. *Escherichia coli* FtnA acts as an iron buffer for re-assembly of iron-sulfur clusters in response to hydrogen peroxide stress[J]. *Biometals*, 2008, 21(6): 693-703.
- [30] Dai G, Li R, Chen H, *et al.* A ferritin-like protein with antioxidant activity in *Ureaplasma urealyticum*[J]. *BMC Microbiol*, 2015, 15: 145.
- [31] 龙泉鑫, 何颖, 谢建平. 喹诺酮类药物作用的生理和遗传的分子机制[J]. *药学报*, 2012, 47(8): 969-977.
- [32] Yeom J, Imlay J A, Park W. Iron homeostasis affects antibiotic-mediated cell death in *Pseudomonas* species[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(29): 22689-22695.