

- [35] LI S Y, CHENG Q X, WANG J M, et al. CRISPR-Cas12a-assisted nucleic acid detection[J]. Cell Discov, 2018, 4: 20.
- [36] CHEN J S, MA E, HARRINGTON L B, et al. CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity[J]. Science, 2018, 360 (6387): 436-439.
- [37] LIS Y, CHENG Q X, LIU J K, et al. CRISPR-Cas12a has both cis- and trans-cleavage activities on single-stranded DNA[J]. Cell Res, 2018, 28(4): 491-493.
- [38] WANG B, WANG R, WANG D, et al. Cas12aVDe: a CRISPR/Cas12a-based platform for rapid and visual nucleic acid detection[J]. Anal Chem, 2019, 91(19): 12156-12161.
- [39] BROUGHTON J P, DENG X, YU G, et al. CRISPR-Cas12-based detection of SARS-CoV-2[J]. Nat Biotechnol, 2020, 38(7): 870-874.
- [40] AI J W, ZHOU X, XU T, et al. CRISPR-based rapid and ultra-sensitive diagnostic test for Mycobacterium tuberculosis[J]. Emerg Microbes Infect, 2019, 8(1): 1361-1369.
- [41] STRECHER J, JONES S, KOOPAL B, et al. Engineering of CRISPR-Cas12b for human genome editing[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 212.
- [42] LI L, LI S, WU N, et al. HOLMESv2: a CRISPR-Cas12b-assisted platform for nucleic acid detection and DNA methylation quantitation[J]. ACS Synth Biol, 2019, 8(10): 2228-2237.
- [43] TENG F, GUO L, CUI T, et al. CDetection: CRISPR-Cas12b-based DNA detection with sub-attomolar sensitivity and single-base specificity[J]. Genome Biol, 2019, 20(1): 132.
- [44] GUO L, SUN X, WANG X, et al. SARS-CoV-2 detection with CRISPR diagnostics[J]. Cell Discov, 2020, 6(1): 34.
- [45] CHEN X, TAN Y, WANG S, et al. A CRISPR-Cas12b-based platform for ultrasensitive, rapid, and highly specific detection of hepatitis B virus genotypes B and C in clinical application[J]. Front Bioeng Biotechnol, 2021, 9: 743322.
- [46] SAVAGE D F. Cas14: big advances from small CRISPR proteins[J]. Biochemistry, 2019, 58(8): 1024-1025.
- [47] AQUINO-JARQUIN G. CRISPR-Cas14 is now part of the artillery for gene editing and molecular diagnostic[J]. Nanomedicine, 2019, 18: 428-431.
- [48] SASHITAL D G. Pathogen detection in the CRISPR-Cas era[J]. Genome Med, 2018, 10(1): 32.
- [49] 周恒, 邵艳娜, 王涓, 等. 基于 CRISPR/Cas 技术的核酸检测研究进展[J]. 微生物学报, 2021, 61(12): 3856-3869.
- [50] ZHOU L, PENG R, ZHANG R, et al. The applications of CRISPR/Cas system in molecular detection[J]. Cell Mol Med, 2018, 22(12): 5807-5815.
- [51] DAI Y, SOMOZA R A, WANG L, et al. Exploring the trans-cleavage activity of CRISPR-Cas12a (cpf1) for the development of a universal electrochemical biosensor[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2019, 58(48): 17399-17405.
- [52] DOUDNA J A. The promise and challenge of therapeutic genome editing[J]. Nature, 2020, 578(7794): 229-236.

(收稿日期: 2022-11-18 修回日期: 2023-02-07)

• 综 述 •

脂肪动员过程中 3 种关键酶与肿瘤的相关性研究进展*

许 帅^{1,2}, 张 明², 高 鑫³, 任聪聪^{1,2} 综述, 赵 静^{2△} 审校

1. 河北北方学院研究生学院, 河北张家口 075000; 2. 河北省人民医院肿瘤科, 河北石家庄 050051;

3. 宁夏医科大学研究生学院, 宁夏银川 750004

摘 要: 代谢重编程是恶性肿瘤细胞的标志性特征之一。活跃的脂代谢产生大量脂质, 为肿瘤细胞提供了生物膜结构的基本原料分子、营养支持和能量供给, 并合成多种促癌信号分子, 从而促进肿瘤细胞的生长增殖、迁移及侵袭。脂肪动员是脂肪分解的第一步, 该过程中关键酶的表达异常, 是脂代谢重编程的重要组成部分。研究发现, 脂肪动员通路中的关键酶脂肪甘油三酯脂肪酶(ATGL)、激素敏感脂肪酶(HSL)和单酰甘油脂肪酶(MAGL)在多种恶性实体瘤表达异常, 并且通过干预这些酶的表达能够显著改善肿瘤细胞的恶性生物学行为。因此, 通过靶向脂肪动员通路中的关键酶, 改善肿瘤细胞的脂代谢重编程从而产生抗肿瘤作用, 有望为肿瘤治疗提供新的靶点和方向。作者综述了脂肪动员过程中的 3 种关键酶与肿瘤的相关性, 探索抗肿瘤治疗的新理论, 为开展相关性研究提供依据。

关键词: 脂肪动员; 脂肪甘油三酯脂肪酶; 激素敏感脂肪酶; 单酰甘油脂肪酶**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.10.023**中图法分类号:** R542.2**文章编号:** 1673-4130(2023)10-1265-05**文献标志码:** A

* 基金项目: 河北省人才工程培养项目(A201903002); 河北省医学科学研究重点课题(20180013)。

△ 通信作者, E-mail: zzzjmail@163.com。

Research progress of three key enzymes in fat mobilization and their correlation with cancer*

XU Shuai^{1,2}, ZHANG Ming², GAO Xin³, REN Congcong^{1,2}, ZHAO Jing^{2,Δ}

1. Graduate School of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000, China; 2. Department of Oncology, Hebei General Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050051, China; 3. Graduate School of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China

Abstract: Metabolic reprogramming is one of the hallmark features of malignant tumor cells. Active lipid metabolism produces large amounts of lipids, which provide the basic raw material molecules for biofilm structure, nutritional support, energy supply for the biofilm structure of tumor cells. Metabolic reprogramming is one of the signature features of malignant tumor cells and synthesize a variety of cancer-promoting signal molecules, thus promoting the growth, proliferation, migration, and invasion of tumor cells. Fat mobilization is the first step in fat decomposition, during which the abnormal expression of key enzymes is an important part of fat metabolism reprogramming. It has been found that key enzymes ATGL, HSL and MAGL in fat mobilization pathway are abnormally expressed in a variety of malignant solid tumors, and the malignant biological behavior of tumor cells can be significantly improved by interfering with the expression of these enzymes. Therefore, it is expected to provide new targets and directions for tumor therapy by targeting key enzymes in the fat mobilization pathway to improve the lipid metabolism reprogramming of tumor cells and thus generate anti-tumor effects. The authors review the correlation between the three key enzymes in fat mobilization and tumor in order to explore new theories of anti-tumor therapy and provide a basis for correlation studies.

Key words: fat mobilization; adipose triglyceride lipase; hormone sensitive lipase; monoacylglycerol lipase

代谢重新编程是细胞恶性转化的标志之一^[1],以满足肿瘤细胞无节制增殖时能量、物质需求。脂质代谢对维持细胞稳态必不可少,同时在肿瘤进展过程中也发挥着重要作用。活跃的脂代谢过程中产生大量脂质,为肿瘤细胞提供了生物膜结构的基本原料分子、营养支持和能量供给,并合成多种促癌信号分子,从而促进肿瘤细胞的生长增殖、迁移以及侵袭^[2-4]。脂肪动员过程失调或该过程中的酶表达异常,均可能是促进肿瘤进展和转移的新机制。本文就脂肪动员过程中的 3 种关键酶在多种恶性肿瘤中的相关研究进行总结,旨在探索脂肪动员过程中抗肿瘤治疗的新理论和新方向。

组织中的脂肪酸(FA)大多以甘油三酯(TAG)的形式储存在于称为脂滴(LD)的细胞器中,LD 存在于所有细胞中^[5]。LD 合成和分解对细胞中的脂质代谢具有重要意义。脂肪动员过程中的 3 种关键酶分别为脂肪甘油三酯脂肪酶(ATGL)、激素敏感脂肪酶(HSL)和单酰甘油脂肪酶(MAGL)^[6]。体内储存的脂质通过脂肪动员过程进行分解代谢, TAG 在 3 种脂肪酶的催化作用下,依次水解释放出甘油及参与细胞内能量代谢和信号转导的游离脂肪酸(FFA)。ATGL 通过将 TAG 水解为二酰基甘油(DAG)和 FFA 来启动 TAG 代谢过程;之后, HSL 将 DAG 水解为单酰基甘油(MAG)和 FFA;最后,由 MAGL 将 MAG 进一步分解为 FFA 和甘油^[6]。

1 ATGL 与肿瘤

ATGL 是一种能够水解 TAG 的酶,属于 patatin 样磷脂酶结构域(PNPLA)家族的成员,由 PNPLA2

基因编码^[6]。ATGL 催化位点由二元体组成,包括位于蛋白质 N 端 patatin 结构域内丝氨酸 47 和天冬氨酸 166 及 C 端疏水性脂滴结合区^[2]。ATGL 在脂肪组织中高表达,在其他组织中表达较低。ATGL 是 TAG 降解起始步骤的关键酶,对 TAG 具有较高的底物特异性,作为脂质分解代谢的关键因素,ATGL 对维持全身能量稳态具有重要作用。

ATGL 主要位于富含 TAG 的细胞内 LD 中,其活性受多种辅助因子的调节。比较基因组学鉴定蛋白 58(CGI-58)是细胞内脂解激活剂,作为 ATGL 辅助因子,直接与 ATGL 结合并激活其活性^[7]。周脂蛋白(PLINs)家族是主要的 LD 相关蛋白,在脂肪组织中高表达,基础条件下可封存 CGI-58 来调节脂肪分解,脂肪分解刺激条件下能够释放 CGI-58 以促进 ATGL 活性^[8]。G₀/G₁ 开关基因 2 能抑制 ATGL 活性,通过与 ATGL patatin 结构域相互作用来抑制 ATGL 活性,从而抑制脂解过程^[9]。另外,低氧诱导脂滴相关蛋白(HILPDA)可直接与 ATGL 蛋白结构域结合,抑制 ATGL 活性^[9]。

有研究表明,缺乏 ATGL 的小鼠肺部可形成肿瘤,脂肪特异性破坏 ATGL 和 HSL 活性,导致小鼠脂肪肉瘤形成^[10-11]。HONEDER 等^[12]研究发现,敲除 ATGL 基因的肺癌细胞株生长速度与对照组相比显著增加。研究发现,敲低 ATGL 可激活 PI3K/Akt 通路和抑制 AMPK/p53 通路,促进结肠癌和宫颈癌细胞增殖^[13-14]。AL-ZOUGHBL 等^[10]发现,在良性平滑肌瘤中 ATGL 表达与正常平滑肌组织相符,而在肺腺癌、肺鳞状细胞癌、胰腺导管腺癌、平滑肌肉瘤等组织

中 ATGL 表达较低,并且发现非小细胞肺癌(NSCLC)和平滑肌肉瘤较低的生存率与肿瘤组织中 ATGL 表达较低呈正相关。相反地,体外实验研究表明,ATGL 敲除后肝癌细胞、结肠癌细胞和前列腺癌细胞的增殖和侵袭能力下降,可能机制是 ATGL 缺失导致 TAG 堆积,同时诱导上皮间质细胞转化,AMPK 信号传导受到影响,导致细胞凋亡^[15-17]。

与正常乳腺上皮细胞相比,侵袭性乳腺癌细胞中 ATGL 表达增加^[18]。细胞内 ATGL 和 TAG 水平的升高,能够增加乳腺癌和胰腺导管腺癌中 TAG 衍生 FA 的速率,提示 ATGL 能使在富含脂质微环境中生长的肿瘤细胞 FA 生成增加,为肿瘤细胞提供构成生物膜原料及能量供给,导致肿瘤细胞增殖和侵袭能力增加^[18]。同样,IFTIKHAR 等^[19]研究发现,在结肠癌患者中,肥胖患者肿瘤组织 ATGL 表达水平显著增高,并通过细胞实验进一步表明,抑制结肠癌细胞中 ATGL 表达阻碍了 LD 的利用,导致细胞周期停滞,有效地减弱了肥胖介质促进的肿瘤细胞生长。

ATGL 催化 TAG 脂解在肿瘤细胞生物学中的作用是复杂多样,可能与肿瘤类型和肿瘤发生部位有关。针对 ATGL 的研究目前只是初步探索并且尚存在争议。因此,需要更多的研究来探索 ATGL 在不同肿瘤的表达,以及其在肿瘤发生、发展中的作用,以便于将来开发针对相关蛋白的抗肿瘤药物。

2 HSL 与肿瘤

HSL 由位于人类 19 号染色体 q13.2 区域的 LIPE 基因编码,是脂肪动员过程中水解 DAG 的关键酶。HSL 作用底物较为广泛,能够催化 TAG、DAG、胆固醇酯和视黄酯等底物的水解^[20]。但 HSL 对 DAG 的亲和力比 TAG 高 10 倍,优先催化 DAG 水解。在脂肪动员过程中,HSL 易位到脂滴表面并与 ATGL 和 MAGL 一起参与 TAG 水解,促进脂肪分解和 FA 释放。促脂解激素和抗脂解激素,如儿茶酚胺和胰岛素,可通过调节环腺苷酸(cAMP)细胞内水平调控 HSL 活性^[20]。

BALABAN 等^[21]研究发现,HSL 过表达能促进乳腺癌发生,其原因可能是乳腺富含大量脂肪组织,HSL 通过脂解作用为乳腺癌细胞生长增殖提供大量外源性 FA。另有研究显示,2,4-二烯酰辅酶 A 还原酶过表达能够增加 HSL 活性,使 FA 释放增加,并促进宫颈癌细胞生长^[22]。肿瘤细胞周围存在的脂肪细胞能够增加肿瘤细胞中 ATGL 和 HSL 表达,将人脂肪细胞与卵巢癌细胞共同培养后,HSL 活性被激活,加速肿瘤细胞内的脂肪动员过程,FA 释放增加,促进卵巢癌细胞增殖^[18]。

相反,大鼠肉瘤病毒癌基因(KRAS)通过 MAPK/ERK 信号通路下调 HSL 活性来控制 LD 的储存和利用^[23]。KRAS 下调 HSL 表达后,导致胰腺导管腺癌细胞中 LD 累积。累积的 LD 对肿瘤细胞增殖、转移以及侵袭具有促进作用^[24]。HSL 重新表达

时会脂解 LD 中储存的脂质,释放出大量脂肪酸,将细胞代谢转变为上调的氧化代谢并减少糖酵解,逆转致癌 KRAS 对肿瘤的促进作用^[23]。另外,WU 等^[11]研究发现,缺乏 HSL 和 ATGL 的小鼠中,其棕色脂肪组织易发展为脂肪肉瘤。

癌症相关恶病质是一种严重威胁生命健康的消耗状态,其特征是脂肪组织和肌肉非正常消耗^[25]。常规营养支持无法完全逆转这种情况,并导致进行性功能障碍。研究表明,恶病质肿瘤患者的脂肪细胞中 HSL 表达水平较高,对儿茶酚胺敏感性比非恶病质肿瘤患者高 2~3 倍,导致脂肪分解增加,释放 FA 增加,过多的 FA 进入线粒体进行氧化磷酸化,为肿瘤细胞生长提供能量^[26]。小鼠模型试验表明,HSL 缺乏可预防癌症相关恶病质小鼠模型中脂肪组织和肌肉丢失^[27]。

但目前针对 HSL 与肿瘤发生发展研究相对较少,需要更加深入的研究来探讨 HSL 与肿瘤以及相关恶病质的机制,靶向 HSL 抑制有望成为肿瘤恶病质患者早期治疗策略。

3 MAGL 与肿瘤

MAGL 是一种普遍存在的相对分子质量为 33 000 的酶,其基因位于人类染色体 3q21.3 上。MAGL 是细胞质中一种可溶性酶,属于丝氨酸水解酶超家族^[6]。MAGL 是 TAG 分解代谢最后一步反应的关键酶,在催化 MAG 水解成甘油和 FA 方面起着至关重要的作用。MAGL 还可将 2-花生四烯酸甘油(2-AG)水解为花生四烯酸,2-AG 是一种重要的内源性信号脂质,可激活大麻素受体(CB1R 和 CB2R),同时也是二十碳烯酸信号通路的重要脂质前体^[28]。药理学研究表明,MAGL 在炎症、疼痛、神经保护、神经退行性疾病、代谢紊乱和肿瘤等病理和生理过程中发挥着重要作用^[29],有望成为各类疾病的治疗靶点。

MAGL 调控脂质代谢过程中 FA 释放,调节具有致癌信号 FA 网络,从而促进肿瘤细胞增殖、迁移以及侵袭。在前列腺癌细胞及鼻咽癌细胞中 MAGL 表达较高,敲除 MAGL 或抑制其活性,能够降低肿瘤细胞的侵袭和迁移能力^[30-31]。利用小干扰 RNA(siRNA)抑制子宫内膜癌细胞中 MAGL 活性,能够降低细胞周期蛋白 D1(CyclinD1)和 Bcl-2 的蛋白表达水平,降低肿瘤细胞增殖能力,诱导肿瘤细胞凋亡,导致细胞周期停滞^[32]。有研究表明,在乳腺癌、恶性黑色素瘤、卵巢癌、肝癌、结直肠癌等多种侵袭性肿瘤细胞中 MAGL 表达增高^[33-36],通过敲除 MAGL 表达或抑制 MAGL 活性,均可诱导肿瘤细胞中 FA、溶血磷脂酸和前列腺素的减少,从而导致肿瘤细胞的增殖及侵袭性降低^[37]。在非侵袭性肿瘤中,上调 MAGL 基因表达,能提高肿瘤细胞侵袭性及 FA 水平。抑制肿瘤细胞 MAGL 的表达或活性后,通过补充外源性 FA 可以恢复肿瘤细胞的增殖和侵袭性,提示 MAGL 通过调控 FA 水平来影响肿瘤细胞的增殖和侵袭。然而,SZEREMETA 等^[38]研究表明,神经母细胞瘤细

胞中 MAGL 表达较低。另有研究发现,肺癌组织中 MAGL 表达较正常组织相比明显降低,缺乏 MAGL 的小鼠肺组织高级别不典型增生,更容易发展为浸润性肺腺癌^[39]。但之后一项研究结果显示,MAGL 在肺腺癌组织中高表达,并与肿瘤进展及预后不良有关,MAGL 敲除后肺腺癌细胞的体外体内增殖和转移均受到抑制^[40],与其下调肺腺癌细胞中 CyclinD1 和 CyclinB1 有关,同时还发现敲除 MAGL 可抑制细胞基质金属蛋白酶 14(MMP14)表达,MMP14 在多种肿瘤进展过程表达较高,MMP14 和 MAGL 高表达的

肺腺癌组织与其较低的总体生存率具有相关性^[41]。

目前 MAGL 在肿瘤发生和进展中的作用存在争议,有研究认为,MAGL 是一种潜在的肿瘤抑制因子,对肿瘤细胞集落形成有抑制作用^[42];有研究显示,在同类型肿瘤细胞中高表达和低表达 MAGL 表现出不尽相同的生物学行为。因此,仍需要更多研究来探索 MAGL 在人类恶性肿瘤中的作用机制,为今后靶向 MAGL 抗肿瘤治疗提供依据。脂肪动员过程中的 3 种关键酶与肿瘤相关研究总结见表 1。

表 1 脂肪动员过程中的 3 种关键酶与肿瘤相关研究总结

关键酶	高表达	低表达/缺乏
ATGL	乳腺癌(+) ^[18] 、结肠癌(+) ^[16,19]	肺癌(+) ^[10,12] 、结肠癌(+) ^[14] 、宫颈癌(+) ^[13] 、胰腺导管腺癌(+) ^[10] 、平滑肌肉瘤(+) ^[10] 、脂肪肉瘤(+) ^[11] 、肝癌(+) ^[15] 、前列腺癌(+) ^[17]
HSL	乳腺癌(+) ^[21] 、卵巢癌(+) ^[18]	脂肪肉瘤(+) ^[11] 、胰腺导管腺癌(+) ^[24]
MAGL	鼻咽癌(+) ^[30] 、前列腺癌(+) ^[31] 、乳腺癌(+) ^[33] 、子宫内膜癌(+) ^[32] 、黑色素瘤(+) ^[36] 、卵巢癌(+) ^[33] 、结直肠癌(+) ^[34] 、肝癌(+) ^[35] 、肺癌(+) ^[40]	神经母细胞瘤(+) ^[38] 、肺癌(+) ^[39]

注:(+)表示促癌效应;(-)表示抑癌效应。

4 展望与小结

代谢重编程是恶性肿瘤细胞的标志性特征之一。靶向肿瘤细胞代谢是抗肿瘤治疗药物研发的方向和重点之一。脂质分解代谢是除葡萄糖代谢和氨基酸代谢外的另一个关键影响因素,它通过复杂的机制影响肿瘤发生及疾病进展。本文通过对脂肪动员过程中 3 种关键酶与肿瘤相关研究进行总结,发现 3 种关键酶均具有调控脂肪代谢过程中 FFA 释放,调节具有致癌信号的 FA 网络,从而影响肿瘤细胞的生物学行为的特点;同时还发现,3 种关键酶即使在同种肿瘤细胞中,高表达和低表达表现出不尽相同的生物学行为。因此,仍需要进一步深入研究脂解过程 3 种关键酶在肿瘤中的分子作用机制。随着后续对其机制深入的研究和探讨,脂肪动员过程中的关键酶有望成为肿瘤治疗新的靶点及治疗策略,并为抗癌药物的研制提供新方向。

参考文献

- [1] KOUNDOUROUROS N, POULOGIANNIS G. Reprogramming of fatty acid metabolism in cancer[J]. Br J Cancer, 2020,122(1):4-22.
- [2] CERK I K, WECHSELBERGER L, OBERER M. Adipose triglyceride lipase regulation: an overview[J]. Curr Protein Pept Sci, 2018,19(2):221-233.
- [3] YI M, LI J, CHEN S, et al. Emerging role of lipid metabolism alterations in cancer stem cells[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018,37(1):118.
- [4] 赵丽,彭瑞,朱明雪,等. 肿瘤脂代谢重编程研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2022,43(3):367-370.
- [5] CHENG C, GENG F, CHENG X, et al. Lipid metabolism reprogramming and its potential targets in cancer[J]. Cancer Commun (Lond), 2018,38(1):27-36.
- [6] GRABNER G F, XIE H, SCHWEIGER M, et al. Lipolysis: cellular mechanisms for lipid mobilization from fat stores[J]. Nat Metab, 2021,3(11):1445-1465.
- [7] SANDERS M A, MADOUX F, MLADENOVIC L, et al. Endogenous and synthetic ABHD5 ligands regulate ABHD5-perilipin interactions and lipolysis in fat and muscle[J]. Cell Metab, 2015,22(5):851-860.
- [8] YU L, LI Y, GRISE A, et al. CGI-58: Versatile regulator of intracellular lipid droplet homeostasis[J]. Adv Exp Med Biol, 2020,1276:197-222.
- [9] PADMANABHA DAS K M, WECHSELBERGER L, LIZICZAI M, et al. Hypoxia-inducible lipid droplet-associated protein inhibits adipose triglyceride lipase[J]. J Lipid Res, 2018,59(3):531-541.
- [10] AL-ZOUGHBI W, PICHLER M, GORKIEWICZ G, et al. Loss of adipose triglyceride lipase is associated with human cancer and induces mouse pulmonary neoplasia[J]. Oncotarget, 2016,7(23):33832-33840.
- [11] WU J W, PREUSS C, WANG S P, et al. Epistatic interaction between the lipase-encoding genes Pnpla2 and Lipe causes liposarcoma in mice[J]. PLoS Genet, 2017,13(5):e1006716.
- [12] HONEDER S, TOMIN T, NEBEL L, et al. Adipose triglyceride lipase loss promotes a metabolic switch in A549 non-small cell lung cancer cell spheroids[J]. Mol Cell Proteomics, 2021,20:100095.
- [13] ZHANG X, SAARINEN A M, HITOSUGI T, et al. Inhibition of intracellular lipolysis promotes human cancer

- cell adaptation to hypoxia[J]. *Elife*, 2017, 6: e31132.
- [14] OU J, MIAO H, MA Y, et al. Loss of abhd5 promotes colorectal tumor development and progression by inducing aerobic glycolysis and epithelial-mesenchymal transition[J]. *Cell Rep*, 2014, 9(5): 1798-1811.
- [15] 侯剑晶, 刘腾飞, 葛超, 等. 沉默脂肪甘油三酯脂肪酶基因表达可抑制肝细胞癌细胞的增殖、迁移与侵袭[J]. *肿瘤*, 2017, 37(5): 474-482.
- [16] YIN H, LI W, MO L, et al. Adipose triglyceride lipase promotes the proliferation of colorectal cancer cells via enhancing the lipolytic pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(8): 3963-3975.
- [17] CHEN G, ZHOU G, ARAS S, et al. Loss of ABHD5 promotes the aggressiveness of prostate cancer cells[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 13021.
- [18] WANG Y Y, ATTANÉ C, MILHAS D, et al. Mammary adipocytes stimulate breast cancer invasion through metabolic remodeling of tumor cells[J]. *JCI Insight*, 2017, 2(4): e87489.
- [19] IFTIKHAR R, PENROSE H M, KING A N, et al. Elevated ATGL in colon cancer cells and cancer stem cells promotes metabolic and tumorigenic reprogramming reinforced by obesity[J]. *Oncogenesis*, 2021, 10(11): 82-93.
- [20] RECAZENS E, MOUISEL E, LANGIN D. Hormone-sensitive lipase: sixty years later[J]. *Prog Lipid Res*, 2021, 82: 101084.
- [21] BALABAN S, SHEARER R F, LEE L S, et al. Adipocyte lipolysis links obesity to breast cancer growth: adipocyte-derived fatty acids drive breast cancer cell proliferation and migration[J]. *Cancer Metab*, 2017, 5: 1.
- [22] ZHOU H, ZHANG J, YAN Z, et al. DECR1 directly activates HSL to promote lipolysis in cervical cancer cells[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2022, 1867(3): 159090.
- [23] ROZEVELD C N, JOHNSON K M, ZHANG L, et al. KRAS controls pancreatic cancer cell lipid metabolism and invasive potential through the lipase HSL[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(22): 4932-4945.
- [24] LI Z, LIU H, LUO X. Lipid droplet and its implication in cancer progression[J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(12): 4112-4122.
- [25] NI J, ZHANG L. Cancer cachexia: definition, staging, and emerging treatments[J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 5597-5605.
- [26] BARACOS V E, MARTIN L, KORC M, et al. Cancer-associated cachexia[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4: 17105.
- [27] MAN J, PAJIC M, JOSHUA A M. Fats and mets, KRAS-driven lipid dysregulation affects metastatic potential in pancreatic cancer[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(22): 4886-4887.
- [28] DINH T P, CARPENTER D, LESLIE F M, et al. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(16): 10819-10824.
- [29] DOUGLASS J D, ZHOU Y X, WU A, et al. Global deletion of MGL in mice delays lipid absorption and alters energy homeostasis and diet-induced obesity[J]. *J Lipid Res*, 2015, 56(6): 1153-1171.
- [30] HUANG H, LI S, TANG Q, et al. Metabolic reprogramming and immune evasion in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 680955.
- [31] CARBONETTI G, WILPSHAAR T, KROONEN J, et al. FABP5 coordinates lipid signaling that promotes prostate cancer metastasis. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 18944.
- [32] LI X, GAO S, LI W, et al. Effect of monoacylglycerol lipase on the tumor growth in endometrial cancer[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2019, 45(10): 2043-2054.
- [33] NOMURA D K, LONG J Z, NIESSEN S, et al. Monoacylglycerol lipase regulates a fatty acid network that promotes cancer pathogenesis[J]. *Cell*, 2010, 140(1): 49-61.
- [34] 马牧原, 白洁, 常伟龙, 等. 单酰基甘油脂肪酶抑制剂 JZL184 对结直肠癌细胞系凋亡的影响及其机制[J]. *世界华人消化杂志*, 2015, 23(14): 2256-2263.
- [35] 余家建, 张俊勇, 范德庆. 单酰甘油脂肪酶对人肝细胞癌裸鼠移植瘤的影响及其机制[J]. *临床肝胆病杂志*, 2019, 35(7): 1525-1531.
- [36] BABA Y, FUNAKOSHI T, MORI M, et al. Expression of monoacylglycerol lipase as a marker of tumour invasion and progression in malignant melanoma[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2017, 31(12): 2038-2045.
- [37] DENG H, LI W. Monoacylglycerol lipase inhibitors: modulators for lipid metabolism in cancer malignancy, neurological and metabolic disorders[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(4): 582-602.
- [38] SZEREMETA J, KARLSSON J, ALHOUAYEK M, et al. Low mRNA expression and activity of monoacylglycerol lipase in human SH-SY5Y neuroblastoma cells[J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2019, 142: 59-67.
- [39] LIU R, WANG X, CURTISS C, et al. Monoglyceride lipase gene knockout in mice leads to increased incidence of lung adenocarcinoma[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 36.
- [40] KIENZL M, HASENOEHRL C, MAITZ K, et al. Monoacylglycerol lipase deficiency in the tumor microenvironment slows tumor growth in non-small cell lung cancer[J]. *Oncoimmunology*, 2021, 10(1): 1965319.
- [41] ZHANG H, GUO W, ZHANG F, et al. Monoacylglycerol lipase knockdown inhibits cell proliferation and metastasis in lung adenocarcinoma[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 559568.
- [42] RAJASEKARAN D, JARIWALA N, MENDOZA R G, et al. Staphylococcal nuclease and tudor domain containing 1 (SND1 protein) promotes hepatocarcinogenesis by inhibiting monoglyceride lipase (MGLL)[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(20): 10736-10746.

(收稿日期: 2022-09-10 修回日期: 2022-12-17)

• 短篇论著 •

过敏性紫癜患儿增殖诱导配体的表达及相关机制初探*

曾艳云, 龚霞, 周延[△]

重庆医科大学附属第一医院大足医院/重庆市大足区人民医院儿童中心, 重庆 402360

摘要:目的 探究增殖诱导配体(APRIL)在过敏性紫癜(HSP)中的表达及相关发病机制。方法 选取 2021 年 1—10 月在该院诊断为 HSP 的 51 例患儿作为 HSP 组, 将其进一步分为 4 个亚组: 皮肤型亚组(20 例)、关节型亚组(8 例)、腹型亚组(12 例)、肾型亚组(11 例)。另招募 57 例体检健康儿童作为对照组。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血浆 APRIL 和半乳糖缺陷型 IgA1(Gd-IgA1)水平, 采用荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 B 细胞成熟抗原(BCMA)mRNA 的表达。结果 HSP 组血浆 APRIL 水平平均高于对照组($P < 0.05$), 各亚组中, 肾型亚组最高, 皮肤型亚组最低。Spearman 相关分析显示, HSP 患儿血浆 APRIL 与 Gd-IgA1、BCMA mRNA 表达及 HSP 疾病严重程度评分呈正相关($P < 0.001$)。与对照组相比, 外源性 APRIL 可诱导 HSP 组患儿产生更多 Gd-IgA1($P < 0.05$), 且诱导 BCMA mRNA 表达上调($P < 0.05$)。结论 HSP 患儿血浆 APRIL 水平普遍升高, 这可能与 Gd-IgA1 的过度产生有关。

关键词:过敏性紫癜; 增殖诱导配体; 半乳糖缺陷型 IgA1; B 细胞成熟抗原

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.10.024

中图分类号:R446.11;R725.5

文章编号:1673-4130(2023)10-1270-04

文献标志码:A

过敏性紫癜(HSP)是一种以免疫球蛋白 A1(IgA1)型免疫复合物沉积为主的系统性小血管炎^[1], 其典型的临床三联征包括紫癜、关节痛/关节炎和胃肠道受累, 此外肾脏表现在受累患者中也十分常见^[2]。目前研究认为半乳糖缺陷型 IgA1(Gd-IgA1)在 HSP 发病过程中发挥重要作用^[3]。然而, HSP 导致血管壁损伤的机制尚不清楚。一项大型 IgA 全基因组关联研究发现了一个包含 TNFSF13 基因的位点, 该基因与 B 细胞激活因子(BAFF)具有高度同源性(48%), 被认为是与 IgA 相关的易感基因, 编码增殖诱导配体(APRIL)^[4]。APRIL 是肿瘤坏死因子超家族(TNF)成员^[5], 除了影响人类 B 细胞的存活和增殖外, 也可以与 B 细胞成熟抗原(BCMA)结合, 促使人类 B 细胞诱导 Ig 重链亚类转化为 IgA^[6-7]。在 APRIL 缺陷小鼠中, 观察到 IgA 选择性缺陷^[8], 这表明 APRIL 在 IgA 产生过程中发挥重要作用。为了探索 APRIL 在 HSP 中的潜在机制, 本研究检测了不同临床表现的 HSP 患者血浆 APRIL、Gd-IgA1 水平及外周血 B 细胞 BCMA mRNA 表达差异, 并进一步评估了其对 IgA1 分子糖基化和 BCMA mRNA 表达的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021 年 1—10 月在本院初次诊断为 HSP 的 51 例门诊和住院患儿作为 HSP 组, 年龄 2~14 岁, 男 27 例, 女 24 例, 病程 2~60 d。纳入标准: (1)依据 2012 年中华中医药学会 HSP 诊断

标准^[9]; (2)处于疾病活动期; (2)血小板计数和凝血功能正常, 未合并其他过敏性疾病、感染、自身免疫性疾病或其他严重的全身性疾病; (3)未服用糖皮质激素、抗氧化剂、免疫抑制剂或其他药物。51 例 HSP 患儿按 HSP 疾病严重程度评价标准^[10-11]进行评分。根据临床表现和实验室检查将患儿分为 4 个亚组: (1)皮肤型亚组(20 例): 典型的皮肤紫癜, 无腹痛、关节痛、肾脏受累, 常规尿检及 24 h 尿蛋白定量未见异常; (2)关节型亚组(8 例): 典型的皮肤紫癜伴关节肿胀疼痛; (3)腹型亚组(12 例): 典型的皮肤紫癜伴腹痛, 粪便隐血试验阳性; (4)肾型亚组(11 例): 典型的皮肤紫癜伴不同程度的肾损害, 尿蛋白尿和(或)血尿阳性。同时, 招募年龄和性别与 HSP 患儿匹配的健康体检儿童作为对照组, 年龄 2~14 岁, 男 27 例, 女 30 例。本研究已获得本院伦理委员会批准, 以及所有患儿及家属的知情同意。

1.2 仪器与试剂 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪购自 ABI 公司(美国), Multiskan FC 全自动酶标检测仪购自 Thermo Fisher 公司(美国)。人外周血淋巴细胞分离液 Ficoll Paque plus 购自 GE 公司(美国), CD19⁺ 磁珠购自 Becton Dickinson(美国), Trizol 试剂购自 Invitrogen(美国), First Strand cDNA Synthesis Kit 购自 Thermo Scientific(美国), TransStart Green qPCR SuperMix 购自北京全式金生物技术股份有限公司(中国), 人血浆 Gd-IgA1 ELISA 检测试剂盒和人 APRIL 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试

* 基金项目: 重庆市科技计划项目(2021032)。

[△] 通信作者, E-mail: 598447694@qq.com。

剂盒购自北京东革生物科技有限公司(中国),人重组 APRIL 蛋白购自 Peprotech 公司(美国)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 于 HSP 组就诊时及对照组体检时,采用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝真空采集管采集患儿血液标本约 5 mL。离心取血浆,分成三等份,置于-80℃冰箱保存。

1.3.2 外周血 B 细胞中 BCMA mRNA 表达检测 使用 Ficoll Paque plus 通过密度梯度离心制备外周血单个核细胞(PBMC),以磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤后,再悬浮于含 1% 牛血清清蛋白(BSA)的 PBS 中。用 CD19⁺ 磁珠分选 B 细胞。根据 Trizol 使用说明提取总 RNA。采用 Nano Drop 2000c 分光光度计的说明测量总 RNA 纯度和浓度。按照 First Strand cDNA Synthesis Kit 说明书,取 1 μg 总 RNA 逆转录为 cDNA,总反应体积为 12 μL。引物序列: GAPDH 正向引物为 5'-CAGTCAGCCGCATCT-TCTTTT-3',反向引物为 5'-GTGACCAGGCGC-CCAATAC-3'; BCMA 正向引物为 5'-TTT-GAAGGGTGTGATGCTTG-3',反向引物为 5'-AT-GCGCTCATCTCTGAAAT-3'。PCR 反应体积为 20 μL,反应条件为 95℃ 15 s,60℃ 30 s,72℃ 15 s,共 45 个循环。BCMA mRNA 的相对表达量通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算。

1.3.3 血浆 APRIL 和 Gd-IgA1 水平测定 根据 ELISA 测试试剂盒的说明步骤检测血浆 APRIL 水平和 Gd-IgA1 水平。血浆标本采用酶免疫试验缓冲液按 1:50 的比例稀释,培养 60 min;然后,用标记抗体的洗涤缓冲液洗涤 4 次,孵育 30 min,清洗平板并添加 50 μL 三甲基铝(TMA)溶液,避光培养 30 min。最后,停止显色反应,并测量 450 nm 及 625 nm 处的吸光度。

1.3.4 B 淋巴细胞体外培养及处理 为检测外源性 APRIL 对体外试验中 Gd-IgA1 和 BCMA mRNA 表达的影响,采用贴壁法从 HSP 组和对照组的 PBMC

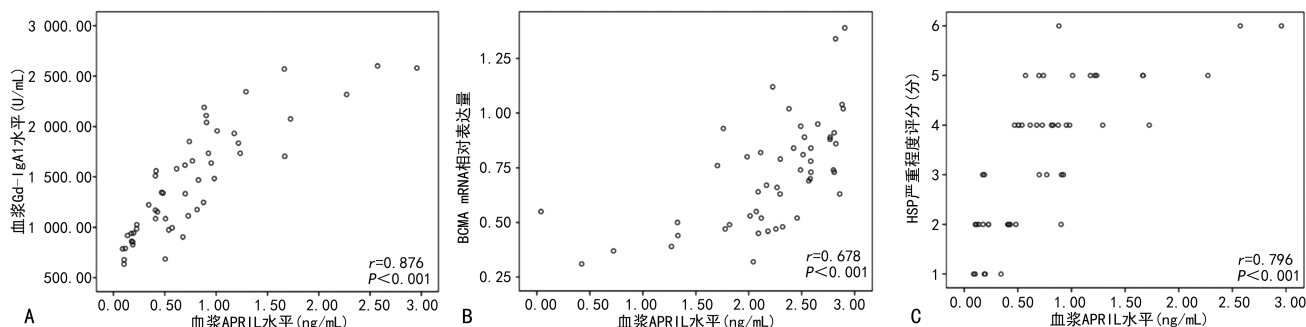
中去除单核细胞,剩余大部分细胞为淋巴细胞。在补充有 10% 胎牛血清、2 mmol/L L-谷氨酰胺、100 U/mL 青霉素和 100 mg/mL 链霉素的 RPMI 1640 培养基中于 37℃ 培养。将 B 淋巴细胞以 3×10^5 /孔密度接种到 96 孔板中,并与 25 ng/mL 外源性 APRIL^[12] 孵育 48 h。800 r/min 离心 10 min 后,收集上清液用于检测 Gd-IgA1 水平。此外,用 CD19⁺ 磁珠分选 B 细胞,用荧光定量 PCR(RT-qPCR)法检测其 BCMA mRNA 相对表达量。

1.4 统计学处理 所有数据均采用 SPSS21.0 统计分析软件进行分析,使用 Shapiro-Wilk 检验对数据进行正态性检验,根据是否满足正态性,结果分别表示为 $\bar{x} \pm s$ 或中位数(四位分间距)[$M(IQR)$]。对于原数据或转换后满足正态性和方差同质性假设的数据,多组比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验;否则,使用 Kruskal-Wallis *H* 检验进行非参数检验。相关性分析采用 Spearman 等级相关。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HSP 组及 HSP 各亚组与对照组血浆 APRIL 水平比较 HSP 组、皮肤型亚组、关节型亚组、腹型亚组患儿血浆 APRIL 水平分别为 0.676(0.608)ng/mL、0.379(0.290)ng/mL、0.686(0.677)ng/mL、0.657(0.342)ng/mL、1.218(1.395)ng/mL,与对照组的 0.139(0.251)ng/mL 相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。两两比较显示,肾型亚组血浆 APRIL 水平高于皮肤型亚组、关节型亚组和腹型亚组($P < 0.05$),皮肤型亚组血浆 APRIL 水平低于其他 3 个亚组($P < 0.05$),而关节型亚组与腹型亚组 APRIL 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 相关性分析 Spearman 相关分析显示,HSP 患儿血浆 APRIL 水平与 Gd-IgA1 呈正相关($r = 0.876$, $P < 0.001$),与 BCMA mRNA 表达呈正相关($r = 0.678$, $P < 0.001$),与 HSP 严重程度评分呈正相关($r = 0.796$, $P < 0.001$)。见图 1。



注:A为血浆 APRIL 水平与 Gd-IgA1 水平;B为血浆 APRIL 水平与 BCMA mRNA;C为血浆 APRIL 水平与疾病严重程度评分。

图 1 HSP 患儿血浆 APRIL 水平与各指标的相关性分析结果

2.3 外源性 APRIL 对体外试验中 Gd-IgA1 和 BCMA mRNA 表达的影响 经外源性 APRIL 处理后,

从 HSP 患儿分离的淋巴细胞上清液 Gd-IgA1 水平明显高于对照组[(0.127±0.018)U/mL vs. (0.045±

0.003)U/mL, $P=0.014$], BCMA mRNA 水平也明显上调(1.765 ± 0.223 vs. 1.206 ± 0.081 , $P=0.014$)。

3 讨论

作为 HSP 血管壁中的主要沉积物^[1], IgA 分子在 HSP 的发病机制研究方面引起了极大关注。APRIL 是一种刺激 B 细胞增殖和 IgA 产生的细胞因子^[6]。研究显示,小鼠抗 APRIL 单克隆抗体可抑制 ddY 小鼠血清 IgA 水平,降低循环免疫复合物的肾脏沉积,并抑制蛋白尿发生^[12]。本研究结果显示,HSP 组患儿血浆 APRIL 水平增加,并且各亚组患儿,APRIL 水平升高最明显,且与 B 细胞中其受体 BCMA mRNA 表达增加呈正相关,从而诱导异常糖基化 IgA1 分子产生增加,最终导致 HSP 发病和进展。

HSP 是一种影响小血管的系统性血管炎^[1]。在这种情况下,患者易出现血管周围炎性细胞浸润^[2]。有报道称,HSP 患者发生肾小球损伤的原因可能是含有 Gd-IgA1 的系膜免疫复合物的沉积^[13],随后,补体介导的系膜细胞刺激发生,导致其增殖;同时也会刺激细胞因子的分泌^[14]。因此,通常在 IgA 肾病患者中检测到抗原和抗体免疫复合物的肾外来源。B 细胞是主要的阳性调节因子,能够产生抗原特异性免疫球蛋白和多种细胞因子^[14-15]。MCCARTHY 等^[15]报道了一种过度表达 BAFF 的转基因小鼠,该小鼠在存在共生菌群的情况下与人类 IgA 肾病高度相似。BAFF 过度表达后,小鼠出现高循环水平的异常糖基化 IgA、IgA 系膜沉积、血尿和蛋白尿。而 APRIL 与 BAFF 具有高度同源性,其编码基因 TNFSF13 被认为是 IgA 肾病的遗传易感位点^[4]。APRIL 与其特异性受体 BCMA 结合后,可激活下游核因子- κ B(NF- κ B),然后刺激外周血 B 细胞产生免疫球蛋白^[7]。本研究发现,HSP 组患儿血浆 APRIL 水平高于对照组,肾脏亚组血浆 APRIL 水平比其他 3 个亚组升高更显著,差异均有统计学意义($P<0.05$),且血浆 APRIL 水平与血浆 Gd-IgA1 水平呈正相关,与外周血 BCMA mRNA 表达呈负相关。这些结果表明 APRIL 可能在 HSP 的发展中发挥重要作用,并且 APRIL 和 Gd-IgA1 有一定协同作用。

APRIL 由多个细胞表达和分泌,包括单核细胞、巨噬细胞和淋巴细胞;而 B 细胞在其中发挥的作用更显著,并且经常参与自身免疫性疾病。ZHAI 等^[16]研究发现,IgA 肾病患者 B 细胞中 APRIL mRNA 和 BAFF mRNA 表达显著上调,但在 T 淋巴细胞中却没有。这可能意味着 B 细胞在决定血浆 APRIL 水平方面发挥更重要的作用。因此,本研究假设在 HSP 患儿的 B 细胞中,APRIL 及其下游信号被激活。为了评估 APRIL 是否是 HSP 中 Gd-IgA1 增加的原因,本研究进一步分析了 APRIL 对体外试验中 Gd-IgA1 产生的影响,结果发现 HSP 组患儿和对照组的淋巴细胞对 APRIL 的反应不同,经 APRIL 预处理后,从

HSP 患儿体内分离的淋巴细胞上清液中,Gd-IgA1 水平显著高于对照组($P<0.05$)。本研究体外试验结果表明,APRIL 在 HSP 组患儿 Gd-IgA1 产生中起一定作用。更重要的是,不仅 APRIL,而且 B 细胞异常也可能导致 HSP Gd-IgA1 的升高,因为 APRIL 增加了 HSP 组患儿淋巴细胞中 Gd-IgA1 的生成。CD19⁺ B 细胞是产生 IgA1 的主要细胞^[6-7],为了探讨 HSP 患儿淋巴细胞异常的原因,在 APRIL 诱导的 Gd-IgA1 产生方面,检测了 CD19⁺ B 细胞中编码 APRIL 受体的 BCMA mRNA 表达。在 HSP 患儿中,BCMA mRNA 表达呈上调趋势。本研究发现,HSP 患儿 BCMA mRNA 表达异常,Gd-IgA1 水平升高,推测 APRIL 可能通过诱导 BCMA mRNA 的表达、增加 Gd-IgA1 的水平,并与它们协同作用来诱导和加剧组织损伤。

本研究结果发现,血浆 APRIL 水平与 Gd-IgA1 水平呈正相关,体外实验也证实 APRIL 可以在体外细胞培养模型中诱导异常糖基化 IgA1 分子的产生。此外,APRIL 水平较高的患儿有更严重的临床表现,尤其是肾脏受累。本研究结果显示,APRIL 与 HSP 严重程度具有相关性,提示 APRIL 可能是促进 Gd-IgA1 产生的因素。

综上所述,HSP 患儿血浆 APRIL 水平升高,其水平与 HSP 疾病严重程度有相关性,其机制可能是 APRIL 与其 B 细胞中的受体有协同作用,可诱导 Gd-IgA1 的产生。

参考文献

- [1] 石健,张聘. 过敏性紫癜病因及发病机制的研究[J]. 医学信息,2022,35(4):49-52.
- [2] 傅桐,杜悦. 儿童 IgA 血管炎诊断与治疗[J]. 中国实用儿科杂志,2022,37(1):17-21.
- [3] 王彬,邵宽芙蓉,董晨. 滤泡辅助性 T 细胞及半乳糖缺乏的 IgA1 在儿童过敏性紫癜中的表达及意义[J]. 中国当代儿科杂志,2020,22(5):473-477.
- [4] YANG C, JIE W, YANLONG Y, et al. Genome-wide association study identifies TNFSF13 as a susceptibility gene for IgA in a South Chinese population in smokers[J]. Immunogenetics, 2012, 64(10):747-753.
- [5] MAGLIOZZI R, MARASTONI D, CALABRESE M. The BAFF/APRIL system as therapeutic target in multiple sclerosis[J]. Expert Opin Ther Targets, 2020, 24(11):1135-1145.
- [6] VINCENT F B, SAULEP-EASTON D, FIGGETT W A, et al. The BAFF/APRIL system: emerging functions beyond B cell biology and autoimmunity[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2013, 24(3):203-215.
- [7] SHI F, XUE R, ZHOU X, et al. Telitacicept as a BlyS/APRIL dual inhibitor for autoimmune disease[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2021, 43(6):666-673.
- [8] MATSUDA Y, HANEDA M, KADOMATSU K, et al. A

- proliferation-inducing ligand sustains the proliferation of human naïve (CD27⁺) B cells and mediates their differentiation into long-lived plasma cells in vitro via transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor and B-cell mature antigen[J]. Cell Immunol, 2015, 295(2):127-136.
- [9] 中华中医药学会. 过敏性紫癜[J]. 风湿病与关节炎, 2012, 1(5):75-78.
- [10] YANG Y H, YU H H, CHIANG B L. The diagnosis and classification of Henoch-Schönlein purpura: an updated review[J]. Autoimmun Rev, 2014, 13(4/5):355-358.
- [11] 杨莉莉, 刘翠华, 刘栋. 成人及儿童过敏性紫癜在临床表现和预后中的差异[J]. 重庆医学, 2018, 47(9):1188-1190.
- [12] MYETTE J R, KANO T, SUZUKI H, et al. A proliferation inducing ligand (APRIL) targeted antibody is a safe and effective treatment of murine IgA nephropathy[J]. Kidney Int, 2019, 96(1):104-116.

• 短篇论著 •

肺炎克雷伯菌荚膜血清型和耐药基因型检测及其耐药机制研究

兰 俊¹, 侯 轩², 王 辉², 张清雯²

三二〇一医院:1. 医学检验科;2. 医学微生物免疫科, 陕西汉中 723000

摘要:目的 研究肺炎克雷伯菌的荚膜血清型、耐药基因型及其耐药机制。方法 选择 2018 年 5 月至 2021 年 5 月该院收治的 240 例高黏液表型肺炎克雷伯菌(HMKP)感染者作为研究对象,其中耐碳青霉烯类-HMKP(CR-HMKP)49 例,非 CR-HMKP 191 例,分别对两组患者分离菌株 HMKP 的药敏试验结果、毒力基因分布、荚膜血清学及质粒接合实验进行检测。结果 CR-HMKP 及非 CR-HMKP 组 HMKP 的头孢噻肟、头孢曲松、头孢唑林、哌拉西林、亚胺培南、美罗培南、厄他培南、头孢吡肟及阿米卡星的耐药情况比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);CR-HMKP 及非 CR-HMKP 组 HMKP 的毒力基因 aerobactin、als、mrkD、iroN、rmpA、magA、rmpB 的表达情况差异均有统计学意义($P < 0.05$);CR-HMKP 及非 CR-HMKP 组 HMKP 的 blaKPC、blaNDM、blaCTX-M、blaSHV、qnrC、rmtB 基因表达比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。CR-HMKP 及非 CR-HMKP 组 HMKP 的荚膜血清型 K1、K2、K57 分布比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);质粒接合实验分析显示,两组 HMKP 对头孢噻肟、头孢曲松、头孢唑林、哌拉西林、亚胺培南、美罗培南、厄他培南、头孢吡肟及阿米卡星的耐药情况差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 肺炎克雷伯菌的血清型主要表现为 K2 和耐药基因型主要表现为 rmtB,可作为肺炎克雷伯菌感染患者治疗的重要靶点。

关键词:肺炎克雷伯菌; 耐药基因; 质粒; 接合; 医院感染

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.10.025

文章编号:1673-4130(2023)10-1273-04

中图法分类号:R446.5

文献标志码:A

有研究报道显示,肺炎克雷伯菌感染已经成为医院内感染的常见菌之一^[1]。目前,临床对于肺炎克雷伯菌感染患者的治疗中,多选用头孢类及碳青霉烯类抗菌药物。但是,临床研究发现,由于抗菌药物的广泛使用,病原菌对抗菌药物的耐药率呈逐年上升的趋势^[2]。高黏液表型肺炎克雷伯菌(HMKP)是高毒力型病原菌的重要代表,随着耐碳青霉烯类-HMKP(CR-HMKP)的分离,其在临床的迁徙性扩散已经成

为全球性的公共卫生问题^[3]。正常生理状态下,肺炎克雷伯菌存在于人体的上呼吸道、肠道中,当机体的免疫力显著下降时,肺炎克雷伯菌可经呼吸道进入肺内,最终造成肺大叶或者肺小叶的融合性病变^[4]。研究证实,HMKP 在医院内已经形成若干暴发流行^[5]。但是,对于 HMKP 荚膜的血清学分析的研究较少^[6]。本研究主要对肺炎克雷伯菌的血清型鉴定、耐药基因型检测及其耐药机制进行分析,以期临床诊断及治