

3722.

- [12] Venkatesan AM, Agarwal A, Abe T, et al. Novel imidazole substituted 6-methylidene-penems as broad-spectrum beta-lactamase inhibitors[J]. Bioorg Med Chem, 2004, 12(22): 5807-5817.
- [13] Kaur K, Adediran SA, Lan MJ, et al. Inhibition of beta-lactamases by monocyclic acyl phosph(on)ates[J]. Biochemistry, 2003, 42(6): 1529-1536.
- [14] Buynak JD, Ghadachanda VR, Vogeti L, et al. Synthesis and evaluation of 3-(carboxymethylidene)- and 3-(carboxymethyl) penicillines as inhibitors of beta-lactamase[J]. J Org Chem, 2005, 70(11): 4510-4513.
- [15] Paukner S, Hesse L, Prezelj A, et al. In vitro activity of LK-157, a novel tricyclic carbapenem as broad-spectrum β -lactamase inhibitor[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(2): 505-511.
- [16] Lagacé-Wiens PR, Tailor F, Simner P, et al. Activity of NXL104 in combination with beta-lactams against genetically characterized *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing class A extended-spectrum beta-lactamases and class C beta-lactamases[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(5): 2434-2437.
- [17] Citron DM, Tyrrell KL, Merriam V, et al. In vitro activity of ceftazidime-NXL104 against 396 strains of beta-lactamase-producing anaerobes[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(7): 3616-3620.
- [18] Ishii Y, Eto M, Mano Y, et al. In vitro potentiation of carbapenems with ME1071, a novel metallo-beta-lactamase inhibitor, against metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(9): 3625-3629.
- [19] Wiskirchen DE, Crandon JL, Furtado GH, et al. In vivo efficacy of a human-simulated regimen of ceftaroline combined with NXL104 against extended-spectrum-beta-lactamase (ESBL)-producing and non-ESBL-producing *Enterobacteriaceae*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(7): 3220-3225.
- [20] Laudano JB. Ceftaroline fosamil: a new broad-spectrum cephalosporin[J]. J Antimicrob Chemother, 2011, 66 Suppl 3: S11-18.
- [21] Vidaillac C, Leonard SN, Sader HS, et al. In vitro activity of ceftaroline alone and in combination against clinical isolates of resistant gram-negative pathogens, including beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(7): 3226-3231.
- [22] Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, et al. Carbapenems: past, present, and future[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(11): 4943-4960.
- [23] 王秀琴, 柯森方, 张春柳. 亚胺培南/西司他丁钠与美罗培南治疗重症感染的成本-效果分析[J]. 中国综合临床, 2013, 29(4): 387-389.
- [24] Bazaz R, Chapman AL, Winstanley TG. Ertapenem administered as outpatient parenteral antibiotic therapy for urinary tract infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing Gram-negative organisms[J]. J Antimicrob Chemother, 2010, 65(7): 1510-1513.
- [25] 彭卡, 杨秀珍, 陆怡. 多尼培南的药理和临床研究[J]. 中国新药杂志, 2007, 16(5): 414-416.
- [26] Paterson DL, Depestele DD. Doripenem[J]. Clin Infect Dis, 2009, 49(2): 291-298.
- [27] 杜丰, 苏雪松, 边晓慧, 等. 比阿培南治疗急性细菌性感染的多中心随机对照临床试验[J]. 中国临床药理学杂志, 2010, 26(2): 83-88.
- [28] 刘文静, 王瑶, 刘勇, 等. 比阿培南等 3 种碳青霉烯类抗生素的体外抗菌活性[J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10(6): 468-471.
- [29] 何菊英, 刘松青, 藏雷. 新型碳青霉烯帕尼培南-倍他米隆的药理研究和临床应用[J]. 中国新药与临床杂志, 2003, 22(2): 103-107.
- [30] 何菊英, 刘松青, 林彩. 帕尼培南/倍他米隆的体外抗菌活性研究[J]. 中国抗生素杂志, 2003(01): 26-31+59.
- [31] Kishii K, Chiba N, Morozumi M, et al. In vitro activity of tebipenem, a new oral carbapenem antibiotic, against beta-lactamase-non-producing, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(9): 3970-3973.
- [32] Cielecka-Piontek J, Zalewski P, Barszcz B, et al. Stress degradation studies of tebipenem and a validated Stability-Indicating LC method[J]. Chromatographia, 2013, 76(7-8): 381-386.
- [33] Sugihara K, Sugihara C, Matsushita Y, et al. In vivo pharmacodynamic activity of tompopenem (formerly CS-023) against *Pseudomonas aeruginosa* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a murine thigh infection model[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(12): 5298-5302.

(收稿日期:2013-10-01)

• 综述 •

miRNA-29b 在肿瘤中的研究进展

周胤余 综述, 王玉明 审校

(昆明医科大学第一附属医院检验科, 昆明 650032)

关键词: 微 RNA; 肿瘤; 综述

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.04.029

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)04-0449-04

微小 RNA(miRNA)是小的非编码 RNA, 在转录后调控基因的表达, 包括抑制蛋白的翻译或降解 mRNA。miRNA 可抑制或促进肿瘤的生长, 其异常表达与各种肿瘤密切相关。有研究表明, miRNA 在肿瘤的发生发展过程中是作为癌基因还是

抑癌基因发挥作用, 这取决于它们调控的靶点^[1]。如有些 miRNA 作用于 PTEN 或 PUMA, 发挥抑癌基因的作用, 而有些 miRNA 作用于 MET, 发挥癌基因的作用。miRNA-29 是 miRNAs 家族中的一个重要组成部分, 主要包括 miRNA-29a、

miRNA-29b 和 miRNA-29c 在多种生物中均高度保守。其中 miRNA-29b-1/miRNA-29a 定位于染色体 7q32.3, miRNA-29b-2/miRNA-29c 定位于染色体 1q32.2。有研究表明, miRNA-29b 在正常组织中高表达, 在当今全球常见的肿瘤如慢性髓细胞白血病、肝癌、肺癌、乳腺癌等中表达异常^[2-5], 而在神经纤维瘤、肉瘤、脑肿瘤等多种实体瘤中表达下降^[6], 可能与这些肿瘤的发生、发展及转移有关。miRNA-29b 可使一些潜在的癌基因沉默而充当抑癌基因的角色, 其机制可能与 miRNA-29b 参与细胞的凋亡, 阻止甲基化水平和一些信号转导通路有关。本文主要从这几方面叙述 miRNA-29b 在肿瘤中的调控机制。

1 miRNA-29b 与调控凋亡及细胞周期相关基因的关系

在肿瘤的发生中, 调控的关键机制是肿瘤细胞的凋亡调控。越来越多的证据表明, miRNA-29 在细胞凋亡中与多个凋亡因子有关, 它们相互作用, 形成一个强大的网络连接, 从而抑制肿瘤细胞的生长。其中 Bcl-2 家族成员在其中发挥主要作用, 包括 Bim, Puma, Mcl-1 和 Bmf 等。现目前, Mcl-1 研究较多, 其在胆管癌细胞株 (KMCH)、AML 细胞株 (K562) 和肝癌细胞株 (HCC) 中的调控机制研究都有报道。Xiong 等^[3] 研究发现增强 miRNA-29 表达能诱导 Mcl-1 蛋白表达的增多, 增强恶性肿瘤细胞对放疗、化疗的敏感性, 这表明 miRNA-29 对 Mcl-1 的调控在肿瘤治疗中有应用价值。另外一个方面, miRNA-29 促凋亡功能是依赖 P53 途径, 而 P53 是众所周知在各种类型肿瘤中的抑癌基因。Park 等^[7] 证实 miR-29b 是 P53 正向调控因子, 其靶向作用于 P53 抑制因子 P85a 和细胞分裂周期 42 (CDC42)。因为 P53 上没有 miRNA-29 的结合位点, 所以 miRNA-29 是与 P85a 和 CDC42 基因的 3'UTR 结合, 抑制 P85a 和 CDC42 的表达从而上调 P53 的表达。进一步的研究发现, miR-29b 能增强 P53 蛋白的稳定性, 且强力霉素 (Dox) 能增强 miR-29b 激活 P53 的敏感性。因此 Park 等认为在肿瘤细胞中, miR-29b 异常减少可以降低 P53 的基础表达水平, 而增加 miR-29b 的表达能恢复 P53 的活性, 这个研究为 miRNAs 参与 P53 途径的细胞凋亡和癌症的治疗提供了新策略。

肿瘤的发展还与细胞增殖有关, 而增殖依赖于细胞周期的调控, 细胞周期调控的功能障碍可能会导致细胞死亡或异常增殖。CDK6 是一个重要的细胞周期蛋白依赖性激酶, 是 miR-29b 的直接靶点, 可使视网膜母细胞瘤 (Rb) 蛋白磷酸化, 从而抑制肿瘤细胞的增殖。Zhao 等^[8] 研究表明, 在 MCL 中 CDK6 直接与 miR-29s 结合后, 下调 miR-29a/b/c 的表达而引起 CDK6 表达上调, 这种结果与在急性骨髓性白血病中的研究一致。其机制是 miR-29b 能减少 CDK6 与 cyclin D1 的结合, 以进一步削弱细胞周期进度和抑制肿瘤细胞的增殖。有趣的是, 在宫颈癌的发生中 CDK6 也被确定为是与 HPV 相关的靶基因, 之前 miR-29b 被确定过是 HPV 的靶基因。这表明 miR-29b 可能与 CDK6 协同作用于能引起肿瘤的特定病毒^[9]。

2 miR-29b 与甲基化

DNA 甲基化是最早发现的基因修饰途径之一, 在肿瘤中普遍存在 DNA 甲基化状态的改变, 在肿瘤的发生发展中起重要作用。负责 DNA 甲基化的酶主要有 DNMT1、DNMT3A 和 DNMT3B, 其功能是维持甲基化状态和从头甲基化。近年来研究发现, miR-29b 可调控基因组甲基化。如在肺癌中^[4], miR-29b 直接靶向调控 DNMT3A 和 DNMT3B, 使其表达下调, 从而抑制甲基化水平; 增强肺癌中 miR-29b 表达可降低总体 DNA 甲基化水平, 恢复肿瘤抑制基因的表达, 抑制体内和

体外肿瘤的生长。Takada 等^[10] 进一步用荧光素酶报告系统在 NIH3T3 细胞株中证实, DNMT3A 和 DNMT3B 是 miR-29b 的靶基因。研究者构建了含有 DNMT3A 和 DNMT3B 的 3'UTR 质粒, 与 miR-29b 共转染到高效表达的 NIH3T3 细胞中, 其中这两种甲基转移酶的 3'UTR 含有 miR-29b 的结合位点, 转染后发现荧光素酶的活性增高, 且只有野生型的 DNMT3A 和 DNMT3B 载体组活性增高, 突变型不增高, 说明 miR-29b 的靶基因是野生型的 DNMT3A 和 DNMT3B, 其表达情况直接影响靶基因的表达, 从而调控基因的甲基化水平。Garzon 等^[11] 也发现, 锌指样结构转录因子 SPI 可直接结合到 DNMT1 启动子区, 调节 DNMT1 基因转录, 以通过 miR-29b 抑制 SPI, 从而干扰 SPI 依赖的 DNMT1 转录使 DNMT1 表达下调; 并且证实 AML 细胞株中, miRNA-29b 过表达能有效地诱导总体 DNA 低甲基化, 可使超甲基化和沉默的 P15INK4b 和 ESRI 基因再表达。而 P15INK4b 和 ESRI 基因再表达时, 可检测到这两种基因启动子区域 DNA 甲基化水平显著降低。以上研究不仅证明了 miRNA-29b 能调控甲基化水平, 而且是负向调控。

3 miR-29b 与信号通路

miRNA-29b 在发挥其生物学功能的过程中, 所涉及的信号通路是错综复杂的, 它在肿瘤细胞中发挥的凋亡、甲基化、纤维化, 乃至免疫调控作用都是由各个癌基因、抑癌基因和细胞因子等组成一个庞大的网络连接, 互相发挥作用完成的。在许多肿瘤中存在 c-Src 激酶, 通过抑制 DNA 结合/分化位点 1 (ID1) 来调控癌细胞的侵袭能力, 即 Src-ID1 信号转导通路。Rothschild 等^[12] 发现 miR-29b 参与 Src-ID1 信号转导通路, 且是一个重要的调节器, 能调控肺腺癌细胞的侵袭能力, 并且是 Src 激酶的潜在抑制剂。更进一步的研究证实 miR-29b 是结合到 ID1 的 3'UTR。把含有反义 miR-29b 片段的慢病毒载体转染到人肺癌细胞株, 会导致 ID1 和 MMP9 的表达增强, 细胞基质的侵袭能力也增强。

上皮细胞-间充质转化 (EMT) 通路在肿瘤发展中是一个重要的细胞过程, 包括上皮细胞在形态学上向间质细胞表型的转变, 具有了成纤维细胞样的特性以及使得细胞间黏附减少、移动增加。而最近研究的 miRNA 在肿瘤 EMT 信号通路中也起着相当重要的作用。Ru 等^[13] 发现在前列腺癌中 miR-29b 的表达是通过 EMT 信号通路调控来发挥作用, 且通过抑制 miR-29b 在 LNCaP 细胞中的表达来证实 miR-29b 的作用靶点是 Snail 基因, 该基因调控细胞的迁移。与 EMT 有关的信号通路元件主要有 Wnt/PCP、TGF-β、Notch 等。其中关于 TGF-β 参与肿瘤 EMT 过程的报道目前最多, 其机制主要是通过 Smad 依赖通路和非 Smad 依赖通路完成的。Luna 等^[14] 研究发现, 在小梁细胞中, miRNA-29b 是 ECM 及 TGF-β1 和 TGF-β2 的负调控因子, 位于 TGF-β 信号通路的下游, 并与 TGF-β 之间直接作用。

4 miR-29b 与肿瘤

miRNA-29b 在肿瘤发生发展中的调控机制除了上面所述的凋亡、甲基化、EMT 信号通路外, 还存在纤维化、免疫调节等调控机制, 甚至对肾移植患者的急性排斥反应都有影响^[15]。虽然最近多数的研究明确认为, 在肿瘤中 miRNA-29b 是下调的, 尤其是肿瘤的进展期。但是仍然有一些研究表明 miRNA-29b 有相反的作用, 是转录上调的。比如一些相关的转录因子 CEBPA (CCAAT/增强子结合蛋白 α)、P53、SMAD3 及经典 Wnt 信号通路都能激活 miRNA-29b 在各种细胞类型中的表

达。与大多数研究突出 miRNA-29b 抑制肿瘤的性质相比,在乳腺癌和原发性黑色素瘤中,却报道了相反的表达模式和担当的角色。Wang 等^[5]报道 miRNA-29b 在高度转移性乳腺癌中的表达比低转移性乳腺癌中的表达上调,并发现 miRNA-29b 有促进癌细胞迁移和侵袭及增加抗细胞凋亡的功能。然而,该研究在健康对照组织和原发肿瘤中没有分析其 miRNA-29b 的基础表达水平。

miRNA-29b 除了与肿瘤形成过程直接相关,还与其他疾病有着密切的关系,如心血管疾病、糖尿病和肝硬化^[16-18]等。其中与肿瘤密切的疾病如肝纤维化和肺纤维化就是由 miRNA-29b 参与的纤维化机制调控的。Roderburg 等^[18]研究表明 miRNA-29b 是肝纤维化患者的生物标志物,在肝细胞株中,miRNA-29b 下调能激活患者的肝星状细胞(HSCs);转染 miRNA-29b 后,肝细胞中许多胶原蛋白的表达明显减弱。虽然目前还没有肺纤维化与肺癌之间明确关系的证据,但矽肺和石棉肺被认为是致瘤性纤维化疾病的主要病因。所以 miRNA-29b 可能是一种新的纤维化治疗靶点,能使癌症的发病率下降。

迄今为止,文献报道的 miRNA-29b 在肿瘤中的表达情况见表 1。

表 1 miRNA-29b 在肿瘤中的表达情况

肿瘤	标本类型	表达情况	参考文献
急性髓细胞性白血病(AML)	患者骨髓	下调	[19]
慢性髓细胞白血病(CML)	细胞株	下调	[2]
慢性淋巴细胞白血病(CLL)	患者的淋巴细胞	下调	[20]
胆管癌	细胞株	下调	[21]
大肠癌	组织	下调	[22]
胶质母细胞瘤	组织	下调	[23]
横纹肌肉瘤	细胞株和组织	下调	[24]
肝癌	组织	下调	[3]
肺癌	组织	下调	[12]
套细胞淋巴瘤	组织	下调	[8]
前列腺癌	细胞株	下调	[13]
慢性淋巴细胞白血病(CLL)	组织	上调	[25]
乳腺癌	组织	上调	[5]
原发性黑色素瘤	组织	上调	[26]

5 小结

miRNA-29b 在肿瘤中的作用和其影响是否依赖组织特异性,应该得到进一步的阐明。目前较多的研究表明,miRNA-29b 充当其抑癌基因或癌基因的角色主要取决于与靶基因的 3'UTR 结合方式,除了研究 miRNA-29b 的生物学功能外,更值得关注的是其临床应用。其异常表达为生物标志物研究提供可能,但是 miRNA-29b 在不同肿瘤中的表达是上调还是下调,异常表达量有多大的差异,并且量与病情的进展程度有没有关系,这些都需要去进一步的研究。所以在明确了 miRNA-29b 具体表达变化及生物学功能后,它不仅能作为肿瘤的标志物,还能为肿瘤的治疗提供一种新途径,希望这将是一种更简便和特异的手段。

参考文献

- Iorio MV, Croce CM. Causes and Consequences of microRNA dysregulation[J]. Cancer J, 2012, 18(3): 215-222.
- Li Y, Wang H, Tao K, et al. miR-29b suppresses CML cell proliferation and induces apoptosis via regulation of BCR/ABL1 protein[J]. Exp Cell Res, 2013, 319(8): 1094-1101.
- Xiong Y, Fang JH, Yun JP, et al. Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity, and prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. Hepatology, 2010, 51(3): 836-845.
- Fabbri M, Garzon R, Cimmino A, et al. MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung Cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(40): 15805-15810.
- Wang C, Bian Z, Wei D, et al. miR-29b regulates migration of human breast Cancer cells[J]. Mol Cell Biochem, 2011, 352(1/2): 197-207.
- Xu H, Cheung IY, Guo HF, et al. MicroRNA miR-29 modulates expression of immunoinhibitory molecule B7-H3: potential implications for immune based therapy of human solid tumors[J]. Cancer Res, 2009, 69(15): 6275-6281.
- Park SY, Lee JH, Ha M, et al. miR-29 miRNAs activate p53 by targeting p85 alpha and CDC42[J]. Nat Struct Mol Biol, 2009, 16(1): 23-29.
- Zhao JJ, Lin J, Lwin T, et al. microRNA expression profile and identification of miR-29 as a prognostic marker and pathogenetic factor by targeting CDK6 in mantle cell lymphoma[J]. Blood, 2010, 115(13): 2630-2639.
- Li Y, Wang F, Xu J, et al. Progressive miRNA expression profiles in cervical carcinogenesis and identification of HPV-related target genes for miR-29[J]. J Pathol, 2011, 224(4): 484-495.
- Takada S, Berezikov E, Choi YL, et al. Potential role of miR-29b in modulation of Dnmt3a and Dnmt3b expression in primordial germ cells of female mouse embryos[J]. RNA, 2009, 15(8): 1507-1514.
- Garzon R, Liu S, Fabbri M, et al. MicroRNA-29b induces global DNA hypomethylation and tumor suppressor gene reexpression in acute myeloid leukemia by targeting directly DNMT3A and 3B and indirectly DNMT1[J]. Blood, 2009, 113(25): 6411-6418.
- Rothschild SI, Tschan MP, Federzoni EA, et al. MicroRNA-29b is involved in the Src-ID1 signaling pathway and is dysregulated in human lung adenocarcinoma[J]. Oncogene, 2012, 31(38): 4221-4232.
- Ru P, Steele R, Newhall P, et al. miRNA-29b suppresses prostate Cancer metastasis by regulating epithelial-mesenchymal transition signaling[J]. Mol Cancer Ther, 2012, 11(5): 1166-1173.
- Luna C, Li G, Qiu J, et al. Cross-talk between miR-29 and transforming growth factor-betas in trabecular meshwork cells[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(6): 3567-3572.
- 黄海燕, 陈梅梅, 许晓光, 等. 肾移植受者外周血单个核细胞中 miR-29 与急性排斥反应的相关性研究[J]. 中华器官移植杂志, 2013, 34(3): 174-177.
- van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(35): 13027-13032.
- Pandey AK, Verma G, Vig S, et al. miR-29a levels are elevated in the db/db mice liver and its overexpression leads to attenuation of insulin action on PEPCK gene expression in HepG2 cells[J]. Mol Cell Endocrinol, 2011, 332(1-2): 125-133.
- Roderburg C, Urban GW, Bettermann K, et al. Micro-RNA profiling reveals a role for miR-29 in human and murine liver fibrosis [J]. Hepatology, 2011, 53(1): 209-218.
- Eyholzer M, Schmid S, Wilkens L, et al. The tumour-suppressive miR-29a/b1 cluster is regulated by CEBPA and blocked in human

- AML[J]. Br J Cancer, 2010, 103(2):275-284.
- [20] Visone R, Rassenti LZ, Veronese A, et al. Karyotype-specific microRNA signature in chronic lymphocytic leukemia[J]. Blood, 2009, 114(18):3872-3879.
- [21] Mott JL, Kobayashi S, Bronk SF, et al. miR-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis[J]. Oncogene, 2007, 26(42): 6133-6140.
- [22] Cummins JM, He Y, Leary RJ, et al. The colorectal microRNAome[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(10):3687-3692.
- [23] Cortez MA, Nicoloso MS, Shimizu M, et al. miR-29b and miR-125a regulate podoplanin and suppress invasion in glioblastoma

- [J]. Genes Chromosomes Cancer, 2010, 49(11):981-990.
- [24] Wang H, Garzon R, Sun H, et al. NF-kappaB-YY1-miR-29 regulatory circuitry in skeletal myogenesis and rhabdomyosarcoma[J]. Cancer Cell, 2008, 14(5):369-381.
- [25] Santanam U, Zanesi N, Efanov A, et al. Chronic lymphocytic leukemia modeled in mouse by targeted miR-29 expression[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(27):12210-12215.
- [26] Philippidou D, Schmitt M, Moser D, et al. Signatures of microRNAs and selected microRNA target genes in human melanoma [J]. Cancer Res, 2010, 70(10):4163-4173.

(收稿日期:2013-10-05)

• 综述 •

万古霉素中介金黄色葡萄球菌及其相关二元调控系统

丁丁¹综述,马筱玲^{2△},鲁怀伟²审校

(1. 蚌埠医学院,安徽蚌埠 233000;2. 安徽省立医院检验科,合肥 230001)

关键词:金黄色葡萄球菌; 二元调控系统; 耐药性; 综述**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.04.030**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2014)04-0452-03

金黄色葡萄球菌是一种在环境中普遍存在的革兰阳性球菌,致病力强,可引起局部化脓、肺炎、关节炎、心包炎,甚至败血症、脓毒症等严重感染。近年来,金黄色葡萄球菌的耐药性逐年增加,其中最严重的是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)。临床治疗MRSA感染以万古霉素为首选,然而随着万古霉素用量的增加,敏感性逐渐降低。金黄色葡萄球菌对万古霉素耐药主要分为三个类型:万古霉素耐药金黄色葡萄球菌(VRSA)、万古霉素中介金黄色葡萄球菌(VISA)和异质性万古霉素中介金黄色葡萄球菌(hVISA)。其中VRSA耐药机制主要与VanA基因有关,而VISA并没有明确的基因改变,它的耐药机制主要包括细胞壁增厚、肽聚糖交联的改变、青霉素结合蛋白的改变、自溶系统的抑制以及代谢的改变等。已有的研究发现,VISA中二元调控系统参与调节万古霉素耐药性的形成机制。

二元调控系统是存在于细菌和真菌中的一种信号转导机制,其中又以细菌中最为广泛。典型的二元调控系统由组氨酸激酶和反应调控蛋白两个部分组成,每个部分包括两个结构域,其中组氨酸激酶包括传感器结构域和传递器结构域,反应调控蛋白包括接收器结构域和效应器结构域^[1]。当组氨酸激酶的传感器结构域感应到外界或内部环境发生变化时,催化ATP依赖的特定的组氨酸残基自身磷酸化,然后反应调控蛋白将磷酸基团转移到其同源的接收器结构域的天冬氨酸残基上。这改变了一种DNA结合的效应器结构域的活性,从而产生了一系列生物学效应。大量研究证实,某些二元调控系统的变异或过度表达是参与万古霉素敏感性下降最重要的调控^[2]。本文将对与VISA相关的二元调控系统的结构及其调节万古霉素的耐药机制进行综述。

1 万古霉素耐药相关的调节系统

万古霉素耐药相关的调节系统(VraSR)是磷酸转移酶介导的二元调控系统,由组氨酸激酶VraS和反应调控蛋白VraR两个部分组成。VraSR在保持细胞壁肽聚糖完整性上

起重要作用,能迅速感应细胞壁的损害并做出相应的反应。在金黄色葡萄球菌中,VraSR二元调控系统的基因突变或表达增加在对万古霉素的耐药上起到了重要的作用。VISA中的VraSR有明显地表达上调,该调节系统可正向调节细胞壁肽聚糖的合成,造成细菌细胞壁增厚^[2]。VraSR系统还调节许多与细胞壁合成有关的基因,如编码pbp2的基因pbpB高表达在VISA中也发挥着重要的作用^[3],pbp2与万古霉素竞争结合肽聚糖前体上的活性靶位,阻碍了万古霉素与靶位结合,导致耐药的产生。近来有报道对42株VISA菌株的遗传分析证实了与糖肽类抗菌药物耐药密切关联的氨基酸替换主要发生在VraS,其中第5位的亮氨酸突变为天冬氨酸,第329位的丝氨酸突变为亮氨酸是万古霉素的常见突变点。这些点突变在VraSR二元调控系统的过度表达是导致万古霉素耐药性增加的关键因素^[4-5]。Doddangoudar等^[6-7]在体外诱导临床菌株试验中还发现万古霉素对金黄色葡萄球菌敏感性降低与VraSR基因中第1位氨基酸的突变有关。

2 糖肽类耐药相关调节系统

参与磷酸转移酶介导信号转导通路的糖肽类耐药相关调节系统(GraSR)的二元调控基因由组氨酸激酶GraS和反应调控蛋白GraR组成。GraSR二元调控系统在维持细胞壁肽聚糖的完整性和协调金黄色葡萄球菌响应细胞壁损坏中起核心作用。GraSR二元调控系统的表达使得金葡萄对万古霉素的MIC值升高到VISA水平。有研究发现GraSR基因在VISA中呈过表达趋势。过度表达的GraSR基因造成细菌细胞壁显著增厚以及其自溶系统的抑制^[2],自溶活动的下降可以增加细胞壁肽聚糖的集聚,减少万古霉素的渗透率,从而导致耐药性的产生。Highlander等^[8]通过对VISA菌株的研究发现GraR氨基酸序列中第1197位的天冬酰胺突变为丝氨酸与万古霉素的耐药性有关。还有报道指出GraR蛋白构象变化导致GraSR基因的突变可能会激活没有信号输入的信号转换器GraS的反应调节功能^[9],造成万古霉素敏感性的下降。研究