

# 医学参考报

## 微生物学与免疫学专刊

Microbiology and Immunology

第八期 NO.08

### 利用大肠埃希菌前哨细胞的转录记录机制，对肠道功能进行无创性评估

【据《Science》2022年5月报道】题：利用大肠埃希菌前哨细胞的转录记录机制，对肠道功能进行无创性评估（瑞士苏黎世联邦理工学院 作者 Florian Schmidt等）

关于肠道细菌的元转录组学，我们在很大程度上没有它适应近端肠道环境的信息，其采样又需要侵入性方式或使用不能保存瞬态信号的设备。同时由于代谢产物和RNA是短暂性的，基于组学的瞬时刺激测量只能产生高度动态过程的快照。因此，肠道功能的综合测量需要一个非侵入性系统，该系统能够在各种条件下进行采样，并保留粪便样本中的近端瞬态信号。苏黎世联邦理工学院 Florian Schmidt 等对肠道细菌如何调整自身基因表达，去适应饮食、健康和疾病相关的环境条件进行了深入研究。

CRISPR-Cas 是原核生物基因组内的一段重复序列，它是细菌抵抗病毒等外源遗传物质入侵的获得性免疫系统。利用 CRISPR-Cas 机制，细菌可以在受到病毒攻击时，将病毒的DNA片段整合到自己的基因组中（CRISPR 阵列），从而“记住”曾经遇到过的病毒，以便

在未来能更快速地对付它们。此前研究团队已基于 CRISPR-Cas 机制开发了一种用于记录肠道细菌对肠道环境变化做出反应的方法，称为“Record-seq”。本次研究中，研究人员进一步完善了 Record-seq，并利用大肠埃希菌前哨细胞转录记录机制，无创验证了不同饮食和疾病背景下的小鼠肠道菌群

生理学。首先，研究者将 *Fusicatenibacter saccharivorans* 的 CRISPR 阵列引入肠道细菌大肠埃希菌 (*Escherichia coli*) 菌株里。转录物被这种特殊的大肠埃希菌逆转录为 DNA，并作为间隔子储存在 CRISPR 阵列中。接着研究者收集动物粪便样本并分离出细菌 DNA，用高通量 DNA

测序对其进行分析。最后根据生物信息学评估，他们可以用大量的数据来重建 mRNA 片段的遗传信息，进而以非侵入性的方式确定肠道细菌在体内产生特定 mRNA 分子的频率，从而确定哪些基因是活跃的（图1）。

研究人员发现，细菌非常

下转第4版

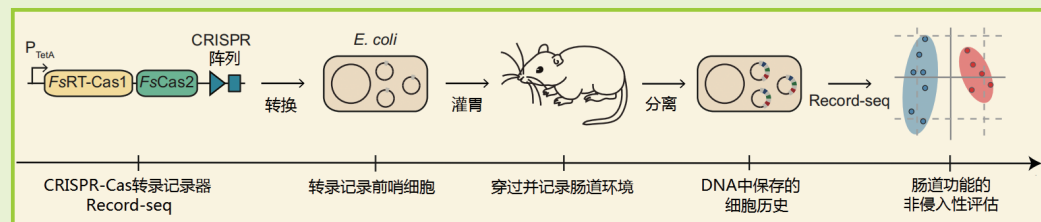


图1 用转录记录哨兵细胞进行体内实验的工作流程

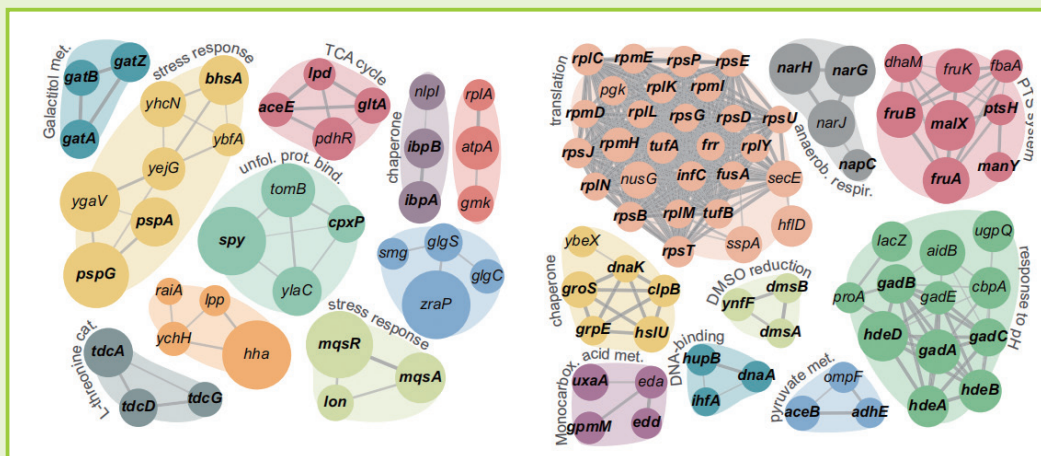


图2 与对照组相比，DSS 处理下显著上调（左）或下调（右）的 DEGs

#### 执行主编简介



于波海 主任

博士，博士后，硕士研究生导师，主任检验技师（临床执业医师）。现任广州中医药大学深圳医院（福田）医学检验科主任，深圳市福田区临床检验质控中心主任。

从事实验诊断学工作二十余年，精通骨髓细胞形态学、染色体分析技术，近五年来，参与国家自然科学基金（青年）项目2项、黑龙江省自然科学基金项目1项；主持吴阶平医学基金、“973”计划子课题、“863”计划子课题、广东省中医药管理局科研课题、黑龙江省卫生健康委科研课题、哈尔滨市青年创新人才、深圳市福田区公益项目等科研课题。获黑龙江省卫生健康委新技术应用奖一等奖4项。发表SCI论文6篇，中华综述2篇，国家核心期刊10余篇。

现担任中华中医药学会检验医学分会常务委员，中国中西医结合学会检验专业委员会委员，中国中西医结合学会检验专业委员会肿瘤免疫实验诊断专家委员会副主任委员，黑龙江省中西医结合学会检验专业委员会副主任委员，《医学参考报·微生物学与免疫学专刊》副主编，中国微生物学会临床微生物学专业委员会全国委员，深圳市中医药学会检验专委会副主任委员。主编著作1部，以副主编参编著作2部。ISO15189医学实验室认可内审员。《中国误诊学杂志》特约编委等社会职务。

#### 导读

- 肠道微生物群影响健康的机制探讨 2版
- 靶位修饰对鲍曼不动杆菌抗菌活性的规避 3版
- 肠道病毒在唾液腺中复制并通过唾液感染 4版
- 长期抗菌药物暴露促使淋巴细胞功能障碍和共生细菌全身逃逸 5版
- 高毒性肺炎克雷伯菌株调节人类树突状细胞功能并影响 Th1/Th17 反应 6版
- 细胞焦亡：癌症研究的新前沿 7版
- 姜黄素可能通过细胞焦亡途径治疗白血病 8版

#### 执行主编点评

肠道，是人体消化吸收的重要场所，在维持机体正常免疫防御功能中发挥着极其重要的作用，而肠道菌群被认为是调节宿主健康的关键因素之一。一个成年人的肠道展开面积可达200 m<sup>2</sup>，80%以上的微生物都生活在此。肠道内的微生物种类超过1 000种，细胞总数超过1 014个，约为人体自身细胞数量的1.3倍，基因数量是人基因数量的38倍之多。作为人体最庞大、最复杂生态系统，肠道菌群及其代谢产物越来越受到科学家们的重视。微生物在体内具体如何发挥作用，如产生何种酶、何时产生，以及细菌是如何代谢有利于人体健康的食物从而帮助人们避免疾病，这些问题依然是谜团。

苏黎世联邦理工学院Randall Platt等团队研究的“细菌数据记录器”，可以在无创条件下报告与饮食情况、宿主、其他微生物及病理环境的相互作用。科学家们将 *Fusicatenibacter saccharivorans* 的CRISPR阵列引入肠道细菌大肠埃希菌菌株中，随后将改良的肠道细菌作用于实验室的小鼠，再从动物身上收集粪便样本并分离出细菌DNA，进而使用高通量DNA测序对其进行分析。最后通过生物信息学评估，研究者能够处理大量的数据并重建mRNA片段的遗传信息。这使得科学家能够通过非侵入性手段确定肠道细菌在体内产生特定mRNA分子的时间，从而确定何种基因活跃。

这种新方法可以让医生直接从肠道获取信息，而不必干扰肠道功能。相比于在检查时肠道的排空和会干扰肠道功能的内镜检查，新方法具有明显优势。

关于大肠埃希菌前哨细胞的未来展望主要包括：①进一步了解饮食如何影响肠道生态系统；②利用细菌传感器识别肠道中的炎症反应；③帮助研究者区分不同细菌，显示活跃细菌在肠道内的情况；④区分小肠和大肠中细菌的RNA谱。

由于细菌已经过基因改造，在细菌传感器可以在实验室外，包括在患者身上使用之前，科学家们仍然必须澄清各种安全和法律问题。原则上，只要满足某些条件并制定出合适的安全机制，即可使用基因工程改造过的活微生物，作为医学中的诊断方法或治疗剂，从而造福患者。

## 肠道微生物群影响健康的机制探讨

【据《Gut》2022年2月报道】题：肠道微生物群与健康——机制见解（芬兰赫尔辛基大学 作者 Willem M de Vos 等）

肠道微生物群的基因和产物自产生以来就存在于人体内，并垂直转移。虽然人体各个部位都有微生物定植，但在肠道中发现的微生物数量最多。肠道微生物群被认为是调节宿主健康的关键因素之一，其稳态对宿主健康及疾病的发生发展至关重要。随着宏基因组学、代谢组学、脂质组学、宏转录组学等分子工具和技术的发展，宿主和肠道微生物间存在的相互作用正逐步被破译。芬兰赫尔辛基大学 Willem M de Vos 等讨论了肠道细菌的多种分子机制，介绍了细菌代谢物并将其延伸到新分子作用因子（如内源性大麻素、生物活性脂质、酚类衍生化合物、晚期糖基化终产物和 enterosynes）及其特定受体。

## 一、肠道微生物和代谢紊乱

肠道微生物群在代谢紊乱中发挥着重要的调节作用。这种调节依赖于微生物群及其代谢产物，以及它们与宿主细胞上受体之间的相互作用。这些受体可以激活或抑制信号通路，对宿主产生不同的作用（图1）。

肠内分泌细胞（L细胞）表达短链脂肪酸（short-chain fatty acids, SCFAs）、特异性内源性大麻素（endocannabinoids, eCBs）和胆汁酸（bile acids, BAs）激活的几种关键受体。激活这些受体会增加肠道关键肽的分泌，如胰高血糖素样肽（glucagon-like peptide, GLP）-1、GLP-2和PYY。肠道微生物与这些分子的相互作用有助于降低肠道通透性，提高胰岛素分泌和其敏感性，减少食物摄入，降低血浆脂质，从而避免肝脏脂肪变性和代谢性内毒素血症。这些作用还与降低炎症有关。在病理情况下则观察到相反的作用。

## 1. 短链脂肪酸

SCFAs具有抗炎作用，是肠道菌群与宿主进行信号传递的重要物质。肠道菌群可通过发酵多糖得到SCFAs。SCFAs通过作用于肠内分泌L细胞表面表达的特异性G蛋白偶联受体（G protein-coupled receptor, GPR）（包括GPR43和GPR41），来刺激肠道肽的分泌。这些受体多存在于回肠末端和结肠，也在脂肪细胞和免疫细胞中表达。除此外，一些SCFAs还能影响微生物环境，如丁酸通过激活线粒体中的 $\beta$ 氧化来

控制结肠中的厌氧条件。

## 2. 脂多糖/病原体相关分子模式

病原体相关分子模式（pathogen-associated molecular patterns, PAMP）是炎症反应的有效激活剂，特别是在革兰阴性菌细胞膜上发现的——脂多糖（lipopolysaccharides, LPS）。PAMPs通过激活特异性模式识别受体（pattern recognition receptors, PRRs）发挥其活性。PRRs主要有4个亚家族，其中toll样受体（TLRs）过度激活会导致免疫稳态的破坏，相应产生的促炎细胞因子和趋化因子

低了脂肪组织的产热程序，进而使肠道微生物群的组成发生了变化。另一研究表明，肠道微生物群本身能够产生特定的eCBs。这为探索微生物群-宿主间的相互作用开辟了新的机会，并提供了新的治疗靶点。此外，de Vos等认为BAs可视为微生物衍生的信号转导代谢物。细菌代谢改变了BAs的生物利用度和生物活性，从而影响相关代谢反应。

## 4. 芳香烃受体

芳香烃受体（aryl hydrocarbon receptor, AhR）途径反映了微生物群-上皮屏

## 5. 关键细菌及其特定分子

研究发现，在可能共生的肠道细菌中存在独特的信号分子，包括由拟杆菌产生的多糖和鞘脂及由肠球菌产生的多肽类。它们在分泌时或定位细胞膜时或许与宿主受体发生相互作用。

大肠埃希菌的酪蛋白水解蛋白酶B（caseinolytic protease B, ClpB）是 $\alpha$ -黑素细胞刺激激素的一种抗原模拟蛋白，可通过增加血浆GLP-1和PYY的产生来增加饱腹感。嗜黏蛋白阿克曼菌的一个84 kDa蛋白（称为P9），口服后可增加小鼠血清GLP-1；此外体外研究表明，P9与细胞间黏附分子2受体相互作用。而最近发现的嗜黏蛋白阿克曼菌50 kDa Amuc\_1434\*蛋白，可通过肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体（tumour-necrosis-factor related apoptosis-inducing ligand, TRAIL）介导的凋亡通路，抑制LS174T细胞的活性。

## 6. 新发现的分子

Enterosynes是来源于肠道的分子，具有通过靶向肠道神经系统（enteric nervous system, ENS）调节十二指肠收缩的能力。相关研究证实，通过ENS神经元恢复十二指肠的自然收缩，可恢复肠-脑轴并提高胰岛素敏感性。

肠道微生物群、脑功能和葡萄糖代谢之间的关联正成为这一研究领域的热门话题，而ENS的作用也成为解决糖尿病等疾病的新靶点。低聚果糖可通过控制肠内神经元活动来降低十二指肠收缩频率，从而降低糖尿病小鼠的炎症标志物。通过脂质组学分析，发现这种低聚果糖选择性地增加了结肠细胞中肠道生物活性脂质[12-羟基二十碳四烯酸（12-HETE）]的丰度。还有研究发现口服3-羟基十八碳醇（C18-3OH）可以减少结肠炎的发生，同时低聚果糖的抗炎特性与结肠C18-3OH浓度的增加有关。

## 二、结论与观点

在过去二十年中，肠道微生物的研究已经取得了相当大的进展。然而，许多研究只是证明了相关性，从相关性到因果关系的转变仍然是一个重要且必要的步骤。基于组学分析方法的进步，医学正逐渐走向个性化医疗，而微生物组时代显然是未来医学和营养学方法转变的重要组成部分。

[广州中医药大学深圳医院（福田）

刘泓琴 编译]

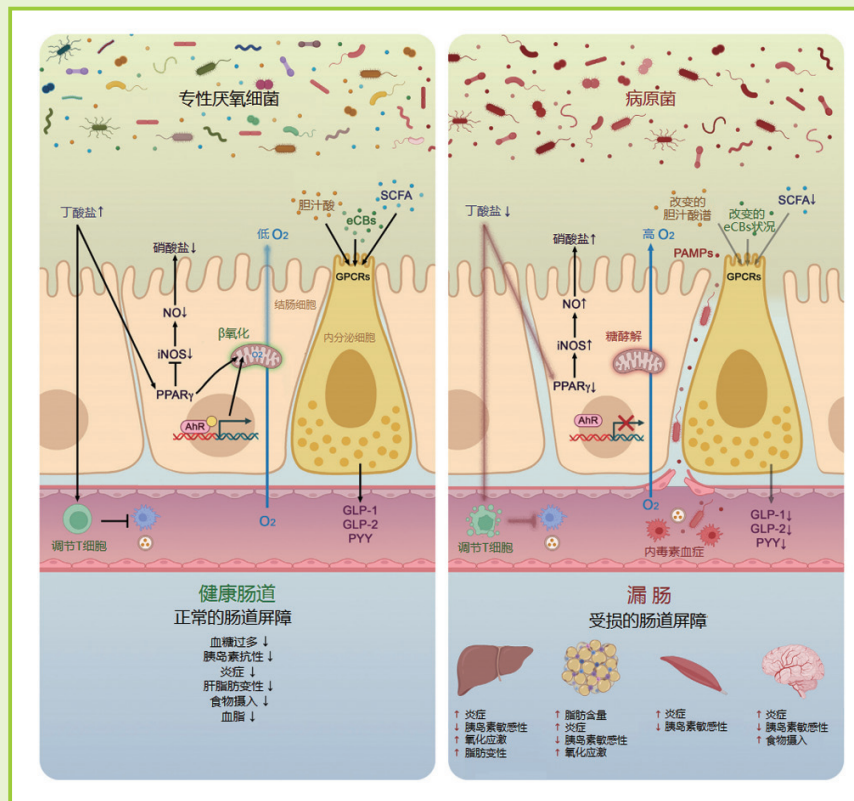


图1 健康和病理状态下肠道微生物群与宿主健康关联的分子机制

会增加炎症性疾病和自身免疫性疾病的风险。不同类型细菌的LPS对肠道屏障功能、脂肪炎症、肠道葡萄糖吸收、血糖、胰岛素和肠促胰岛素的影响不同，表明代谢内毒素水平对宿主代谢的净影响可能因肠道微生物群的不同功能而异。

## 3. 生物活性脂质

研究发现宿主的eCB系统和肠道微生物群可能存在双向相互作用。从动物模型来看，eCB系统通过N-酰基磷脂酰乙醇胺-水解特异性磷脂酶D（N-acylphosphatidylethanolamine-hydrolysing-specific phospholipase D, APE-PLD），影响脂肪发育和肠道功能。缺失NAPE-PLD的脂肪细胞特异性地降

障-代谢和免疫功能界面的原型途径。AhR配体结合使AhR易位到细胞核中，并与二聚体分子AhR核转运蛋白结合，导致参与免疫和炎症过程的基因发生转录。在这过程中，细菌及其代谢产物作为激活剂发挥关键作用。

AhR配体的增加可改善代谢功能，同时改善肠道屏障，减少肝脏脂肪变性。Indigo是天然的AhR配体，具有强大的抗炎活性，通过上调乳杆菌菌株和关键的屏障细胞因子白介素IL-10和IL-22，可防止高脂肪饮食诱导的肥胖和代谢紊乱。微生物色氨酸代谢产物可通过影响顶端连接复合物（肌球蛋白IIA, ezrin）的完整性来保护肠道上皮屏障。

## 医学参考报

理事长兼总编辑：巴德年 社长：魏海明  
副理事长兼副总编辑：曹雪涛等 副社长：吕春雷  
理事会秘书长：周赞 副社长：周赞  
社址：北京市西城区红莲南路30号红莲大厦B0403  
邮编：100055 总机：010-63265066  
网址：www.yxckb.com

## 微生物学与免疫学专刊

主编：谷海瀛  
副主编：陈海 关秀茹  
于波海 张仁利 张展  
常务编委：（按姓氏笔画排序）  
邓少丽 伍严安 刘辉  
何成彦 罗光华 周铁丽  
胡继红 黄芳 鲁颖  
编委：（按姓氏笔画排序）  
王丽 方莹 叶嗣颖  
闫东辉 邹翠美 张芳琳  
金炎 金凤玲 孟冬娅  
宫殿军 姚立琼 崔建娇  
魏殿军  
王谦 徐小平  
赵虎 赵林清  
刘靳波 许颖  
赵雅 赵明才  
刘卫平 刘庆中  
陈宇宁 罗振华  
赵建平 胡晓梅  
梁红萍 魏取好  
青年编委会  
副主任编委：雷迎峰 秦琴 石瑛 张艳梅  
编委：（按姓氏笔画排序）  
于晓丽 王月玲 韦传东 申艳娜 冯永辉 吕欣  
朱雄 朱晓彤 刘燕 麦文慧 李卓 李昕  
李寅雁 时景伟 何英 宋江勤 张利军 张昭勇  
邵春红 武有聪 罗亮 罗春玉 金大智 周柯  
周爱萍 赵广会 胡斌 胡同平 俞娟 徐和平  
高冬梅 郭大文 黄宇 黄轶 黄筱钧 惠燕霞  
傅锦坚 穆廷杰  
编辑部主任：谷海瀛 本期执行主编：于波海  
编辑：吕宝霞 励媛如  
投稿邮箱：mnmip@sina.com

## 靶位修饰对鲍曼不动杆菌抗菌活性的规避

【据《International Journal of Molecular Sciences》2022年6月报道】题：靶位修饰对鲍曼不动杆菌抗菌活性的规避：一种有效的耐药机制（墨西哥国立理工大学 作者Arturo Martínez-Trejo等）

鲍曼不动杆菌是一种革兰阴性杆菌，可引起多种感染，主要发生在住院患者中。其抗性能力是由各种机制产生的，包括对抗菌作用所针对的目标部位的修饰。其机制主要由基因突变产生，导致鲍曼不动杆菌对多种抗菌药物产生耐药。墨西哥国立理工大学Arturo Martínez-Trejo等详细介绍了鲍曼不动杆菌靶位点修饰介导的抗菌药物耐药性，并提出了相应的治疗方案。

鲍曼不动杆菌有3种抗菌药物耐药机制（图1）。第1种是通过外排泵的存在或降低膜的渗透性来阻止抗菌剂到达其指导作用的目标位点。第2种是通过使抗菌剂失活而发挥作用的，其中这些抗菌剂可以在其结构的某些部分进行修饰或水解。在这个机制中，涉及各种酶的参与，主要是碳青霉烯酶。第3种机制是通过修饰抗菌药物所针对的靶位点，这由特定位置的基因突变或各种蛋白质的转录后修饰引起（图2）。最后一种机制导致了各种抗菌药物产生广泛的耐药性，例如氟喹诺酮类、四环素类、大环内酯类、噁唑烷酮类、氨基糖苷类、利福霉素、多黏菌素和 $\beta$ -内酰胺类。出于这个原因，研究这种机制对抗鲍曼不动杆菌的耐药菌株具有重要意义。

$\beta$ -内酰胺酶的产生是鲍曼不动杆菌抗性的主要机制。报道最多的酶是在I型染色体上编码的头孢菌素酶类，它对第1代和第2代头孢菌素产生抗性。众所

周知， $\beta$ -内酰胺酶的产生及表达的减少和孔蛋白结构的变化是 $\beta$ -内酰胺抗性的关键因素。然而，它们并不是赋予鲍曼不动杆菌对 $\beta$ -内酰胺类抗性的唯一机制。在青霉素结合蛋白（PBP）中也发现了结构改变，它是一些 $\beta$ -内酰胺的靶标；如果改变PBP， $\beta$ -内酰胺的作用就会降低。PBPs对细胞增殖过程中的细胞壁生物合成至关重要，PBPs负责催化转糖基化和通过肽聚糖转肽作用进行交联，从而产生细胞壁聚合物。PBPs的修饰已被证明在革兰阴性菌（包括鲍曼不动杆菌）的 $\beta$ -内酰胺耐药性中起重要作用。

在鲍曼不动杆菌感染中，利福平的抗性与*rpoB*基因的突变有关，该基因编码利福霉素敏感性RNA聚合酶的 $\beta$ 亚基，并在添加第一个核苷酸后阻止RNA延伸。利福平与细菌RNA聚合酶的活性位点结合，抑制转录过程。除了利福平，RpoB与对所有利福霉素（利福布丁、利福昔明和利福喷丁）的耐药性有关。总之，该药物的逃避机制是该靶蛋白 $\beta$ -亚基中的氨基酸被取代。

氟喹诺酮类药物通过抑制DNA促旋酶和拓扑异构酶IV发挥作用，氟喹诺酮类药物的作用是拓扑异构酶-喹诺酮-DNA复合物转化为不可逆的形式，并通过拓扑异构酶的变异性在DNA中产生双链断裂。对氟喹诺酮类药物的耐药性主要由喹诺酮类药物耐药决定区（quinolone resistance determinant region, QRDR）基因的自发突变介导，即DNA旋转酶和拓扑异构酶IV。由于DNA促旋酶亚基A（*gyrA*）或拓扑异构酶IV亚基C（*parC*）基因的修饰而导致的药物靶点改变与对氟喹诺酮

类药物的高水平耐药有关。

大环内酯类、林可酰胺和链霉素B组抗菌药物通过与50S核糖体亚基结合来阻断细菌中的蛋白质合成。根据MicroBIGG-E数据库，鲍曼不动杆菌对大环内酯类药物的耐药性归因于通过3个23S rRNA[由*erm* (B)、*erm* (C)和*erm* (F)编码的腺嘌呤-N6-甲基转移酶]和ABC-F型核糖体保护蛋白Msr (E)或msr (E)靶位修饰产生耐药性，而*mph* (A)和*mph* (ME)编码的两种大环内酯2'-磷酸转移酶导致大环内酯类的失活。

四环素是一种与30S核糖体亚基结合的抗菌药物，通过中断翻译的起始来抑制蛋白质合成。作者介绍了与四环素抗性有关的3种主要机制：ATP依赖性外排泵、酶对四环素的失活和核糖体保护蛋白（RPP）。

噁唑烷酮类药物中，利奈唑胺是最早可用于治疗由鲍曼不动杆菌和其他细菌引起感染的抗菌药物之一。噁唑烷酮的主要作用是通过结合P位点，抑制起始复合物和肽基-tRNA从A位点到P位点的易位。根据CARD（综合抗菌药物耐药性数据库）显示，50S核糖体亚基的P位点发生突变，导致肽基-tRNA攻击已发育的多肽链，从而产生对利奈唑胺的耐药性。除了存在外排泵（LmrS能够排除利奈唑胺外的各种抗菌药物）外，还有一种23S rRNA甲基转移酶样*cfr*，称为ClcD，以及编码核糖体保护蛋白（ABC-F ATP-结合盒式核糖体保护蛋白）的*poxtA*基因，有助于噁唑烷酮抗性。

氨基糖苷类是治疗由具有高耐药性的菌株引起感染的首选药物。其中最具有代表性的

是链霉素、安普霉素、妥布霉素、庆大霉素、阿米卡星和新霉素B。它们特异性结合30S核糖体的16S rRNA的A位点以抑制蛋白质合成，并已与超广谱 $\beta$ 联合使用用于治疗革兰阴性微生物的内酰胺。在鲍曼不动杆菌中，对氨基糖苷类的

MIC。重要的是要考虑到，如果新的 $\beta$ -内酰胺- $\beta$ -内酰胺酶抑制剂抗菌药物组合对碳青霉烯类具有抗性，则没有一种对鲍曼不动杆菌具有活性。

此外，还有不使用抗菌药物的替代疗法。在多数情况下，噬菌体疗法可以观察到良

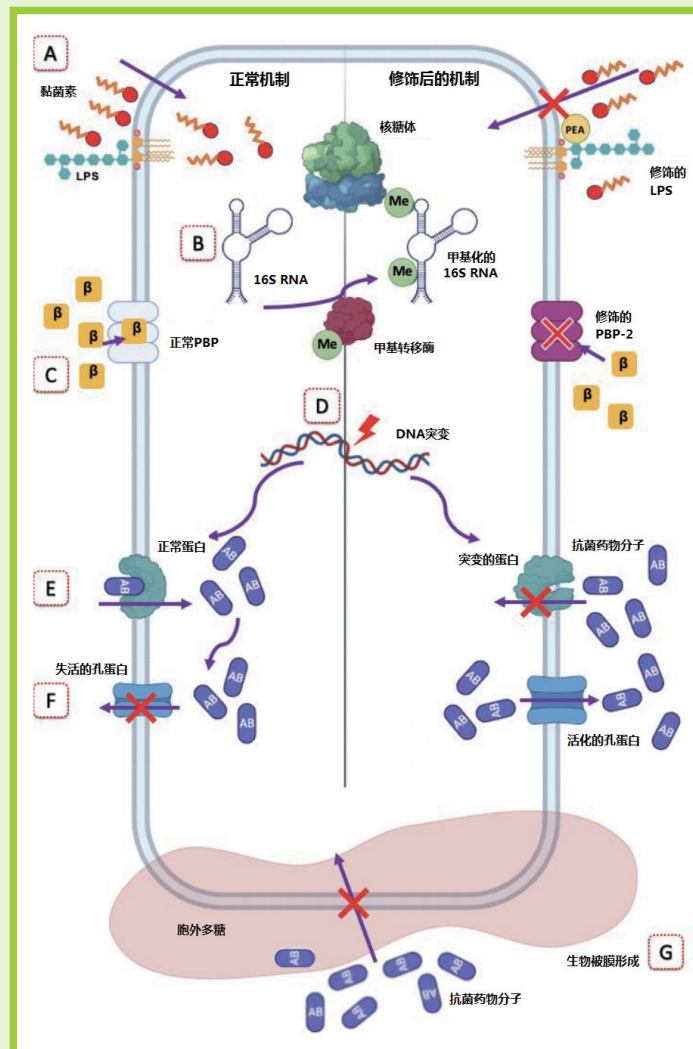


图2 靶位修饰介导的抗菌药物耐药机制，总结了鲍曼不动杆菌为逃避各种抗菌剂的作用而在靶位点发生的不同变化

抗性主要通过基糖苷类修饰酶（AME）来削弱抗菌药物的结合能力。此外，16S rRNA甲基转移酶对靶位点进行随机化，以及在通透性丧失或外排活动过度后，对氨基糖苷类的摄取受限。

当前形势下，Arturo Martínez-Trejo等建议采用以下综合治疗策略：联合使用抗菌药，通过优化药动学/药效学（PK/PD）比率来管理它们，优先选择保留一定程度体外活性的抗菌剂，优化其他治疗措施，例如手术清创或移除受感染的组织或装置，以及在开始治疗之前确保它是感染而不是定植。

在选择用于单药治疗（仅当微生物完全敏感时）或与其他药物联合使用的抗菌药物时，应考虑感染部位。还要考虑到抗菌活性，即使敏感性研究报告存在中等敏感性或耐药性，也应观察不同抗菌剂的

好的临床结果。目前，随机临床试验证实了该疗法的安全性，即使在非常低的噬菌体滴度下，通过减少治疗患者的细菌负荷也是可行的。显然，根据循证医学，迫切需要更多的临床试验来证实针对这种病原体的噬菌体疗法的价值。目前研究主要集中在噬菌体编码的内毒素上。内毒素是一种裂解酶，可降解细菌宿主的细胞壁，并有望成为具有独特作用模式的新型抗菌剂。

总的来说，鲍曼不动杆菌引起的感染在医疗保健环境中具有相关性，其多重耐药菌株的分离频率很高。其抗菌药物耐药的部分原因是这种细菌使用不同的机制使其逃避抗菌剂的作用。在这些机制中，主要是抗微生物剂作用的靶位点发生改变，这共同导致了药物的多重耐药。

[广州中医药大学深圳医院（福田）莫莉 编译]

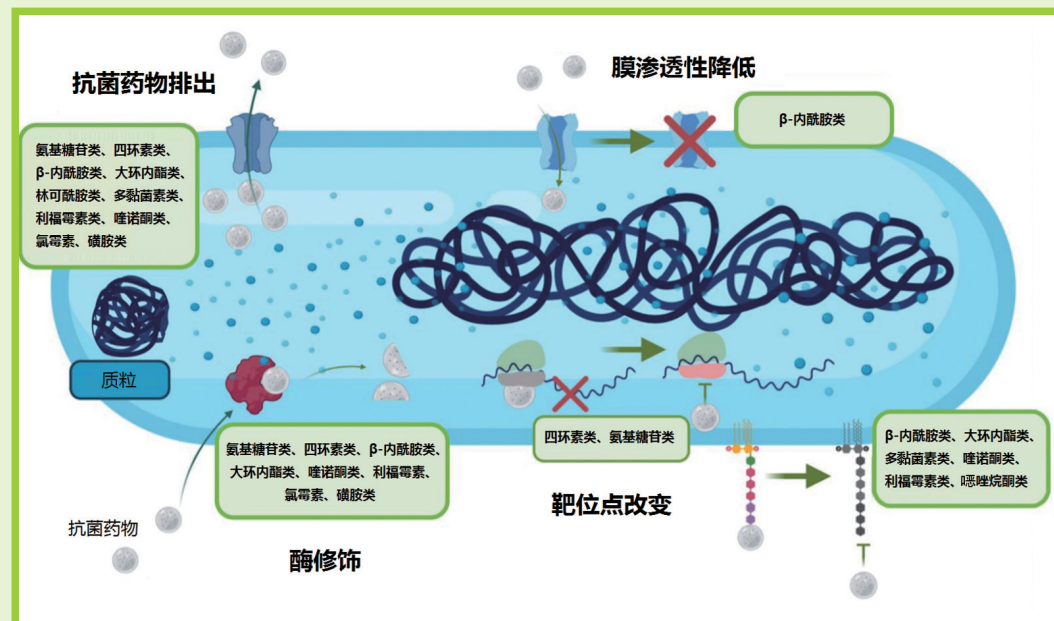


图1 鲍曼不动杆菌用于逃避抗菌药物作用的机制

## 肠道病毒在唾液腺中复制并通过唾液感染

【据《Nature》2022年6月报道】题：肠道病毒在唾液腺中复制并通过唾液感染（美国国家卫生研究院 作者 S. Ghosh 等）

肠道病毒如诺如病毒、轮状病毒和星状病毒等会导致严重腹泻，一直被认为通过粪口途径在人群中传播，病毒从一个宿主的粪便，进入另一个人的口腔，绕过唾液腺（salivary glands, SGs）到达肠道复制，再通过粪便重复传播循环。在唾液中偶有检测到上述病毒，但通常被解释为肠道污染物。来自美国国家卫生研究院的 S. Ghosh 等研究证实，肠道病毒存在另一种传播途径——唾液传播。

幼鼠是用于此研究的首选动物模型，因为不成熟的消化系统和免疫系统使它们很容易受到感染。研究者给新生小鼠（<10天龄）口服接种小鼠诺如病毒1（murine norovirus, MNV-1）或轮状病毒[新生幼鼠流行性腹泻（epizootic diarrhoea of infant mice, EDIM）]，观察到接种后3-5天，肠道复制达到峰值，7-10天时被清除。成年小鼠口服接种后情况类似。

幼鼠免疫系统不全，需从母乳乳汁获得其乳腺产生的分泌型IgA（sIgA）等免疫成分对抗肠道感染，直到接近断奶时才自己生成sIgA。研究者发现，在MNV-1或EDIM感染后3天，幼鼠小肠sIgA水平快速达到一个峰值，与母乳sIgA水平峰值相关（图1a-c）。通过分离母乳发现，MNV-1和EDIM基因组RNA丰度比输入时（接种6h后，6hpi）增大了约 $10^5$ 倍，表明肠道病毒在乳腺中复制（图1d）。抗EDIM和MNV-1非结构复制蛋白NSP5和NS4抗体免疫染色证实了这一点，并发现乳管内的上皮细胞和B细胞是EDIM和MNV-1的复制位点。

众所周知，在肠道感染或疫苗接种时，妊娠和哺乳期间的肠-乳腺途径会导致免疫细胞而非病毒由肠道转移到乳腺。为研究乳腺中的肠道病毒复制和乳汁sIgA的快速激增是否是由于母鼠吞噬共同生活空间污染的粪便、经传统的粪口途径感染所致，研究者给产后10天的EDIM血清阴性的母鼠口服接种了EDIM，再检测乳腺和小肠EDIM基因组RNA和乳汁sIgA的水平。相较于给感染的幼鼠哺乳的母鼠，口服接种的母鼠乳汁中没有sIgA激增，乳腺也没有显示任何可检测到的病毒RNA，而小肠的病毒RNA在感染后4天，增加了 $10^6$ 倍（图1e）。表明母鼠乳腺中的复制和乳汁sIgA的快速激增是由于给感染的幼鼠哺乳所致。

为研究病毒转移模式，研究者设计了交叉哺乳的方案：将口服EDIM的幼鼠A，交由母鼠A哺乳；未口服EDIM的幼鼠B，交由母鼠B哺乳；1天后交换哺乳母鼠。3天后检测病毒在母乳乳腺和幼鼠小肠中的复制发现，母鼠A和B的乳腺病毒基因组水平增加了 $10^4$ 倍，幼鼠A和B的小肠基因组水平增加了 $10^6$ 倍（图1f）。表明感染的幼鼠可通过吸吮将唾液中肠道病毒回流到母乳乳腺中，并迅速触发乳汁sIgA激增。

为进一步确认哺乳期间肠道病毒是否经唾液传播到乳腺，研究者从21只口服接种了EDIM或MNV-1的成年小鼠中提取唾液，用抗EDIM轮状病毒VP6和抗MNV-1VP1进行免疫印迹检测，结果显示，两种病毒均在接种2天后开始脱落到唾液中；MNV-1 TCID<sub>50</sub>测量显示，接种3天时的滴度大约比输入时（6 hpi）高 $10^4$ 倍。MNV-1和EDIM感染是急性的，在7-10天内被清除。MNV-3、MNV-4和特征较差的WU23小鼠诺如病毒株持续感染结肠近端，并持续数周脱落到粪便中。研究者将这3种菌株接种给小鼠，发现接种后至少3周，所有病毒都持续脱落到唾液中，滴度大约是输入时的 $10^3$ 倍。

主要的SG复合体由腮腺、舌下腺和

下颌腺（submandibular gland, SMG）组成。研究者给幼鼠和成年小鼠口服接种MNV-1、MNV-3、MNV-4或WU23株后，其SMGs中每种病毒的输入水平（6 hpi）增加了约 $10^4$ 倍，MNV-3、MNV-4和WU23在SMG复制的水平与持续时间与近端结肠相当。同样，在接种EDIM和小鼠星形病毒的29只小鼠的SMGs中，分别检测到病毒基因组拷贝数增加了约 $10^5$ 倍和 $10^3$ 倍。显示上述肠道病毒在唾液腺复制。

为确认唾液中的肠道病毒可经口腔传播，研究者将MNV-1或EDIM感染的成年小鼠的唾液口服接种幼鼠，并在3天后测量幼鼠肠道病毒基因组水平，结果显示了显著的EDIM和MNV-1复制，与口服接种粪便EDIM或MNV-1的幼鼠一样。表明这些肠道病毒可由唾液经过传统的口腔途径传播。

TCID<sub>50</sub>测量显示，CD45<sup>+</sup>免疫细胞和EpCAM<sup>+</sup>（上皮细胞黏附分子）上皮细胞SMG细胞群中存在显著的MNV-1滴度，通过抗MNV-1复制报告基因NS4和双链RNA、上皮细胞（EpCAM）和免疫细胞（CD45）标记物抗体共免疫染色，证实了这一点。NS4染色定位于腺泡上皮细胞，EDIM在CD45<sup>+</sup>和

EpCAM<sup>+</sup> SMG细胞群中也有复制，但在后者中的复制主要是在导管上皮细胞中。Cd300lf编码所有已知小鼠诺如病毒株的功能性肠道受体，也在SMG EpCAM<sup>+</sup>和CD45<sup>+</sup>细胞群中高表达。接种MNV-1的Cd300lf<sup>-/-</sup>幼鼠没有显示出任何SGs的增殖性感染，表明CD300lf受体对小鼠诺如病毒感染SMG是必不可缺少的。这些数据，加上MNV-3/MNV-4/WU23在SMG的持久性和SMG对急性肠道病毒的清除速度较肠道慢，表明SGs可能是肠道病毒的宿主。

诺如病毒、轮状病毒和星状病毒等肠道病毒每年感染发达和发展中国家约10亿人，发病率和死亡率较高。公认肠道病毒通过粪口途径在人群中传播，而这项研究证明，唾液可能是肠道病毒更重要的传播途径。SGs是肠道病毒复制的重要位点，病毒可通过唾液，在说话、咳嗽、打喷嚏、接吻、哺乳时传播。此外，SGs作为肠道病毒宿主，可在没有腹泻的情况下通过唾液传播肠道病毒。因此，预防肠道病毒传播，除了传统的预防粪便传播外，可能还需要采取新的卫生措施，以防止肠道病毒经唾液在人群中传播。

[中山大学附属第八医院（深圳福田）何英编译]

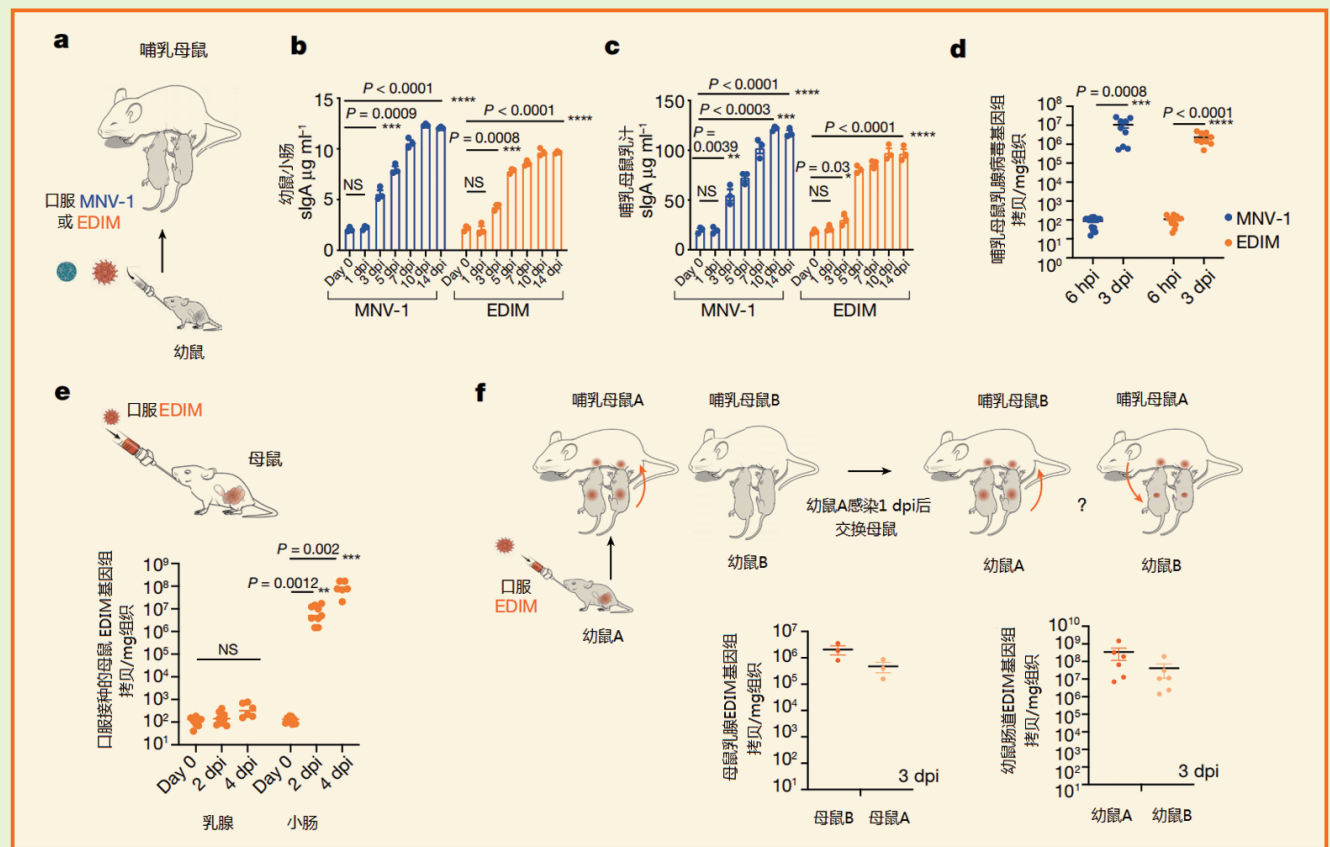


图1 肠道病毒感染的幼鼠通过吸吮将病毒传播给哺乳母鼠的乳腺  
\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ; \*\*\*\* $P < 0.0001$

### 上接第1版

擅长记录环境条件并使其代谢适应饮食变化等。他们通过给前哨细胞单克隆化的小鼠喂食3种饮食：标准食物、纯化的淀粉食物和纯化的脂肪食物，发现转录记录前哨细胞可重复地记录细胞转录组，并提供体内不同哺乳动物肠道环境的复杂和动态特征的档案。在饮食转换之前，RNA-seq和Record-seq都可

以轻松区分饮食组，但在改用食物后，与淀粉或脂肪饮食对应的转录特征在RNA-seq中迅速丢失，而在Record-seq中并没有发生。因此，RNA-seq代表快照测量，而Record-seq持久地揭示过去的转录信息。独立重复实验验证了Record-seq的可重复性，并证实了他们之前的观察结果。他们还直接比较了这两个实

验，发现Record-seq差异表达基因（differentially expressed genes, DEG）的调控有95%的重叠。

在上述饮食更替实验中，Record-seq提供了大肠埃希菌适应肠道环境的详细图片。Record-seq差异表达基因（DEG）很容易通过层次聚类对3种饮食条件进行分类，并且每种饮食之间的成对比较产生了数百个DEG。

通路富集分析揭示了饮食条件下广泛细胞行为的许多饮食依赖性变化。当小鼠的饮食缺乏多样化时，多种代谢基因的表达会增加。研究人员假设这些基因允许细菌以宿主的黏膜糖为食，并预测当宿主的饮食受到限制时，缺少这些基因的细菌将处于竞争劣势。淀粉饮食小鼠的Record-seq表征揭示了大肠埃希菌在体内对更有

限的碳源可用性的代谢适应。

研究人员采用葡聚糖硫酸钠（DSS）诱导的结肠炎小鼠模型，在确认DSS在体外对大肠埃希菌转录组的直接影响微乎其微之后，对连续收集的DSS浓度增加的小鼠粪便样本进行了记录排序。结果表明，Record-seq可以区分DSS处理的小鼠和对

下转第5版

## 长期抗菌药物暴露促使淋巴细胞功能障碍和共生细菌全身逃逸

【据《Cell Host & Microbe》2022年7月报道】题：长期抗菌药物暴露促使淋巴细胞功能障碍和共生细菌全身逃逸，提高全身性真菌感染的死亡率（美国国立卫生研究院作者Rebecca A. Drummond等）

侵袭性念珠菌病起源于胃肠道或皮肤屏障完整性被破坏后的共生真菌感染，以白色念珠菌感染最常见。广谱抗菌药物暴露是侵袭性念珠菌病的危险因素之一，但机制尚不清楚，一些患者胃肠道屏障完整性没有受损，无法解释真菌易位。来自美国国立卫生研究院的Rebecca A. Drummond等对广谱抗菌药物暴露促进白色念珠菌全身性感染的免疫反应机制进行了研究。

白色念珠菌不会在小鼠的胃肠道自然定植。研究者用多种广谱抗菌药物（氨苄西林、甲硝唑、新霉素和万古霉素，即AMNV）处理小鼠，再通过静脉接种白色念珠菌感染小鼠，发现小鼠死亡率显著升高，小鼠肠道各组织层（黏液、肠上皮和肠深部组织）中均有明显的真菌增殖，与血液来源的真菌对组织的侵袭一致。表明广谱抗菌药物增强了小鼠胃肠道对侵袭性念珠菌的特异易感性。

抗菌药物曾被证实与共生细菌的低水平全身易位有关。研究者从抗菌药物暴露并感染白色念珠菌的小鼠脾脏中培养出大量的革兰阳性和阴性细菌，在其血液和腹膜液中也发现了易位细菌，经质谱鉴定证实这些细菌是胃肠来源的共生菌，肠道组织学检查表明这些共生菌逃逸为非炎症性的。而未感染真菌的抗菌药物暴露小鼠或未经抗菌药物处理的感染白色念珠菌的小鼠的脾脏中均未发现细菌，表明全身细菌易位是在抗菌药物暴露和全身性真菌侵袭下发生的。研究者还在AMNV暴露小鼠中观察到细菌生态失调，包括产生促进胃肠道-组织屏障完整性的短链脂肪酸（SCFAs）的玫瑰球菌和丁酸单胞菌等肠道正常菌群被清除。但将SCFAs混合物（醋酸、丁酸和丙酸）注射给AMNV暴露小鼠，并不能逆转抗菌药物诱导的对侵袭性白色念珠菌的易感性，表

明抗菌药物暴露小鼠的肠道真菌增殖，与短链脂肪酸的减少没有关联。

IL-17A是黏膜屏障的关键抗真菌分子，IL-22和GM-CSF对肠道白色念珠菌感染有保护作用并可促进肠道屏障完整性。为了阐明抗菌药物诱导胃肠道抗真菌免疫和屏障完整性功能失调的分子和细胞基础，研究者检测了在真菌感染前和感染期

细胞的 $Rag1^{-/-}$ 小鼠，以及同时缺乏CD4 T细胞和初始淋巴细胞（ILCs）的 $Rag2^{-/-}/Ilr2g^{-/-}$ 小鼠进行抗菌药物暴露时真菌感染对照研究发现，是抗菌药物暴露小鼠的初始和适应性淋巴细胞的缺陷介导了对随后侵袭性真菌感染的易感性增强，而与胃肠道固有CD4 T淋巴细胞没有关系。为了研究在这种情况下，广谱抗菌药物暴露是否足

露与非暴露小鼠Th17细胞 $ROR\gamma t$ 的表达、增殖和活力的对比研究发现，万古霉素暴露导致肠道Th17细胞减低，与 $ROR\gamma t$ 表达降低和Th17细胞增殖减少相关。

通过从WT小鼠脾脏中分离出幼稚的CD4T细胞并在万古霉素浓度增加、Th17诱导的条件下进行体外培养，发现万古霉素对体外Th17细胞的分化和增殖没有影响，浓度增加时T细胞分泌的GM-CSF没有差异。表明万古霉素并不直接损害Th17细胞的分化或增殖，Th17细胞缺陷只发生在体内万古霉素暴露时。研究者接下来检测了万古霉素暴露小鼠中发生的微生物组变化，发现万古霉素暴露对细菌总量没有影响，但显著降低了细菌种类的多样性。

由于分段丝状细菌（SFB）促进小鼠肠道中Th17的分化，而万古霉素对SFB有活性，通过量化万古霉素和AMNV暴露动物粪便中的SFB发现，在万古霉素和AMNV暴露的动物中，SFB的丰度均显著降低，并没有显示出对全身性念珠菌病的易感性增加。表明口服抗菌药物的小鼠Th17细胞的减少可能

至少部分是由于微生物群中SFB的损失。

为研究上述发现与人类潜在的相关性，研究者利用Cerner HealthFacts数据库，获取了2009—2017年所有从血液或其他无菌部位分离出任一种念珠菌的医院就诊记录，鉴定和评估了8 294例侵袭性念珠菌病患者，使用逻辑回归等分析方法研究表明，广谱抗菌药物可能是患者侵袭性念珠菌病、侵袭性念珠菌病后死亡率增加及侵袭性念珠菌病患者全身细菌合并感染风险增加的危险因素。

总之，这项研究揭示了广谱抗菌药物的使用与危及生命的全身易位感染的发展和死亡风险之间意想不到的机制关系，并提出了抗菌药物如何影响抗菌免疫的新的研究途径。研究提供了越来越多表明抗菌药物可以导致免疫损伤的证据，指出了一种潜在的基于免疫转化的干预途径，并强调了抗菌药物管理的重要性，可能有助于预防抗菌药物耐药性和保护脆弱的患者免受危及生命的侵袭性真菌感染。

【中山大学附属第八医院（深圳福田）何英编译】

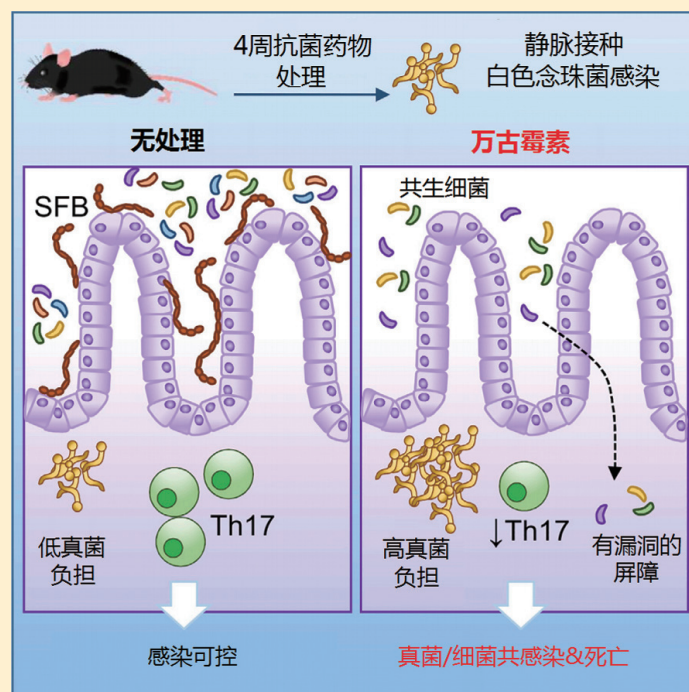


图1 万古霉素暴露导致淋巴细胞功能障碍和共生细菌的全身逃逸而致全身真菌感染或死亡

间，胃肠道淋巴细胞产生这3种细胞因子是否受到抗菌药物暴露的影响，发现抗菌药物暴露后产生IL-17A、IL-22和GM-CSF的淋巴细胞的数量显著降低。通过对缺乏IL-17A或GM-CSF或IL-22的小鼠进行感染研究发现，无论是否抗菌药物暴露，缺乏IL-17A或GM-CSF的小鼠对真菌感染表现出相似的易感性。而抗菌药物暴露的 $Il22^{-/-}$ 小鼠在真菌感染后的死亡率显著高于未接受抗菌药物处理的 $Il22^{-/-}$ 小鼠。表明抗菌药物暴露小鼠IL-17A和GM-CSF的产量减少，导致了对随后侵袭性真菌疾病的易感性增强，从而增加了真菌感染小鼠的死亡率，而IL-22并不参与介导易感性表型。研究者将IL-17A、GM-CSF给予抗菌药物暴露地白色念珠菌感染的小鼠，发现部分逆转了小鼠的易感性，提示采用重组细胞因子改善抗菌药物诱导的真菌感染的易感性，是一种潜在的干预治疗途径。

研究者通过对缺乏CD4 T

以损害初始和适应性淋巴细胞介导的在侵袭性念珠菌病中的保护作用，研究者将CD4 T细胞和ILCs转移到 $Rag2^{-/-}/Ilr2g^{-/-}$ 小鼠中，并发现易感表型逆转。而将从抗菌药物暴露的供体中获得的CD4 T细胞和ILCs过继转移给 $Rag2^{-/-}/Ilr2g^{-/-}$ 小鼠，则显著减弱了其在侵袭性念珠菌病期间的保护作用。表明CD4 T细胞和ILCs在抗菌药物诱导的侵袭性念珠菌病中均能促进保护作用，广谱抗菌药物暴露损害了淋巴细胞依赖的IL-17A和GM-CSF介导的胃肠道内抗真菌免疫，与非炎症性细菌易位、全身细菌合并感染和真菌侵袭后死亡率增加有关。

不同的抗菌药物可对免疫细胞功能和（或）微生物依赖的免疫调节发挥特异性作用，通过用每种抗菌药物对野生型（WT）小鼠进行单一处理发现，长期口服万古霉素选择性地提高了对侵袭性念珠菌病的易感性（图1）。通过万古霉素暴

### 上接第4版

照小鼠，并在整个实验过程中识别差异性表达的基因。通过Record-Seq前哨细胞，研究人员确定了切换成炎症模式的肠道细菌的特定mRNA谱（见图2），之后可以准确报告DSS诱导的结肠炎疾病的严重程度，同时揭示肠道炎症环境的多种特征。

与现代技术相比，Record-seq提供了多种优势。首先，与传统的基于细胞生物传感器不同，Record-seq不需要针对每个感兴趣的生物分子使用特定的生物传感器，其还可以报告复杂的生物特征。其次，与在粪便样本上进行的基于组学的传统技术相比，Record-seq整合了沿肠道长度的肠道功能信息，这对于研究近端大肠环境有特殊价值。因近端大肠环境位置的特殊，在很大程度上人们难以进行详细研究。最后，多路复用Record-seq揭示了多种原位微生物-微

生物的相互作用，即使是同一动物体内单个微生物物种的变体之间也会随着时间的推移而发生变化，这在高通量下无法轻易扩展或实施。

Florian Schmidt等认为“这种新方法可以让我们在不干扰肠道功能的前提下，直接从肠道获取信息。它比内镜具有更大优势。因为内镜检查会让患者有不愉快的体验，而且还会干扰肠道功能”。原则上，只要满足某些条件，就有办法将活的基因工程细菌用作医学诊断或治疗剂。例如，可以修饰传感器细菌，使其需要特定的营养物质，由此它们只能在患者的肠道内存活。一旦这种特定细菌离开肠道，它们就会死亡。因此，下一步工作是制定出合适的的安全机制，以便为这种新方法在医学上应用铺平道路。

【广州中医药大学深圳医院（福田）刘泓岑编译】

## 高毒性肺炎克雷伯菌菌株调节人类树突状细胞功能并影响 Th1/Th17 反应

【据《Microorganisms》2022年2月报道】题：高毒性肺炎克雷伯菌菌株调节人类树突状细胞功能并影响 Th1/Th17 反应（意大利佛罗伦萨大学 作者 Sabrina Nicolò 等）

肺炎克雷伯菌（*Klebsiella pneumoniae*, Kp）是一种机会性病原体，具有高度获得耐药基因的倾向，是免疫功能低下患者严重医院感染的常见原因，主要涉及肺炎、尿路感染和菌血症。在住院患者中，肺炎克雷伯菌在肠道微生物群中定植，它在这种环境中的建立被认为是在远处身体部位发生后续感染的基本步骤。

高毒力肺炎克雷伯菌（hypervirulent-Kp, Hv-Kp）菌株已成为导致威胁生命的侵袭性疾病的病原体，即使在免疫功能正常的宿主中也是如此。全身性传播通常发生在肠道微生物群的扰动后，并由 Hv-Kp 促进吞噬作用和补体活性的抗性。Hv-Kp 通常与 K1 或 K2 荚膜类型相关，产生几种铁摄取系统（例如 aerobactin 和 salmochelin），但 Hv-Kp 是否在黏膜部位逃脱免疫反应尚不清楚。

意大利佛罗伦萨大学 Sabrina Nicolò 等研究发现 Hv-Kp 干扰树突状细胞（dendritic cell, DC）功能和 T 细胞分化，并猜测从 IL-23/IL-17 和 IL-12/IFN- $\gamma$  轴的逃逸可能有助于病原体在免疫活性宿主中传播。他们选择了 4 种 Hv-Kp 和 HMV 菌株，将它们对 DC 成熟和细胞因子产生的活性，与具有经典或 HMV 表型的无毒 Kp 菌株的活性进行比较。

DCs 上 CD83、CD86 和 HLA-DR 表达的细胞荧光分析表明，所有 Kp 菌株均诱导了 DCs 膜上 CD83 和 CD86 决定簇的强烈表达。与未感染的对应物相比，所有 Kp 菌株也诱导了 HLA-DR 的表达。

研究人员调查了参与 Th17（IL-1 $\beta$ 、IL-23a、IL-6）、Th1 分化（IL-12a、TNF- $\alpha$ ）和抗炎反应（IL-10）等细胞因子的表达。结果显示，临床分离株 HMV1、HMV2、RM1628 和参考 Hv-Kp CIP 52.145 仅轻微激活这些基因，而 KP04C62 和经典的 KPC157 这 2 个 Kp 菌株激活了上述所有细胞因子基因（图 1）。此外，研究人员发现 CIP 52.145 是抗炎 IL-10 基因表达的最有效诱导剂。除了 CIP 52.145，在 6 h 的刺激

过程中，IL-10 基因表达没有被 Kp 菌株显著诱导，无论毒性与否。这表明该免疫调节途径的激活可能不包括在毒性 Kp 的逃逸策略中。

为了进一步证明 HMV-Kp 菌株对 DC 功能的抑制作用，作者评估了来自 Kp-DC 培养物的条件培养基诱导预活化 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞分化的能力。用 HMV-Kp 菌株培养的 DCs 条件培养基在诱导预活化 CD4<sup>+</sup> 细胞的 IL-17 基因表达方面无效。相比之下，在非毒性 Kp 菌株（经典 KPC157 或

超荚膜化 KP04C62）存在下培养的 DC 条件培养基，通过预激活的 CD4<sup>+</sup> T 细胞强烈诱导 IL-17 基因表达。用经典 Kp 培养的 DCs 培养基也能够诱导大量的 IFN- $\gamma$  基因表达。数据表明，Kp 的毒性菌株可能会影响 DC 功能并损害 Th17 和 Th1 效应 T 细胞的分化。

研究人员将 DC 与活细菌细胞一起培养 30 min，并使用蛋白质印迹分析测量 NF- $\kappa$ B 和 p38MAPK 的活化，以研究 Hv-HMV Kp 菌株是否影响这些途径。与用 KP04C62 和

KPC157 攻击的 DC 相比，用 HMV-Kp 攻击的 DC 中 p38-MAPK 的激活显著降低（图 2），表明 HMV 表型可能干扰 DC 中促炎途径的激活。

本文研究的主要结果表明，Hv-Kp 菌株干扰了 IL-12 和 IL-23 的 DC 表达，因此，如果 DC 失去了诱导 T 细胞分化为 Th1 或 Th17 效应子的能力，则可能会损害适应性免疫反应和相关病原体的清除。此外，初步数据表明，用 Hv-Kp 培养的 DC 不会发生细胞凋亡，这表明 TLR 通

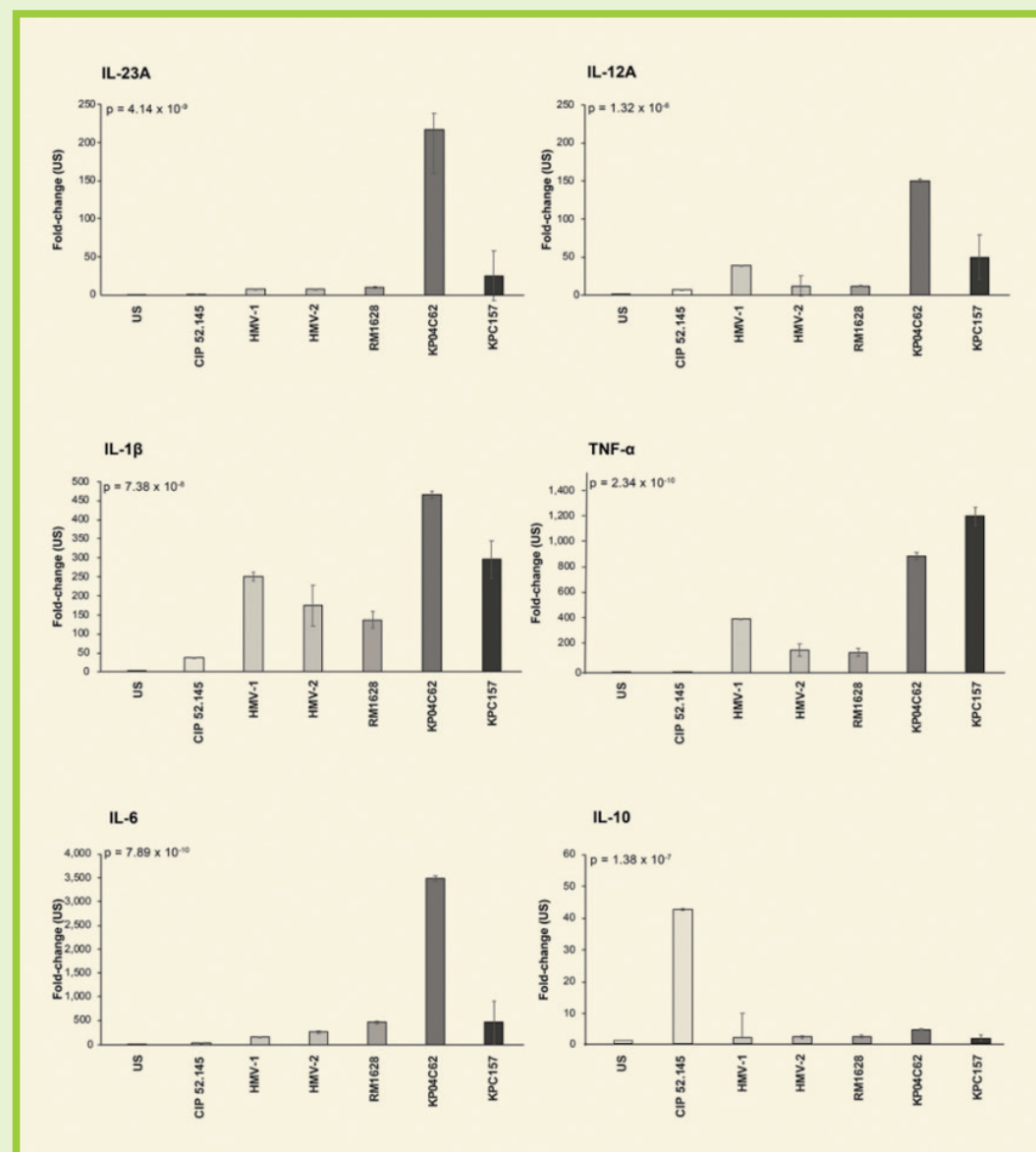


图 1 在活肺炎克雷伯菌存在下培养的人树突状细胞表达的细胞因子

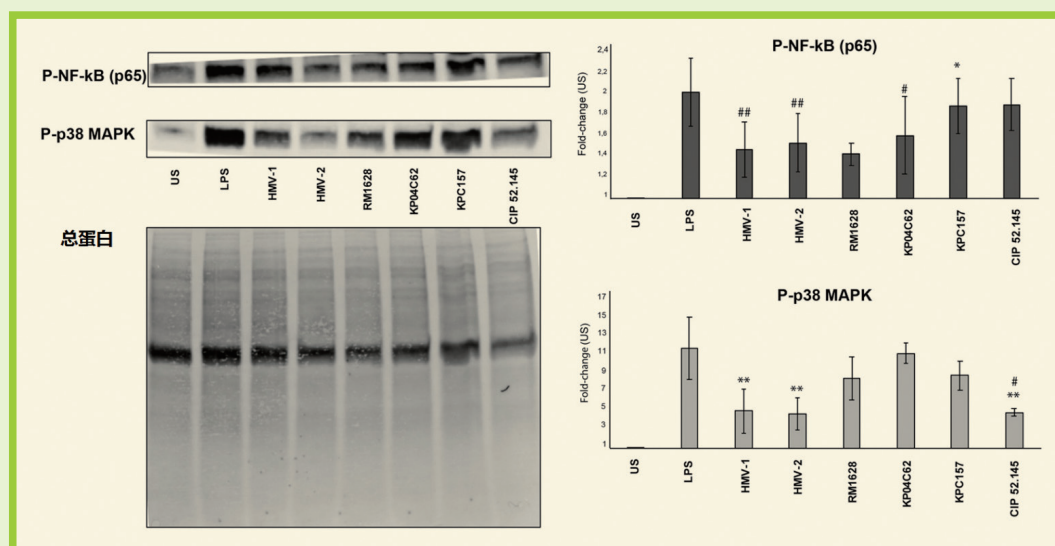


图 2 DC 中 NF- $\kappa$ B (p65) 激活和 p38MAPK 磷酸化

路被激活并维持 DC 活力。丰富的荚膜多糖并不是细胞因子基因激活减少的唯一原因。与该假设一致的是，研究发现实验中包含的非毒性 HMV KP04C62 不会干扰细胞因子基因的激活。

最近有报道称，Hv-Kp 菌株能够抵抗人类巨噬细胞的杀伤活性并在细胞内存活。Nicolò 等认为 Kp 发挥抑制活性的分子机制更可能在于干扰 NF- $\kappa$ B 和 MAPK 信号通路，而不是与 TLR 的低相互作用。该研究表明，与无毒 Kp 培养的 DCs 相比，Hv-Kp 菌株培养的 DCs 中 p38MAPK 和 NF $\kappa$ B 通路的激活显著降低，这表明 Hv-Kp 产生了干扰这些信号通路的因子。不同的实验系统也报告了这种干扰，并且将其归因于细菌成分，例如 LPS O-多糖和 PulA 2 型分泌系统。该研究中菌株的遗传分析显示，与毒力相关的核心和辅助基因含量存在异质性，这可能与 Hv-Kp 菌株激活 p38MAPK 和 NF- $\kappa$ B 通路的不同行为有关。需要进一步的研究来阐明哪些因素是造成 DC 抑制的原因，且需要进一步的实验来确定参与抑制 p38/NF- $\kappa$ B 激活途径的因素。该研究的数据强调了研制针对蛋白质（非荚膜）Kp 抗原的疫苗的必要性，这种疫苗通过扩大黏膜区记忆驻留的 Th17 淋巴细胞的数量，也保证了对耐药菌株感染的最佳适应性反应。

总之，本文研究结果表明，Hv-Kp 对 DCs 功能的干扰会影响 T 细胞向 Th17 和 Th1 效应子的分化。这些发现为 Hv-Kp 在黏膜部位逃避宿主适应性反应并可能在免疫活性宿主中传播的能力提供了证据。

[广州中医药大学深圳医院 (福田) 莫莉 编译]

## 细胞焦亡：癌症研究的新前沿

【据《Biomedicine & Pharmacotherapy》2020年1月报道】题：细胞焦亡：癌症研究的新前沿（南京医科大学第一附属医院 作者Yuan Fang等）

癌症是世界上最重要的公共卫生问题。由于世界人口老龄化和快速增长，以及致癌因素的增加，全球癌症负担正以显著的速度发展。癌症是发展中国家的主要死因，也是发达国家的第二大死因。道格拉斯·哈纳汉和罗伯特·温伯格提出了癌症的六个特征，即导致癌症生长和转移的独特能力。抵抗细胞死亡是其标志之一。人体内的许多细胞由于老化、感染或受损，在特定时间内死亡。这些缺陷会对细胞发育产生负面影响，并最终导致各种疾病，包括自身免疫性疾病、癌症或感染。细胞死亡不仅是细胞增殖、应激反应和稳态的生理调节器，也是一种肿瘤抑制机制。肿瘤有多种策略来规避或限制作为正常细胞的保护机制的细胞死亡途径。在某些情况下，例如癌症治疗，细胞死亡无疑对人们的健康有益。有几种已知的细胞死亡类型，包括坏死、凋亡、坏死性凋亡、自噬、失巢凋亡和细胞焦亡。

细胞焦亡作为抗肿瘤防御的重要机制已得到广泛深入的研究，而细胞焦亡与癌症之间的关系尚不清楚。近年来，广泛的研究集中于阐明细胞焦亡的分子机制，以及诱导肿瘤细胞发生细胞焦亡的可能机制。细胞焦亡是程序性细胞死亡的一种炎症形式，是由炎症小体激活半胱天冬酶（caspase）-1/4/5/11后触发的。细胞焦亡导致细胞肿胀、质膜溶解、染色质碎裂和细胞内促炎物质的释放。有报道称，细胞焦亡与动脉粥样硬化和糖尿病肾病等疾病密切相关。近年来，一些研究发现细胞焦亡可以影响肿瘤的增殖、侵袭和转移，其受一些非编码RNA和其他分子的调控。南京医科大学第一附属医院Yuan Fang等对一些分子诱导癌症细胞焦亡的机制（图1）进行了综述。

### 一、细胞焦亡的分子机制

炎症小体是包含模式识别受体（pattern-recognition receptors, PRR）的多分子复合物，可通过刺激炎症反应激活细胞焦亡。PRR识别由入侵病原体诱导的某些病原体相关分子模式（pathogen-associated molecular patterns, PAMPs）和宿主内源性病原体的某些受损相关

分子模式（damaged-associated molecular patterns, DAMPs）。PRR家族通常包含各种成员，包括Toll样受体（TLR）、核苷酸结合域和富含亮氨酸重复序列的受体（NLR），在黑色素瘤样受体中缺失。在识别DAMP和PAMP后，PRR诱导ASC形成巨大的超分子组装，将NLR与caspase-1联系起来。该复合物通过caspase-1激活在典型炎症途径中触发细胞焦亡，并通过激活小鼠caspase-11和caspase-4,5在人类非典型炎症途径中触发细胞焦亡。

### 1. 经典炎症途径

炎症小体是由胞质内PRRs参与组装的多蛋白复合物，是天然免疫系统的重要组成部分，包括Nod样受体（NLRP1、3, NLRP4）和黑色素瘤缺乏因子2（absent in melanoma, AIM2），它们都具有N端半胱天冬酶募集（CARD）或嘧啶结构域（PYD）。当胞质中的PRRs与特定的PAMPs和DAMPs接触后激活caspase-1。炎症小体可

接到ASC，从而形成ASC焦点。ASC焦点募集蛋白酶原1，导致caspase-1的激活。caspase-1激活可切割前IL-18和前IL-1 $\beta$ 的成熟，释放到细胞外结构域并触发炎症反应。Caspase-1的激活也可以形成1.1~2.4 nm的质膜孔，与细胞肿胀和溶解引起的细胞焦亡有关，并伴有促炎介质高迁移率族蛋白1（high mobility group box 1, HMGB1）和IL- $\alpha$ 的分泌。

然而，caspase-1引起细胞焦亡的具体机制尚未得到令人满意的解释。根据先前研究发现，焦孔素蛋白家族D（gasdermin D, GSDMD）是caspase-1/4/5/11的直接底物，可被炎症caspase特异性切割，在炎症caspase下游发挥重要作用，GSDMD在质膜上形成孔隙，导致膜缺陷和胞质蛋白释放。GSDMD还影响成熟IL-1 $\beta$ 的分泌，而非诱导其成熟。

### 2. 非经典炎症途径

在人类中，非标准炎症途

径为15 nm，外径为32 nm，而IL-18的直径为4.5 nm，很容易穿过这些孔。GSDMD-CT是可溶的，并被认为是作用与GSDMD-NT相反，抑制其激活。之前的研究表明，caspase-1/4/5/11活化后通过切割GSDMD触发细胞焦亡，而caspase-3长期以来被认为是细胞凋亡的重要标志物。近期，研究人员发现caspase-3可以影响和激活GSDME，从而引起细胞焦亡。

### 二、细胞焦亡与癌症的关系

#### 1. 消化系统肿瘤

研究发现酒精的积聚是caspase-1的抑制剂，并促进食管上皮细胞中IL-18和IL-1 $\beta$ 的释放，并已被证明与细胞焦亡相关。酒精积聚可通过细胞焦亡途径加重食管炎的进程。胃食管反流病，损伤食管黏膜，导致食管上皮长期暴露，使酒精积聚等刺激因素引发慢性炎症。酒精积聚引起的食管炎以及通过细胞焦亡途径介导食管癌的发生和发展。除了积累

细胞焦亡的重要组成部分，当细胞暴露于外部刺激时，GSDMD可被炎症caspase切割，获得GSDMD的N末端片段，该片段在细胞焦亡中起重要作用。最近的研究表明，GSDME是gasdermin超家族的一员，可以通过活化化疗处理细胞中的caspase-3来触发细胞焦亡。5-FU可以诱导caspase-3的裂解，从而使GSDME的N末端片段积累，导致胃癌细胞焦亡。此外，CRISPR-Cas 9敲除GSDME可将5-FU诱导的caspase-3依赖性焦亡转变为细胞凋亡。

#### 2. 子宫颈癌

超过90%的宫颈癌患者与人乳头瘤病毒（HPV）感染有关。HPV通过病毒基因组整合和逃避宿主抗病毒免疫将感染的宫颈细胞转化为癌细胞。SIRT1（Sirtuin 1）是沉默信息调节2的哺乳动物直系同源基因，SIRT1通过去乙酰化NF- $\kappa$ B亚单位中的RelA/p65调节细胞死亡。与正常宫颈细胞相比，SIRT1在HPV感染的宫颈癌细胞中高表达，并促进癌细胞的生长和增殖。

宫颈癌细胞中SIRT1通过干扰黑色素瘤2（AIM2）基因转录因子的mRNA，从而抑制NF- $\kappa$ B诱导的AIM2的转录。AIM2主要功能是作为受体来识别胞质中双链DNA（dsDNA），包括HPV，与ASC形成一个大的超分子复合物，以激活caspase-1诱导的细胞焦亡。此外，AIM2炎症小体和AIM2炎症小体调节的细胞焦亡可通过细胞外小泡在细胞之间转移。

#### 3. 乳腺癌

乳腺癌是一种复杂的异质性疾病，分为多个实体，具有不同的组织学特点和临床特征。三阴性乳腺癌是指不表达雌激素受体（ER）、孕激素受体（PR）和人表皮生长因子受体2（HER2）的乳腺癌。 $\omega$ -3脂肪酸可以调节炎症并具有抗癌作用，促使癌细胞死亡。二十二碳六烯酸（docosahexaenoic acid, DHA）是一种具有抗癌作用的 $\omega$ -3脂肪酸。与未经处理的细胞相比，DHA处理后的乳腺细胞诱导活性caspase-1增加，导致GSDMD的裂解、IL-1 $\beta$ 的分泌和膜孔的形成，这表明DHA诱导TNBC细胞的细胞焦亡是由炎症小体和炎症caspase激活介导的。

#### 4. 恶性间皮瘤

恶性间皮瘤（MM）是

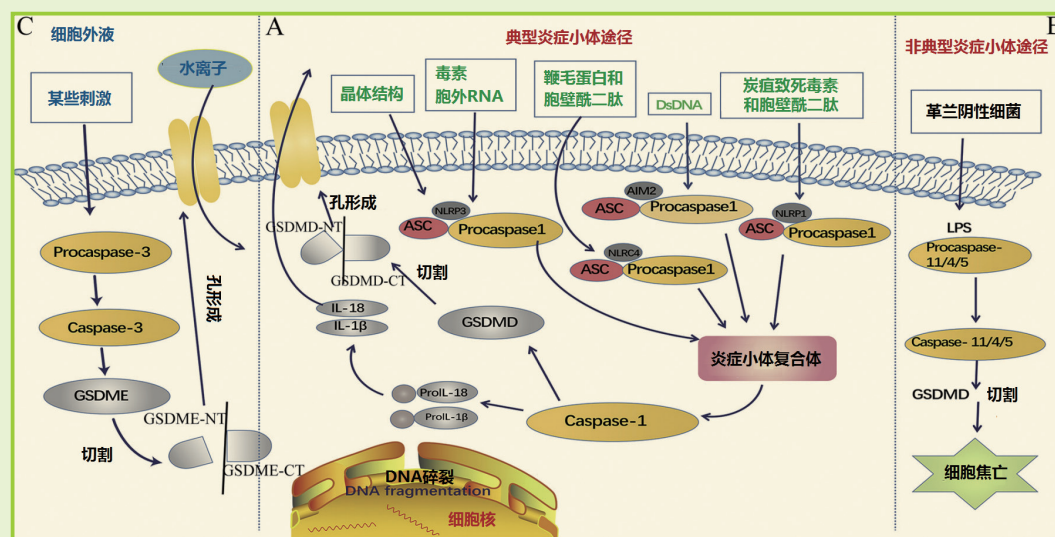


图1 细胞焦亡的分子机制

A. 典型炎症途径；B. 非典型炎症途径；C. 细胞焦亡激活的新途径，即某些刺激引起caspase-3的激活

分别通过特定PAMP和DAMP激活。NLRP1炎症小体只能识别炭疽致死毒素和胞壁酰二肽。NLRP4炎症小体仅由鞭毛蛋白和壁酰二肽等PAMP激发。而AIM2炎症小体已被特异性内源性或病原体衍生的双链DNA（dsDNA）激活。NLRP3炎症小体的激活剂是一系列广泛的刺激物，包括活性氧（ROS）、线粒体DAMP、细菌成孔毒素和细胞外RNA及晶体结构，如尿酸单钠和胆固醇。炎症小体激活后招募包含caspase募集结构域焦点的凋亡相关斑点样蛋白（apoptosis-associated speck-like protein containing a Caspase recruitment domain, ASC）适配器，NLR或AIM2信号域（PYD或CARD）通过同型相互作用连

接由caspase-11和caspase-4/5触发。caspase-11识别并结合脂多糖（lipopolysaccharide, LPS），脂多糖来源于革兰阴性细菌或宿主来源的氧化磷脂，可直接结合并激活caspase-11。激活的caspase-11既可以诱导细胞焦亡，也可以通过切割GSDMD激活caspase-1。

### 3. GSDMD是细胞焦亡的效应器

GSDMD是激活的半胱天冬酶-1/4/5/11的底物，可以被分为两部分：GSDMD的N端结构域（GSDMD-NT）和GSDMD的C端结构域（GSDMD-CT）。GSDMD-NT连接到细胞膜上的磷脂酰肌醇、磷脂酸和磷脂酰丝氨酸，从而触发寡聚反应，导致孔的形成。据报道，孔的

酒精外，来自革兰阴性细菌的脂多糖（LPS）还会引细胞焦亡，并通过启动和激活Barrett细胞中的NOD样受体蛋白3（NLRP3）促进促炎细胞因子的分泌。LPS还通过第二激活信号增加炎症小体的分泌。LPS增加了线粒体活性氧（ROS）的生成，ROS能够激活NLRP3炎症小体，导致caspase-1的激活和炎症小体如IL-18、IL-1 $\beta$ 和LDH的释放。LPS可诱导细胞焦亡，并在Barrett食管的癌变过程中发挥重要作用。胃食管反流介导的炎症反应参与巴雷特食管腺癌的疾病进展。

细胞焦亡也与胃癌相关。与相邻的非癌细胞相比，胃癌细胞中GSDMD的表达降低，从而促进癌细胞的增殖。作为细

## 姜黄素可能通过细胞焦亡途径治疗白血病

【据《Cancer Biology & Therapy》2022年4月在线报道】题：姜黄素激活NLRP4、AIM2和IFI16炎症小体，并通过上调ISG3转录因子在急性髓系白血病细胞系中诱导细胞焦亡（中国南昌大学第一附属医院作者Yuru Zhou等）

急性髓系白血病（acute myeloid leukemia, AML）是一种高度异质性疾病，其特征是髓系祖细胞中获得性遗传改变的累积，改变了自我更新、增殖和分化的机制。AML可能发生在任何年龄组，尤其是老年人。从1990年到2017年，AML的发病率在全球范围内呈上升趋势。成年AML患者5年后的中位总生存率约为25%，60岁以上患者约为10%。因此，对AML患者的预后结果的改善仍然有很高的医学需求。

姜黄素是一种来源于姜黄的活性成分，具有抗氧化、抗炎、清除自由基、抗实体和血液肿瘤等多种药用价值。姜黄素的抗癌作用主要来自多种生化机制（图1），这些机制参与调节细胞程序性死亡，如凋亡、自噬。最近的研究发现，姜黄素可以诱导实体肿瘤细胞的细胞焦亡发生。然而，目前尚不清楚细胞焦亡是否参与姜黄素的抗白血病作用。

细胞焦亡是一种依赖于caspase-1/4/5/11激活的快速溶解的细胞死亡，caspase-1/4/5/11由炎症小体激活。炎症小体是含有模式识别受体（PRR）、包含CARD的凋亡相关斑点样蛋白（ASC）、效应半胱天冬酶的多分子复合物。炎症小体激活半胱天冬酶（caspase），然后裂解并激活成孔gasdermins家族中的特定成员。裂解gasdermin在质膜中形成孔隙，导致膜缺陷和胞质蛋白释放，并诱导程序性细胞死亡。最近的研究发

现，某些癌细胞中，一些细胞焦亡相关炎症小体和gasdermins的表达在减少。药物调控的细胞焦亡促进癌症中炎症细胞死亡并抑制癌细胞的增殖和迁移。Val-boroPro是“炎症小体”传感器蛋白CARD8激活剂，能够在AML临床标本和大多数AML细胞系中连续激活procaspase-1以介导细胞焦亡，提示细胞焦亡策略适用于AML的治疗。

南昌大学第一附属医院Yuru Zhou等研究发现，姜黄素通过上调白血病细胞系U937中的ISG3转录因

子复合物，诱导NLRP4、AIM2和IFI16炎症小体的表达，激活caspase-1并促进GSDMD的裂解。此外，研究还发现GSDMD在白血病细胞系中的表达差异很大。表达GSDMD的细胞对姜黄素更敏感，而不表达GSDMD的HL60和K562细胞对姜黄素不敏感。研究表明，细胞焦亡途径可能是姜黄素治疗白血病的一个潜在的新机制，GSDMD是评价姜黄素在白血病治疗中敏感性的一个生物标志物。

[广州中医药大学深圳医院（福田）于波海编译]

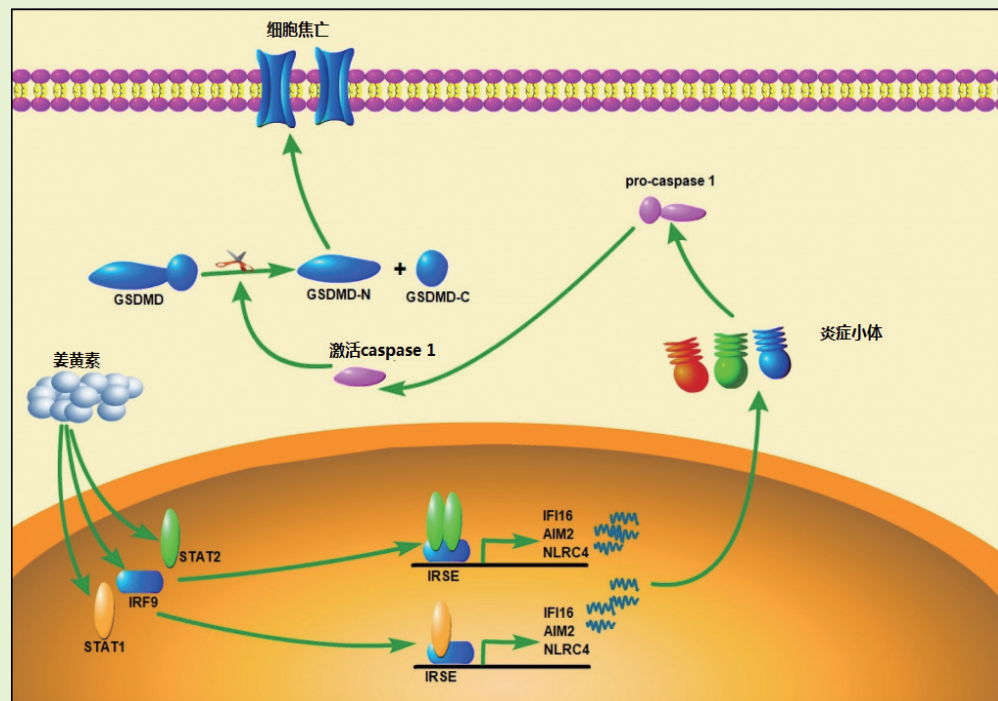


图1 姜黄素诱导急性髓系白血病细胞焦亡的机制

◀上接第7版

一种由石棉引起的胸膜或腹膜间皮细胞癌，对化疗和放疗有极强的抵抗力。在MM肿瘤细胞中发现与细胞焦亡相关的炎症小体减弱，如NLRP3和caspase-1，这表明MM肿瘤细胞中的细胞焦亡受到抑制。然而，在MM细胞中使用化疗药物（如蒽环类药物DOX或顺铂）可激活NLRP3和caspase-1，并大量分泌成熟的促炎细胞因子，诱导MM细胞发生细胞焦亡。抗肿瘤药物也通过炎症小体激活产生促肿瘤分子，因此化疗药物和IL-1R拮抗剂的组合可能在抑制MM细胞中的肿瘤生长方面发挥有益作用。

细胞焦亡是新近发现的一种促炎性、程序性细胞死亡方式。经典细胞焦亡途径依赖于caspase-1的介导，非经典细胞焦亡途径依赖于caspase-4、caspase-5和caspase-11的介导。经过近年的研究，焦亡的特征已有较一致的认识，机制研究也取得了重大突破，多项研究也表明了细胞焦亡参与了各种疾病的发展。目前对于不同疾病中细胞焦亡发生的机制尚未完全明确，进一步探究细胞焦亡在不同疾病，特别是肿瘤中的效应机制，以及相关上下游信号转导通路的蛋白，对于全面认识这一新型的细胞死亡方式，对于新型药物的开发，寻找疾病治疗的新靶点具有重要意义。

[广州中医药大学深圳医院（福田）于波海编译]

## 广州中医药大学深圳医院（福田）医学检验科专业简介

广州中医药大学深圳医院（福田）医学检验科是一支集临床、教学、科研于一体的综合性医学实验室。现实验室面积500平方米，有专业技术人员62人，其中正高级职称4名，副高级职称5名，中级职称20名，初级职称15名，护理人员5名。博士、博士后研究员1人，硕士研究生5人，本科28人。分为门急诊实验室、血液实验室、体液实验室、生化发光实验室、免疫实验室（内含HIV初筛实验室）、微生物实验室、分子生物学实验室和输血科。



图1 广州中医药大学深圳医院（福田）医学检验科合影

医学检验科目前拥有固定资产近4000万，其中50万以上大型设备十余台，包括美国Beckman Coulter全自动生化免疫发光流水线、迈瑞全自动生化免疫发光流水线、美国罗氏全自动化学发光分析仪、法国Stago全自动凝血分析仪、瑞士TECAN全自动酶免分析系统、日本Sysmex全自动血液分析仪、日本Sysmex全自动尿液流水线、ABI荧光定量PCR仪等各类先进检验设备。

医学检验科承担着全院门急诊、住院患者临床标本的检测任务。全科开展检验项目300余项，为疾病的诊断治疗和预后的判断提供了强有力的保障，做到了用科技守护百姓健康。各专业的实验方法学70%



图2 医学检验科核酸检测工作组

以上达到国际先进水平，微生物实验室细菌室在院内感染监测及其耐药机制研究，疑难菌鉴定和感染疾病诊断等方面达到国内先进水平。在历次参加国家及广东省卫生健康委临检中心室间质评中，均得到优异成绩。