

- 肿瘤医学, 2009, 30(9):1678-1681.
- [5] 杨谨, 李蓉, 李昂, 等. 胃泌素释放肽前体片段 31-98 检测对小细胞肺癌的临床意义[J]. 中华肿瘤杂志, 2000, 18(3):40-42.
- [6] 康淑霞, 朱安友. 胃泌素释放肽前体实验室检测及临床应用进展[J]. 中华全科医学, 2012, 33(1):88-90.
- [7] 马可, 王欣, 于洋. 胃泌素释放肽前体对小细胞肺癌检出的诊断价值[J]. 中国实验诊断学, 2010, 31(12):2016-2017.
- [8] 丁湘或, 张宝秋, 张洁, 等. 肺癌患者血清中肿瘤标志物检测的临床意义[J]. 中华临床医师杂志:电子版, 2011, 30(16):4646-4650.
- [9] 牛继国, 呼永华, 董峰, 等. 四项肿瘤标志物在肺癌中的表达及其相关因素分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(20):2330-2333.
- [10] 龙欣, 唐荣斌, 刘永兵. 多种肿瘤标志物联合检测在肺癌诊断中的临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(1):101-102.
- [11] Lamy P J, Grenier J, Kramar A, et al. Pro-gastrin-releasing peptide, neuron specific enolase and chromogranin A as serum markers of small cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 2000, 29(3):197-203.
- [12] 杨拴盈, 张王刚, 孙秀珍, 等. 血清胃泌素释放肽前体和神经元烯醇化酶在小细胞肺癌早期诊断中的价值及其相关性[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2005, 25(3):247-249.
- [13] 陈名声, 徐焰, 刘田, 等. 胃泌素释放肽前体和神经元特异性烯醇化酶联合检测在小细胞肺癌诊断中的应用[J]. 内蒙古中医药, 2010, 28(2):1-2.
- [14] Niho S, Nishiwaki Y, Goto K, et al. Significance of serum pro-gastrin-releasing peptide as a predictor of relapse of small cell lung cancer: comparative evaluation with neuron-specific enolase and carcinoembryonic antigen[J]. Lung Cancer, 2000, 27(3):159-167.
- [15] Chen YJ, Jin WD, Yang GY, et al. The value of plasma pro-gastrin-releasing peptide, cytokeratin 19-fragments and carcinoembryonic antigen in patients with lung cancer[J]. Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi, 2011, 25(5):381-383.
- [16] 张宝秋, 丁湘或, 王雪玉, 等. 肿瘤标志物联合检测在肺癌诊断中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(4):388-390.
- [17] Stieber P. Pro-Gastrin-Releasing Peptide(ProGRP)-A Diagnostic Biomarker for Small-Cell Lung Cancer[J]. Zhongguo Fei Ai Za Zhi, 2009, 12(3):183-186.
- [18] 张苑, 张婷. 肺癌血清肿瘤标志物相关研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(12):1419-1421.
- [19] Kudo K, Ohyanagi F, Horiike A, et al. Clinicopathological findings of non-small-cell lung cancer with high serum progastrin-releasing peptide concentrations[J]. Lung Cancer, 2011, 74(3):401-404.
- [20] 牛茜, 杨爱军, 王晨昱, 等. 前胃泌素在人胃癌 BGC-823 细胞的悬浮肿瘤球中的表达[J]. 第三军医大学学报, 2011, 32(13):1396-1399.
- [21] Koide N, Hiraguri M, Kishimoto K, et al. Small cell carcinoma of the esophagus with reference to alternating multiagent chemotherapy: report of two cases[J]. Surg Today, 2003, 33(4):294-298.
- [22] 樊冬梅, 史惠蓉, 陈志敏, 等. 卵巢癌组织中胃泌素释放肽及其受体的表达[J]. 郑州大学学报(医学版), 2011, 32(4):550-553.
- [23] Nordlund MS, Warren DJ, Nustad K, et al. Automated time-resolved immunofluorometric assay for progastrin-releasing peptide[J]. Clin Chem, 2008, 54(5):919-922.
- [24] Nordlund MS, Stieber P, Brustugun OT, et al. Characteristics and clinical validity of two immunoassays for ProGRP[J]. Tumour Biol, 2012, 33(4):1105-1113.
- [25] Korse CM, Taal BG, Vincent A, et al. Choice of tumour markers in patients with neuroendocrine tumours is dependent on the histological grade. A marker study of Chromogranin A, Neuron specific enolase, Progastrin-releasing peptide and cytokeratin fragments[J]. Eur J Cancer, 2012, 48(5):662-671.

(收稿日期:2012-10-11)

• 综述 •

铜绿假单胞菌染色质介导的 AmpC β -内酰胺酶表达调控的研究进展

周丽芳 综述, 赵 虎 审核

(复旦大学附属华东医院检验科, 上海 200040)

关键词:假单胞菌, 铜绿; β 内酰胺酶类; 基因; 调控; 染色质

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.03.035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)03-0339-04

随着抗菌药物的大量应用,多重耐药菌日益增多,尤以铜绿假单胞菌严重。多重耐药的铜绿假单胞菌的产生,严重影响了临床对铜绿假单胞菌感染的控制,与之相应的铜绿假单胞菌感染的发病率和病死率也显著增加^[1]。铜绿假单胞菌的耐药机制较为复杂,既可产生超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs),又可产生 AmpC β -内酰胺酶(简称 AmpC 酶),还可通过外排泵机制将进入菌体内的抗菌药物主动排出体外,或通过改变其细胞膜的通透性,阻止抗菌药物进入菌细胞内,从而对抗菌药物产生耐药^[2]。铜绿假单胞菌产 ESBLs 和外排泵的耐药机制已有较多的研究报道,但对铜绿假单胞菌产 AmpC 酶相关的研究报道不多。本文对铜绿假单胞菌染色质介导产生的 AmpC 酶的表达调控机制的最新发现作一综述。

1 AmpC 酶的定义及分类

1.1 定义 AmpC 酶主要由肠杆菌科细菌及铜绿假单胞菌等革兰阴性杆菌的染色质或质粒编码产生,是一类主要作用于头孢菌素类抗菌药物、且不被克拉维酸抑制的“丝氨酸”头孢菌素酶,属 Bush-Jacoby-Medeiros1 群, Ambler 分子结构分类法 C 类^[3]。AmpC 酶优先选择的底物为头孢菌素类,与 ESBLs 不同的是对头霉烯类抗菌药物(如头孢西丁)高水平耐药,但并不被克拉维酸所抑制^[3]。

1.2 遗传学基础 AmpC 酶的结构基因为 ampC,其产生受 4 个调控基因 ampR、ampD、ampG 和 ampE 的调控^[4]。(1)ampR 基因,表达产生转录调控因子,即 AmpR,是一种属于 Lys 家族的调控蛋白;(2)ampD 基因,表达产生胞质酰胺酶,即 AmpD

酶；(3)ampG 基因，表达产生内膜渗透酶，即 AmpG 酶；(4) ampE 基因，表达产生一种内膜蛋白，即 AmpE 蛋白。在肠杆菌科细菌中，这 4 个调控基因的表达产物都为 AmpC 酶诱导所必需^[5]。

1.3 分类 AmpC 酶按介导方式可分为染色质介导型和质粒介导型。(1)染色质介导型 AmpC 酶：按其产生方式又可分为诱导高产型、持续高产型和持续低产型^[6]。①诱导高产型：大多数阴沟肠杆菌、铜绿假单胞菌、弗劳地枸橼酸杆菌、黏质沙雷菌及摩根摩根菌染色体上天然存在 ampC 基因，正常条件下只产生少量 AmpC 酶，而当有诱导作用的青霉素或头孢菌素等 β-内酰胺类抗菌药物存在，AmpC 酶产量明显增加 100~1 000 倍；②持续高产型：大肠埃希菌等部分产 AmpC 酶的菌株染色体上也有 ampC 基因，通过调控 ampC 基因的微弱启动子和发夹结构的衰减子的突变或 ampD 等调节基因的突变，使其在不论有无 β-内酰胺类抗菌药物存在的条件下均可高产 AmpC 酶；③持续低产型：极少部分产 AmpC 酶菌株由于缺乏 ampR 调控基因或 ampR 基因发生突变，不产生或产生有缺陷的 AmpR 蛋白，不能在有 β-内酰胺类抗菌药物存在的条件下起到激活子的作用，也不能在无 β-内酰胺类抗菌药物存在的条件下起到抑制子的作用，使 AmpC 酶持续低水平表达；(2)质粒介导型 AmpC 酶：质粒介导的 AmpC 酶底物谱、抑制谱与诱导酶相同，往往同时携带氨基糖苷类、氯霉素、四环素等药物的耐药基因，易造成多重耐药。这类 AmpC 酶往往都属于持续高产型，是临床微生物实验室检测的重点。质粒介导的 AmpC 酶主要在大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、沙门菌属和志贺菌属中被发现。

2 AmpC 酶过度表达的途径

染色质编码的 AmpC 酶的过度表达，可以通过 ampC 基因诱导，也可以通过去阻遏突变。前者是在特定的 β-内酰胺类存在的条件下进行的选择性诱导^[7]，这种诱导方式是可逆的，即在去诱导条件下，AmpC 酶的表达将恢复原型。相比之下，AmpC 的去阻遏表达是在染色质突变的条件下发生，不管是否存在诱导物，该 AmpC 酶都会持续高表达^[7]。

3 铜绿假单胞菌 AmpC 酶的表达调控

3.1 铜绿假单胞菌 AmpC 酶的诱导表达机制 铜绿假单胞菌 AmpC 酶的诱导表达和 AmpD 与 AmpR 蛋白介导的细胞壁肽聚糖循环机制密切相关^[4]。在正常情况下，细胞壁代谢产生的胞壁肽在基质中被水解，产生 N-乙酰葡萄糖胺-N-乙酰胞壁酰三肽(G-aMT)，被 AmpG 转入胞质中。G-aMT 存在两种裂解途径：(1)直接被 AmpD 分解，生成三肽；(2)被葡萄糖苷酶(Gamse)分解掉 N-乙酰葡萄糖胺，生成脱水 N-乙酰胞壁酰三肽(aMT)，再被 AmpD 分解成三肽。两种情况下产生的三肽都会与肽聚糖的前体物质 UDP-N-乙酰胞壁酸酯结合，生成乙酰胞壁酰五肽(UDP-aMP)，重新参与到细胞壁的生物合成中。aMT 对 AmpR 具有活化作用，而 UDP-aMP 对 AmpR 具有抑制作用。所以在诱导剂不存在时，UDP-aMP 使 AmpR 保持非活化的形式；在诱导剂存在时，这种非活性即被解除。ampD 发生突变或缺失时，其底物 aMT 将在胞内大量积聚，取代 UDP-aMP 与 AmpR 结合，使 AmpR 重新活化。可见 AmpC 酶的表达就是通过 aMT 和 UDP-aMP 这两种胞壁肽的相对水平调控的。然而，Dietz 等^[8]通过研究表明，AmpG 也可以将 N-乙酰葡萄糖胺-N-乙酰胞壁酰五肽(G-aMP)转运至胞内，其水解产物 N-乙酰胞壁酰五肽(aMP)取代 UDP-aMP 与 AmpR 结合，使 AmpR 由抑制子变为激活子，从而诱导 AmpC 酶的高

表达。

如前所述，AmpC 酶的诱导过程需要一种诱导性的 β-内酰胺类药物，而该类药需结合到细胞壁的青霉素结合蛋白(PBPs)上^[9]，但并不是所有的 β-内酰胺酶都有这样的诱导能力。对革兰阴性杆菌的研究表明，诱导性的 β-内酰胺类与低分子量的 PBPs(PBP4)有着较高的亲和力。对编码 PBPs 的基因进行敲除分析所得结果亦支持此观点^[10]。但是，这些研究都是在大肠埃希菌中进行的，而大肠埃希菌并不拥有天然完整的 AmpC 酶诱导系统，因此该结果用在铜绿假单胞菌中有所牵强。但新的研究表明^[11]，在铜绿假单胞菌中，非必需的低分子量的 PBP4 的缺失会伴随者 AmpC 酶表达量的增加以及 ampC 基因的部分去阻遏诱导，但是在缺乏功能性的 PBPs 中，菌株中亦有 AmpC 酶的诱导发生。笔者得出结论，PBP4 在 ampC 基因的表达中也起着不可忽视的作用，但并非诱导 ampC 基因过度表达所必需。

3.2 铜绿假单胞菌 AmpC 酶的去阻遏表达机制 对 ampC 基因启动子或对诱导途径中的任何相关蛋白的修饰都可导致 ampC 基因的去阻遏表达。在肠杆菌科中，尽管会发生 ampR 基因的突变，但 ampD 基因发生突变的概率要大得多^[12]。铜绿假单胞菌中的 AmpD 酶是 ampC 基因表达的负性调控因子，ampD 基因突变导致的 AmpD 酶中氨基酸的置换是引起 ampC 基因去阻遏表达的重要机制，其中最常见的是甘氨酸-148-丙氨酸的突变^[13]。但是，单单确定突变本身并不能充分预测这些突变对 ampC 基因表达的影响。有研究通过判断 ampD 基因突变对头孢他啶的 MIC 值的影响确定了一套评估体系^[14]，即评估 ampD 基因的突变对 AmpC 酶表达量的影响。该研究表明，除了 ampD 基因序列的改变，其他机制比如对 ampD 基因的修饰也可导致 AmpC 酶的持续高表达。然而，铜绿假单胞菌中的 ampC 基因的完全去阻遏突变并不是一步到位。Compbell 等^[15]描述了 ampC 基因的表达类型：(1)诱导后的低水平表达(野生型)；(2)诱导后的中等表达水平(部分去阻遏型)；(3)诱导后的持续高水平表达(完全去阻遏型)。但更为复杂的是，一些高表达 AmpC 酶的菌株，既不表现为 ampR 或 ampD 基因突变也不表现为 ampC 和 ampR 基因之间的结合效应区或 AmpD 蛋白量的改变。有文献作了相关报道^[16]，从部分去阻遏型的铜绿假单胞菌中挑选了显著高水平表达 AmpC 酶的突变体，该突变体缺乏一种功能性的 AmpD 蛋白，但该突变体再无其他 ampD、ampR、EBD 乃至 AmpD 蛋白量的改变。显然，在 AmpC 酶的去阻遏表达调控中，还存在着其他因素和途径。

3.3 相关调控因素对铜绿假单胞菌 AmpC 酶表达调控影响新发现 铜绿假单胞菌 AmpC 酶的过度表达主要受 ampR、ampD 和 ampG 的调控^[17]。在 AmpC 酶的表达调控中，还有 ampE 参与。虽然已有文献报道了铜绿假单胞菌 AmpC 酶表达调控中 ampE 扮演的潜在角色^[18]，但 ampE 的真正作用仍有待确定。也有学者认为 ampE 在 AmpC 酶的表达调控中不起任何作用^[18]。

3.3.1 ampR 铜绿假单胞菌中的 ampC 和 ampR 基因以及相应的基因间的区域在 1990 年第一次得到描述^[19]。这种基因组织结构亦与其他革兰阴性杆菌相同。最近有文献对此区域作了专门研究^[20]。笔者将该区域成为结合效应区(EBD)，并确定了其晶体结构。AmpR 的 EBD 是一个二维结构，每个结构单元都包含着两个亚结构域，为罗斯曼状 α-β 折叠形式。

在亚结构域之间存在一个小囊,用于结合结晶化缓冲分子 2-吗啉乙基磺酸。该小囊与亚结构域表面上的凹陷形成了效应结合位点,在该位点,1,6-脱水-N-乙酰胞壁酰五肽可以被修饰,进而诱导 AmpC 酶表达。而域间小囊基底的氨基酸置换(如甘氨酸-102-谷氨酸的突变)也可使 AmpR 诱导 AmpC 酶,使 AmpC 酶持续表达。圆二色光谱仪显示,非保守的甘氨酸-102-谷氨酸的突变导致了 AmpR 构象的改变,从而导致 AmpC 酶的持续高产表达。

3.3.2 ampD 铜绿假单胞菌的全部基因组已被确定,为我们深入研究 AmpC 酶的表达调控机制打开了大门。2006 年, Juan 等^[21]报道了 AmpD 的两个同系物,即 AmpDh2, AmpDh3。尽管在氨基酸水平 AmpDh2 和 AmpDh3 与原始 AmpD 的同系水平只有 25%~27%,但可能正因为如此,这两种同系物可被跨膜跟踪,而 AmpD 则不可以。但另一个重要的不同是,在 AmpDh2 或 AmpDh3 的不稳定区保留着必要的保守序列,该序列可以使 AmpD 蛋白缺乏的铜绿假单胞菌株得到修复^[21]。

另外, Juan 等利用基因敲除的方法,研究了每个同系物与 AmpC 酶表达的相关性。在该研究中,他们将野生型的铜绿假单胞菌 PAO1 作为母菌株,表现为 AmpC 酶低产型。AmpD 的缺失使 PAO1 菌株的产酶类型从低产型变为部分去阻遏型。令人惊讶的是,不管是对 AmpDh2 或 AmpDh3 进行单独敲除,还是对 AmpDh2 和 AmpDh3 进行联合敲除,都没有改变 PAO1 的产酶类型。而尽管在 AmpD 缺失的情况下,对 AmpDh2 进行敲除并没有改变菌株部分去阻遏的产酶类型,但在对 AmpDh3 敲除后却使 AmpC 酶的表达量显著增加。最后对 3 种同系物联合敲除,都没有改变菌株部分去阻遏的产酶类型。通过该项研究, Juan 等得出结论, 3 种同系物中 AmpD 对 AmpC 酶表达的影响最大,之后依次是 AmpDh3, AmpDh2^[21]。

AmpD 同系物的发现及其特征使我们对 AmpC 酶的表达调控有了更深层的理解,说明 AmpC 酶的表达调控确实有着其他途径。另外, Juan 等还作了进一步研究。他们分析了 10 株 AmpC 酶过量表达的菌株,结果发现其中 4 株并没有任何的 AmpD 及其同系物的突变发生,亦说明 AmpD 的缺失并非 AmpC 酶去阻遏表达所必需^[21]。

3.3.3 ampG ampG 基因编码一种细菌内膜上的转运蛋白即渗透酶,用于运输胞壁肽的产物 G-aMT,使其进入胞质,然后被 β -乙酰葡萄糖胺糖苷酶即 NagZ 加工处理,处理后的产物-乙酰胞壁酰五肽通过与转录调节因子 AmpR 的相互作用诱导 AmpC 酶的表达^[4]。Laura 等^[22]证实了 NagZ 可阻止 AmpC 酶的表达。2011 年 Laura 等^[23]又进一步作了研究。他们比较了两个靶点 NagZ 和 AmpG 在阻止 ampC 基因表达中的作用。实验结果表明,钝化的 NagZ 或 AmpG 酶均可使 ampD 或 dacB (编码青霉素结合蛋白)基因突变的铜绿假单胞菌完全恢复对碳氢霉烯类药物的敏感性,并使 AmpC 酶的表达量恢复正常水平。然而,只有钝化的 AmpG 可以充分阻断 AmpC 酶的诱导,使相应菌株对诱导物亚胺培南的 MIC 值从 2 降到 0.38 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。另外,通过对铜绿假单胞菌突变株的特征分析,作者还进一步发现,钝化的 AmpG 使 oprD 导致的耐碳氢霉烯类的耐药性降到了最低,使 oprD 突变的菌株对亚胺培南的 MIC 值从大于 32 降到 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。笔者还分别在 3 株临床分离到的耐 β -内酰胺类的铜绿假单胞菌中评估了 AmpG 和 NagZ 的作用。这 3 株菌分别是高产 AmpC 酶型、oprD 钝化型

和存在多个 efflux 通道的 AmpC 酶过度表达型。结果,钝化的 NagZ 和 AmpG 使所有的菌株对头孢他啶和派洛西林/头孢唑坦的敏感性均显著增加,但只有钝化的 AmpG 酶使 3 株突变菌对亚胺培南的敏感性完全恢复到了野生型水平,同时,也使菌株对美罗培南,头孢吡肟和氨曲南的敏感性有所增加,但由于 efflux 通道的影响,并不如对亚胺培南的敏感性增加的明显^[23]。从该实验结果可以推测, AmpG 的小分子抑制剂可以为克服耐亚胺培南的相关耐药机制(包括 AmpC 酶的诱导和 oprD 基因的突变)提供一种极佳的战略作用。

3.3.4 PBP4 PBP4 已被确认为 AmpC 酶表达调控的重要组成部分。对编码 PBP4 的基因 dacB 基因敲除,可以导致野生型 AmpC 酶变为部分去阻遏型,这与 AmpD 非常相似。但 PBP4 导致的 AmpC 酶的去阻遏表达同时还伴随着一种全局性的调控因子的作用,即 CreBC 蛋白,是气单胞菌中的调控因子 BrcAB 蛋白的同系物^[17]。PBP4 参与介导的 AmpC 酶去阻遏表达的菌株中,受 CreBC 蛋白调控的 CreD 基因显著增加,但此 CreD 基因编码的蛋白特征及该蛋白在 AmpC 酶表达中的作用仍然不清楚。另外,在 PBP4 介导的铜绿假单胞菌去阻遏突变中,对 CreD 基因进行敲除,并没有改变突变体对 β -内酰胺类药物的敏感性。但是相比之下,对 CreBC 基因进行敲除却可使去阻遏突变菌对头孢菌素类和氨曲南的敏感性大大增加。在 AmpC 酶的表达调控中, CreBC 蛋白与 PBP4 的关系是特异的,毕竟还没有发现 AmpD 伴随的 CreBC 的去阻遏调控。但最让人感兴趣的是,上述铜绿假单胞菌突变株对碳氢霉烯类药物敏感性的增加可能并不是因为 AmpC 酶表达水平的改变,而是 CreBC 蛋白的增加可以激活其他的耐药途径或因子^[17]。

4 产 AmpC 酶的铜绿假单胞菌的耐药性变化

铜绿假单胞菌可产生诱导型 AmpC 酶,与阴沟肠杆菌等其他肠杆菌科细菌中染色质介导产生的 AmpC 酶相似。通常,野生型的铜绿假单胞菌仅会产生较低水平的 AmpC 酶,并且对抗铜绿假单胞菌青霉素药物及其联合制剂、头孢菌素以及碳氢霉烯类药物敏感^[24]。但当 AmpC 酶的产量显著增加时(表现为持续高产型),铜绿假单胞菌将会对除碳氢霉烯类之外的所有抗菌药物产生耐药。而相比之下,其他产持续高产型 AmpC 酶的肠杆菌科细菌对头孢吡肟仍敏感。有学者认为,这可能是由于铜绿假单胞菌与其他肠杆菌科的 AmpC 酶的水解作用不同导致如此。但是以往 AmpC 酶水解头孢吡肟的研究数据并不支持这种假设^[25]。相比之,很多学者认为,铜绿假单胞菌极低的外膜通透性可能在 AmpC 酶的过度表达中起重要作用,进而导致了铜绿假单胞菌对头孢吡肟耐药^[26]。

铜绿假单胞菌耐药的最大特点之一就是可通过染色质的选择性突变不断提高或改变自身的耐药性来对几乎所有抗菌药物产生耐药。随着 AmpC 酶的持续高表达,铜绿已对绝大多数的 β -内酰胺类药物耐药,甚至对碳氢霉烯类药物的耐药率也在不断上升。低产 AmpC 酶的菌株对亚胺培南和氨曲南显著敏感,对美罗培南却有着相对较高的耐药率^[27]。Gutierrz 等的研究表明,51%的耐碳氢霉烯类的铜绿假单胞菌过度表达 AmpC 酶。该研究认为,与对美罗培南敏感的菌株相比,对美罗培南耐药的菌株更可能高表达 AmpC 酶。但 Gutierrz 仍然认为,这仍不足以贬低美罗培南的临床疗效^[28]。

5 小 结

以上综述以及一些新的发现为研究者更深入地了解铜绿

假单胞菌 AmpC 酶表达调控机制提供了重要信息。但是, 我们还需要更多的研究去清晰明确阐明 AmpR、AmpD 及其同系物以及 PBP4 在此表达机制中所发挥的作用。另外, 头孢西丁、亚胺培南和克拉维酸为何能充当诱导物以及低分子量 PBPs 在 AmpC 酶的诱导表达中所扮演的角色也都有待作更深层的研究与分析。AmpC 酶表达的精确调控机制(包括因子和途径)可以让研究者发现 AmpC 酶所介导的细菌耐药的控制靶点, 据此, β -内酰胺类药物的抗菌活性便可得到重新发挥。

参考文献

- [1] Morita YJ, Tomida Y, Kawamura. Primary mechanisms mediating aminoglycoside resistance in the multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate PA7 [J]. *Microbiology-sgm*, 2012, 158 (Part 4):1071-1083.
- [2] Lee Y, KSKo. OprD mutations and inactivation, expression of efflux pumps and AmpC, and metallo-beta-lactamases in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from South Korea [J]. *International journal of antimicrobial agents*, 2012, 40 (2): 168-172.
- [3] BUSH K, GAJACOBY, et al. Medeiros, a functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular-structure [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1995, 39 (6):1211-1233.
- [4] 洛丹婷, 多丽波. AmpG 在 AmpC 酶表达中的调控作用及研究进展 [J]. *中国实验诊断学*, 2012, 16(1): 176.
- [5] Kintz E, JGoldberg. Regulation of lipopolysaccharide O antigen expression in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Future Microbiol*, 2008, 3(2): 191-203.
- [6] 涂婉, 赵虎. AmpC β -内酰胺酶的分子生物学研究进展 [J]. *检验医学*, 2009, 20(11): 1120-1123.
- [7] Kong KF, Aguila A, Schnepfer L, Mathee K. *Pseudomonas aeruginosa* beta-lactamase induction requires two permeases, AmpG and AmpP [J]. *BMC Microbiol*, 2010, 10(1): 328.
- [8] Dietz H, Pfeifle D, Wiedemann B. The signal molecule for β -lactamase induction in *Enterobacter cloacae* is the anhydro muramy1-pentapeptide [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, 41 (10): 2113.
- [9] Stubbs K A, Balcewich M, Mark BL, Vocadlo DJ. Small molecule inhibitors of a glycoside hydrolase attenuate inducible AmpC-mediated beta-lactam resistance [J]. *J. Biol. Chem*, 2007, 282 (29), 21382-21391.
- [10] Moya B, Dofsch A, Juan C, et al. beta-lactam resistance response triggered by inactivation of a nonessential penicillin-binding protein [J]. *PLOS Pathogens*, 2009, 5(3): e1000353.
- [11] Jacobs C. Bacterial-cell wall recycling provides cytosolic muropeptides as effectors for beta-lactamase induction [J]. *Embo Journal*, 1994, 13(19): 4684-4694.
- [12] Garcia DL JP. Dillard. Mutations in ampG or ampD affect peptidoglycan fragment release from *Neisseria gonorrhoeae* [J]. *J Bacteriol*, 2008, 190(18): 3799-3807.
- [13] Kaneko K, et al. Gene mutations responsible for overexpression of AmpC beta-lactamase in some clinical isolates of *Enterobacter cloacae* [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005, 43 (6): 2955-2958.
- [14] Schmidtke AJ, ND Hanson. Model system to evaluate the effect of ampD mutations on AmpC-mediated beta-lactam resistance [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2006, 50 (6): 2030-2037.
- [15] Campbell JO, Ciofu N, Hoiby, *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis have different beta-lactamase expression phenotypes but are homogeneous in the ampC-ampR genetic region [J]. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1997, 41(6): 1380-1384.
- [16] Wolter DJ. Increased expression of ampC in *Pseudomonas aeruginosa* mutants selected with ciprofloxacin [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2007, 51(8): 2997-3000.
- [17] Lister PD, DJ Wolter, ND Hanson. Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2009, 22(4): 582-610.
- [18] Chiu HT, Lin J, Wang. Identification and characterization of an organic solvent tolerance gene in *Helicobacter pylori* [J]. *Helicobacter*, 2007, 12(1): 74-81.
- [19] Lodge JM. Cloning, sequencing and analysis of the structural gene and regulatory region of the *pseudomonas-aeruginosa* chromosomal ampC beta-lactamase [J]. *Biochemical Journal*, 1990, 272 (3): 627-631.
- [20] Balcewich MD. Crystal Structure of the AmpR Effector Binding Domain Provides Insight into the Molecular Regulation of Inducible AmpC beta-Lactamase [J]. *Journal of Molecular Biology*, 2010, 400(5): 998-1010.
- [21] Juan C. Stepwise upregulation of the *Pseudomonas aeruginosa* chromosomal cephalosporinase conferring high-level beta-lactam resistance involves three AmpD homologues [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2006, 50(5): 1780-1787.
- [22] Zamorano L. NagZ Inactivation Prevents and Reverts beta-Lactam Resistance, Driven by AmpD and PBP 4 Mutations, in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010, 54(9): 3557-3563.
- [23] Zamorano L, et al. AmpG Inactivation Restores Susceptibility of Pan-beta-Lactam-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Strains [J]. *Antimicrob Agents Chem*, 2011, 55(5): 1990-1996.
- [24] Cabot G, Ocampo-Sosa AA, Tubau F, et al. Overexpression of AmpC and efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from bloodstream infections: prevalence and impact on resistance in a Spanish multicenter study [J]. *Antimicrob Agents Chem*, 2011, 55 (5), 1906-1911.
- [25] Queenan AM. Interactions of ceftobiprole with beta-lactamases from molecular classes A to D [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2007, 51(9): 3089-3095.
- [26] Moya B, Zamorano L, Juan C, Perez JL, Ge Y, Oliver A. Activity of a new cephalosporin, CX A - 101 (FR264205), against β -lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* mutants selected in vitro and after antipseudomonal treatment of intensive care unit patients [J]. *Antimicrob. Agents Chemother*, 2010, 54(3): 1213-1217.
- [27] Moya B, Juan C, Alberti S, Perez JL, Oliver A. Benefit of having multiple ampD genes for acquiring β -lactam resistance without loss of fitness and virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob [J]. Agents Chemother*, 2008, 52(10): 3694-3700.
- [28] Gutierrez O. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Spanish hospitals [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2007, 51 (12): 4329-4335.