

· 论 著 ·

血流感染金黄色葡萄球菌不同耐药株生物膜形成能力和毒力关系研究^{*}

王 娟, 汤英贤, 陈凌娟, 叶海恩, 徐令清[△]

广州医科大学附属清远医院/清远市人民医院检验科, 广东清远 511518

摘要:目的 探讨血流感染金黄色葡萄球菌(SA)不同耐药株生物膜形成能力和毒力关系。方法 收集 42 株血流感染 SA 并使用 BDM50 全自动细菌鉴定药物敏感系统进行鉴定和药物敏感试验, 结晶紫染色法测定生物膜形成能力, 通过检测胞外脂肪酶、胞外蛋白酶和溶血素及大蜡螟幼虫毒力试验评估其毒力。结果 42 株血流感染 SA 中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)有 16 株(38.10%); 42 株血流感染 SA 有 25 株(59.50%)具有生物膜形成能力, 其中甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)有 18 株, MRSA 有 7 株; 42 株血流感染 SA 中 37 株(88.10%)能产生溶血素、18 株(42.90%)能产胞外蛋白酶、没有能产生胞外脂肪酶的菌株; 大蜡螟幼虫毒力试验显示 MRSA 的毒力强于 MSSA。结论 MRSA 相对于 MSSA 产生胞外酶的占比更高, 毒力更强, 生物膜的形成能力相对较弱。

关键词: 血流感染; 金黄色葡萄球菌; 生物膜; 毒力

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2025.14.016

中图法分类号: R378.2

文章编号: 1673-4130(2025)14-1753-06

文献标志码: A

Study on the relationship between biofilm formation ability and virulence of various drug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* in bloodstream infections^{*}

WANG Juan, TANG Yingxian, CHEN Lingjuan, YE Haien, XU Lingqing[△]

Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Medical University Affiliated Qingyuan Hospital/Qingyuan People's Hospital, Qingyuan, Guangdong 511518, China

Abstract: **Objective** To explore the relationship between biofilm formation ability and virulence of various drug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* (SA) in bloodstream infections. **Methods** A total of 42 strains of bloodstream infection SA were collected and identified and tested for drug sensitivity using the BDM50 automatic bacterial identification drug susceptibility system. The biofilm formation ability was determined by crystal violet staining. The virulence was evaluated by detecting extracellular lipase, extracellular protease, and hemolysin, as well as conducting a toxicity test with *Galleria mellonella* larvae. **Results** Among the 42 strains of bloodstream infection SA, there were 16 strains (38.10%) of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Among the 42 bloodstream infected SA strains, 25 strains (59.50%) had the ability to form biofilms, among which there were 18 strains of methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) and 7 strains of MRSA. Among the 42 SA strains with bloodstream infection, 37 strains (88.10%) produced hemolysin, 18 strains (42.90%) produced extracellular protease, and no strains produced extracellular lipase. The *Galleria mellonella* larvae toxicity test showed that MRSA had stronger virulence than MSSA. **Conclusion** Compared with MSSA, MRSA has a higher proportion of extracellular enzymes produced, stronger virulence, and relatively weaker ability to form biofilms.

Key words: bloodstream infections; *Staphylococcus aureus*; biofilm; virulence

金黄色葡萄球菌(SA)是一种广泛存在于医院感染和环境中的常见细菌^[1]。它通常生存在人体的鼻腔和皮肤表面, 可以引起上呼吸道感染、皮肤感染、食物中毒和医疗设备污染等疾病。SA 能够分泌一种细胞外聚合物, 称为生物膜。生物膜表层的细菌和浮游

菌对抗菌药物敏感, 而里层的细菌往往具有较强的抗菌药物抵抗力和免疫系统抵抗力^[2]。形成生物膜后, 细菌可以散播并定植在新的环境中, 再次形成新的生物膜^[3]。这使得常见的抗菌药物很难杀灭已形成生物膜的细菌, 导致 SA 感染反复发作难以去除。近年

^{*} 基金项目: 广东省中医药局项目(20201407)。

作者简介: 王娟, 女, 主管技师, 主要从事感染性疾病、耐药机制相关研究。 [△] 通信作者, E-mail: lingqing_xu@126.com。

来随着抗菌药物的广泛使用,SA 耐药性不断增强,已经成为治疗 SA 感染的重要难题。SA 携带不同的毒力基因,这些不同的毒力基因可以编码相应的毒力因子,从而导致相应的疾病。此外,SA 的致病力与其产生的胞外酶和细胞毒素密切相关^[4]。有研究表明,以大蜡螟幼虫为模型的病原体致病性试验结果与小鼠等哺乳动物的试验结果相比,具有较高的相关性,可以通过大蜡螟幼虫作为动物模型来检测 SA 的毒力强弱^[5]。本研究旨在通过分析临床信息、细菌培养和生物膜形成能力测定、胞外酶和细胞毒力的检测及耐药性分析等,探讨 SA 生物膜形成能力、细胞毒力和耐药性之间的关联,从而为血流感染 SA 的临床治疗提供参考依据。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 2023 年 1 月至 2024 年 1 月清远市人民医院检验科微生物室收集的临床血流感染 SA42 株。以上菌株用脱脂牛奶保存于 -80°C 冰箱。

1.2 仪器与试剂 大蜡螟幼虫(天津惠裕德生物科技有限公司);0.1%结晶紫染液(常德比克曼生物科技有限公司);血平板(郑州安图生物工程有限公司);脱脂牛奶 TSB(胰酪大豆胨液体培养基)、固体培养基、三丁酸甘油酯 TSB 固体培养基;PCR 引物[生工生物工程(上海)股份有限公司]; $2\times$ PCR Master Mix 和红染核酸凝胶染色剂(美国 MedChemExpress LLC);DNA 上样缓冲液和 D2000 DNA 分子量标准(北京索莱宝科技有限公司);DNA 分子量标准 II(北京博迈德基因技术有限公司);M Nano 全波长光吸收酶标仪[TECAN(瑞士帝肯) Infinite];BIOMATE160 紫外分光光度计(美国赛默飞世尔科技有限公司);Phoenix TM M50 全自动细菌鉴定药物敏感系统(美国 BD 公司);Bio-Rad PCR 扩增系统、Bio-Rad PCR 电泳仪、Bio-Rad PCR 凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 方法

1.3.1 药物敏感试验 通过 BD Phoenix TM M50 全自动细菌鉴定药敏实验系统使用配套的革兰阳性鉴定/药敏实验复合板进行鉴定药敏实验,根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI)2019 年标准^[6]规定的折点判读敏感、中介和耐药,质控菌株为 SA ATCC29213。

1.3.2 生物膜形成能力测定 (1)菌液制备:42 株 SA 分别划线接种于血平板, 37°C 培养 24 h,挑取单个菌落于摇床 37°C ,220 r/min 中培养 24 h,用肉汤配成 1.0×10^6 CFU/mL 的菌悬液。(2)结晶紫染色:结晶紫用于检测细菌生物膜时,可以与细菌结合并染色,它通过将未染色和已染色的细菌区分开来,来测量生物膜的厚度和密度,已形成的生物膜可以阻止染料的渗透,从而使内部的细菌不被染色。因此,通过结晶紫染色,可以了解生物膜的熟度和厚度。结晶紫

染色的方法参照文献[7]进行操作。96 孔板每孔加入稀释菌液 200 μL ,每株分别做 3 个平行孔,同时设立无细菌的肉汤培养液作为空白对照孔; 37°C 静置孵育 24 h 后弃去上清液,用无菌磷酸缓冲盐溶液(PBS)清洗浮游菌 3~5 次,晾干;加入甲醇固定 15 min,晾干;用 0.1%结晶紫溶液染色 5 min,无菌 PBS 清洗并晾干(清洗至空白对照无色);加入 33%的冰乙酸溶液 37°C 溶解 30 min;在 570 nm 波长下,用酶标仪测定 96 孔板中溶液的吸光度值。界定不同生物膜形成能力的标准如下:以空白对照作为阴性对照,设定阴性值的 2 倍为界限值(D_c),将菌株分为以下 3 类,(1)强生物膜形成株($D>2\times D_c$);(2)弱生物膜形成株($D_c<D\leq 2\times D_c$);(3)无生物膜形成株($D\leq D_c$)。

1.3.3 平板法测定 SA 溶血素、胞外蛋白酶、脂肪酶毒性 血平板是用于测定溶血素,脱脂牛奶平板是用于测定胞外蛋白酶,三丁酸甘油酯平板是用于测定脂肪酶。用移液枪吸取 2 μL 活化后的菌液接种于血平板、TSB 脱脂牛奶平板和 TSB 三丁酸甘油酯平板上,静置约 3 min,待菌液被培养基吸收后,再将平板放于 37°C 恒温培养箱培养 24 h 后置于室温下放置 48 h,观察菌落生长情况。

1.3.4 SA 对大蜡螟幼虫的毒力检测 (1)菌株最适接种浓度毒力检测试验。从耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)和甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌(MSSA)中各随机挑选 1 株 SA,复苏后分别用接种环蘸取菌液接种到血平板中,培养 24 h 后,分别挑取单个菌落接种至肉汤培养基中,于水浴恒温振荡器中振荡过夜培养(37°C ,220 r/min),并用 PBS 稀释成 4 个浓度梯度。试验分为 9 组,每组 8 只幼虫,共 72 只幼虫。随机选取的 2 株 SA 皆设定 4 个浓度梯度,分别注射 10 μL 浓度为 1.0×10^7 CFU/mL、 1.0×10^6 CFU/mL、 1.0×10^5 CFU/mL、 1.0×10^4 CFU/mL 的菌液。最后一组的幼虫则注射 10 μL 的无菌 PBS 缓冲液作为阴性对照。每组的操作除菌液浓度不同外其他皆一致。接种完毕的大蜡螟幼虫放置于一次性无色透明塑料培养皿内, 37°C 孵育 72 h。每 8 h 观察 1 次,记录培养皿中大蜡螟幼虫的死亡数量。通过生存曲线图选择最适宜的接种浓度。(2)大蜡螟幼虫动物模型测定各组菌株毒力。菌液制备方法:挑取单个菌落分别配备成 1.0×10^7 CFU/mL、 1.0×10^6 CFU/mL、 1.0×10^5 CFU/mL、 1.0×10^4 CFU/mL 浓度依照上述的试验结果,挑选活性良好的大蜡螟幼虫进行试验。本研究包括 42 株 SA 和以空白对照作为阴性对照共 43 组,每组 8 只幼虫。42 株 SA 分为 MRSA 和 MSSA,每只幼虫都接种 10 μL 最适浓度菌液,阴性对照注射 10 μL 的无菌 PBS 缓冲液。每只幼虫除菌株种类不同外,其余操作皆相同。接种成功的幼虫放置 37°C 黑暗环境中培养 72 h,每隔 8 h 观察 1 次结果。大蜡螟幼虫的死亡标准为虫体黑化,或对机械刺

激无反应。

1.3.5 MRSA、MSSA 判断标准 对苯唑西林耐药药或头孢西丁诱导试验阳性的 SA。MRSA 检测参照 2004 年美国临床实验室标准化委员会推荐用头孢西丁纸片法进行检测 MRSA。挑取单个菌落,调整菌悬液的浊度为 0.5 麦氏单位,均匀涂布于 M-H 平板。贴上 30 μg 头孢西丁纸片,在 37 ℃下培养 24 h 观察结果。头孢西丁纸片法的判定标准为抑菌环直径≤19 mm 判定为 MRSA。MSSA 指对 β-内酰胺类抗菌药物敏感的金黄色葡萄球菌菌株,头孢西丁纸片扩散法,抑菌圈直径≥22 mm。头孢西丁 MIC 法, MIC 值≤4 μg/mL。临床意义表示敏感(MSSA)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,行 t 检验,计数资料以例数和百分率表示,行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 临床分离 42 株血流感染 SA 的耐药性分析 42 株血流感染 SA 抗菌药物耐药情况见表 1。MRSA 和 MSSA 对于环丙沙星、四环素、庆大霉素、红霉素、克林霉素耐药率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

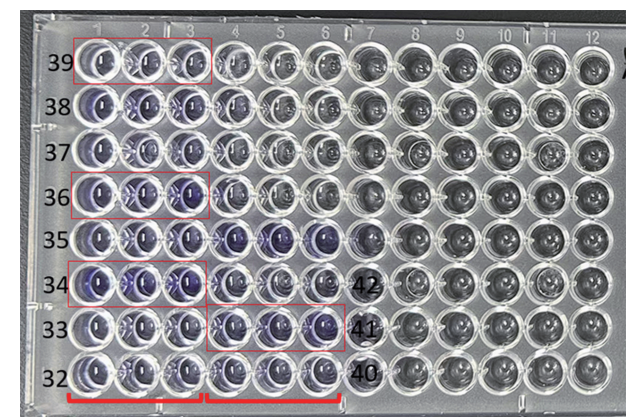
表 1 42 株血流感染 SA 各类抗菌药物耐药率[n(%)]		
抗菌药物	敏感	耐药
青霉素	2(4.76)	40(95.24)
环丙沙星	36(85.71)	6(14.29)
四环素	29(69.05)	13(30.95)
庆大霉素	39(92.86)	3(7.14)
红霉素	23(54.76)	19(45.24)
克林霉素	26(61.90)	16(38.10)
利奈唑胺	42(100.00)	0(0.00)
替考拉宁	42(100.00)	0(0.00)
万古霉素	42(100.00)	0(0.00)
甲氧苄啶-磺胺甲噁唑	42(100.00)	0(0.00)
利福平	39(92.86)	3(7.14)
高水平莫匹罗星	41(97.62)	1(2.38)

2.2 临床分离 42 株血流感染 SA 生物膜的形成能力 结晶紫染色显示,大部分临床分离的血流感染 SA 为产膜株。见图 1。其中,MRSA 的生物膜形成能力要弱于 MSSA,根据阴性对照界限值区分的 3 类菌株情况见表 3。

2.3 平板法测定 42 株血流感染 SA 溶血素、胞外蛋白酶和胞外脂肪酶毒力 溶血素、胞外蛋白酶和胞外脂肪酶的毒力测定表明,有些菌株可以同时存在不同的胞外酶,且胞外酶活性较强。见图 2。MRSA 产生溶血素和胞外蛋白酶的占比高于 MSSA,说明耐药性越强的菌株毒力相对越强。见表 4。

表 2 MRSA 和 MSSA 中各类抗菌药物耐药率[n(%)]				
抗菌药物	MRSA (n=16)	MSSA (n=26)	χ^2	P
青霉素	16(100.00)	24(92.31)	1.333	0.256
环丙沙星	6(37.50)	0(0.00)	5.013	0.001
四环素	9(56.25)	4(15.38)	8.444	0.005
庆大霉素	3(18.75)	0(0.00)	4.500	0.022
红霉素	12(75.00)	7(26.92)	10.286	0.002
克林霉素	12(75.00)	4(15.38)	16.000	<0.001
利奈唑胺	0(0.00)	0(0.00)	—	—
替考拉宁	0(0.00)	0(0.00)	—	—
万古霉素	0(0.00)	0(0.00)	—	—
甲氧苄啶-磺胺甲噁唑	0(0.00)	0(0.00)	—	—
利福平	2(12.50)	1(3.85)	0.934	0.290
高水平莫匹罗星	0(0.00)	1(3.85)	0.640	0.427

注:—表示无数据。



注:结晶紫染色后的 96 孔培养板中 32、33、35、37、38、40、42 为无产膜株,39、41 为弱产膜株,34、36 为强产膜株。

图 1 临床分离 42 株血流感染 SA 生物膜形成能力

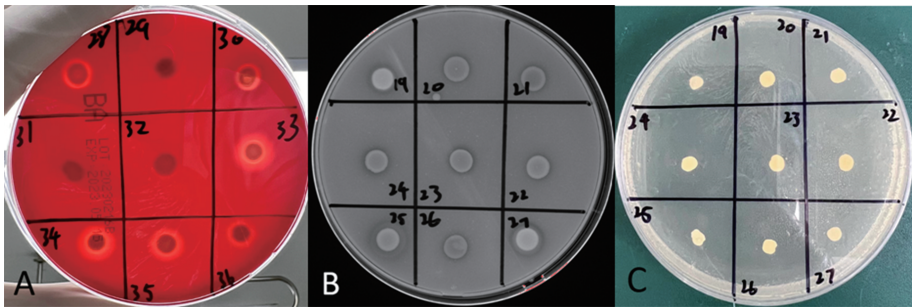
表 3 42 株血流感染 SA 结晶紫染色测定生物膜形成能力[n(%)]			
成膜能力	SA(n=42)	MRSA(n=16)	MSSA(n=26)
强产膜	5(11.90)	2(12.50)	3(11.54)
弱产膜	20(47.60)	5(31.25)	15(57.69)
无产膜	17(40.50)	9(56.25)	8(30.77)

表 4 不同毒力因子在药物敏感分型中占比[n(%)]					
毒力因子	SA (n=42)	MRSA (n=16)	MSSA (n=26)	χ^2	P
溶血素	37(88.10)	14(87.5)	23(88.46)	0.016	1.000
胞外蛋白酶	18(42.90)	9(56.25)	9(34.62)	2.083	0.210
胞外脂肪酶	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	—	—

注:—表示无数据。

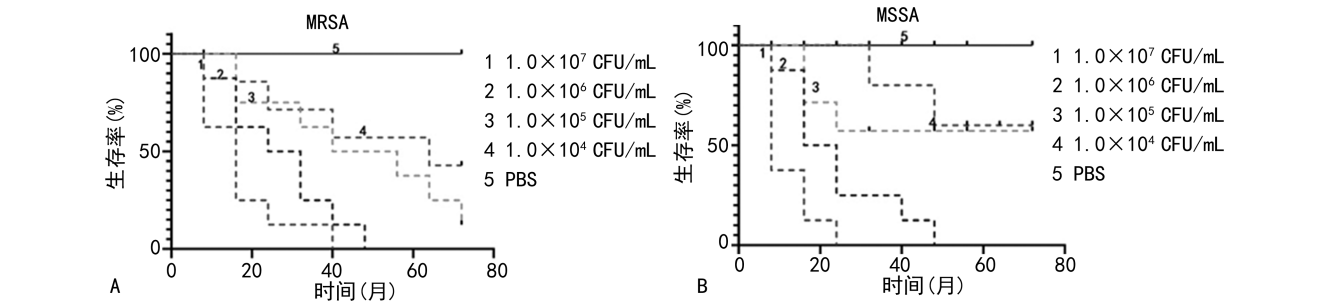
2.4 42 株血流感染 SA 对大蜡螟幼虫的毒力试验
2.4.1 同一菌株不同浓度菌液对大蜡螟幼虫的毒力试验 MRSA 和 MSSA 两种菌株都使大蜡螟幼虫的生存率出现明显下降,随着感染的菌株浓度增大,大蜡螟幼虫的生存率逐渐下降。接种 PBS 的大蜡螟幼

虫 72 h 内未见死亡。根据生存曲线将最适接种浓度 定为 1.0×10^5 CFU/mL。见图 3、表 5。



注:A 为血平板,28、30、33、34、35、36 为阳性;B 为脱脂牛奶平板,19、25、27 为阳性;C 为三丁酸甘油酯平板,19、20、21、22、23、24、25、26、27 为阴性。

图 2 平板法测毒力结果



注:A 为随机选取的 1 株 MRSA;B 为随机选取的 1 株 MSSA。

图 3 不同浓度菌液感染大蜡螟幼虫后的生存曲线

表 5 不同浓度菌液的大蜡螟幼虫生存率比较 (%)				
项目	20 h	40 h	60 h	80 h
1.0×10^7 CFU/mL	25	12	0	0
1.0×10^6 CFU/mL	62	25	0	0
1.0×10^5 CFU/mL	75	50	41	0
1.0×10^4 CFU/mL	89	75	57	0
PBS	100	100	100	100

2.4.2 不同耐药性菌株对大蜡螟幼虫的毒力试验
接种最适浓度后,无论是 MRSA 和 MSSA 都使大蜡螟幼虫的生存率出现不同程度的明显下降。经过独立样本 t 检验,在相同的观察时间点 MRSA 和 MSSA 感染大蜡螟幼虫的存活数量比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 6。由于本研究结果不符合球形检验 ($P<0.001$),使用 Greenhouse-Geisser 校正后,单因素重复测量方差分析的结果显示:接种 42 株不同菌株及不同测量时间的大蜡螟幼虫存活数量比较,差异有统计学意义 ($F=516.099, P<0.001$),随着培养时间增长,MRSA 存活数量小于 MSSA 存活数量,但不同的耐药菌株在不同的观察时间点的大蜡螟幼虫存活数量比较,差异无统计学意义 ($F=2.536, P=0.119$)。

2.5 42 株血流感染 SA 生物膜形成能力和毒力的关系
不同菌株的生物膜形成能力中各类毒力因子占比比较见表 7。

表 6 不同测量时间的大蜡螟幼虫存活数量比较 ($\bar{x}\pm s$, 个)				
时间	MRSA 存活数量	MSSA 存活数量	t	P
8 h	7.94 ± 0.25	7.96 ± 0.20	0.35	0.73
16 h	7.38 ± 0.22	7.50 ± 0.71	0.51	0.61
24 h	7.06 ± 1.12	6.85 ± 1.08	-0.62	0.54
32 h	6.38 ± 1.41	6.62 ± 1.27	0.57	0.57
40 h	5.25 ± 2.27	6.31 ± 1.72	1.72	0.09
48 h	4.56 ± 2.90	5.85 ± 2.22	1.52	0.14
56 h	4.00 ± 3.29	5.62 ± 2.58	1.68	0.11
64 h	3.44 ± 3.29	5.04 ± 2.60	1.75	0.09
72 h	2.56 ± 3.31	4.15 ± 2.71	1.70	0.10

表 7 不同生物膜形成能力中各类毒力因子占比 [n (%)]			
毒力因子	强产膜 ($n=5$)	弱产膜 ($n=20$)	无产膜 ($n=17$)
溶血素	3(60.00)	19(95.00)	15(88.24)
胞外蛋白酶	2(40.00)	7(35.00)	9(52.94)
胞外脂肪酶	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)

3 讨 论

SA 是一种能对人类健康造成重要影响的条件致病菌,它通常表现出多重耐药和高致病性的特点。由于抗菌药物的广泛使用,使得菌株承受了越来越高的抗药性选择压力,导致 MRSA 对多种抗菌药物出现了耐药性^[12]。本研究 中血流感染 SA 可产生溶血素 37 株(88.10%),18 株(42.9%)可产生胞外蛋白酶,

未发现产生胞外脂肪酶的菌株。

大蜡螟属于昆虫,其免疫反应中的血细胞和哺乳动物的免疫系统的中性粒细胞在结构和功能上高度相似^[13]。在生物基因组研究中,大蜡螟的某些编码产物与人类基因同源,并参与病原体的识别和信号转导等重要生物学过程^[14-16]。作为昆虫,与其他无脊椎动物模型宿主相比,又具有更先进的抗菌免疫系统^[17]。多项研究表明,大蜡螟幼虫模型病原体致病性试验大部分研究结果与小鼠哺乳动物模型抗菌药物活性呈正相关^[18-19]。本研究结果显示,大蜡螟幼虫不同菌株的毒力强弱之间具有显著差异,大蜡螟幼虫毒力试验显示 MRSA 毒力强于 MSSA,42 株血流感染 SA 中 MRSA 有 16 株(38.10%);42 株血流感染 SA 有 25 株(59.50%)具有生物膜形成能力,其中 MSSA 有 18 株,MRSA 有 7 株;42 株血流感染 SA 中 37 株(88.10%)能产生溶血素、18 株(42.90%)能产胞外蛋白酶、没有能产生胞外脂肪酶的菌株;大蜡螟幼虫毒力试验显示 MRSA 的毒力强于 MSSA。由于本研究随机选择 MRSA 和 MSSA 菌株各 1 株进行毒力试验,可能对试验结果产生一定偏差。

通过平板法测定,MRSA 产生毒素的比例高于 MSSA,且大蜡螟幼虫试验中,注射菌株为 MRSA 的幼虫存活率低于注射菌株为 MSSA 的幼虫。42 株血流感染 SA 生物膜形成能力和毒力、耐药性的结果表明,SA 毒力与耐药性呈正比,MRSA 相对于 MSSA 产生胞外酶的占比更高,毒力更强,生物膜的形成能力相对较弱。如果菌株具有较强的生物膜形成能力,则往往是敏感菌株,具有高毒力的趋势;而菌株的生物膜形成能力较弱,则往往是耐药菌株,更倾向于低毒力。

MRSA 与 MSSA 相比,其耐药性高,产生胞外酶的占比高,毒力更强,但是生物膜的形成能力较弱。这可能是由于样本量不足导致的差异,SA 是一种高度多样化的细菌,不同的菌株具有不同的特征使得耐药性与毒力、生物膜形成能力之间的关系不一致。本研究中具有多重耐药性的 MRSA 生物膜形成能力弱于 MSSA,可能是因为 MRSA 和 MSSA 的生物膜形成机制不同,MRSA 生物膜形成主要由胞间黏附素基因(ica)非依赖生物膜形成机制介导,而 MSSA 主要是由 ica 依赖途径介导^[20-21]。由于耐药机制的不唯一性,MRSA 可以通过生物膜之外的其他途径耐药,如作用靶点的改变、靶点与抗菌药物亲和力降低、质粒介导的外排泵等^[22-24],而 MSSA 生物膜形成能力虽强,生物膜里层的细菌依然会对抗菌药物敏感,从而使 MRSA 的耐药性强于 MSSA 而生物膜形成能力弱。

参考文献

[1] CHEN X, YANG H H, HUANGFU Y C, et al. Molecular epidemiologic analysis of *Staphylococcus aureus* isolated

- from four burn centers[J]. *Burns*, 2012, 38(5): 738-742.
- [2] KAPLAN J B, MLYNEK K D, HETTIARACHCHI H, et al. Extracellular polymeric substance (EPS)-degrading enzymes reduce staphylococcal surface attachment and biocide resistance on pig skin in vivo[J]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0205526.
- [3] MOORMEIER D E, BOSE J L, HORSWILL A R, et al. Temporal and stochastic control of *Staphylococcus aureus* biofilm development[J]. *mBio*, 2014, 5(5): e01341.
- [4] KRISHNA S, MILLER L S. Host-pathogen interactions between the skin and *Staphylococcus aureus* [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2012, 15(1): 28-35.
- [5] CRUZ L I B, LOPES L F F, DE CAMARGO RIBEIRO F, et al. Anti-*Candida albicans* activity of thiazolylhydrazone derivatives in invertebrate and murine models[J]. *J Fungi (Basel)*, 2018, 4(4): 134.
- [6] HUMPHRIES R M, AMBLER J, MITCHELL S L, et al. CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests [J]. *J Clin Microbiol*, 2018, 56(4): e01934.
- [7] HASSAN A, USMAN J, KALEEM F, et al. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates[J]. *Braz J Infect Dis*, 2011, 15(4): 305-311.
- [8] CAMPBELL S J, DESHMUKH H S, NELSON C L, et al. Genotypic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from a multinational trial of complicated skin and skin structure infections [J]. *J Clin Microbiol*, 2008, 46(2): 678-684.
- [9] JARRAUD S, MOUGEL C, THIOULOUSE J, et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease[J]. *Infect Immun*, 2002, 70(2): 631-641.
- [10] HOVEIDA L, HALAJI M, ROSTAMI S, et al. Biofilm-producing ability of *Staphylococcus* spp isolated from different foodstuff products[J]. *Ann Ig*, 2019, 31(2): 140-147.
- [11] TANG J, CHEN J, LI H, et al. Characterization of adhesin genes, staphylococcal nuclease, hemolysis, and biofilm formation among *Staphylococcus aureus* strains isolated from different sources[J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2013, 10(9): 757-763.
- [12] LAKE J G, WEINER L M, MILSTONE A M, et al. Pathogen distribution and antimicrobial resistance among pediatric healthcare-associated infections reported to the national healthcare safety network, 2011—2014[J]. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2018, 39(1): 1-11.
- [13] KAVANAGH K, SHEEHAN G. The use of *Galleria mellonella* larvae to identify novel antimicrobial agents against fungal species of medical interest[J]. *J Fungi (Basel)*, 2018, 4(3): 113.
- [14] MIKULAK E, GLINIEWICZ A, PRZYGODZKA M, et al. *Galleria mellonella* L: as model organism used in biomedical and other studies[J]. *Przegl Epidemiol*, 2018, 72(1): 57-73.

(下转第 1763 页)

• 论 著 •

lncRNA SNHG1/miR-340-5p/PTX3 信号通路
在肺癌奥希替尼耐药中的机制研究*

张 露¹, 赵文立², 何伶文², 许晨宇²

1. 东莞东华医院肿瘤内科, 广东东莞 523000; 2. 东莞松山湖东华医院肿瘤内科, 广东东莞 523000

摘要:目的 探讨长链非编码 RNA(lncRNA)核仁小分子 RNA 宿主基因 1(SNHG1)/微小核糖核酸(miR)-340-5p/正五聚蛋白 3(PTX3)信号通路在肺癌奥希替尼耐药中的机制。方法 通过实时荧光定量 PCR 检测 SNHG1、miR-340-5p 及 PTX3 在肺癌组织、癌旁组织及奥希替尼敏感和耐药细胞系中的表达水平。利用 siRNA 敲低 SNHG1, 检测其对细胞增殖、凋亡和奥希替尼敏感性的影响。双荧光素酶报告实验验证 SNHG1 与 miR-340-5p 及 miR-340-5p 与 PTX3 之间的结合关系。蛋白质印迹分析 PTX3 蛋白表达变化。结果 SNHG1 在肺癌组织和奥希替尼耐药细胞中高表达, 而 miR-340-5p 表达下调。SNHG1 通过直接结合 miR-340-5p, 抑制其功能, 解除 miR-340-5p 对 PTX3 的负调控, 导致 PTX3 在肺癌耐药细胞中的高表达。敲低 SNHG1 可提高耐药细胞的凋亡率, 抑制集落形成能力, 并增强细胞对奥希替尼的敏感性。miR-340-5p 抑制剂上调了肺癌敏感细胞中的 PTX3 表达。结论 SNHG1 作为竞争性内源 RNA 抑制 miR-340-5p, 进而上调 PTX3 表达, 推动了肺癌细胞的耐药性, SNHG1/miR-340-5p/PTX3 轴可能为肺癌耐药性治疗提供潜在的靶点。

关键词:核仁小分子 RNA 宿主基因 1; 微小核糖核酸-340-5p; 正五聚蛋白 3; 肺癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.14.017 **中图法分类号:**R734.2

文章编号:1673-4130(2025)14-1758-06 **文献标志码:**A

Mechanism study of lncRNA SNHG1/miR-340-5p/PTX3 signaling
pathway in osimertinib resistance of lung cancer*

ZHANG Lu¹, ZHAO Wenli², HE lingwen², XU Chenyu²

1. Department of Medical Oncology, Dongguan Donghua Hospital, Dongguan,
Guangdong 523000, China; 2. Department of Medical Oncology, Donghua
Hospital, Songshan Lake, Dongguan, Guangdong 523000, China

Abstract: **Objective** To explore the mechanism of the long non-coding RNA(lncRNA) small nucleolar RNA host gene 1 (SNHG1)/microRNA (miR) -340-5p/pentraxin 3 (PTX3) signaling pathway in osimertinib resistance of lung cancer. **Methods** The expression levels of SNHG1, miR-340-5p and PTX3 in lung cancer tissues, adjacent tissues and osimertinib-sensitive and resistant cell lines were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. SNHG1 was knockdown using siRNA to detect its effects on cell proliferation, apoptosis and osimertinib sensitivity. The dual-luciferase reporter assay verified the binding relationship between SNHG1 and miR-340-5p, as well as between miR-340-5p and PTX3. Western blotting was used to analyze the expression changes of PTX3 protein. **Results** SNHG1 was highly expressed in lung cancer tissues and osimertinib-resistant cells, while the expression of miR-340-5p was downregulated. SNHG1 inhibits the function of miR-340-5p by directly binding to it and releases the negative regulation of miR-340-5p on PTX3, resulting in the high expression of PTX3 in lung cancer drug-resistant cells. Knockdown of SNHG1 can increase the apoptosis rate of drug-resistant cells, inhibit the ability of colony formation, and enhance the sensitivity of cells to osimertinib. The miR-340-5p inhibitor upregulated the expression of PTX3 in lung cancer sensitive cells. **Conclusion** SNHG1 as competitive endogenous RNA inhibition of miR-340-5p, thus raising PTX3 expression, the drug resistance of lung cancer cells, SNHG1/miR-340-5p/PTX3 shaft may provide potential targets in the treatment of lung cancer drug resistance.

Key words: small nucleolar RNA host gene 1; microRNA-340-5p; pentraxin 3; lung cancer

肺癌是全球癌症相关死亡的主要原因之一, 其中 尽管近年来靶向治疗和免疫治疗取得了一定的进展, 非小细胞肺癌(NSCLC)占据肺癌病例的绝大多数^[1]。 但是肺癌患者的预后仍然较差, 尤其是由于靶向药物

* 基金项目: 2022 年东莞市社会发展科技项目(20221800904982)。

作者简介: 张露, 女, 副主任医师, 主要从事恶性肿瘤的化疗、免疫、靶向及癌痛治疗研究。