

肺炎链球菌耐药性进化

罗晓慧 综述, 金凤玲[△] 审校

(兰州大学第一医院检验科, 甘肃兰州 730000)

关键词: 多重耐药肺炎链球菌; 肺炎链球菌结合疫苗; 耐药性进化**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.16.034**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2014)16-2202-03

世界卫生组织报道, 全球每年约有 160 万人因肺炎链球菌性疾病死亡(其中约有 70~100 万 5 岁以下儿童)。在全球疫苗可预防疾病中, 肺炎链球菌疾病已成为导致 5 岁以下儿童死亡的首要病因。于 1940 年引进青霉素使得肺炎链球菌疾病的发病率和病死率急剧下降, 然而, 其过度使用导致青霉素耐药菌出现, 多重耐药(MDR)肺炎链球菌的广泛传播已成为一个不容忽视的公共健康问题。根据肺炎链球菌荚膜多糖抗原的差异, 大约可鉴别出 90 余种血清型, 致病血清型虽在年龄和地理位置的分布有所不同, 但造成大部分婴幼儿患病的多为最常见的 7 种血清型, 因此接种七价肺炎链球菌结合疫苗(PCV7)被认为是现今最有效、直接的预防手段。在美国, PCV7 已成功减少侵袭性肺炎链球菌疾病(IPD)的发病率和相关血清型菌群的耐药性, 然而这也造成了非疫苗血清型菌株的耐药性与其引起 IPD 发病率的增加, 尤其是血清型 19A^[1]。新型结合疫苗的应用, 特别是 PCV13, 对肺炎链球菌的耐药性产生了巨大的影响。

1 肺炎链球菌耐药性研究进展

1.1 抗菌药物的广泛使用 分析比较 15 个欧洲国家(1998~2005 年)抗菌消费水平的整体研究发现, 肺炎链球菌耐药性与各国抗菌药物的使用率显著相关。患者在抗菌药物治疗期间, 暴露于亚抑菌浓度的一些肺炎链球菌使其基因突变频率增加出现超突变表型^[2]。超突变可以赋予肺炎链球菌选择性优势, 让他们迅速积累突变, 以应对抗菌药物的外界环境压力。

除了促进突变, 抗菌药物压力也已被证明是诱发肺炎链球菌菌株转型的重要因素。遗传转化的能力取决于包含 recA 基因的 com 调节子的转录激活。recA 蛋白催化内在的 DNA 和受体中肺炎链球菌基因组之间的同源重组, 因此, 它是菌株转型的一个重要组成部分。有证据表明肺炎链球菌暴露于氨基糖苷类和喹诺酮类抗菌药物中可转录激活 com 调节子, 提高肺炎链球菌与合作定植微生物的基因交换率, 使其产生抗性基因型的可能性大大增加^[3]。

1.2 肺炎链球菌结合疫苗(PCV)对耐药性的影响 一项在美国监测 8 个医院所有儿科 IPD 案件的前瞻性监测研究发现青霉素不敏感肺炎链球菌(PNSP)的发病率(1994~2000 年, 为期 9 年)逐年提高, 引入 PCV7 后, PNSP 的发病率 2001 年稳定在 45%, 2002 年下降至 33%^[4]。

1.3 血清型替换 接种 PCV7 能防止疫苗血清型肺炎链球菌在鼻咽部定植, 但由于非疫苗血清型还可以定植, 因此人群肺炎链球菌总携带率可能并不下降。芬兰用 PCV7 预防急性中耳炎的临床试验显示, 接种疫苗后, 疫苗血清型引起中耳炎发病率下降, 但非疫苗血清型和流感嗜血杆菌的发病率却升高了^[5]。上述这种在疫苗应用后, 非疫苗血清型定植、致病增多,

在分离株中所占比例升高的现象称为血清型替换。总的说来肺炎链球菌血清型替换还是非常有限的, 但某些单个非疫苗血清型导致的 IPD 发病率已呈显著上升趋势, 如 3、19A、22F 和 33F 型。Messina 等^[6]报道 2002~2005 年在 5 岁以下儿童侵入性感染菌株中 19A 型所占比率逐年升高, 分别为 11.5%、16.0%、36.0% 和 44.0%。因结合疫苗的保护具有特异性, 减少疫苗血清型的携带而非疫苗血清型间接提供了更多的生态位点, 有利于其传播流行, 但发生血清型替换的机制尚未完全明了。

1.4 PCV13 的引进 在发达国家 PCV7 已对减少肺炎链球菌疾病发挥了重要作用, 但在发展中国家, PCV7 覆盖率相对侵袭性疾病小于 50%^[7-8]。为了防止疾病, 可增加疫苗血清型潜在覆盖, 引进 PCV13 二代疫苗。PCV13 是基于 PCV7 相同的原理, 但是附加了额外的 6 个血清型(1、3、5、6A、7F 和 19A)^[9]。鉴于 PCV13 可有效抑制血清型 19A, 它可减少由耐药性克隆群 CC320 引起的疾病。评估引进 PCV13 后肺炎链球菌疾病的监测结果, 为随后探究 PCV13 是否成功地减少了耐药的肺炎链球菌引起的侵袭性疾病, 还是直接驱动出现新的血清型变种提供依据。

1.5 肺炎链球菌的基因组与转型 国外学者建立开创性实验首次发现, 菌株荚膜结构和毒力菌株之间 DNA 转化粒子能够转移, 体现肺炎链球菌的遗传可塑性^[10]。因此, 肺炎链球菌能够纳入任何菌株间或共生链球菌的基因到其基因组的单链 DNA 中进行重组, 其易转化的性质有可能迅速发展出新表型直到一个新的遗传背景。

对于肺炎链球菌, 非必须基因往往不是自身变异获得, 而是通过从其他菌种转化获得。3 个早期公认的青霉素抗性菌株(Spain^{23F}-1, Spain^{6B}-2 和 Spain^{9v}-3)编码高度相关 PBP2X(认为起源于共生链球菌)使耐药突变被认为是通过共生链球菌 PBPs 的点突变造成的, 然后转化成肺炎链球菌序列块^[11-13]。把 6 种共生链球菌(四种轻型链球菌, 一种婴儿沙门菌和一个口腔链球菌)的基因组与肺炎链球菌的基因组比较发现, 泛基因组的共享在肺炎链球菌耐药性的进化中扮演着重要的角色且 30% 的肺炎链球菌和轻型链球菌之间的基因重组是由水平基因转移(HGT)造成的^[14]。对肺炎链球菌血清型 14 基因组(CGSP14)和 12 株已测序的肺炎链球菌基因组进行比较分析。CGSP14 基因组通过水平基因转移获得了大量与致病性和耐药性相关的基因, 并且这些基因大都在移动遗传元件上成簇分布。CGSP14 基因组的显著特征是有两个大型的接合型转座子与一个抗性岛存在, 共有 18 个抗菌药物耐药基因在这 3 个移动遗传元件上编码^[15-17], 证明 HGT 对菌株耐药性机制起着重要作用。在 PMEN1 和 G54 的肺炎链球菌(血清型 19F)中

发现了两个复合转座子的变异^[18],或许因为不同的选择压力,在每个菌株中这些转座子历经频繁的重组与缺失,重组能够平衡因为基因获得或缺失所造成基因组结构的不平衡,故除了水平基因转移以外,重组也是肺炎链球菌进化的重要因素^[16]。

1.6 肺炎链球菌耐药性的传播 肺炎链球菌对抗菌药物耐药性的出现和传播主要有以下几个环节:(1)在不同危险因素作用下各地的肺炎链球菌分离株可自行发生突变。2010~2012 年在美国发现的 53 株耐左氧氟沙星肺炎链球菌分离株中,只有 6 株可能具同源性^[19-20]。(2)耐药菌株的克隆传播。目前虽然多为非同源性耐药菌分离菌株,但同时也出现少数流行克隆株传播。如在 1992~1997 年有研究者监测爱尔兰北部收集的 29 株氧氟沙星 MICs ≥ 4 mg/L 肺炎链球菌分离株中发现,与 Spain^{23F}-1 PFGE 谱型相似的菌株 4 株(法国 3 株和西班牙 1 株),与 Spain^{9v}-3 PFGE 谱型相似的菌株 7 株(法国 1 株和爱尔兰 6 株)^[21],证明有菌株克隆传播的可能。(3)菌株间耐药基因的传递。肺炎链球菌不但可自溶并释放出 DNA,同时天生具有摄取 DNA 的能力,易于发生基因水平交换。此外因为点突变不足使菌株对大部分药物耐药,更多是通过转化或基因重组从其他共生菌获得耐药基因,如 *parC*、*gyrA* 基因可在草绿色链球菌中找到同源基因^[22-23]。(4)菌株间耐药因子的传递与转化。阿奇霉素耐药的肺炎链球菌对青霉素不敏感率达到 68.9%,而青霉素耐药菌株对阿奇霉素耐药更高达 73.8%^[24],这可能与两者的耐药因子较易在菌株间传递有关。Tn1545 携带四环素耐药基因(*tetM*)、红霉素耐药基因(*ermB*)、卡那霉素耐药基因(*aph3'2* III)以及氯霉素耐药基因(*catpCl94*)等^[25],这些抗菌药物耐药基因可通过转化作用使得以扩散。

2 小 结

多位点序列分型的结果表明,环境药物压力是肺炎链球菌基因组进化的主要驱动力。抗菌药物的使用和疫苗的接种虽然能够减少肺炎链球菌感染,但同时也推动了肺炎链球菌物种的快速进化,给人类健康带来了新的挑战。总之,明确肺炎链球菌耐药性的发展和传播机制,对指导临床用药,以限制抗菌药物耐药性的蔓延,并防止新抗菌药物耐药性的出现是必不可少的。

参考文献

- [1] Hicks LA, Harrison LH, Flannery B, et al. Incidence of pneumococcal disease due to non-pneumococcal conjugate vaccine(PCV7) serotypes in the United States during the era of widespread PCV7 vaccination, 1998 - 2004[J]. J Infect Dis, 2007, 196(9): 1346-1354.
- [2] Brugger SD, Hathaway LJ, Mühlemann K. Detection of Streptococcus pneumoniae strain cocolonization in the nasopharynx[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(6): 1750-1756.
- [3] Imai S, Ito Y, Ishida T, et al. High prevalence of multidrug-resistant Pneumococcal molecular epidemiology network clones among Streptococcus pneumoniae isolates from adult patients with community-acquired pneumonia in Japan[J]. J Clin Microb Infect, 2009, 15(5): 1039-1045.
- [4] Sadowy E, Kuch A, Gniadkowski M, et al. Expansion and evolution of the Streptococcus pneumoniae Spain9V-ST156 clonal complex in Poland[J]. J Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(6): 1720-1727.
- [5] Bergman M, Huikko S, Huovinen P, et al. Macrolide and azithromycin use are linked to increased macrolide resistance in Strepto-

- coccus pneumoniae[J]. J Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(13): 3646-3650.
- [6] Beekmann SE, Diekema DJ, Heilmann KP, et al. Macrolide use identified as risk factor for macrolide-resistant Streptococcus pneumoniae in a 17-center case-control study[J]. J Clin Microbiol Infect Dis, 2006, 25(2): 335-339.
- [7] Henderson-Begg SK, Livermore DM, Hall LM. Effect of subinhibitory concentrations of antibiotics on mutation frequency in Streptococcus pneumoniae[J]. J Antimicrob Chemother, 2006, 57(4): 849-854.
- [8] Prudhomme M, Attaiech L, Sanchez G, et al. Antibiotic stress induces genetic transformability in the human pathogen Streptococcus pneumoniae[J]. J Science, 2006, 313(1): 89-92.
- [9] Miller E, Andrews NJ, Waight PA, et al. Herd immunity and serotype replacement 4 years after seven-valent pneumococcal conjugate vaccination in England and Wales: an observational cohort study[J]. J Lancet Infect Dis, 2011, 11(3): 760-768.
- [10] Paradiso PR. Advances in pneumococcal disease prevention: 13-valent pneumococcal conjugate vaccine for infants and children[J]. J Clin Infect Dis, 2011, 52(7): 1241-1247.
- [11] Wroe PC, Lee GM, Finkelstein JA, et al. Pneumococcal carriage and antibiotic resistance in young children before 13-valent conjugate vaccine[J]. J Ped Infect Dis, 2011, 45(5): 1154-1162.
- [12] Croucher NJ, Harris SR, Fraser C, et al. Rapid pneumococcal evolution in response to clinical interventions[J]. J Science, 2011, 331(3): 430-434.
- [13] Donati C, Hiller NL, Tettelin H, et al. Structure and dynamics of the pan-genome of Streptococcus pneumoniae and closely related species[J]. J Genome Biol, 2010, 107(11): 1781-1790.
- [14] Mera RM, Miller LA, Amrine-Madsen H, et al. Impact of new clinical laboratory standards institute Streptococcus pneumoniae penicillin susceptibility testing breakpoints on reported resistance changes over time[J]. J Microb Drug Res, 2011, 17(1): 47-52.
- [15] Camilli R, Libisch B, Fuzi M, et al. New composite genetic element of the Tn916 family with dual macrolide resistance genes in a Streptococcus pneumoniae isolate belonging to clonal complex 271[J]. J Antimicrob Agents Chemother, 2009, 53(5): 1293-1294.
- [16] Chi F, Nolte O, Bergmann C, et al. Crossing the barrier: evolution and spread of a major class of mosaic pbp2x in Streptococcus pneumoniae[J]. J Med Microbiol, 2007, 297(2): 503-512.
- [17] Adam HJ, Karlowsky JA, Nichol KA, et al. Baseline epidemiology of Streptococcus pneumoniae serotypes in Canada prior to the introduction of the 13-valent pneumococcal vaccine[J]. J Microb Drug Resist, 2012, 18(1): 176-182.
- [18] Ozdemir B, Beyazova U, Camurdan AD, et al. Nasopharyngeal carriage of Streptococcus pneumoniae in healthy Turkish infants[J]. J Infect, 2008, 56(2): 332-339.
- [19] Bae S, Lee K. Distribution of capsular serotypes and macrolide resistance mechanisms among macrolide-resistant Streptococcus pneumoniae isolates in Korea[J]. J Diagn Microbiol Infect Dis, 2009, 63(1): 213-216.
- [20] Jumbe NL, Louie A, Miller MH, et al. Quinolone efflux pumps play a central role in emergence of fluoroquinolone resistance in Streptococcus pneumoniae[J]. J Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(1): 310-317.
- [21] Balsalobre L, Ardanuy C, Fenoll A, et al. Fluoroquinolone resistance in penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae clones[J]. J Spain Emerg Infect Dis, 2004, 10(6): 1751-1759.

- [22] Schito GC, Felmingham D. Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* to penicillin, azithromycin and telithromycin (PROTEKT 1999-2003)[J]. J Antimicrob Agents, 2005, 26(3): 479-485.
- [23] Kim SH, Song JH, Chug DR, et al. Changing trends in antimicrobial resistance and serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates in Asian countries: an Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP) study. [J]. J Antimicrob Agents, 2012, 56(6): 1418-1426.
- [24] Camilli R, Iannelli F, Pantosti A, et al. New genetic element carry-

ing the erythromycin resistance determinant erm(TR) in *Streptococcus pneumoniae*[J]. J Antimicrob Agents, 2008, 52(4): 619-625.

- [25] Cochetti I, Tili E, Vecchi M, et al. New Tn916-related elements causing erm(B)-mediated erythromycin resistance in tetracycline-susceptible pneumococci[J]. J Antimicrob Chemother, 2007, 60(1): 127-131.

(收稿日期: 2014-03-01)

• 综 述 •

糖尿病肾病发病机制及治疗研究新进展

牛春波¹综述, 李建华^{2△}审校

(1. 兰州大学第一临床医学院, 甘肃兰州 730000; 2. 兰州大学第一医院肾内科, 甘肃兰州 730000)

关键词: 糖尿病肾病; 发病机制; 治疗**DOI:** 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 16. 035**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2014)16-2204-03

糖尿病肾病(DN)是糖尿病最严重的并发症, 近年在 worldwide 范围内患病人数不断增长, 成为导致终末期肾脏病的主要原因之一^[1]。表现为肾小球高滤过、滤出清蛋白、肾小球基底膜增厚、系膜细胞增生及细胞外基质增多, 导致肾小管及间质的纤维化, 最终引起肾脏功能衰竭^[2-3]。DN 是一种多因素参与诱发的疾病, 发病机制包含多种不同的细胞、分子及其相关因素^[4], 目前已知的机制有高血糖状态、血流动力学改变、肾素-血管紧张素 II-醛固酮系统激活、炎症信号通路等, 但具体机制仍未详细阐明。本文就 DN 的发病机制及治疗研究进行如下综述。

1 DN 发病机制的研究进展

1.1 高血糖 一般情况下高血糖被认为是 DN 患者体内代谢异常通路的始发因素, 通过提升葡萄糖氧化和线粒体生成活性氧, 而加剧氧化应激, 引起 DNA 损伤, 加速细胞凋亡, 最终引起肾小管及间质的纤维化^[5]。也增加了活性氧多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶的数量, 在糖酵解及其他替代途径中抑制甘油醛磷酸脱氢酶, 从而介导细胞损伤^[6]。但国外有研究发现, 糖尿病患者移植非糖尿病患者的肾脏后, 即使合理控制血糖, DN 仍继续发展。因此, 高血糖可能是必要条件^[7]。

1.2 多元醇通路 持续的高血糖激活以醛糖还原酶为限速酶的多元醇代谢通路, 在还原型辅酶 II 作用下葡萄糖大量转化为山梨醇, 使细胞内谷胱甘肽水平降低, 晚期糖基化终末产物及纤维连接蛋白数量增加, 对细胞产生渗透性损伤, 导致细胞结构和功能异常, 直接影响了肾小球和肾小管的功能^[8]。近年来研究发现高血糖环境及醛糖还原酶过度表达, 促使纤维连接蛋白数量增加, 而醛糖还原酶抑制剂能减少纤维连接蛋白的数量^[9]。

1.3 非酶糖基化及晚期糖基化终末产物(AGEs) 在慢性持续高血糖状态下, AGEs 是葡萄糖分子的游离醛基与蛋白质、脂肪酸或核酸的氨基基团发生非酶糖基化反应所形成的一系列具有高度活性终末产物的总称。在糖尿病患者体内, AGEs 的水平与糖尿病并发症的发生及其严重程度呈正相关, DN 患者会引起肾脏功能丧失^[10]。Sebekova 等^[11]证实, 在残存肾脏大鼠模型中, 喂养富含 AGEs 的饲料 6 周, 肾脏质量较前明显增加, 并出现蛋白尿, 而且不依赖肾小球滤过率的改变, 表明含有 AGEs 的食物对肾脏具有损害作用。

1.4 蛋白激酶 C(PKC) PKC 是由不同的同工酶组成的丝氨酸/苏氨酸相关的蛋白激酶, 在 DN 的发展过程中起到信号传递的作用。二酯酰甘油是激活 PKC 的主要胞内物质, 可直接激活 PKC^[12], 激活后会导致内皮功能障碍; 一氧化氮的释放减少, 导致血管收缩障碍; 内皮素-1 和血管内皮生长因子及血管黏附分子过度表达, 导致内皮增殖, 促进肾小球的硬化, 还与转化生长因子- β 1 密切相关, 可引发炎症反应, 并具有促纤维化作用^[13]; 引起核因子- κ B 及纤溶酶原激活物抑制剂-1 的过度表达, 进一步发生组织炎症反应及血栓性微血管病^[14]。

1.5 氧化应激 近年来研究发现氧化应激与高血糖状态密切相关, 在导致 DN 并发症中起到一定的作用^[15]。在肾脏固有细胞, 活性氧可作为信号分子激活许多通路, 如 PKC、MAPK 和 JAK/STAT 等, 引发一系列级联反应, 最终引起细胞损伤^[16]。诱导多种细胞因子生成, 肾脏血流动力学发生转变, 肾小球内皮细胞受损, 系膜细胞外基质沉积及肾小球基底膜增厚。烟酰胺腺苷二核苷酸磷酸(NADPH) 氧化酶和线粒体功能障碍, 被证实是 DN 患者氧化应激的两种主要来源^[17]。

1.6 炎症介质 许多的炎症分子参与了 DN 的发生和进展过程, 例如转化生长因子- β (TGF- β)、白细胞介素家族、趋化因子、黏附分子、Toll 样受体、脂肪因子、核受体、血浆纤溶酶原激活物抑制因子, 血管内皮生长因子等, 激发一系列的炎症信号通路, 导致肾小管及间质纤维化、细胞外基质增厚, 最终引发肾脏功能障碍^[18]。TGF 是致纤维化的重要因子, 包括 β 1、 β 2、 β 3 3 个亚型, 肾脏以 TGF- β 1 为主, 主要分布于肾小球及肾小管上皮细胞。高血糖激活 TGF- β 1/Smad 通路, 可调控细胞外基质的形成。当 TGF- β 1 过度表达时, 基质增生并致肾脏组织纤维化。同时二酯酰甘油-蛋白激酶 C 通路也是活化 TGF- β 1 的主要方式之一, 高血糖引发的多元醇通路、非酶糖基化、PKC 等上游环节亦可引起 TGF- β 1 的活化^[2]。

2 DN 治疗的研究进展

2.1 阻断多元醇通路 依帕司他是新型的醛糖还原酶抑制剂, 能抑制多元醇通路降低氧化应激和炎症反应的程度。国外研究显示依帕司他不仅延缓早期 DN 微量蛋白尿的进展, 也抑制糖尿病患者视网膜点状出血和硬性渗出^[19]。近期国外有一项关于新型醛糖还原酶抑制剂的试验, 动物被随机分组, 包括正常 SD 大鼠和未经处理的 SDT 大鼠, 分别给予口服雷尼司他