

· 综述 ·

骨髓间充质干细胞诱导免疫耐受的研究进展*

刘磊 综述, 刘作金[△] 审校

(重庆医科大学附属第二医院肝胆外科, 重庆 400010)

关键词: 干细胞; 骨髓细胞; 免疫耐受; 移植物排斥; 器官移植**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.18.032**文献标识码:**A**文章编号:** 1673-4130(2013)18-2419-04

自 20 世纪 60 年代以来, 器官移植逐渐成为终末期器官功能衰竭患者的常规治疗选择。随着新型高效免疫抑制药物在临床的广泛应用, 器官移植后急性排斥反应已基本能被控制, 但对慢性排斥反应却缺乏有效的治疗手段, 同时长期使用免疫抑制药物会使受者发生恶性肿瘤、难以控制的感染等一系列不良反应, 故对于抑制器官移植术后的排斥反应一直是近数十年的一个医学研究热点。而免疫耐受是指受者的免疫系统对供者器官长期特异性的无应答状态, 但对其他异己抗原仍表现正常的免疫应答。若能将特异抑制(免疫耐受)成功地应用于临床, 无疑是在此领域中的重大突破。骨髓间充质干细胞(BMSCs)因其可诱导免疫耐受、免疫源性低、能在异基因环境中存活、具有提供长期的特异抑制的特点, 已成为近年对器官移植术后抑制排斥反应的一个热点。

1 骨髓间充质干细胞

1.1 BMSCs 是一类位于人或动物骨髓中的基因克隆细胞, 为源于中胚层的多能干细胞, 具有定向或多向分化的潜能^[1]。因 BMSCs 是骨髓中造血结构性和功能性的支持细胞, 又称为骨髓基质干细胞以及成纤维细胞集落形成单位; 又因其培养中时可在培养材料贴壁生长, 故又叫塑料贴壁细胞。近年来发现这种细胞具有分化成间叶组织细胞的能力, 才被称为 BMSCs。

1.2 BMSCs 的生物学特性 BMSCs 最早由 Cohnheim 和 Friedenstein 发现, 主要来源于成体骨髓, 也可从其他组织中获得, 如皮肤、肾脏、骨膜、滑膜、脂肪、肌肉、脐血等多处器官组织, 容易贴壁, 呈成纤维细胞样生长^[2]。BMSCs 在特定的诱导培养条件下能够分化成成骨细胞、成软骨细胞、神经细胞、骨骼肌细胞、脂肪细胞等, 且扩增多代后仍能保持多向分化潜能, 遗传背景稳定, 转染目的基因后能长期稳定表达。BMSCs 不具有造血细胞(CD34, CD45, CD14)和内皮细胞(CD34, CD31, VWF)的标记, 而表达 SH-2、SH-3、SH-4、CD29、CD44、CD54、CD71、CD90、CD106、CD166 等表面抗原^[3]。但是, 目前尚未发现 BMSCs 特异性标记分子, 只能联合应用多种抗体帮助分离鉴定 BMSCs, 现一般采用排除法和推逆法对其进行鉴定。目前分离 BMSCs 的方法主要有贴壁筛选法、密度梯度离心法、流式细胞仪分选法和磁珠分离法等。

2 骨髓间充质干细胞的免疫学特性

2.1 低免疫原性 多数研究表明, BMSCs 表达低水平 MHC-I 类分子, 不表达 MHC-II 类分子和 Fas 配体, 也不表达共刺激分子 B7-1, B7-2, CD40 和 CD40L, MHC I 类分子与 NK 细胞表达的杀伤抑制受体(KLR)结合使 NK 细胞对异体或肿瘤细胞的杀伤作用下调, 从而保护 BMSCs 免受 NK 细胞的杀

伤^[4]。此外, BMSCs 不表达 Fas 配基和多种共刺激分子, 可能会引起 T 淋巴细胞无能, 诱导免疫耐受。然而, Le Blanc 等^[5]在 BMSCs 全细胞裂解物中检测到了 MHC II 类抗原的存在, 用 IFN-γ 刺激 BMSCs 也会使 90% 以上的细胞表达 MHC II 类抗原, 而有无 IFN-γ 刺激, BMSCs 均不会引起 T 细胞增殖。这提示 MHC 的表达可能不是导致 BMSCs 免疫豁免的主要因素。总之, 需要进一步研究 BMSCs 可能诱发免疫反应的相关因素, 了解同种异体 BMSCs 与免疫系统的相互作用, 确保将来临床应用的安全性。

2.2 BMSCs 的“归巢”特性 研究发现, BMSCs 易于汇集于炎症损伤部位。在四氯化碳性肝损害的小鼠体内植入同种异基因的 MSCs 将直接“归巢”到受损的肝脏, 其他组织器官几乎没有分布^[6]。肺是脓毒症全身炎症反应损害最重的器官之一, 脓毒症小鼠模型经静脉注入 MSCs 后, 大部分将汇聚于肺部并被多个单核/巨噬细胞环绕。多个研究证实, 损伤局部活化的单核/巨噬细胞释放的 TNF-α 等炎症趋化因子是促使 BMSCs “归巢”的重要原因, 且其与 MSCs 混合培养产生的 IL-10 明显高于两者非接触培养时, 故 BMSCs 定植于靶器官数量的多少是影响其疗效的重要因素之一^[6-7]。

2.3 骨髓间充质干细胞的免疫调节作用

2.3.1 对 T 细胞的影响 BMSCs 可调节 T 淋巴细胞的增殖与分化, 多项研究^[8]表明 BMSCs 可使 T 细胞被阻止在细胞周期的 G0-G1 阶段, 抑制 T 细胞增殖。而这个作用主要是通过细胞直接接触和产生可溶性因子发挥抑制效应的, 主要有转化生长因子 β1、肝细胞生长因子、2,3-二羟双氧酶吲哚胺(IDO)、一氧化氮、前列腺素 E2 及白细胞介素 6 等^[9-10]。同时研究^[11]发现 BMSCs 具有直接抑制效应性 CD4+T 淋巴细胞和激活并维持 Treg 的潜能, 它通过抑制细胞因子 IL-17、IL-22、IFN-γ 和 TNF-α 的表达, 阻止 CD4+T 淋巴细胞向 Th1 细胞方向分化, 进而影响辅助性 T 细胞分化, 改变 Th1/Th2 的比例, 使 Th1 细胞数量减少, Th2 细胞数量增加, 而且在炎症环境中, 通过 CCR6 介导 Th1 细胞的黏附, 诱导 Treg 发挥抗炎作用。

2.3.2 对 B 细胞的影响 在体外 BMSCs 以剂量依赖的方式抑制 B 细胞的增殖, 其主要的机制是: BMSCs 可以抑制由抗免疫球蛋白抗体、可溶性 CD40 配体和细胞因子活化的 B 细胞的增殖能力^[12], 同时产生多种可溶性分子影响 B 细胞的扩增, 这些分子可以通过削弱 B 细胞产生 IgM、IgG 和 IgA 的信号而阻碍 B 细胞的分化^[13]。另外, BMSCs 还能够下调 B 细胞的 CX-CR4、CXCR5、CCR7、CXCL12、CXCR4 ligand、CXCR5 ligand 等趋化因子受体表达, 而影响 B 细胞向炎症迁移的能力。

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30972888, 81170442); 教育部科学技术研究重点项目(211153)。 作者简介: 刘磊, 男, 在读研究生, 主要从事肝胆外科疾病研究。 △ 通讯作者, E-mail: Liuzuojin66@hotmail.com。

2.3.3 对自然杀伤细胞的影响 BMSCs 可以抑制由 IL-2 诱导的自然杀伤细胞的增生及分泌, 其机制与下调激活性受体 NKp30 和 NKG2D 有关^[9,14]。Transewell 的试验表明, BMSCs 可通过可溶性因子来抑制 NK 细胞增殖及其 IL-15 的产量, 如 MSC 分泌的前列腺素 E2 至少部分影响了 NK 细胞的增殖、CD56 的表达以及细胞毒作用^[15]。

2.3.4 对树突状细胞的影响 树突状细胞是混合淋巴细胞反应的始动细胞, 在免疫反应中有着重要的作用。体外共培养间充质干细胞和树突状细胞, 发现 BMSCs 能够抑制白细胞介素 1 和 CD40 ligand 从而抑制树突状细胞的分化和成熟^[10,16], 干扰树突状细胞的内吞功能, 减少树突状细胞致炎因子 IFN-γ、IL-12 及 TNF-α 的分泌, 增加 IL-10 的分泌^[9,17], 下调成熟树突状细胞表面抗原如共刺激分子 CD86 和成熟标记物 CD83 的表达, 使其刺激同种异体的 T 淋巴细胞增殖的能力减低。

3 骨髓间充质干细胞诱导免疫耐受的机制

关于 BMSCs 诱导免疫耐受的机制报道各不相同, 不同实验室研究结果的差异可能是实验条件或所用 BMSCs 来源不同引起的, 也可能是培养方法和淋巴细胞激活方式等不同所致。

BMSCs 通过分泌 HGF、前列腺素 E2(PGE2)、IL-10 等调节其他免疫细胞产生抗炎细胞因子能力、改变局部免疫反应的微环境, 进而干扰免疫细胞的分化、成熟及功能表达, 这可能是 BMSCs 发挥强大免疫抑制作用的主要途径^[18]。

虽然如前所述 BMSCs 能对 T、B 淋巴细胞、NK 细胞、DC 细胞等产生影响, 但这可能不是其发挥免疫抑制的主要途径。对于 T、B 淋巴细胞基因敲除的小鼠(Rag2-/-), 或者用特异抗体(单唾液酸四己糖神经节苷脂-GM1)清除 NK 细胞的小鼠, BMSCs 仍可发挥其免疫抑制作用。然而, 当用包裹了氯膦酸盐的脂质体预先清除小鼠体内的单核/巨噬细胞, 或用抗体中和白细胞介素-10(IL-10)或封闭 IL-10 受体后, MSCs 的免疫抑制效应明显减弱。进一步研究表明, 由于 BMSCs 高表达 LPS 受体 Toll 样 4(TLR4), 在 LPS 刺激后通过激活 TLR4-MyD88-NF-κB 通路, 进而激活环氧合酶-2 诱导 PGE2 的合成及释放^[19]。已证实花生四烯酸代谢产物 PGE2 的主要效应细胞之一即为单核/巨噬细胞。单核/巨噬细胞极具可塑性, 在不同的微环境中可表现出明显的功能差异, 其 M1 型(经典活化的巨噬细胞)和 M2 型(替代性活化的巨噬细胞)是这一连续状态的两个极端表型。M1 型巨噬细胞分泌促炎细胞因子, 专职提呈抗原, 正向参与免疫应答; 而 M2 型巨噬细胞仅有较弱抗原提呈能力, 并通过分泌 IL-10 等抑制免疫应答。在早期阶段 BMSCs 通过单核巨噬细胞刺激因子和 IL-4 等因子强烈抑制单核细胞向 M2 型分化^[6,20]。而产生的 M2 型巨噬细胞释放大量的 IL-10。也有部分研究认为 BMSCs 可以通过影响 Th 淋巴细胞的分化并分泌免疫抑制因子 IL-10、TGF-β 来诱导免疫耐受的, 裴艳香等^[21]研究分析肝移植患者术后早期外周血中 Th1/Th2 细胞亚群的变化, 结果显示未发生排斥反应的肝移植患者术后早期 Th1 较术前轻度下降, Th2 逐渐升高, 使 Th1/Th2 向 Th2 漂移, 而 Th2、Tc2 细胞可通过分泌 IL-4、IL-10 等细胞因子实现负性免疫调节作用^[22]。最终, IL-4 可与 IL-2 竞争结合从而使免疫抑制因子 TGF-β、IL-1 的含量升高^[23], IL-10 通过下调 APC 细胞的抗原摄取作用、阻断 MHC II 类抗原和 CD80 及 CD86 等共刺激分子的表达、抑制致炎细胞因子的分泌如 IFN-γ、TGF-β, 抑制 T 细胞的激活和增殖, 诱导 T 细胞凋亡等多种途径实现免疫抑制作用^[24-25]。

BMSCs 可能还通过产生 IDO 以及清除色氨酸环境的形式来增强其免疫抑制的功能^[26]。它由 IFN-γ 诱导产生, 可催化色氨酸变为丙氨酸, 通过色氨酸缺失抑制 T 细胞反应。并且 IFN-γ 对 IDO 酶的活化存在剂量依赖性。经丝裂霉素 C 预处理的外周血单核细胞激活 T 细胞培养体系, BMSCs 存在时可检测到显著的 IDO 活性, 加入色氨酸可以恢复 T 细胞增殖, 说明 IDO 活化可能是 T 细胞免疫抑制机制之一。

也有观点认为 BMSCs 的免疫抑制功能与 IFN-γ 和 TNF-α、IL-1α 或 IL-1β 中任何一个促炎症因子联合作用有关。这些细胞因子混合物诱导 BMSCs 高表达几种趋化因子和诱导型一氧化氮合酶。iNOS 催化 NO 产生, 在该处形成一氧化氮环境, 而趋化因子促使 T 细胞向邻近 BMSCs 的局部迁移, 最终通过 NO 抑制 T 细胞应答^[27-28], 而缺乏 iNOS 的 BMSCs 不具有免疫抑制能力, 因此认为细胞因子诱导趋化因子和 NO 协同作用是 BMSCs 介导免疫调节的关键。

4 骨髓间充质干细胞诱导免疫耐受的应用

4.1 抑制器官移植后排斥反应 BMSCs 与 HLA 不相关免疫细胞之间的作用及其调节免疫功能在移植生理中具有重要的应用价值。同时 BMSCs 对 T 淋巴细胞的抑制作用与其供者来源没有明显的关系, 故可以选用 MHC 不相匹配的 BMSCs 进行移植以提高移植效率, 极大地提高了其临床应用的可行性。BMSCs 在大量的同种异体动物和临床移植实验中都表现出和角膜移植类似的免疫豁免特性。有研究^[29]发现大鼠肝脏、脾组织移植后输注同基因骨髓间充质干细胞与使用免疫抑制剂比较, 可减轻移植肝的排斥作用, 甚至诱导免疫耐受。Ringden 等^[30]对急性淋巴细胞白血病异基因造血干细胞移植后发生的以肠道和肝脏受累为主要表现的Ⅳ度急性移植物抗宿主病进行单倍体相合的 BMSCs 的移植后, 临床表现有了极大改善。

4.2 BMSCs 在治疗自身免疫性疾病中的应用 BMSCs 通过在体内抑制 T、B 细胞的增殖、调节 Th1/Th2 之间的平衡等途径抑制机体的免疫反应, 从而最终改善自身免疫性疾病的症状。Madec 等^[31]利用 NOD 小鼠自身免疫性糖尿病模型, 通过静脉注射 BMSCs, 发现 BMSCs 能够通过诱导调节性 T 细胞的产生来阻止自身免疫系统对胰岛细胞的破坏, 从而缓解病情的进展。Kong 等^[32]对重症肌无力大鼠模型采用 BMSCs 输注后, 其体内 Th1/Th2 比例改变, 免疫反应受抑制, 症状得到改善。

5 骨髓间充质干细胞存在的问题及未来的方向

尽管近年来对 BMSCs 的研究取得了很大进展, 但仍然较多疑点亟待解决:(1)骨髓间充质干细胞缺少特异性表面标志物, 对其鉴定困难, 只能结合其形态和部分表面标志物进行综合判断, 这极大地影响了细胞在分离、提纯及对其体内作用的研究, 已成为 BMSCs 研究的一个瓶颈;(2)对 BMSCs 在体内诱导免疫耐受的机制尚不明确, 这极大地限制了如何预处理以增强 BMSCs 的免疫抑制的研究及其临床应用;(3)尽管 BMSCs 为低免疫原性, 但其有低水平的 MHC-I 的表达, 仍有研究认为 BMSCs 可能会引起排斥, 并且干扰素-γ 转染的 BMSCs 有将抗原呈递给 T 细胞的作用^[33], 如何应对这种可能的排斥反应;(4)部分研究认为 BMSCs 能向肿瘤迁移并分泌支持肿瘤生长的因素^[34], 同时其免疫抑制作用也被认为有助于肿瘤生长。所以在进行可能的临床试验前需要对其安全性进行慎重的检查和评估。

尽管对间充质干细胞的还有很多未知, 但由于 BMSCs 具有取材容易, 对机体损伤小, 易于基因操作, 组织相容性好等优

点,且其免疫抑制性被认为在治疗免疫介导性疾病及器官移植后的排斥反应方面有很大潜力,随着大量动物实验和临床实验的开展,BMSCs 的性质、作用会进一步被阐明,相信在不久的将来,BMSCs 将会成为一种理想的细胞治疗手段广泛应用于临床。

参考文献

- [1] Abdallah BM, Kassem M. Human mesenchymal stem cells: from basic biology to clinical applications[J]. Gene Ther, 2008, 15(2): 109-116.
- [2] Lee RH, Kim B, Choi I, et al. Characterization and expression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue[J]. Cell Physiol Biochem, 2004, 14(4/6): 311-324.
- [3] Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease[J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(9): 726-736.
- [4] Hematti P. Role of mesenchymal stromal cells in solid organ transplantation[J]. Transplant Rev(Orlando), 2008, 22(4): 262-273.
- [5] Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, et al. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells[J]. Exp Hematol, 2003, 31(10): 890-896.
- [6] Cho KA, Ju SY, Cho SJ, et al. Mesenchymal stem cells showed the highest potential for the regeneration of injured liver tissue compared with other subpopulations of the bone marrow[J]. Cell Biol Int, 2009, 33(7): 772-777.
- [7] Németh K, Leelahanichkul A, Yuen PS, et al. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production[J]. Nat Med, 2009, 15(1): 42-49.
- [8] Ramasamy R, Tong CK, Seow HF, et al. The immunosuppressive effects of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells target T cell proliferation but not its effector function[J]. Cell Immunol, 2008, 251(2): 131-136.
- [9] Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses[J]. Blood, 2005, 105(4): 1815-1822.
- [10] Nauta AJ, Kruisselbrink AB, Lurvink E, et al. Mesenchymal stem cells inhibit generation and function of both CD34+ -derived and monocyte-derived dendritic cells[J]. J Immunol, 2006, 177(4): 2080-2087.
- [11] Batten P, Sarathchandra P, Antoniw JW, et al. Human mesenchymal stem cells induce T cell anergy and downregulate T cell allo-responses via the TH2 pathway: relevance to tissue engineering human heart valves[J]. Tissue Eng, 2006, 12(8): 2263-2273.
- [12] Krampera M, Cosmi L, Angeli R, et al. Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Stem Cells, 2006, 24(2): 386-398.
- [13] Comoli P, Ginevri F, Maccario R, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit antibody production induced in vitro by allostimulation[J]. Nephrol Dial Transplant, 2008, 23(4): 1196-1202.
- [14] Spaggiari GM, Capobianco A, Beccetti S, et al. Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions: evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation[J]. Blood, 2006, 107(4): 1484-1490.
- [15] Sotiropoulou PA, Perez SA, Gritzapis AD, et al. Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells[J]. Stem Cells, 2006, 24(1): 74-85.
- [16] Beyth S, Borovsky Z, Mevorach D, et al. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness[J]. Blood, 2005, 105(5): 2214-2219.
- [17] Rasmussen I, Ringdén O, Sundberg B, et al. Mesenchymal stem cells inhibit lymphocyte proliferation by mitogens and alloantigens by different mechanisms[J]. Exp Cell Res, 2005, 305(1): 33-41.
- [18] Popp FC, Eggenhofer E, Renner P, et al. Mesenchymal stem cells can affect solid organ allograft survival [J]. Transplantation, 2009, 87(9 Suppl): S57-62.
- [19] Lei J, Wang Z, Hui D, et al. Ligation of TLR2 and TLR4 on murine bone marrow-derived mesenchymal stem cells triggers differential effects on their immunosuppressive activity[J]. Cell Immunol, 2011, 271(1): 147-156.
- [20] Wang Y, Liu J, Xu C, et al. Bone marrow transplantation combined with mesenchymal stem cells induces immune tolerance without cytotoxic conditioning[J]. J Surg Res, 2011, 171(1): e123-131.
- [21] 裴艳香, 郝建宇, 夏成青, 等. 辅助性 T 细胞亚群在肝移植患者术后早期变化的研究[J]. 北京医学, 2008, 30(1): 23-25.
- [22] Basara N, Kiehl MG, Fauser AA. New therapeutic modalities in the treatment of graft-versus-host disease[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2001, 38(2): 129-138.
- [23] 罗征秀, 刘恩梅, 邓兵, 等. Foxp3 表达与 CD4+CD25+ 调节性 T 细胞在儿童哮喘发病中的作用[J]. 中华儿科杂志, 2006, 44(4): 267-271.
- [24] Min CK, Kim BG, Park G, et al. IL-10-transduced bone marrow mesenchymal stem cells can attenuate the severity of acute graft-versus-host disease after experimental allogeneic stem cell transplantation[J]. Bone Marrow Transplant, 2007, 39(10): 637-645.
- [25] Bedke J, Stenzl A. Immunologic mechanisms in RCC and allogeneic renal transplant rejection[J]. Nat Rev Urol, 2010, 7(6): 339-347.
- [26] Meisel R, Zibert A, Laryea M, et al. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation [J]. Blood, 2004, 103(12): 4619-4621.
- [27] Xu G, Zhang Y, Zhang L, et al. The role of IL-6 in inhibition of lymphocyte apoptosis by mesenchymal stem cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 361(3): 745-750.
- [28] Edwards TM, Rickard NS. New perspectives on the mechanisms through which nitric oxide may affect learning and memory processes[J]. Neurosci Biobehav Rev, 2007, 31(3): 413-425.
- [29] 王谦, 李立, 李晓延, 等. 输注同基因骨髓间充质干细胞联合脾组织移植诱导肝移植大鼠的免疫耐受[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(18): 3243-3246.
- [30] Ringdén O, Uzunel M, Rasmussen I, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease [J]. Transplantation, 2006, 81(10): 1390-1397.
- [31] Madec AM, Mallone R, Afonso G, et al. Mesenchymal stem cells protect NOD mice from diabetes by inducing regulatory T cells [J]. Diabetologia, 2009, 52(7): 1391-1399.
- [32] Kong QF, Sun B, Bai SS, et al. Administration of bone marrow stromal cells ameliorates experimental autoimmune myasthenia gravis by altering the balance of Th1/Th2/Th17/Treg cell subsets through the secretion of TGF-beta[J]. J Neuroimmunol, 2009, 207(1/2): 83-91.
- [33] Nauta AJ, Westerhuis G, Kruisselbrink AB, et al. Donor-derived

mesenchymal stem cells are immunogenic in an allogeneic host and stimulate donor graft rejection in a nonmyeloablative setting [J]. Blood, 2006, 108(6): 2114-2120.

- [34] Amé-Thomas P, Maby-El Hajjami H, Monvoisin C, et al. Human mesenchymal stem cells isolated from bone marrow and lymphoid

organs support tumor B-cell growth; role of stromal cells in follicular lymphoma pathogenesis[J]. Blood, 2007, 109(2): 693-702.

(收稿日期:2013-04-08)

· 综述 ·

鲍曼不动杆菌的耐药机制及感染防治的研究进展^{*}

邢丽丹 综述, 苏兆亮[△], 许化溪[▲] 审校

(江苏大学检验医学研究所, 江苏镇江 212013)

关键词: 鲍曼不动杆菌; 多重耐药; 抗菌药

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.18.033

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)18-2422-03

鲍曼不动杆菌是一类革兰阴性、非发酵、氧化酶阴性的不动杆菌, 在自然界分布广泛, 在人类主要存在于皮肤表面及呼吸道, 是条件致病菌, 由于其环境特殊在医院尤其是ICU常呈流行性爆发, 是引起医院感染的主要致病菌。近年来, 随着鲍曼不动杆菌的分离率和耐药率的不断上升, 且呈现多重耐药趋势, 研究者及临床医师对该菌的关注越来越密切, 对其感染患者的治疗及防治也越来越迫切。因此, 了解鲍曼不动杆菌的感染特征, 临床分布和耐药性, 有效控制其在临床的感染非常重要。本文就鲍曼不动杆菌流行病学、耐药机制及防治措施进行综述。

1 鲍曼不动杆菌的流行现状

随着抗菌药物的大量使用和广泛使用, 多重耐药鲍曼不动杆菌的分离率越来越高, 就鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗菌药物而言早在2000年其耐药率已从2%上升至46%~54%^[1], 而据2010年我国卫生部耐药监测协作组的年度报告, 鲍曼不动杆菌在ICU病房分离得到的最多^[2]。近几年很多国家报道了各地区鲍曼不动杆菌的耐药和流行情况。目前对于多重耐药鲍曼不动杆菌的治疗多为联合治疗。近期报道的感染极度耐药鲍曼不动杆菌而死于菌血症的患者^[3]更加引起了科研人员和医务工作者对鲍曼不动杆菌的预防和治疗的密切关注。

2 鲍曼不动杆菌耐药机制

鲍曼不动杆菌在医院是主要的条件致病菌, 在非发酵菌属仅次于铜绿假单胞杆菌。鲍曼不动杆菌因对环境具有较强的适应能力而散播广泛, 这种适应主要通过内源性耐药机制的上调和外源性耐药基因的获得而实现^[4], 其耐药性正在逐年的升高, 而且临床感染多以多重耐药菌株为主, 被称为革兰阴性杆菌中的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)^[5], 给临床的防治带来了很大的困难。目前用于治疗鲍曼不动杆菌的抗菌药物主要有5大类, 包括β-内酰胺类抗菌药物, 氨基糖苷类, 氟喹诺酮类, 四环素类和多粘菌素类。其所对应的耐药机制也有所不同。

2.1 β-内酰胺类抗菌药物 2000年以来, 国内外报道了大量革兰阴性杆菌β-内酰胺类抗菌药物的耐药机制。β-内酰胺类抗菌药物在临床最为常见, 包括青霉素类、头孢菌素类、单环类及碳青霉烯类等化学结构中含有β-内酰胺环的抗菌药物。鲍

曼不动杆菌主要通过以下机制对β-内酰胺类抗菌药物耐药: (1)产生各种β-内酰胺酶^[6]; (2)细菌外膜孔蛋白缺陷, 细菌发生突变失去某种特异孔蛋白(常见的是CarO和OprD)后, β-内酰胺类等药物无法进入或进入减少^[7]; (3)外排泵的外排作用增强^[8], 可以将进入细菌体内的药物泵出膜外; (4)青霉素结合蛋白(PBPs)编码基因突变导致PBPs构象改变, 与β-内酰胺类药物结合力下降^[9], β-内酰胺类抗菌药物是通过与细菌细胞内膜上的PBPs结合, 导致其构象改变而产生耐药。

目前β-内酰胺酶的研究比较多。A类主要是指广谱β-内酰胺酶(ESBLs), 包括TEM型、SHV型、KPC型、PER型和VEB型等^[6], 一般由质粒介导。B类即金属β-内酰胺酶(BMLs), 因其在参与催化反应时其活性位点为二价金属阳离子(通常为锌离子)^[10], 能够水解除了氨曲南外的大部分临床的β-内酰胺类底物而发挥杀菌作用^[6]。鲍曼不动杆菌中的BMLs主要为IMP、VIM和SIM三型^[11]。绝大多数BMLs基因位于I类整合子中, 包括编码氨基糖苷类耐药酶的基因在内的耐药基因盒^[11]。C类酶即AmpC酶, 是由染色体或质粒介导产生的, 因其优先水解头孢菌素酶又被称为头孢菌素酶, 能水解青霉素类、第一、二、三代头孢菌素和单环酰胺类等许多β-内酰胺类抗菌药物, 但对碳青霉烯类第四代头孢菌素和喹诺酮类敏感, 是鲍曼不动杆菌对第三代头孢菌素耐药的主要原因^[12]。D类酶又称苯唑西林酶(OXA酶), 是鲍曼不动杆菌中研究最多的一类酶, 已经在鲍曼不动杆菌中发现了20多种, 且仍在继续被发现。OXA酶主要由染色体或质粒编码, 可引起对苯唑西林、氯唑西林和亚胺培南的天然低水平耐药^[13]。OXA酶中有4个主要的亚群与鲍曼不动杆菌的耐药有关, 它们分别是: OXA-23、OXA-24、OXA-51和OXA-58^[14]。而在我国常见的OXA酶主要是OXA-23和OXA-51^[15]。插入序列在β-内酰胺类耐药中也发挥作用, 主要是通过其自身携带的启动子来增强其介导的β-内酰胺酶基因的表达, 如在鲍曼不动杆菌中常见的是ISaba1, 位于OXA-23和ADC的上游, 一般与该菌碳青霉烯类和头孢他啶耐药有关^[16]。

2.2 氨基糖苷类抗菌药物 随着鲍曼不动杆菌对氨基糖苷类抗菌药物耐药性的增加, 对其耐药的机制研究目前也越来越多。鲍曼不动杆菌对氨基糖苷类抗菌药物的耐药机制主要有:

* 基金项目: 江苏省博士后启动基金资助项目(1102129C); 镇江市国际合作交流项目(GJ2010007); 江苏大学高级人才启动项目(11JDG128); 江苏大学大学生科研立项(12A121)。作者简介: 邢丽丹, 女, 在读研究生, 主要从事感染免疫研究。△ 通讯作者, E-mail: szl30@yeah.net; ▲ 通讯作者, E-mail: xuhx@ujs.edu.cn。