

青霉素结合蛋白3编码基因ftsI在多重耐药鲍曼不动杆菌中表达及碳青霉烯类诱导对其表达的影响

游锐旭, 魏 星, 徐 革 (成都医学院第三附属医院 / 成都市郫都区人民医院检验科, 成都 611730)

摘要: 目的 研究青霉素结合蛋白3(penicillin-binding protein 3, PBP3)编码基因ftsI在多重耐药鲍曼不动杆菌(Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*, MDR-AB)中表达情况, 探明碳氢霉烯诱导对MDR-AB中ftsI表达的影响。方法 收集2019年1月~6月成都市郫都区人民医院临床分离的38株MDR-AB菌株, PCR扩增ftsI基因, 产物进行测序, 将MDR-AB菌株与鲍曼不动杆菌敏感株(SDF)ftsI基因序列翻译成氨基酸序列进行同源建模和可视化比对分析。然后再分别用亚胺培南、美罗培南和多尼培南对菌株进行诱导, qRT-PCR检测ftsI的表达情况。结果 38株MDR-AB均携带ftsI基因, 测序结果与Genbank中ATCC 17978标准菌株ftsI序列显示99.54%同源, 将菌株MDR-AB1与SDF株的ftsI基因序列翻译成氨基酸序列后, 发现SDF菌株多出251号位赖氨酸、252号位苏氨酸、253号位甘氨酸和254号位缬氨酸, 同源建模和可视化分析发现两者ftsI基因编码蛋白空间结构明显不同。MDR-AB菌株经三种碳氢霉烯类抗生素诱导后, ftsI基因相对表达量均下降, 其中亚胺培南组和美罗培南组相对于未处理组ftsI基因表达下调差异有统计学意义($t=5.314$, 5.424 , 均 $P < 0.05$)。结论 MDR-AB普遍携带ftsI基因, 其ftsI编码蛋白空间结构与SDF菌株存在明显差异, 这可能是AB产生耐药的一个重要因素。碳氢霉烯类诱导可导致ftsI基因表达下调, 以亚胺培南、美罗培南诱导效果最明显。

关键词: 鲍曼不动杆菌; 多重耐药; ftsI

中图分类号: R378.2; Q786 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 03-047-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.03.010

Expression of Penicillinbinding Protein 3 Encoding Gene FtsI in Multidrug-resistant *Acinetobacter Baumannii* and the Effect of Carbapenems Induction on Its Expression

YOU Kai-xu, WEI Xing, XU Ge (Department of Clinical Laboratory, the Third Affiliated Hospital of Chengdu Medical College/Pidu District People's Hospital of Chengdu, Chengdu 611730, China)

Abstract: Objective To investigate the gene ftsI encoding penicillin binding protein 3 (PBP3) in Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*(MDRAB), and observe the expression of ftsI in MDR-AB and the effect of carbapenem induction on the expression of ftsI. **Methods** The 38 strains of MDR-AB isolated from Pidur District People's Hospital of Chengdu from January to June 2019, and ftsI gene was amplified by PCR and the products were sequenced and analyzed. The ftsI gene sequences of MDR-AB strain and *Acinetobacter baumannii* sensitive strain (SDF) were translated into amino acid sequences for homology modeling and visual comparison. Then, the strains were induced with Imipenem, Meropenem and Donipenem, and the expression of ftsI was detected by qRT-PCR. **Results** All the 38 strains of MDR-AB carried ftsI gene, and the sequencing results showed 99.54% homology with the ftsI sequence of ATCC 17978 standard strain in GenBank. After translating the ftsI gene sequences of MDR-AB1 and SDF strains into amino acid sequences, it was found that SDF strains had more Lys251, Thr252, Gly253 and Val254. Homology modeling and visualization analysis showed that the spatial structure of the proteins encoded by ftsI gene was significantly different between the two strains. The relative expression of ftsI gene in the MDR-AB strain was decreased after induction by three kinds of carbapenems, and the Imipenem group and Meropenem group was statistically different from that in the untreated group ($P < 0.05$). **Conclusion** MDR-AB generally carries ftsI gene, and the spatial structure of ftsI encoding protein was significantly different from that of SDF strain, this may be an important factor in the resistance of AB. Carbapenem induction can lead to the down-regulation of ftsI gene expression, and the induction of Imipenem and Meropenem is most obvious.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*; multiple drug resistance; ftsI

鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*, AB) 是医院感染最常见的病原菌之一, 根据2018年全

基金项目: 四川省卫计委基金资助项目(18PJ108), 四川省基层卫生事业发展研究中心2020年立项项目(SWFZ20-C-070), 成都医学院校级课题(CYZYB20-23)。

作者简介: 游锐旭(1978-), 男, 本科, 副主任技师, 主要研究方向: 病原微生物, E-mail: 549517576@qq.com。

通讯作者: 徐革(1967-), 男, 本科, 主任技师, 主要研究方向: 临床检验诊断学, E-mail: xuge1967@163.com。

国耐药检测网数据显示^[1], 鲍曼不动杆菌检出 227 091 株 (位居革兰阴性菌第四位), 其对碳青霉烯类药物耐药率高达 56.1%, 给临床治疗带来极大的挑战。目前研究发现^[2], 鲍曼不动杆菌产生耐药的主要机制有以下 4 个方面: ①细菌合成灭活酶和修饰酶^[3-4]; ②细胞外膜通透性下降; ③外排泵的主动外排活性增加; ④抗生素作用的靶位发生改变, 如青霉素结合蛋白 (penicillin binding protein, PBPs) 功能改变等^[5]。最后一种机制相关研究较少。PBPs 于 1972 年由 WILKE 等^[6]首次报道, 因其能与青霉素共价结合而得名。PBPs 是细菌胞浆膜上的微小蛋白质, β 内酰胺类抗生素可专一的与细菌 PBPs 结合, 使肽聚糖的合成受到抑制, 破坏细菌细胞壁, 导致其死亡。若细菌 PBPs 含量或结构发生变化, 可导致其与抗生素的亲合力下降, 细菌产生耐药^[7-8]。鲍曼不动杆菌含有 7 种 PBPs^[9], 其中 *ftsI* 编码 PBP3, 作为一种转肽酶^[10], 参与细菌肽聚糖合成, 也是 β -内酰胺类抗生素的结合位点。最新研究^[11-13]发现 *ftsI* 在多种细菌耐药中起主要作用。但有关鲍曼不动杆菌中 PBP3 编码基因 *ftsI* 的相关研究较少, 课题组前期^[14]对鲍曼不动杆菌中 PBP1a 编码基因 *ponA* 进行了相关研究, 发现多重耐药鲍曼不动杆菌 (multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*, MDR-AB) 中 PBP1a 蛋白构象不同于敏感株 (SDF); 碳青霉烯类抗生素诱导可导致 MDR-AB 中 *ponA* 基因表达下调, 在此基础上, 本文进一步检测 MDR-AB 中 *ftsI* 携带情况, 分析与 SDF 株的空间结构差异, 探究碳青霉烯诱导对 *ftsI* 表达的影响, 从基因水平上对 *ftsI* 在 MDR-AB 耐药中的作用进行初步了解, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 采集 2019 年 1 月 ~ 6 月成都市郫都区人民医院经临床分离所得 MDR-AB, 待将重复菌株剔除后, 合计得到 38 株菌株。其中 26 株 (68.42%) 源自痰液, 6 株 (15.79%) 源于血液, 4 株 (10.53%) 源于分泌物, 2 株 (5.26%) 源于尿液。38 株菌对庆大霉素 (GEN)、美罗培南 (MEM)、妥布霉素 (TOB)、亚胺培南 (IMP) 等抗生素耐药率较高, 达 70% 以上; 对头孢哌酮 / 舒巴坦 (SCF) 的耐药率为 57.89%。没有检出对多黏菌素 B (POL) 耐药的菌株。质控菌株为大肠埃希菌 (*E. coli*) ATCC25922 与铜绿假单胞菌 (*P. Aeruginosa*) ATCC27853。

1.2 仪器与试剂 抗生素亚胺培南 (imipenem)、美罗培南 (meropenem)、多尼培南 (donipenem) 购于北京索莱宝; DNA 提取试剂盒, 总 RNA 提取试剂盒, qRT-PCR 试剂购于大连 Takara 公司。所用仪器为实

时荧光定量 PCR 仪 (上海宏石产品), 在菌株鉴定与药敏方面, 所应用的仪器为细菌鉴定与药敏分析仪 (国产美华, MA120 型)。

1.3 方法

1.3.1 *ftsI* 基因检测: 将收集的鲍曼不动杆菌菌株取出, 室温复苏, 在巧克力平板上分区划线, 37℃ 培养 18 ~ 20h, 之后挑取单菌落于含 200 μ l 无菌超纯水的离心管中, 按细菌 DNA 提取试剂盒说明书步骤提取鲍曼不动杆菌 DNA。*ftsI* 编码基因长度为 1 977 bp, 长度较长, 采用分段扩增的方式进行 PCR。借助 GeneBank 与 NCBI 查询鲍曼不动杆菌 (AB) *ftsI* 基因序列, 借助软件 primer 5.0 完成引物的设计, 其合成工作则由上海生工负责。引物序列见表 1。PCR 反应体系借鉴前期实验条件开展, PCR 反应量为 0.05ml, 条件: 预变性 5min, 95℃; 变性, 30s, 94℃; 退火, 30s, 55℃; 延伸, 30s, 72℃; 合计 35 个循环。准备 5 μ l 扩增产物, 用来进行琼脂糖凝胶 (1g/dl) 电泳处理, 计时 10 ~ 20min。

表 1 检测 *ftsI* 基因引物序列

| 基因名称 | 引物序列 (5'-3') | 产物长度 (bp) |
|----------------|---------------------------------|-----------|
| <i>ftsI</i> -1 | F: 5'-TTATCTGCTCTGGCGGTAG-3' | 1 064 |
| | R: 5'-TTACGGTCAAAGCCCCATAG-3' | |
| <i>ftsI</i> -2 | F: 5'-TTGGCCATCTTATAACCCGA-3' | 913 |
| | R: 5'-GCCAATAGGATTTTCTGGAGTA-3' | |

1.3.2 测序分析: 将 38 株 MDR-AB 扩增后的 PCR 条带切胶回收, 送上海生工进行测序分析。所得 *ftsI* 基因序列, 用 DNAMAN 软件拼接成后通过 Chromas 软件读取, 使用 BLAST Search 进行比对。

1.3.3 耐药菌株与敏感株 (SDF) *ftsI* 编码蛋白结构比较: 选择菌株 MDR-AB-1 作为代表菌株进行研究, 将 MDR-AB-1 与敏感株 (SDF) *ftsI* 基因序列翻译成氨基酸序列通过 Swiss-Model Workplace 进行同源建模 (模板为 PDB.4kqr.1.A 亚单位), Swiss-Pdb Viewer 4.0 作相似性分析。作为比对的敏感株 (SDF) 来源: (SDF, NC-010400.1, European Bioinformatics Institute,), *ftsI* 基因序列下载自基因组数据库 (www. biocyc. org)。

1.3.4 碳青霉烯类诱导过程观察: 自 1.3.1 步骤已复苏菌株中挑单菌落洗脱到 LB 液体培养基 (10ml) 内, 35℃ 振荡培养 16 ~ 18h, 取菌液 5ml 转入 12 孔细菌培养板中, 分别添加 1 类碳青霉烯类抗生素 (亚胺培南、美罗培南、多尼培南) 当做诱导剂, 调整抗生素最终浓度为 1mg/L, 作用 1h 后, 将菌液吸入无菌离心管, 15 000r/min 离心 10min, 吸弃

上清液并收集细菌待下一步试验。

1.3.5 qPCR 定量检测 *ftsI* 表达: 使用逆转录实时荧光定量聚合酶链式反应 (qRT-PCR) 对诱导前后鲍曼不动杆菌青霉素结合蛋白 3 (PBP3) 编码基因 *ftsI* 转录的 mRNA 进行定量检测。根据 RNA 提取试剂盒所示步骤, 完成细菌 RNA 的提取收集。取模板 5 μ l 加入反应体系及引物, 总体积为 20 μ l, 扩增。内参基因是 16sRNA, 引物序列如下^[14]: F: 5'-CAGCTCGTGTCTGAGATGT-3'; R: 5'-CGTAAGGGCCATGATGACTT-3', 反应条件: 逆转录环节, 42℃, 60 min; 预变性环节, 95℃, 1min; 变性环节, 94℃, 0.5 min; 退火环节, 56℃, 20s; 延伸环节, 72℃, 0.5min; 荧光收集, 80℃, 8 s, 合计安排 35 个循环。采用相对定量 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) 法计算鲍曼不动杆菌 *ftsI* 在碳氢霉烯类诱导前后表达情况。将抗生素诱导后检测的 *Ct* 值作为试验组, 对应的诱导前的 *Ct* 值作为对照组, 内参基因的 *Ct* 值作为参考, 根据实时定量 PCR 反应数据, 计算 *ftsI* 基因的相对表达情况, 并与对照组作出比较。数据用三个复孔 *Ct* 值的平均数, 具体的计算方法如下:

$$\Delta Ct_{\text{试验组}} = Ct_{\text{试验组 } ftsI \text{ 基因}} - Ct_{\text{试验组 16sRNA 基因}}$$

$$\Delta Ct_{\text{对照组}} = Ct_{\text{对照组 } ftsI \text{ 基因}} - Ct_{\text{对照组 16sRNA 基因}}$$

$$-\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{对照组}} - \Delta Ct_{\text{试验组}}$$

$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值为 *ftsI* 基因的表达差异。

1.4 统计学分析 使用 SPSS 21.0 统计软件, 采用方差分析对多组间数据比较, 数据表示方式为均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$), 结果为 $P < 0.05$ 说明对比组之间的差异有统计学意义。

2 结果

2.1 鲍曼不动杆菌 *ftsI* 基因表达及突变情况

2.1.1 *ftsI* 基因扩增结果: 部分菌株凝胶电泳结果见图 1。由于 *ftsI* 基因长度约 2 000bp, 因此采用分 2 段扩增的方法, 均扩增出 *ftsI* 基因。

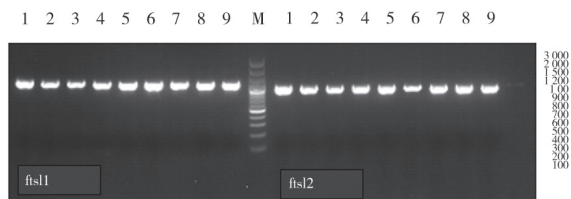


图 1 部分菌株 *ftsI* 凝胶电泳图

2.1.2 测序分析: 将 38 株 MDR-AB 测序结果均一致, 与美国国立生物信息中心 GenBank 中标准菌株 ATCC 17978 *ftsI* 基因 (登录号为 CP000521.1) 序列号进行比较, 99.54% 同源, 仅第 1544 位的 C>T。

2.1.3 MDR-AB-1 菌株与 SDF 株 *ftsI* 基因序列分析和氨基酸同源建模分析: 将 MDR-AB-1 株 *ftsI* 基因

序列与 SDF 株序列相比较, 99% 同源, 存在 7 处差异。分别是第 186 位 A > G, 第 255 位 G > A, 第 395 位 G > C, 第 496 位 A > G, 第 685 位 C > T, 第 771 位 A > G 和第 820 位 A > T。

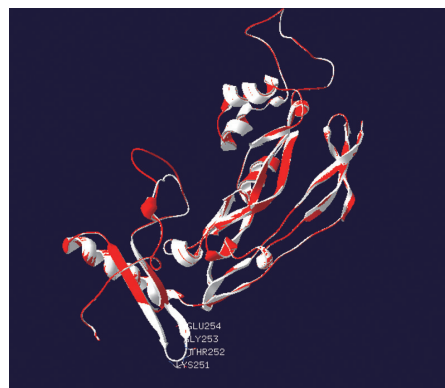


图 2 MDR-AB-1 株与 SDF 株 PBP3 蛋白分子三维立体结构比较

将基因序列翻译成的氨基酸序列进行同源建模 (模板为 PDB.4kqr.1.A 亚单位) Swiss-Pdb Viewer 4.0 作相似性分析, 见图 2。图中, MDR-AB-1 菌株 *ftsI* 编码蛋白 PBP3 空间结构由红色表示, SDF 菌株 PBP3 空间结构由白色表示, MDR-AB-1 菌株 PBP3 空间结构与 SDF 菌株存在的差异主要是 SDF 菌株多出 251 号位赖氨酸, 252 号位苏氨酸, 253 号位甘氨酸和 254 号位缬氨酸组成的一个无规则卷曲部分。

2.2 碳氢霉烯诱导后耐药菌株 *ftsI* 基因表达检测 见表 2。38 株鲍曼不动杆菌经三种碳青霉烯诱导后, MDR-AB 基因表达相对于未处理组均出现不同程度的变化, 亚胺培南组、美罗培南组 *ftsI* 表达下调, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 多尼培南组诱导变化不明显。

表 2 碳青霉烯诱导后 *ftsI* 相对表达结果

| 组别 | <i>ftsI</i> 表达相对量 | <i>t</i> 值 | <i>P</i> 值 |
|-------|-------------------|------------|------------|
| 未处理组 | 1.02 \pm 0.01 | - | - |
| 亚胺培南 | 0.53 \pm 0.18 | 5.314 | 0.012 |
| 美罗培南组 | 0.65 \pm 0.11 | 5.424 | 0.036 |
| 多尼培南组 | 0.92 \pm 0.21 | 1.536 | 0.355 |

3 讨论

鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*, AB) 是临床中一类广泛发生的可导致院内感染的革兰阴性杆菌, 这些年, 对于碳青霉烯类抗生素鲍曼不动杆菌所表现出的耐药率一直居高不下^[1, 15], 全国耐药率均值在 50% 以上, 局部区域甚至高达 80%, 并且鲍曼不动杆菌不仅对多种青霉素类及头孢菌素类抗生素天然耐药, 且在使用敏感药物治疗过程中

极易产生获得性耐药,可选用的抗生素越来越少,给临床治疗带来极大的困难。在对鲍曼不动杆菌耐药机制的研究过程中^[2,16]产碳青霉烯酶^[4,17],丧失膜孔蛋白或此蛋白表达减少,外排泵活性提高等相关分析比较全面,然而较少涉及青霉素结合蛋白(PBPs)的分析。

青霉素结合蛋白(PBPs)是构成细菌细胞膜结构的重要蛋白,参与细菌肽聚糖合成,维持形态结构等功能,是细菌生长中不可缺少的物质^[2,18]。按照在SDS-PAGE中的分子量、PBPs氨基酸序列、在细胞中的功能等三个方面,细菌PBPs可分成两组^[19]:高分子量组(high-molecular-mass, HMM)与低分子量组(LMM)的PBPs。 β -内酰胺类抗生素主要与HMM组结合,从而抑制 β -内酰胺酶活性杀死细菌^[20]。已有的报道显示^[9,21],鲍曼不动杆菌含有7种PBPs(PBP1a, PBP1b, PBP2, PBP3, PBP5/6, PBP6, PBP7),PBPs编码基因突变或表达下调可导致与 β -内酰胺类的亲和力减弱,细菌形成耐药^[22]。

PBP3与细菌分裂有关,研究发现^[18],细菌DNA复制完成,随后ftsI基因编码PBP3被激活,几乎同一时间,催化发生羧基酶反应,肽聚糖合成反应。张洋洋等^[23]对62株鲍曼不动杆菌进行全基因序列分析发现,碳青霉烯耐药株(CRAB)与碳青霉烯敏感株(CSAB)相比较,PBP1b, PBP3, PBP5/6, PBP6和PBP7氨基酸序列存在差异改变,并从蛋白组学的角度推测鲍曼不动杆菌PBPs与碳青霉烯类药物抗性相关。前期,本课题组[359051616]已发现鲍曼不动杆菌PBP1a编码基因ponA在耐药过程中发挥着关键作用。本课题进一步对ftsI进行研究,发现38株MDR-AB中,ftsI基因检测率100%,测序结果显示,相较于敏感株(SDF),有基因突变发生,将基因序列翻译成氨基酸序列,Swiss-Model Workplance同源建模后发现耐药株与SDF株PBP3空间结构存在显著差异,这可导致与 β -内酰胺类药物亲和力下降,可能是鲍曼不动杆菌产生耐药的因素之一。

此外,研究发现^[24-26]细菌在亚最低抑菌浓度(亚-MIC)作用下,细菌会变得更加适应环境,表现为耐药性增加、毒力增强、生物膜形成能力增加等。本实验采用亚-MIC浓度的3种碳青霉烯类抗生素对MDR-AB进行诱导,发现ftsI基因表达发生不同程度改变,其中亚胺培南组、美罗培南组ftsI基因表达较诱导前明显下调。有关亚胺培南能够于体外诱导AB的PBP基因ponA(PBP1a),ftsI(PBP3),dacC(PBP5/6)PBPs异常表达已被证实^[27],本文进一步证实MEM诱导可导致鲍曼不动杆菌

ftsI的表达显著下调,但多尼培南的诱导效果不显著,可能是不同种类的碳氢霉烯类抗生素的分子结构不同,作用PBP的主要靶位不同导致^[7]。

实验不足之处在于尚不能证明ftsI在鲍曼不动杆菌耐药过程中是否起主要作用,以及PBP3与其余6种PBPs相互间的关系,需要后期进一步深入研究。对PBPs在鲍曼不动杆菌耐药机制中的研究,可进一步揭示其耐药机制的复杂性,为临床科学使用抗生素和有针对性地研发新的抗生素提供科学依据。

参考文献:

- [1] 国家卫生计生委合理用药专家委员会,全国细菌耐药监测网.2018年全国细菌耐药监测报告[J].中国合理用药探索,2020,17(1):1-10.
Committee of Experts on Rational Drug Use of the National Health and Family Planning Commission of the P.R.CHINA, China Antimicrobial Resistance Surveillance System. 2018 national bacterial resistance surveillance report[J]. China Licensed Pharmacist.2020,17(1):1-10.
- [2] 孙艳.耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌耐药机制及实验室检测研究进展[J].国际检验医学杂志,2020,41(16):2011-2016.
SUN Yan. Research progress on the mechanism of carbapenems *Enterobacteriaceae* drug resistance and its laboratory testing [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2020,41(16):2011-2016.
- [3] 张艳双,刘静,万楠,等.耐碳青霉烯类肠杆菌科(CRE)耐药分子机制及控制流行的应对策略[J].现代检验医学杂志.2019,34(2):1-4.
ZHANG Yanshuang, LIU Jing, WAN Nan, et al. Molecular mechanism of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*(CRE) resistance and coping strategies for controlling epidemics [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine.2019,34(2):1-4.
- [4] 谈昀,刘萍,白永梅.2011~2015年鲍曼不动杆菌耐药相关基因及耐药性变迁研究[J].现代检验医学杂志,2017,32(1):53-56.
TAN Yun, LIU Ping, BAI Yongmei. Study on the drug resistance related genes and drug resistance of *Acinetobacter baumannii* from 2011 to 2015[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017,32(1):53-56.
- [5] 穆鹏,胡芳芳,袁军.鲍曼不动杆菌抗生素耐药机制研究进展[J].中国医药导报,2019,16(8):47-50.
MU Peng, HU Fangfang, YUAN Jun. Advances in the study of the mechanism of resistance of *Acinetobacter baumannii* to antibiotics[J]. China Medical Herald, 2019,16(8):47-50.
- [6] WILKE M S, LOVERING A L, STRYNADKA N C J. Beta-lactam antibiotic resistance: a current structural perspective[J]. Current Opinion in Microbiology, 2005, 8(5): 525-533.
- [7] 王艺晖,杨慧君,李晓娜,等.青霉素结合蛋白与产 β -内酰胺酶细菌耐药性的研究进展[J].畜牧与兽

- 医, 2016, 48(11): 105-107.
- WANG Yihui, YANG Huijun, LI Xiaona, et al. Research progress of penicillin binding protein and β -lactamase-producing bacteria resistance [J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2016, 48(11): 105-107.
- [8] SUTARIA D S, MOYA B, GREEN K B, et al. First penicillin-binding protein occupancy patterns of β -Lactams and β -Lactamase inhibitors in *Klebsiella pneumoniae* [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2018, 62(6): e00282-18.
- [9] CAYÔ R, RODRÍGUEZ M C, ESPINAL P, et al. Analysis of genes encoding penicillin-binding proteins in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011, 55(12): 5907-5913.
- [10] PENWELL W F, SHAPIRO A B, GIACOBBE R A, et al. Molecular mechanisms of sulbactam antibacterial activity and resistance determinants in *Acinetobacter baumannii* [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2015, 59(3): 1680-1689.
- [11] FERJANI S, SASSI I, SAIDANI M, et al. Polymorphism of *ftsI* gene in *Haemophilus influenzae* and emergence of cefotaxime resistance in two Tunisian hospitals [J]. *New Microbes and New Infections*, 2020, 36: 100690.
- [12] RANJITKAR S, RECK F, KE Xiaobo, et al. Identification of mutations in the *mrda* gene encoding PBP2 that reduce carbapenem and diazabicyclooctane susceptibility of *Escherichia coli* clinical isolates with mutations in *ftsI* (PBP3) and which carry *bla* (NDM-1) [J]. *mSphere*, 2019, 4(4): e00074-19.
- [13] DAITCH A K, GOLEY E D. Uncovering unappreciated activities and niche functions of bacterial cell wall enzymes [J]. *Current Biology*, 2020, 30(19): R1170-R1175.
- [14] 魏星, 游德红, 郑兰, 等. 多重耐药鲍曼不动杆菌中 *ponA* 表达及其对碳青霉烯类抗生素诱导反应观察 [J]. *山东医药*, 2020, 60(20): 24-28.
- WEI Xing, YOU Dehong, ZHENG Lan, et al. *PonA* expression in multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* and *ponA* reaction induced by carbapenems antibiotics [J]. *Shandong Medical Journal*, 2020, 60(20): 24-28.
- [15] 孙谦, 刘培, 屈青云. 湘雅医院临床分离鲍曼不动杆菌耐药变迁及临床分布特征 [J]. *现代检验医学杂志*, 2017, 32(3): 67-70.
- SUN Qian, LIU Pei, QU Qingyun. Clinical distribution and resistant transition of clinical isolated *Acinetobacter bauman* in Xiangya Hospital [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2017, 32(3): 67-70.
- [16] 赵欣, 刘长庭. 鲍曼不动杆菌的耐药机制研究进展 [J]. *解放军医学院学报*, 2017, 38(5): 490-492, 封3.
- ZHAO Xian, LIU Changting. Research advances in resistance mechanism of *Acinetobacter baumannii* [J]. *Academic Journal of Chinese PLA Medical School*, 2017, 42(5): 490-493, F0003.
- [17] 刘宇豪, 陈晨, 次仁曲珍, 等. 耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌耐药基因分析 [J]. *现代检验医学杂志*, 2018, 33(2): 55-57.
- LIU Yuhao, CHEN Chen, CIREN Quzhen, et al. Drug sensitivity and resistance gene of carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2018, 33(2): 55-57.
- [18] 苏思婷, 毛丹丹, 许师文, 等. 青霉素结合蛋白及其介导细菌耐药的研究进展 [J]. *微生物学通报*, 2017, 44(4): 902-910.
- SU Siting, MAO Dandan, XU Shiwen, et al. Research progress in penicillin binding proteins and their mediated bacterial resistance [J]. *Microbiology*, 2017, 44(4): 902-910.
- [19] 尹致丹, 肖志明, 李阳, 等. 青霉素结合蛋白在 β -内酰胺类抗生素受体分析法中的应用 [J]. *农产品质量与安全*, 2018(3): 60-65.
- YIN Zhidan, XIAO Zhiming, LI Yang, et al. Application of penicillin binding protein to β -lactam antibiotic receptor analysis method [J]. *Quality and Safety of Agro-Products*, 2018(3): 60-65.
- [20] CHEN Xing, BAI Kaihong, LIU Qingyang, et al. Role of penicillin-binding proteins in the viability, morphology, stress tolerance, and pathogenicity of *Clavibacter michiganensis* [J]. *Phytopathology*. 2021, 111(8): 1301-1312.
- [21] 覃鸿妮, 俞苏敏. 青霉素结合蛋白 PBP-2b 基因的克隆与表达 [J]. *生物技术世界*, 2016(2): 11-12.
- QIN Hongni, YU Sumin. Cloning and expression of penicillin binding protein PBP 2B gene [J]. *Biotech World*, 2016(2): 11-12.
- [22] SAYED ARM, SHAH N R, BASSO K B, et al. First penicillin-binding protein occupancy patterns for 15 β -Lactams and β -Lactamase inhibitors in *Mycobacterium abscessus* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020, 65(1): e01956-20.
- [23] 张洋洋. 广泛耐药鲍曼不动杆菌菌株 XDR-BJ83 全基因组测序及比较基因组学初步研究 [D]. 北京: 中国人民解放军医学院, 2017.
- ZHANG Yangyang. Complete genome sequence of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain xDR-BJ83 and comparative genome sequence studies [D]. Beijing: Chinese People's Liberation Army Medical College, 2017.
- [24] 于永洲, 祝仲珍, 王占科, 等. 亚最低杀菌浓度环丙沙星体外诱导铜绿假单胞菌标准质控菌株耐药研究 [J]. *中国医院药学杂志*, 2015, 35(22): 1990-1994.
- YU Yongzhou, ZHU Zhongzhen, WANG Zhanke, et al. Study on antibiotic resistance of standard strains of *Pseudomonas aeruginosa* induced by sub-MBC of ciprofloxacin in vitro [J]. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy*, 2015, 35(22): 1990-1994.
- [25] 樊莉, 李聃丹, 田竞, 等. 亚抑菌浓度亚胺培南通过影响 IV 型菌毛增强耐药鲍曼不动杆菌的生物膜形成 [J]. *第三军医大学学报*, 2018, 40(21): 1967-1972.
- FAN Li, LI Dandan, TIAN Jing, et al. Sub-minimal inhibitory concentration of imipenem enhances biofilm formation of resistant *Acinetobacter baumannii* isolates by affecting type IV pili [J]. *Journal of Third Military Medical University*, 2018, 40(21): 1967-1972.

- [26] 方甜甜, 宋沧桑, 刘德华, 等. 亚抑菌浓度亚胺培南对多重耐药鲍曼不动杆菌生物膜作用的研究 [J]. 中国药物评价, 201,38(3):224-228.
FANG Tiantian, SONG Cangsang, LIU Dehua, et al. Study on the effect of imipenem at subinhibitory concentration for the biofilm of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. Chinese Journal of Drug Evaluation, 201,38(3):224-228.
- [27] YUN S H, CHOI C W, KWON S O, et al. Quantitative proteomic analysis of cell wall and plasma membrane fractions from multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. Journal of Proteome Research, 2011, 10(2): 459-469.
收稿日期: 2021-01-06
修回日期: 2021-08-23
-
- (上接第36页)
- GUO Huijuan, TIAN Bingchao, TANG Jinyang, et al. Correlation study between renal injury and humoral immunity in patients with rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus and primary Sjogren's syndrome [J]. China Medical Herald, 2020, 17(29): 115-118.
- [9] VITA A A, ALJOBAILY H, LYONS D O, et al. Berberine delays onset of collagen-induced arthritis through T cell suppression [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(7): 3522.
- [10] 王育.B淋巴细胞与免疫五项在新生儿缺氧缺血性脑病中的检测意义 [J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(22):5601-5605.
WANG Yu. The significance of B lymphocyte and immune detection in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy [J]. Maternal and Child Health Care of China, 2017, 32(22): 5601-5605.
- [11] DAOUSSIS D, PAPACHRISTOU D J, DIMITROULAS T, et al. Dickkopf-1 is downregulated early and universally in the skin of patients with systemic sclerosis despite normal circulating levels [J]. Clinical and Experimental Rheumatology, 2018, 36 Suppl 113(4): 45-49.
- [12] LI Jieping, GONG Wenlin, LI Xiaoxue, et al. Recent progress of Wnt pathway inhibitor dickkopf-1 in liver cancer [J]. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2018, 18(8): 5192-5206.
- [13] 李燕, 熊志伟. Dickkopf-1, LINGO-1, Caveolin-1 在脑出血中的表达水平变化及其与病情严重程度的关系 [J]. 卒中与神经疾病, 2020, 27(3): 332-335, 340.
LI Yan, XIONG Zhiwei. Expression level changes of Dickkopf-1, Lingo-1 and Caveolin-1 in cerebral hemorrhage and its correlation with the disease severity [J]. Stroke and Nervous Diseases, 2020, 27 (3): 332-335, 340.
- [14] RUARO B, CASABELLA A, PAOLINO S, et al. Dickkopf-1 (DKK-1) serum levels in systemic sclerosis and rheumatoid arthritis patients: correlation with the Trabecular Bone Score (TBS) [J]. Clinical Rheumatology, 2018, 37(11): 3057-3062.
- [15] 李鹏花. DKK-1 在活动期类风湿关节炎中的相关性研究 [J]. 山西医药杂志, 2019, 48(2): 232-234.
LI Penghua. Correlation study of DKK-1 in active rheumatoid arthritis [J]. Shanxi Medical Journal, 2019, 48(2): 232-234.
- [16] CHAE W J, EHRLICH A K, CHAN P Y, et al. The Wnt antagonist dickkopf-1 promotes pathological type 2 Cell-Mediated inflammation [J]. Immunity, 2016, 44(2): 246-258.
- [17] CHAE W J, PARK J H, HENEGARIU O, et al. Membrane-bound Dickkopf-1 in Foxp3(+) regulatory T cells suppresses T-cell-mediated autoimmune colitis [J]. Immunology, 2017, 152(2): 265-275.
- [18] 程瑞娟, 吴春玲, 肖卫国. 趋化因子 CCL21 与类风湿关节炎研究进展 [J]. 中华风湿病学杂志, 2017, 21(9): 641-644.
CHENG Ruijuan, WU Chunling, XIAO Weiguo. Research progress of chemokine CCL21 and rheumatoid arthritis [J]. Chinese Journal of Rheumatology, 2017, 21(9): 641-644.
- [19] 吴娟, 段晓玲, 谢璠, 等. 趋化因子 CCL21 在类风湿关节炎发病中作用的研究进展 [J]. 山东医药, 2020, 60 (31): 105-108.
WU Juan, DUAN Xiaoling, XIE Fan, et al. Research progress on the role of chemokine CCL21 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis [J]. Shandong Medical Journal, 2020, 60 (31): 105-108.
- [20] CHEN Yang, SHAO Zhe, JIANG Erhui, et al. CCL21/CCR7 interaction promotes EMT and enhances the stemness of OSCC via a JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. Journal of Cellular Physiology, 2020, 235(9): 5995-6009.
- [21] JOUTOKU Z, ONODERA T, MATSUOKA M, et al. CCL21/CCR7 axis regulating juvenile cartilage repair can enhance cartilage healing in adults [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 5165.
- [22] MCHUGH J. CCL21-CCR7 axis in RA: linking inflammation and bone erosion [J]. Nature Reviews Rheumatology, 2019, 15(10): 576.
- [23] VAN RAEMDONCK K, UMAR S, SHAHRARA S. The pathogenic importance of CCL21 and CCR7 in rheumatoid arthritis [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2020, 55: 86-93.
- [24] VAN RAEMDONCK K, UMAR S, PALASIEWICZ K, et al. CCL21/CCR7 signaling in macrophages promotes joint inflammation and Th17-mediated osteoclast formation in rheumatoid arthritis [J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2020, 77(7): 1387-1399.
- [25] ZHAO Ruozhu, CHEN Xin, MA Weiwei, et al. A GPR174-CCL21 module imparts sexual dimorphism to humoral immunity [J]. Nature, 2020, 577(7790): 416-420.
收稿日期: 2021-05-11
修回日期: 2021-11-11