

文章编号: 1674-5566(2023)03-0660-09

DOI:10.12024/jsou.20220203728

副溶血性弧菌Ⅲ型分泌系统与Ⅵ型分泌系统的研究进展

刘海泉^{1,2,3,4}, 江春铃¹, 赵伟¹, 钱江¹, 潘迎捷^{1,2,3,4}, 胡金庆^{5,6},
赵勇^{1,2,3,4}

(1. 上海海洋大学 食品学院, 上海 201306; 2. 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306; 3. 农业农村部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室, 上海 201306; 4. 上海海洋大学 食品产业链生态循环研究所, 上海 201306; 5. 上海海洋大学 海洋科学学院, 上海 201306; 6. 长岛自然资源局, 山东 烟台 265800)

摘要: 副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, VP)是一种常见的革兰氏阴性细菌, 主要分布在海洋、海口和河口沉积物中, 能够引起人急性肠胃炎、伤口感染和败血症, 同时危害水产品养殖业。由该菌引起的食物中毒事件在全世界范围内频繁发生, 该菌被认为是微生物性食物中毒的主要病原菌之一。影响副溶血性弧菌致病性的毒力因素包括溶血素、黏附因子、分泌系统等, 尤其在分泌系统中, Ⅲ型分泌系统(Type III secretion systems, T3SS)和Ⅵ型分泌系统(T6SS)与副溶血性弧菌致病性密切相关。T3SS 是一种多亚基针状结构, 将分泌蛋白通过供体细胞质直接注入受体细胞质; T6SS 是一种接触依赖性蛋白分泌装置, 将毒素直接注入目标细胞内。通过对Ⅲ型分泌系统和Ⅵ型分泌系统的研究进展进行梳理, 从这两种分泌系统的结构出发, 并对其功能和调控机制分别进行分析比较, 指出了二者在效应蛋白及产生毒素上的不同, 找出了二者与副溶血性弧菌定植的关系, 以期通过这两者的联系进而深入了解副溶血性弧菌的致病机制, 为防治该菌提供科学指导。

关键词: Ⅲ型分泌系统; Ⅵ型分泌系统; 副溶血性弧菌; 致病性

中图分类号: Q 932 **文献标志码:** A

副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, VP)是一种无荚膜、无孢子、有鞭毛的嗜盐嗜碱性革兰氏阴性杆菌, 常见于温暖气候条件下的海洋和河口环境中^[1], 能够引起恶心、腹痛或呕吐为主要症状的急性肠炎, 严重情况下可能会出现脱水、休克、嗜睡现象甚至死亡, 还会引起败血症^[1-2]。副溶血性弧菌对食品尤其是水产品的污染严重危害着全世界的健康与安全。据估计, 每年全世界有 6 亿人(几乎每 10 人中就有 1 人)因食用受污染的食品而患病, 并有 42 万人死亡^[3]。目前, 副溶血性弧菌引起的食物中毒事件在世界范围内普遍存在: 在韩国, 该菌株导致的与海鲜相关的细菌感染的发生率最高^[4-6]; 在美国和欧洲, 最常见的引起人类疾病的弧菌也是副溶血性弧菌且感染率逐年上升^[7]; 在中国, 年均由副溶血性

弧菌所引起的急性腹泻约 665.5 万人, 而引起的急性肠胃炎约 720 万人^[8-9], 由副溶血性弧菌引起的食物中毒病例数量与沙门氏菌引起的病例数日趋接近。

研究^[10-11]表明, 副溶血性弧菌在感染过程中主要利用多种毒力因素(图 1, 改自 SMYTH^[12]), 包括黏附素、溶血毒素、Ⅲ型分泌系统(Type III secretion systems, T3SS)和Ⅵ型分泌系统(T6SS)等, 在动物或人体中产生肠毒性^[13]。副溶血性弧菌引起肠胃炎的主要原因是耐热直接溶血毒素(Thermostable direct hemolysin, TDH)和耐热直接溶血相关毒素(TDH-related hemolysin, TRH)。除此以外, 作为与副溶血性弧菌致病性密切相关的因素, Ⅲ型分泌系统和Ⅵ型分泌系统也发挥着重要的作用, 会导致严重的临床症状^[14-15]。

收稿日期: 2022-02-22 修回日期: 2022-08-25

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31671779, 31972188); 国家重点研发计划(2018YFC1602205); 上海市科学技术委员会上海市“科技创新行动计划”农业领域项目(19391901600); 上海市科技兴农项目(沪农科推字[2017]第 4-4 号); 上海市教育委员会科研创新计划(2017-01-07-00-10-E00056)

作者简介: 刘海泉(1980—), 男, 博士, 研究方向为食品微生物。E-mail: hqliu@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

Ⅲ型分泌系统是一种蛋白质复合物,可通过分泌蛋白和毒素进入宿主细胞,感染宿主细胞形成原生质体,发生皱缩,从而导致细胞裂解,释放胞内物质;细胞内被裂解的蛋白质如若被细菌利用,释放的炎性物质可促进机体产生非特异性免

疫反应,从而杀灭细胞^[16]。Ⅵ型分泌系统是一种多分子聚合物,通过细菌与真核靶细胞的接触来传递效应蛋白,导致细胞生长抑制和死亡,并参与多种细菌相互作用和竞争性遗传^[17]。

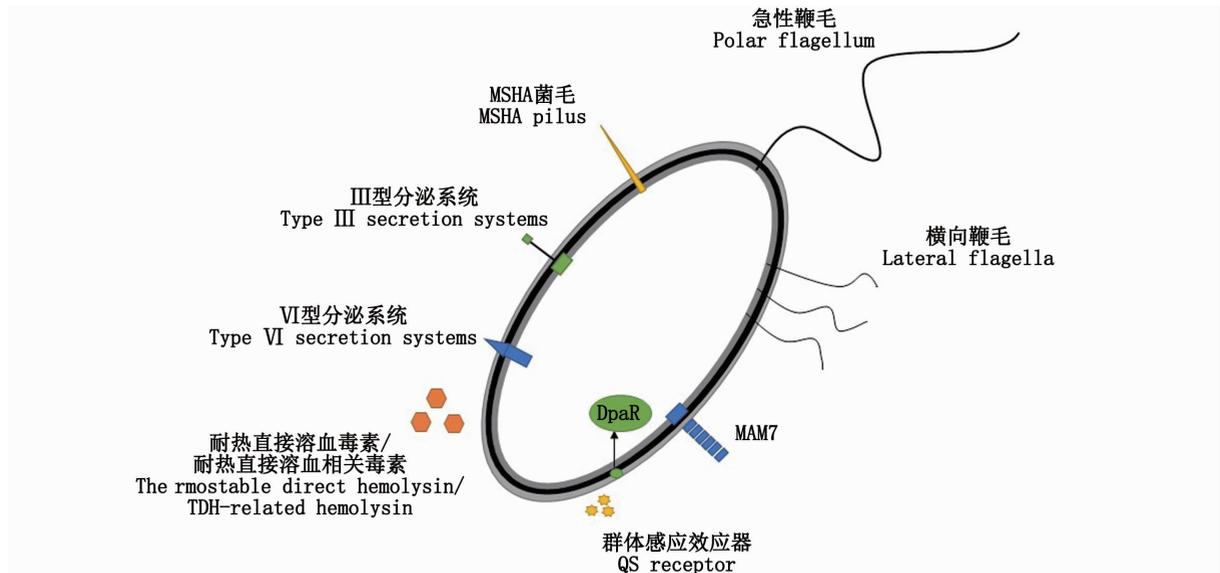


图1 副溶血性弧菌的毒力因子

Fig. 1 Virulence factor of *Vibrio parahaemolyticus*

1 副溶血性弧菌的分泌系统

到目前为止,在革兰氏阴性菌中发现了9种分泌系统(表1),根据外膜分泌机制,称为I型分泌系统(T1SS)至IX型分泌系统(T9SS)^[18],其中,较常见的为I~VII型分泌系统。从释放效应物

的方式看,分泌系统的分泌机制可以分为一步分泌机制(One-step secretion mechanism)和两步分泌机制(Two-step secretion mechanism)。T3SS和T6SS皆属于一步分泌机制,它们通过直接靶向宿主细胞来诱导宿主感染^[19]。

表1 副溶血性弧菌中不同类型的分泌系统概述

Tab. 1 Introduction of the different types of secretory systems in *Vibrio parahaemolyticus*

分泌系统 Secretory system	分泌信号位置 Secretory signal location	类别 Category	功能 Function	参考文献 References
I型分泌系统 T1SS	C端	一步分泌系统	主要分泌毒素、细菌素、脂肪酶、蛋白酶、细胞表面蛋白和血红素结合蛋白	[20]
II型分泌系统 T2SS	N端	两步分泌系统	首先内膜的Sec和Tat系统将蛋白转移到宿主细胞,然后由T2SS外膜蛋白将其转移到细胞外膜	[21]
III型分泌系统 T3SS	N端	一步分泌系统	分泌的蛋白从供体细胞质直接注入受体细胞质	[22]
IV型分泌系统 T4SS	C端	一步分泌系统	用于细菌的结合机制,主要是DNA-DNA蛋白复合物和一些有效蛋白的转移,诱导基因水平转移	[23-24]
V型分泌系统 T5SS	N端	两步分泌系统	首先细胞内膜通过Sec系统输送到细胞质,然后在外膜分泌蛋白的C端形成 β -筒状通道,输送到细胞外	[25]
VI型分泌系统 T6SS	未报道	一步分泌系统	它可以促进细菌与真核生物的合作与竞争,还可以实现细菌进化等许多潜在功能	
VII型分泌系统 T7SS	N端	两步分泌系统	与基因组岛相关	[26-27]
VIII型分泌系统 T8SS	N端	两步分泌系统	未见报道	[28]
IX型分泌系统 T9SS	N端	两步分泌系统	未见报道	[28]

1.1 副溶血性弧菌Ⅲ型分泌系统

T3SS 最早是在致病性耶尔森氏菌 (*Yersinia* spp.) 中发现的^[29-30]。副溶血弧菌 T3SS 是 1 种类似于注射器的多组件设备 (图 2, 改自 HOTINGERB 等^[31]、MARLOVITS 等^[32] 和 SHAULOV 等^[33])。它由 20 多种不同的蛋白质组成, 大部分位于细胞内膜上, 形成 1 个易位蛋白、碱基、细胞外针和尖端的复合体^[31], 分泌的蛋白质可以从供体细胞质直接注入受体细胞质, 其中有 10 个蛋白质基因是由革兰氏阳性 (G+) 和革兰氏阴性 (G-) 两种基因编辑而成^[22, 29-30]。

TAGOMORI 等^[34] 于 2002 年完成了副溶血性弧菌的第一次全基因组测序, 绝大多数副溶血性弧菌包括大 (chr I) 和小 (chr II) 两条染色体, 每条染色体的毒性遗传因子编码一组 T3SS, 即 T3SS1 和 T3SS2^[2, 16]。在几乎所有已测序的副溶血性弧菌临床或环境分离株中都能发现 T3SS1, 而 T3SS2 的流行仅限于致病菌株^[27], T3SS2 在副溶血性弧菌致人腹泻方面起着至关重要的作用^[35]。

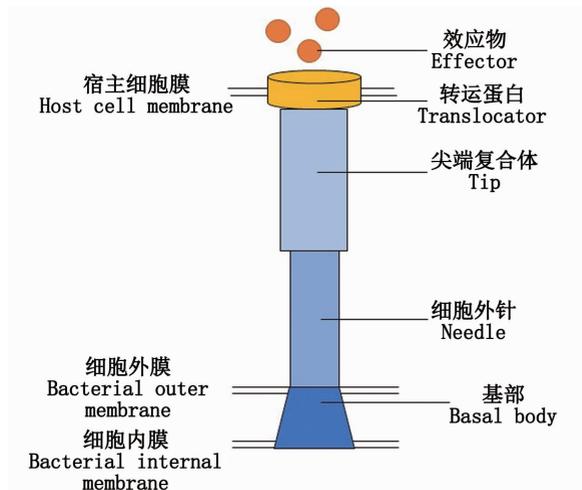


图 2 T3SS 的结构

Fig. 2 Structure of the T3SS

研究表明, 两种Ⅲ型分泌系统 T3SS1 和 T3SS2 具有不同生物学特性和细胞致病性 (表 2)。T3SS2 已被证明有助于细菌内化到非吞噬细胞中, 并入侵肠道黏膜, 另外对肠毒性和液体积聚有重要作用^[36]。

表 2 T3SS1 和 T3SS2 对副溶血弧菌影响的差异

Tab. 2 Difference in the effect of T3SS1 and T3SS2 on *Vibrio parahaemolyticus*

Ⅲ型分泌系统 Type III secretion systems	分布 Distribution	功能 Function	参考文献 References
T3SS1	普遍存在	1. 主要影响细菌生物膜的形成、细菌运动和细胞毒性; 2. 有助于副溶血弧菌在环境中生存	[37-38]
T3SS2	仅限于病原菌	1. 不影响生物膜的形成和运动等生物学特性; 2. 参与细菌炎症的负调控, 还具有一定的细胞毒性; 3. 有利于免疫细菌从宿主体内逃逸	

1.2 副溶血性弧菌Ⅵ型分泌系统

T6SS 是在霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*) 和铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*) 中首次发现的, 其在病原菌的繁殖和诱导细菌黏附到宿主细胞中起重要作用。T6SS 具有倒置的 T4 细胞结构, 包埋于细胞膜中^[39] (图 3, 改自 FAIRHURST 等^[40] 和孔天翔等^[41]), 该结构包含跨膜复合体、基板、噬菌体鞘、尾管和基板等^[42]。TssJ 是一种脂肪蛋白, 能在半胱氨酸纤维素的作用下锚定在细胞外膜上^[39, 44]; TssM 的外周区与 TssJ 相互作用^[43]; TssL-TssM-TssJ 之间相互作用形成复合体从而形成细胞外通道。

在众多病原体中, 与其他分泌系统相比Ⅵ型分泌系统相对保守, 分泌的蛋白质数量较少。在Ⅵ型分泌系统中, 溶血素调节蛋白 (hemolysin

coregulated protein, Hcp) 和缬氨酸-甘氨酸重复 G 蛋白 (valine-glycine repeat protein G, VgrG) 起着重要作用^[28]。Hcp 在 T4 尾管中聚集成 1 个六聚体环状结构, 是传递蛋白质的通道^[45]; VgrG 是 1 个三聚体结构, 能够在 Hcp 管道末端形成细胞穿刺结构, 从而可以从 Hcp 管推入靶细胞^[46]。TssB 和 TssC 包围在 Hcp 的外侧, 形成内管/外鞘复合体结构。脯氨酸-丙氨酸-丙氨酸-精氨酸 (PAAR) 位于 Vgr 顶部, 形成顶端穿刺结构, PAAR 与 VgrG 的相互作用使整个器件更加稳定^[42]。

T6SS 在 37 °C 下不起作用, 主要取决于除分泌蛋白外的其他毒力因素^[47-48]。另外, T6SS 也存在两套编码基因, T6SS1 仅在副溶血弧菌的临床分离株中发现, 而在临床和环境分离株中均发现 T6SS2^[49]。

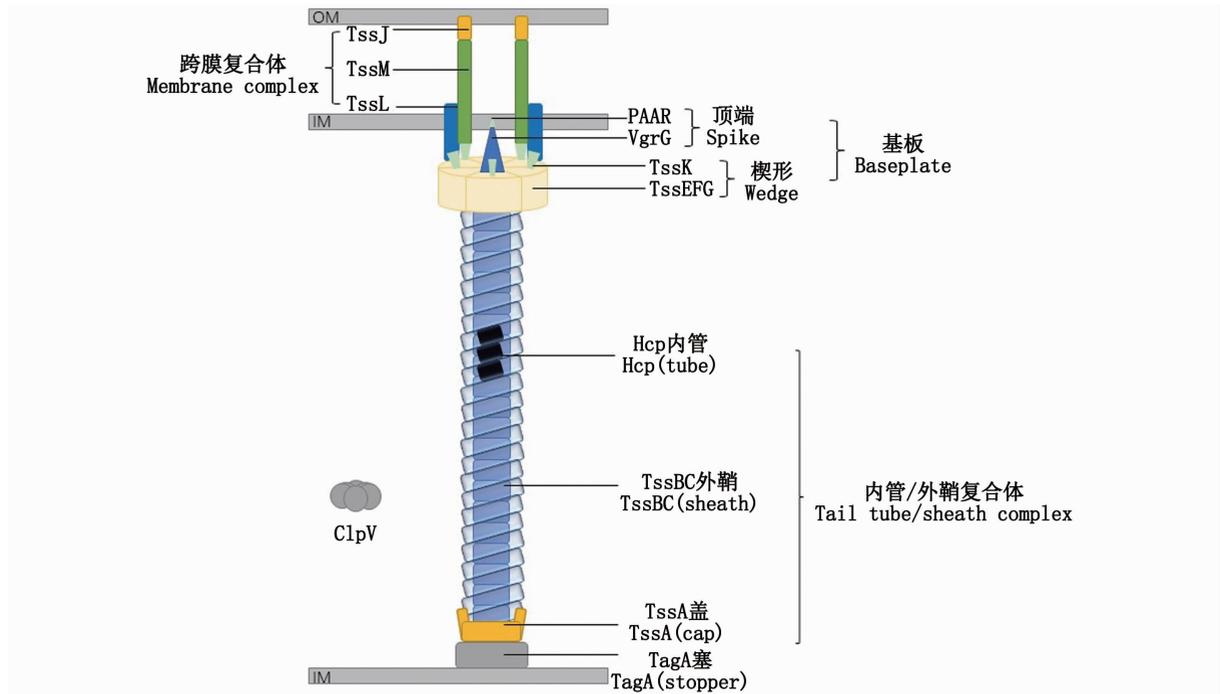


图3 T6SS 的结构

Fig.3 Structure of the T6SS

2 副溶血性弧菌Ⅲ型分泌系统与Ⅵ型分泌系统的比较

2.1 T3SS 与 T6SS 的结构与功能对比

副溶血性弧菌 T3SS 和 T6SS 皆能帮助副溶血性弧菌在动物体内定植并发挥细胞毒性。其结构不同在于:T3SS 是一种多亚基针状结构,分泌的蛋白从供体细胞质直接注入受体细胞质^[50]; T6SS 是一种接触依赖性蛋白分泌装置,利用 T6SS 收缩性鞘将致命剂量的毒素直接注入目标细胞内。简单地说,T3SS 是直接细菌效应物送入受感染的宿主细胞胞浆中,而 T6SS 将致命毒素注射到目标细胞中,通过破坏肌动蛋白细胞骨架或诱导宿主免疫细胞内的细胞死亡来避免吞噬作用,从而间接阻碍宿主细胞功能。

在发挥细胞毒性功能方面,T3SS 通过毒力蛋白促进感染,而 T6SS 通过两种毒素机制传递。首先,VgrG 作为效应蛋白能直接进入靶细胞,其次是小分子的毒力蛋白通过 Hcp 内管传递到靶细胞^[51]。T6SS 不仅对真核和原核细胞有毒性作用,而且参与细菌生物膜的形成过程,具有增强生物膜形成的特性,正确认识自我是细菌功能活

动的前提,基于 T6SS 具有识别非己的功能,其能分泌效应蛋白来作用于不同的细菌和真核宿主细胞^[42]。

T6SS 通常参与和细菌毒力相关的多个过程,将蛋白质转运到环境中,直接转运到宿主细胞中,或者通过杀死周围的竞争者而发挥抗菌作用,主要是通过释放效应因子来实现的。对于副溶血性弧菌来说,不同的靶细胞是由不同的效应因子来影响作用的。当靶向细胞壁时,主要通过降解肽聚糖来实现;当靶向核酸时,实质上是发挥核酸酶活性,通过降解 RNA 分子或者切割特定核苷酸序列上的磷酸二酯键来水解 DNA,从而导致细菌生长被抑制甚至死亡;当靶向细胞膜时,Ⅵ型脂肪酶(磷脂酶)通过水解细胞膜主要脂质成分磷脂酰乙醇胺来破坏细胞膜,从而发挥抗菌活性,甚至有些效应蛋白可以以穿孔的方式破坏细胞膜;当靶向特定细胞分子时,一般影响细胞代谢从而发挥毒性作用;当抗真核细胞时,通过介导细菌与真核宿主之间的相互作用而引发感染或导致疾病^[52]。从 T3SS 与 T6SS 在细胞毒性功能上的不同可知二者的效应物有所不同。T3SS 分泌的所有蛋白都被认为是效应蛋白,通过

T3SS 分泌到宿主细胞中,引起宿主疾病;而 T6SS 是通过两种毒素传递,其效应物主要是宿主细胞中的靶细胞及其效应因子。

目前研究发现,影响 T3SS1 主要有 4 种效应物,包括 VopQ、VopR、VopS 和 VPA0450;T3SS2 效应蛋白主要有 8 种,分别是 VopV、VopL、VopC、VopO、VopA/P、VopT、VopZ 和 VPA1380。T3SS1 分泌的效应蛋白主要通过细胞自噬、变圆和裂解等过程发挥其毒性,而 T3SS2 的效应蛋白主要破坏细胞骨架,控制细胞信号进入肠道,从而发挥毒性^[2]。

2.2 T3SS 与 T6SS 的调控机制对比

副溶血性弧菌的调控因子有很多,例如 *exsC*、*exsD*、*aphA*、*opaR*、*toxR* 和 *calR* 等^[53]。就 T3SS 而言,*aphA* 激活 *exsC*、*exsB* 和 *exsD* 基因从而促进 T3SS1 的转录,促进宿主细胞的分裂;*OpaR* 抑制 *exsC*、*exsB* 和 *exsD* 基因的转录,从而抑制 T3SS1 转录并抑制细菌对宿主细胞的毒性^[54],其中 *aphA* 和 *opaR* 与 *exsB* 基因启动子序列结合,能直接调控 *exsB* 基因的表达,间接影响 *exsC* 和 *exsD* 的表达。当细菌密度较低时,*aphA* 能促进 T3SS1 表达,从而感染微生物;当细菌密度较高时,*opaR* 能抑制 T3SS1 表达,减少对宿主细胞的致病力,将细菌从宿主体内排出,增强细菌的传播。转录调节因子 *calR* 与跨膜调节蛋白 *toxR* 也能抑制 T3SS1 的表达。*toxR* 与 *aphA* 和 *opaR* 联合应用可以抑制 T6SS1 的表达^[55];除此以外,*opaR* 蛋白促进 T6SS2 的表达,而 *aphA* 抑制 T6SS2 的表达^[56]。

群体感应(Quorum sensing, QS)也影响 *toxR* 与 *aphA* 和 *opaR* 的表达^[57]。群体感应也称为密度感应。QS 在低细胞密度时抑制 T6SS 激活,在高细胞密度时促进 T6SS 激活^[17];QS 负向调控 T6SS1,而正向调控 T6SS2。

另外,H-NS 是一种核结构蛋白,对副溶血性弧菌的主要毒力位点(T3SS1, *Vp-PAI*, T6SS2)有直接的负向调节作用。环鸟苷二磷酸(c-di-GMP)是广泛存在于细菌生物体内的第二大分子,在细菌生长和生物体行为之间起着重要的协调作用,在副溶血性弧菌中其与防御反应结合而发生作用。副溶血性弧菌中 c-di-GMP 浓度的降低会引起表面诱导,从而诱导 *tfoy* 激活 T6SS1,引起细菌逃逸预防反应^[58]。

对于肠道病原体来说,T3SS 的表达受到环境和宿主信号的严格控制^[59-60]。丁晓燕^[61]发现当盐度为 2.5~3.5 时,副溶血弧菌 T3SS 基因表达量最低,而 0.5、5、8 等过低或过高盐度下 T3SS 表达量显著增高;在 pH=9 的碱性环境中,T3SS 的表达显著增加;酸性环境能适度诱导 T3SS2 的表达量升高,却不足以诱导 T3SS1 的表达。研究^[1]表明,温度、盐度和细胞密度等环境信号对 T6SS 的活性和表达有一定的影响,在高盐(3)高温(37℃)条件下 T6SS1 被激活,而在盐度为 1 和 30℃条件下 T6SS2 具有抗菌活性。除了常见的调节因素外,特殊的环境因素也对 T3SS 起着调节作用,例如,胆汁不仅诱导效应子 T3SS2 的表达,而且诱导分泌器官导致宿主感染^[62]。

穆丽丽^[63]在副溶血性弧菌临床分离株和环境分离株的 T3SS 和 T6SS 基因簇中的主要基因检测中发现临床株中更多的是同时携带 T3SS 和 T6SS 结构基因的菌株,而环境菌株中多数不同时携带两种基因,这表明副溶血性弧菌中 T3SS 和 T6SS 不一定会同时表达,基于此对 T3SS 和 T6SS 起直接作用的部分调节因子做了比较(表 3)^[54-57,62]。

表 3 T3SS 和 T6SS 部分调节因子比较

Tab. 3 Comparison of partial regulatory factors between T3SS and T6SS

调节因子 Regulator	T3SS1	T6SS1	T6SS2
<i>aphA</i>	+	-	-
<i>opaR</i>	-	-	+
<i>toxR</i>	-	-	+

注: + 表示促进; - 表示抑制。

Notes: + means promotion; - means inhibition.

表 3 中 *aphA*、*opaR*、*toxR* 调节因子对 T3SS 和 T6SS 的调控方式各不相同,同一个调节因子对于不同分泌系统有促进也有抑制,甚至在一个分泌系统内不同的基因位点作用机制也不同。对于同一个分泌系统来说,*aphA* 对 T6SS1 和 T6SS2 皆起抑制作用,而 *opaR* 与 *toxR* 抑制 T6SS1 活性的同时促进 T6SS2,因此调节因子对于 T6SS 活性的表达仍需进一步研究。由于 *aphA*、*opaR*、*toxR* 对 T3SS2 的调节机制尚不清楚,无法确定这 3 个调节因子在 T3SS 中具体的作用机制。对于不同分泌系统来说,还需更多的实验和数据来论证不同情况下 T3SS 和 T6SS 的活性以

及表达情况。

3 讨论

近年来,副溶血性弧菌中的Ⅲ型分泌系统和Ⅵ型分泌系统日益受到人们的关注,对副溶血性弧菌Ⅲ型分泌系统和Ⅵ型分泌系统作用机制的研究不仅有利于我们理解副溶血性弧菌在肠道内的定植,而且对未来治疗和发展新的抗菌策略也具有重要的意义。目前科研人员主要针对副溶血性弧菌Ⅲ型分泌系统的毒力机制、效应蛋白的组成及其功能以及Ⅵ型分泌系统的毒素输送机制开展了各项研究工作,但是仍有很多问题亟待解决。基于目前研究成果,未来可以从以下方向开展研究。

(1)副溶血弧菌中的2套Ⅲ型分泌系统和Ⅵ型分泌系统自发现以来,国内外学者对其结构蛋白和分泌蛋白的组成及功能、相关调控基因等方面的研究不断深入。已知T3SS发挥作用与效应蛋白有关^[50],可从效应蛋白入手,研究分泌机制与蛋白质分泌过程的关系。这些年来,T3SS抑制剂的数量稳步增加,但它们经常在表型分析中被发现,若能从靶细胞中发现抑制剂的结合伙伴,想必在抑制剂方向上会有更大的发展。T6SS的作用途径与生物学相关靶点有关,例如宿主细胞靶点,靶细胞可与毒素特异性结合。若能将T3SS与之一同对比研究,那么对副溶血性弧菌的控制必然更加有效。

(2)研究对比发现部分调节因子对这两种分泌系统起着类似或是相反的作用,二者调节因子与效应物在单独或共同存在时,分别对分泌体系甚至是副溶血弧菌的作用机制具有差异性,对于以后研究分泌系统及其调节因子对副溶血性弧菌的作用有一定的参考价值。另外研究发现,群体感应影响生物被膜的形成,且*aph A*、*opa R*也皆与生物被膜有关,这就为未来研究生物被膜提供了一个新思路,进而可以从调节因子到分泌系统到生物被膜再到作用机制,整体把握副溶血性弧菌。

(3)研究发现T3SS具有细胞毒性和肠毒性,而T6SS在致病性和抗菌毒性方面具有双重作用,可成为急需的新型抗菌治疗的诱人靶点。此外,各种T6SS成分的表面暴露使他们成为非常适合接种疫苗的候选者,未来可在耐药问题上对

副溶血性弧菌进一步研究,以及发掘噬菌体片段用于检测和控制副溶血性弧菌。

同时,其他分泌系统也待揭示,希望未来可以通过这些答案对副溶血弧菌进一步理解与分析,研制出一种新的抗菌策略。

参考文献:

- [1] SALOMON D, GONZALEZ H, UPDEGRAFF B L, et al. *Vibrio parahaemolyticus* type VI secretion system 1 is activated in marine conditions to target bacteria, and is differentially regulated from system 2[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e61086.
- [2] 李楚楚,李伟燕,潘建义.副溶血弧菌Ⅲ型分泌系统(T3SS)效应蛋白及其对宿主细胞的操控[J].中国生物化学与分子生物学报,2017,33(3):247-251.
LI C C, LI W Y, PAN J Y. T3SS effectors and their functions in manipulating host cell in *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2017, 33(3): 247-251.
- [3] World Health Organization. Food safety[EB/OL]. (2020-4-30). <https://www.who.int/NEWS-ROOM/FACT-SHEETS/DETAIL/FOOD-SAFETY>.
- [4] SONY M, SUMITHRA T G, ANUSREE V N, et al. Antimicrobial resistance and virulence characteristics of *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi* from natural disease outbreaks of marine/estuarine fishes [J]. Aquaculture, 2021, 539: 736608.
- [5] CHIEN S C, CHANG C C, CHIEN S C. Spontaneous small bowel perforation secondary to *Vibrio parahaemolyticus* infection: a case report [J]. World Journal of Clinical Cases, 2021, 9(5): 1210-1214.
- [6] MOK J S, RYU A, KWON J Y, et al. Distribution of *Vibrio* species isolated from bivalves and bivalve culture environments along the Gyeongnam coast in Korea; virulence and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolates[J]. Food Control, 2019, 106: 106697.
- [7] LOPEZ-JOVEN C, DE BLAS I, FURONES M D, et al. Prevalences of pathogenic and non-pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in mollusks from the Spanish Mediterranean Coast[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 736.
- [8] WANG R Z, ZHONG Y F, GU X S, et al. The pathogenesis, detection, and prevention of *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 144.
- [9] 毛雪丹,胡俊峰,刘秀梅.用文献综述法估计我国食源性副溶血性弧菌病发病率[J].中华疾病控制杂志,2013,17(3):265-267.
MAO X D, HU J F, LIU X M. Study on incidence of foodborne disease caused by *Vibrio parahaemolyticus* by literature review method [J]. Chinese Journal of Disease Control & Prevention, 2013, 17(3): 265-267.

- [10] 焦辛妮, 韦贤瑞, 陈坚磊, 等. 一起副溶血性弧菌引起的食源性疾病暴发调查[J]. 实用预防医学, 2020, 27(6): 724-726.
JIAO X N, WEI X R, CHEN J L, et al. A foodborne disease outbreak caused by *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Practical Preventive Medicine, 2020, 27(6): 724-726.
- [11] 余淑军. 一起因副溶血性弧菌污染引发的食源性疾病事件流行病学调查报告[J]. 中国当代医药, 2020, 27(18): 174-178.
YU S J. An epidemiological investigation report on a foodborne disease event caused by *Vibrio parahaemolyticus* [J]. China Modern Medicine, 2020, 27(18): 174-178.
- [12] SMYTH C J. The comprehensive sourcebook of bacterial protein toxins edited by Joseph E. Alouf and Michael R. Popoff San Diego: Academic Press, 2006. 1047 pp., illustrated. \$ 199.95 (hardcover) [J]. Clinical Infectious Diseases, 2006, 43(5): 669.
- [13] BROBERG C A, CALDER T J, ORTH K. *Vibrio parahaemolyticus* cell biology and pathogenicity determinants [J]. Microbes and Infection, 2011, 13(12/13): 992-1001.
- [14] PARK K S, ONO T, ROKUDA M, et al. Cytotoxicity and enterotoxicity of the thermostable direct hemolysin-deletion mutants of *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Microbiology and Immunology, 2004, 48(4): 313-318.
- [15] LYNCH T, LIVINGSTONE S, BUENAVENTURA E, et al. *Vibrio parahaemolyticus* disruption of epithelial cell tight junctions occurs independently of toxin production [J]. Infection and Immunity, 2005, 73(3): 1275-1283.
- [16] 俞盈, 吴蓓蓓, 方维焕. 副溶血弧菌的Ⅲ型分泌系统[J]. 微生物学报, 2009, 49(7): 848-852.
YU Y, WU B B, FANG W H. Type Ⅲ secretion system of *Vibrio parahaemolyticus*-A review [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2009, 49(7): 848-852.
- [17] 袁思琪, 李倩, 毛旭虎. 细菌Ⅵ型分泌系统的调控与功能研究进展[J]. 微生物学通报, 2021, 48(2): 620-626.
YUAN S Q, LI Q, MAO X H. Advances in regulation and function of the bacterial type Ⅵ secretion system [J]. Microbiology China, 2021, 48(2): 620-626.
- [18] ABBY S S, CURY J, GUGLIELMINI J, et al. Identification of protein secretion systems in bacterial genomes [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 23080.
- [19] 于俊媛, 姜北, 张骁鹏, 等. 细菌Ⅶ型分泌系统的研究进展[J]. 微生物与感染, 2015, 10(2): 127-132.
YU J Y, JIANG B, ZHANG X P, et al. Bacterial type Ⅶ secretion system [J]. Journal of Microbes and Infections, 2015, 10(2): 127-132.
- [20] KANONENBERG K, SPITZ O, ERENBURG I N, et al. Type I secretion system: it takes three and a substrate [J]. FEMS Microbiology Letters, 2018, 365(11): fny094.
- [21] HAY I D, BELOUSOFF M J, DUNSTAN R A, et al. Structure and membrane topography of the vibrio-type secretin complex from the type 2 secretion system of Enteropathogenic *Escherichia coli* [J]. Journal of Bacteriology, 2018, 200(5): 00521-17.
- [22] KUHLEN L, ABRUSCI P, JOHNSON S, et al. Author correction: structure of the core of the type Ⅲ secretion system export apparatus [J]. Nature Structural & Molecular Biology, 2018, 25(8): 743.
- [23] FRONZES R, CHRISTIE P J, WAKSMAN G. The structural biology of type Ⅳ secretion systems [J]. Nature Reviews Microbiology, 2009, 7(10): 703-714.
- [24] CHANG Y W, SHAFFER C L, RETTBERG L A, et al. In vivo structures of the *Helicobacter pylori* cag type Ⅳ secretion system [J]. Cell Reports, 2018, 23(3): 673-681.
- [25] YUAN X J, JOHNSON M D, ZHANG J, et al. Molecular basis for the folding of β -helical autotransporter passenger domains [J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 1395.
- [26] WAGNER J M, CHAN S, EVANS T J, et al. Structures of EccB1 and EccD1 from the core complex of the mycobacterial ESX-1 type Ⅶ secretion system [J]. BMC Structural Biology, 2016, 16: 5.
- [27] 贺羽, 王帅, 尹娴婷, 等. 副溶血性弧菌毒性相关因子及其外分泌蛋白的研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(9): 340-347.
HE Y, WANG S, YIN X T, et al. Progress of virulence factors and secreted proteins in *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(9): 340-347.
- [28] 余乐正, 柳凤娟, 鄢南南, 等. 革兰阴性菌分泌系统及其分泌产物研究进展[J]. 动物医学进展, 2017, 38(8): 80-84.
YU L Z, LIU F J, YAN N N, et al. Progress on secretion systems and secretory products of gram-negative bacteria [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2017, 38(8): 80-84.
- [29] TERASHIMA H, KAWAMOTO A, TATSUMI C, et al. In vitro reconstitution of functional type Ⅲ protein export and insights into flagellar assembly [J]. mBio, 2018, 9(3): e00988-18.
- [30] ERNST N H, REEVES A Z, RAMSEYER J E, et al. High-throughput screening of type Ⅲ secretion determinants reveals a major chaperone-independent pathway [J]. mBio, 2018, 9(3): e01050-18.
- [31] HOTINGER J A, PENDERGRASS H A, MAY A E. Molecular targets and strategies for inhibition of the bacterial type Ⅲ secretion system (T3SS); Inhibitors directly binding to T3SS components [J]. Biomolecules, 2021, 11(2): 316.
- [32] MARLOVITS T C, STEBBINS C E. Type Ⅲ secretion systems shape up as they ship out [J]. Current Opinion in Microbiology, 2010, 13(1): 47-52.
- [33] SHAULOV L, GERSHBERG J, DENG W, et al. The ruler protein EscP of the Enteropathogenic *Escherichia coli* type Ⅲ secretion system is involved in calcium sensing and secretion hierarchy regulation by interacting with the gatekeeper protein SepL [J]. mBio, 2017, 8(1): e01733-16.

- [34] TAGOMORI K, HIDA T, HONDA T. Comparison of genome structures of vibrios, bacteria possessing two chromosome [J]. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(16): 4351-4358.
- [35] MATSUDA S, OKADA R, TANDHAVANANT S, et al. Export of a *Vibrio parahaemolyticus* toxin by the Sec and type Ⅲ secretion machineries in tandem [J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4(5): 781-788.
- [36] GU D, ZHANG Y B, WANG Q Y, et al. S-nitrosylation-mediated activation of a histidine kinase represses the type 3 secretion system and promotes virulence of an enteric pathogen [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 5777.
- [37] 薛娇, 廉乐乐, 李婉君, 等. 副溶血弧菌Ⅲ型分泌系统 *vscG* 基因缺失株的构建及其生物学特性[J]. *微生物学通报*, 2021, 48(6): 2101-2110.
- XUE J, LIAN L L, LI W J, et al. Construction and characterization of the *vscG* gene mutant strain of *Vibrio parahaemolyticus* type Ⅲ secretion system[J]. *Microbiology China*, 2021, 48(6): 2101-2110.
- [38] 白雪瑞, 王权, 凌娇, 等. T3SS1 和 T3SS2 影响副溶血弧菌生物学特性及细胞致病性的比较[J]. *微生物学报*, 2018, 58(3): 455-466.
- BAI X R, WANG Q, LING J, et al. Comparison of biological characteristics and cytopathogenicities between T3SS1 and T3SS2 in *Vibrio parahaemolyticus* [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, 58(3): 455-466.
- [39] SALOMON D, ORTH K. Type Ⅵ secretion system [J]. *Current Biology*, 2015, 25(7): R265-R266.
- [40] FAIRHURST R M, DONDORP A M. Artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria [J]. *Microbiology Spectrum*, 2016, 4(3): 10.1128/microbiolspec.EH10-0013-2016.
- [41] 孔天翔, 赵依昕, 杜婧, 等. 细菌六型分泌系统的研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2020, 47(12): 1273-1284.
- KONG T X, ZHAO Y X, DU J, et al. The type Ⅵ secretion system [J]. *Progress In Biochemistry and Biophysics*, 2020, 47(12): 1273-1284.
- [42] 张利娟, 叶仕根, 杨晓宇, 等. 革兰氏阴性细菌Ⅵ型分泌系统的研究进展[J]. *大连海洋大学学报*, 2015, 30(6): 692-698.
- ZHANG L J, YE S G, YANG X Y, et al. Research progress of type Ⅵ secretion system of Gram-negative bacteria [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2015, 30(6): 692-698.
- [43] FELISBERTO-RODRIGUES C, DURAND E, ASCHTGEN M S, et al. Towards a structural comprehension of bacterial type Ⅵ secretion systems: characterization of the TssJ-TssM complex of an *Escherichia coli* pathovar [J]. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(11): e1002386.
- [44] ASCHTGEN M S, BERNARD C S, DE BENTZMANN S, et al. SciN is an outer membrane lipoprotein required for type Ⅵ secretion in enteroaggregative *Escherichia coli* [J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(22): 7523-7531.
- [45] BALLISTER E R, LAI A H, ZUCKERMANN R N, et al. *In vitro* self-assembly of tailorable nanotubes from a simple protein building block [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(10): 3733-3738.
- [46] 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 of the United States of America*, 2009, 106(11): 4154-4159.
- [47] QUENTIN D, AHMAD S, SHANTHAMOORTHY P, et al. Mechanism of loading and translocation of type Ⅵ secretion system effector Tse6 [J]. *Nature Microbiology*, 2018, 3(10): 1142-1152.
- [48] CLEMENS D L, LEE B Y, HORWITZ M A. The *Francisella* type Ⅵ secretion system [J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2018, 8: 121.
- [49] SANA T G, FLAUGNATTI N, LUGO K A, et al. *Salmonella* Typhimurium utilizes a T6SS-mediated antibacterial weapon to establish in the host gut [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(34): E5044-E5051.
- [50] DENG W Y, MARSHALL N C, ROWLAND J L, et al. Assembly, structure, function and regulation of type Ⅲ secretion systems [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, 15(6): 323-337.
- [51] KAPITEIN N, MOGK A. Deadly syringes: type Ⅵ secretion system activities in pathogenicity and interbacterial competition [J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2013, 16(1): 52-58.
- [52] 刘婉洋, 权国梅, 刘家奇, 等. 革兰氏阴性菌Ⅵ型分泌系统及其参与金属离子转运的研究进展[J]. *微生物学报*, 2021, 61(11): 3377-3390.
- LIU W Y, QUAN G M, LIU J Q, et al. Advances of the Gram-negative bacterial type Ⅵ secretion system and its function for metal ion acquisition [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(11): 3377-3390.
- [53] ZHOU X H, KONKEL M E, CALL D R. Regulation of type Ⅲ secretion system 1 gene expression in *Vibrio parahaemolyticus* is dependent on interactions between ExsA, ExsC, and ExsD [J]. *Virulence*, 2010, 1(4): 260-272.
- [54] LIU A C, THOMAS N A. Transcriptional profiling of *Vibrio parahaemolyticus* *exsA* reveals a complex activation network for type Ⅲ secretion [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1089.
- [55] ZHANG Y Q, GAO H, OSEI-ADJEI G, et al. Transcriptional regulation of the type Ⅵ secretion system 1 genes by quorum sensing and ToxR in *Vibrio parahaemolyticus* [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2005.
- [56] WANG L, ZHOU D S, MAO P Y, et al. Cell density- and quorum sensing-dependent expression of type Ⅵ secretion

- system 2 in *Vibrio parahaemolyticus* [J]. PLoS One, 2013, 8 (8): e73363.
- [57] ZHANG Y Q, ZHANG L Y, HOU S N, et al. The master quorum-sensing regulator OpaR is activated indirectly by H-NS in *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Current Microbiology, 2016, 73(1): 71-76.
- [58] 李梦石, 邹清华. 细菌VI型分泌系统调节因素的研究进展[J]. 微生物学通报, 2020, 47(12): 4269-4277.
- LI M S, ZOU Q H. Research progress in the regulatory factors of the bacteria type VI secretion system [J]. Microbiology China, 2020, 47(12): 4269-4277.
- [59] ALTO N M, ORTH K. Subversion of cell signaling by pathogens [J]. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012, 4(9): a006114.
- [60] BHAVSAR A P, GUTTMAN J A, FINLAY B B. Manipulation of host-cell pathways by bacterial pathogens [J]. Nature, 2007, 449(7164): 827-834.
- [61] 丁晓燕. 环境因子对副溶血弧菌 T3SS 基因表达的影响及养殖环境细菌多样性分析[D]. 烟台: 烟台大学, 2016.
- DING X Y. Effect of environmental factors on T3SS-related protein expression of *Vibrio parahaemolyticus* and analysis of bacterial communities from turbot aquaculture system [D]. Yantai: Yantai University, 2016.
- [62] ZHANG Y Q, HU L F, OSEI-ADJEI G, et al. Autoregulation of ToxR and its regulatory actions on major virulence gene loci in *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2018, 8: 291.
- [63] 穆丽丽. VI型分泌系统在副溶血性弧菌种内竞争中的作用初探[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019.
- MU L L. Preliminary study on the role of type VI secretion system in intraspecific competition of *Vibrio parahaemolyticus* [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019.

Progress in the research of type III secretion system and type VI secretion system of *Vibrio parahaemolyticus*

LIU Haiquan^{1,2,3,4}, JIANG Chunling¹, ZHAO Wei¹, QIAN Jiang¹, PAN Yingjie^{1,2,3,4}, HU Jinqing^{5,6}, ZHAO Yong^{1,2,3,4}

(1. College of Food Sciences and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Engineering Research Center of Aquatic Product Processing & Preservation, Shanghai 201306, China; 3. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Aquatic Product on Storage and Preservation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201306, China; 4. Institute of Food Industry Chain Ecological Circulation, College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 5. College of Marine Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 6. Changdao District Bureau of Natural Resources, Yantai 265800, Shandong, China)

Abstract: *Vibrio parahaemolyticus* (VP) is a common gram-negative bacterium, mainly distributed in marine, estuary and estuarine sediments, which can cause acute gastroenteritis, wound infection and sepsis in humans, and endanger aquatic product aquaculture. Food poisoning incidents caused by this bacterium occur frequently all over the world, and this bacterium is considered to be one of the main pathogens of microbial food poisoning. The virulence factors that affect the pathogenicity of VP include hemolysin, adhesion factor, secretion system, etc., especially in the secretion systems, Type III Secretion Systems (T3SS) and Type VI Secretion Systems (T6SS). It is closely related to the pathogenicity of VP. T3SS is a multi-subunit needle-like structure that injects secreted proteins directly into the recipient cytoplasm through the donor cytoplasm; T6SS is a contact-dependent protein secretion apparatus that injects toxins directly into target cells. By sorting out the research progress of T3SS and T6SS, starting from the structure of these two secretion systems, and analyzing and comparing their functions and regulatory mechanisms, it was pointed out that the two are involved in effector proteins and regulatory mechanisms. The difference in the production of toxins, the relationship between the two and the colonization of VP were found out, in order to further understand the pathogenic mechanism of VP through the connection between the two, and provide scientific guidance for the prevention and treatment of the bacteria.

Key words: type III secretion system; type VI secretion system; *Vibrio parahaemolyticus*; pathogenicity