

·综述·

密度感知系统与耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染的防治

顾朝凤 万献尧

【关键词】 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 密度感知系统; 感染防治

研究表明,不适当的抗菌药物应用不仅会导致耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的增加,也会增强其致病性^[1]。对金黄色葡萄球菌(金葡菌)感染所致全身性感染及多器官功能障碍综合征(MODS)的防治已成为现代创伤外科和重症医学科面临的棘手难题之一^[2]。由于MRSA感染日益严重,急需寻找一种有效的防治方法。人们经过多年的研究发现,细菌能够自发地产生和释放一些特定的信号分子,并通过感知其浓度变化协调基因表达,从而调节微生物的群体行为,这一调控过程被称为密度感知(QS),调控这一过程的系统即QS系统。QS系统参与包括人类及动植物病原菌致病力在内的多种生物学功能的调节。

1 QS系统的发现

早在30多年前Nealson等^[3]就发现,一些发光细菌只有在细菌数量呈指数上升时才会发光,这是由于荧光素酶基因在这时开始转录,荧光素酶迅速合成,这种现象被称为自身诱导,但当时确切机制不明。后研究得知,这是因为细菌能通过某种信号互相传递信息,这种依赖群体密度的反应系统就是QS系统。其中,对费希尔弧菌的研究最广泛,从而鉴定出N-酰基-L-高丝氨酸内酯(AHL)这一信号传递分子。此后,从革兰阴性(G⁻)菌中又发现并鉴定出了大量的AHL结构^[4]。研究显示,这种通过QS来调节细菌活动的现象广泛存在于G⁻菌和革兰阳性(G⁺)菌中,尤其是那些对人类致病且耐药的细菌。这种信号系统能通过影

响细菌生物膜的形成及次级代谢产物的分泌使细菌产生耐药性或毒性增强。因此,近几年科学家们对QS系统进行了广泛研究,并根据细菌合成的信号分子和感应机制不同,将其分为3个有代表性的类型:G⁻菌一般利用AHL类分子作为自身诱导物质(AI);G⁺菌一般利用寡肽类分子(AIP,又称自体诱导肽)来感知信息;另外还有一类被称为AI-2的信号分子,G⁺菌和G⁻菌均可以通过它来传递信息,且可以通过AI-2进行种间交流。可以说,QS系统是极为复杂的。

2 金葡菌的附件基因调节器(agr)

葡萄球菌的agr位点编码QS系统相关产物,从而调控其毒性基因及其他附件基因的表达。葡萄球菌为G⁺菌,其信号分子为一些称为AIP的寡肽类分子,这种AIP由agr编码^[5],因此称金葡菌的QS系统为agr QS系统。AIP是G⁺菌合成的一种信号分子,G⁺菌根据这类特定的信号分子浓度监测周围环境中自身或其他细菌的数量变化,当信号分子达到一定浓度阈值时,启动菌体中相关基因的表达来适应环境变化,如芽孢杆菌感受态和芽孢的形成、病原菌胞外酶和毒素的产生、生物膜形成、菌体发光、色素产生、抗生素形成等。

研究显示,agr被抑制是形成生物膜所必须的;而在已形成的生物膜中,agr恢复活性后能通过增加AIP或耗竭葡萄糖而触发细菌从生物膜上分离。若抑制AIP分子形成就不能触发细菌从生物膜上分离;同样,对于一个agr突变体,即使增加外源性AIP也不能使之分离从而完成生物膜扩散。以上这两点表明:生物膜扩散依赖一个功能完整且具有活性的agr QS系统。发生在拥有不同agr QS系统的多种金葡萄菌株的生物膜扩散提示这种agr介导的生物膜扩散现象在金葡萄菌中普遍存在。重要的是,生物膜扩散过程中细菌从生物膜中的分离使这部分细

菌恢复了对抗菌药物的敏感性^[6]。也就是说诱导agr QS系统可使菌体在已经形成的生物膜中分离出来,并易被抗菌药物杀灭。

3 针对QS系统进行MRSA感染防治的探索

2008年Kaufmann等^[7]的研究证明,QS系统调控着细菌的多方面活动,例如,QS系统受抑制时,细菌毒性减弱,此时细菌存在于生物膜内,这种情况下抗菌药物不能发挥效应,这也是许多慢性感染迁延不愈的原因。相反,QS系统激活时,能触发细菌从生物膜中分离出来,易于被杀灭,但其毒性产生增多,这对许多患者是致命的。因此,Kaufmann等^[7]认为,并不是QS系统所调控的每一个途径都需要被抑制。总之,QS系统可能会成为发现新型抗感染药物的关键靶点,但还需进一步研究。

3.1 QS系统与MRSA引起的植入物相关性感染:金葡菌是植入物相关性感染的主要病原菌,包括整形外科中植入材料、皮下接种、中心静脉导管及导尿管等^[8-9]。与其他可产生生物膜的细菌一样,能黏附在植入物表面并形成生物膜是金葡菌产生耐药性的一个重要因素。RNA III是一种对金葡菌很重要的调节RNA的分子。RNA III抑制肽(RIP)是一种七肽,它通过干扰QS系统来抑制葡萄球菌生物膜的形成。而一种13个残基的抑菌肽衍生物(DD13)可以通过分解生物膜来杀灭细菌。对DD13、RIP及其嵌合肽(即DD13-RIP)三者的抗植入物相关性感染剂量依赖性小鼠实验的比较中发现,总体趋势上RIP抑制作用不如DD13、DD13-RIP有效,最低剂量时,DD13-RIP预防金葡菌感染的作用最强。需注意的是,这项研究中的每一种肽都是与抗菌药物起协同作用的。总而言之,这种嵌合肽或许可涂在医疗器械表面来预防MRSA感染^[10]。Lauderdale等^[8]的研

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2012.08.017

基金项目:辽宁省自然科学基金资助项目(201102053)

作者单位:116011 辽宁,大连医科大学附属第一医院重症医学科

通信作者:万献尧, Email: wanxianyao@gmail.com

究则发现,金葡菌的生物膜表现出 QS 系统介导的分离,且从生物膜中分离出的细菌恢复了对利福平和左氧氟沙星的敏感性。

3.2 QS 系统对万古霉素药效学的影响:金葡菌的 agr QS 系统在小鼠全身性感染关节炎的形成和发展中起重要作用^[11]。这表明通过 agr QS 系统可以影响金葡菌定植和毒力相关基因的表达。通过评估 agr QS 系统在 MRSA 中的功能,可比较万古霉素在对抗 agr 功能存在和缺失时医院获得性 MRSA (HA-MRSA) 或社区获得性 MRSA (CA-MRSA) 感染的药效学和杀菌力。因 δ -溶解素基因的转录是从一个靠近 agr 位点上游的启动子开始的,该转录受 agr 的控制,且是 agr QS 系统的一部分^[12],故 Tsuji 等^[13]进行的实验中将 δ -溶解素作为监测 agr 功能的标志物,通过倍数衰减实验显示了 0~64 倍万古霉素对抗 10^6 cfu/ml 和 10^8 cfu/ml 的 agr 功能存在和缺失时 HA-MRSA 或 CA-MRSA 的药效;结果表明 agr 功能缺失在 HA-MRSA 中较普遍;在对抗低浓度(10^6 cfu/ml)的 CA-MRSA 时,万古霉素的药效在 agr 是否缺失的菌株之间没有区别;但在对抗高浓度(10^8 cfu/ml)的菌株时,对 agr 功能缺失的 CA-MRSA 和 HA-MRSA 的灭菌活性明显减弱。这表明 agr 缺失可影响万古霉素抗高浓度的 CA-MRSA 和 HA-MRSA 时的抗菌活性和药效。

既然 agr QS 系统的功能由抑制状态恢复正常是细菌从生物膜分离的条件,从生物膜中分离出的细菌恢复对抗菌药物的敏感性。可以认为干扰 agr QS 系统是恢复万古霉素药效的一种方法。

3.3 从药用植物中提取抑制 MRSA 的 QS 系统的成分:意大利南部的人们利用一些药用植物治疗皮肤和软组织感染,金葡菌是这类感染的常见菌,且因其耐药菌株 MRSA 的不断出现而在这类感染中扮演着越来越重要的角色。Quave 等^[14]为寻找抑制 MRSA 生长或其生物膜形成的抑制剂而对这些植物的提取物进行了研究,发现这些药用植物的提取物在抑制 MRSA 生长方面与非药用植物组没有明显区别,但抑制生物膜形成的作用明显优于非药用植物组。表明这些药用植物的治疗效果可能与抑制 MRSA 的生物

膜形成有关。此后,Quave 等^[15]又通过 δ -溶解素定量化的方法对 104 种意大利植物的 168 种提取物抑制 QS 系统活性的作用进行了研究,发现其中有 3 种药用植物 (Ballota nigra、Castanea sativa 和 Sambucus ebulus) 的提取物有呈剂量依赖性影响 δ -溶解素产生的作用,即具有抑制 QS 系统的作用。这似乎与前面提到的 QS 系统受抑制是生物膜形成所必须的相矛盾,研究者也注意到这一点,他们还指出,有必要对 QS 系统或者说 agr QS 系统在体内感染中的作用机制进行更进一步的了解。因为,第一,agr QS 系统控制着大约 150 个基因,是金葡菌毒力的重要决定因素,也是寻找新型抗感染药物的重要靶点;第二,抑制 agr QS 系统尽管可以降低金葡菌的毒力,但在某些时候,抑制感染过程中 agr 的活性会产生有害影响,例如增加生物膜形成。无论如何,目前的研究证明了这 3 种植物治疗皮肤和软组织感染的有效性。

4 展望

从近年来的研究结果来看,QS 系统在 MRSA 生物膜的形成、扩散及细菌毒力大小方面均起重要作用,通过影响 QS 系统可预防和治疗 MRSA 感染。但目前对 QS 系统的了解有限,也不清楚应该干预 QS 系统的哪个环节。因此,要研发出能安全且广泛应用于临床的相关药物还需进一步的基础研究及临床试验。

参考文献

- [1] Dancer SJ. The effect of antibiotics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother, 2008, 61:246-253.
- [2] 姚咏明, 盛志勇. 金黄色葡萄球菌肠毒素与多器官功能障碍综合征. 中国危重病急救医学, 2001, 13:517-519.
- [3] Nealson KH, Platt T, Hastings JW. Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. J Bacteriol, 1970, 104:313-322.
- [4] Dicksch JS. Quorum sensing and bacterial biofilms. Nat Prod Rep, 2010, 27:343-369.
- [5] Novick RP, Geisinger E. Quorum sensing in *Staphylococci*. Annu Rev Genet, 2008, 42:541-564.
- [6] Boles BR, Horswill AR. Agr-mediated dispersal of *Staphylococcus aureus*

biofilms. PLoS Pathog, 2008, 4:e1000052.

- [7] Kaufmann GF, Park J, Janda KD. Bacterial quorum sensing: a new target for anti-infective immunotherapy. Expert Opin Biol Ther, 2008, 8:719-724.
- [8] Lauderdale KJ, Malone CL, Boles BR, et al. Biofilm dispersal of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on orthopedic implant material. J Orthop Res, 2010, 28:55-61.
- [9] Kiran MD, Giacometti A, Cirioni O, et al. Suppression of biofilm related, device-associated infections by staphylococcal quorum sensing inhibitors. Int J Artif Organs, 2008, 31:761-770.
- [10] Balaban N, Gov Y, Giacometti A, et al. A chimeric peptide composed of a dermaseptin derivative and an RNA III-inhibiting peptide prevents graft-associated infections by antibiotic-resistant *Staphylococci*. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48:2544-2550.
- [11] Abdelnour A, Arvidson S, Bremell T, et al. The accessory gene regulator (agr) controls *Staphylococcus aureus* virulence in a murine arthritis model. Infect Immun, 1993, 61:3879-3885.
- [12] Janzon L, Arvidson S. The role of the delta-lysin gene (hld) in the regulation of virulence genes by the accessory gene regulator (agr) in *Staphylococcus aureus*. EMBO J, 1990, 9:1391-1399.
- [13] Tsuji BT, MacLean RD, Dresser LD, et al. Impact of accessory gene regulator (agr) dysfunction on vancomycin pharmacodynamics among Canadian community and health-care associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Ann Clin Microbiol Antimicrob, 2011, 10:20.
- [14] Quave CL, Plano LR, Pantuso T, et al. Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Ethnopharmacol, 2008, 118:418-428.
- [15] Quave CL, Plano LR, Bennett BC. Quorum sensing inhibitors of *Staphylococcus aureus* from Italian medicinal plants. Planta Med, 2011, 77:188-195.

(收稿日期:2012-05-21)

(本文编辑:李银平)