

医学参考报

微生物学与免疫学专刊

Microbiology and Immunology

第九期 NO.9

一种治疗细菌感染的新方法：氨基苯酚修饰的金纳米颗粒

【据《Nano Letters》2022年4月报道】题：氨基苯酚修饰的金纳米颗粒用于治疗细菌感染（中国南方科技大学生物医学工程系 作者Le Wang等）

多重耐药（MDR）细菌流行是一个世界性医疗保健问题，超过70%的细菌对一种或多种抗菌药物具有耐药性。因此，开发新的抗菌药物迫在眉睫。随着纳米技术的快速发展，纳米抗菌材料成为解决这一难题的有力方案。纳米材料由于其具有较好的抗菌效果和多重抗菌机制，可能成为治疗细菌感染的另一种策略。在纳米材料中，金纳米颗粒（Au NPs）具有高表面积-体积比、精确控制的表面、独特的光学性质和低细胞毒性等优点，成为开发纳米抗菌材料的潜在候选者。Au NPs在对抗MDR细菌方面取得了一系列令人振奋的结果，但相关报道缺乏明确的抗菌机制，这可能会阻碍新型纳米级抗菌药物的开发。

南方科技大学生物医学工程系Le Wang等使用氨基苯酚修饰的金纳米颗粒（AP_Au NPs）进行了抗菌活性及机制的研究。AP_Au NPs具

体制备方法如下：将氨基苯酚（AP）（0.05 mmol）、三乙胺（50 μl）和吐温80（30 mg）溶于10 ml水中，形成混合物。将HAuCl₄·3H₂O（0.05 mmol，400 μl）滴加到混合物中，在冰水浴中剧烈搅拌（1 000 rpm/min）2 h，当溶液变成棕色时，就形成了AP_Au NPs溶液。将AP_Au NPs溶液在ddH₂O（18 MΩ）中透析24 h，去除未反应的化学物质，并通过0.22 μm过滤器过滤灭菌。

该团队评估了AP_Au NPs对不同种类的革兰阴性菌或革兰阳性菌及其相应的临床MDR菌株的最低抑制浓度（MIC）。典型氨基糖苷类抗

菌药庆大霉素（Gen）作为阳性对照。结果发现，AP_Au NPs在抑制革兰阴性菌方面比革兰阳性菌更有效，这与Gen的抗菌谱相似，但其在抑制MDR菌株方面比Gen更有效（表1）；而AP_Au NPs作为阴性对照时，即使在过饱和水平128 μg/ml，也几乎没有抑制细菌方面的活性。

此外，该团队还通过评估不同治疗时间点的存活率和组织中细菌的数量来测试AP_Au NPs的体内治疗效果（图1）。他们建立了不同细菌[大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、MDR大肠埃希菌和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（MRSA）]感染小鼠的急性腹内感染模

型，并以生理盐水治疗作为对照。对于MRSA感染，AP_Au NPs（1 mg/ml，10 mg/kg）治疗72 h后小鼠存活率为100%，而Gen处理组小鼠24 h后全部死亡（图1A）。MDR大肠埃希菌感染小鼠用AP_Au NPs（1 mg/ml、10 mg/kg）处理72 h后存活率为100%，而相同浓度Gen处理的小鼠6 h后存活率仅为80%，12 h后存活率为50%，24 h后存活率为30%（图1A）。这些结果表明，AP_Au NPs对MDR细菌感染具有显著的体内抗菌作用。用AP_Au NPs或Gen处理金黄色葡萄球菌或大肠埃希菌感染的小鼠，体重在最初的24 h内下降，然后逐渐增加，显示出

良好的治疗效果（图1B）。经AP_Au NPs处理的MRSA或MDR大肠埃希菌感染小鼠体重先下降（24 h），随后增加到比初始阶段（0 h）更高的水平（72 h），表明AP_Au NPs对MDR细菌引起的感染具有良好的治疗效果（图1B）。相比之下，用Gen治疗的MRSA或MDR大肠埃希菌感染的小鼠在感染后24 h全部死亡，这意味着Gen几乎不能治愈MDR细菌引起的感染。

综上所述，氨基苯酚修饰的金纳米颗粒用于治疗细菌感染，特别是多重耐药细菌的感染有显著效果。

（温州医科大学附属第一医院 黄泽宇 张小东 周铁丽 编译）

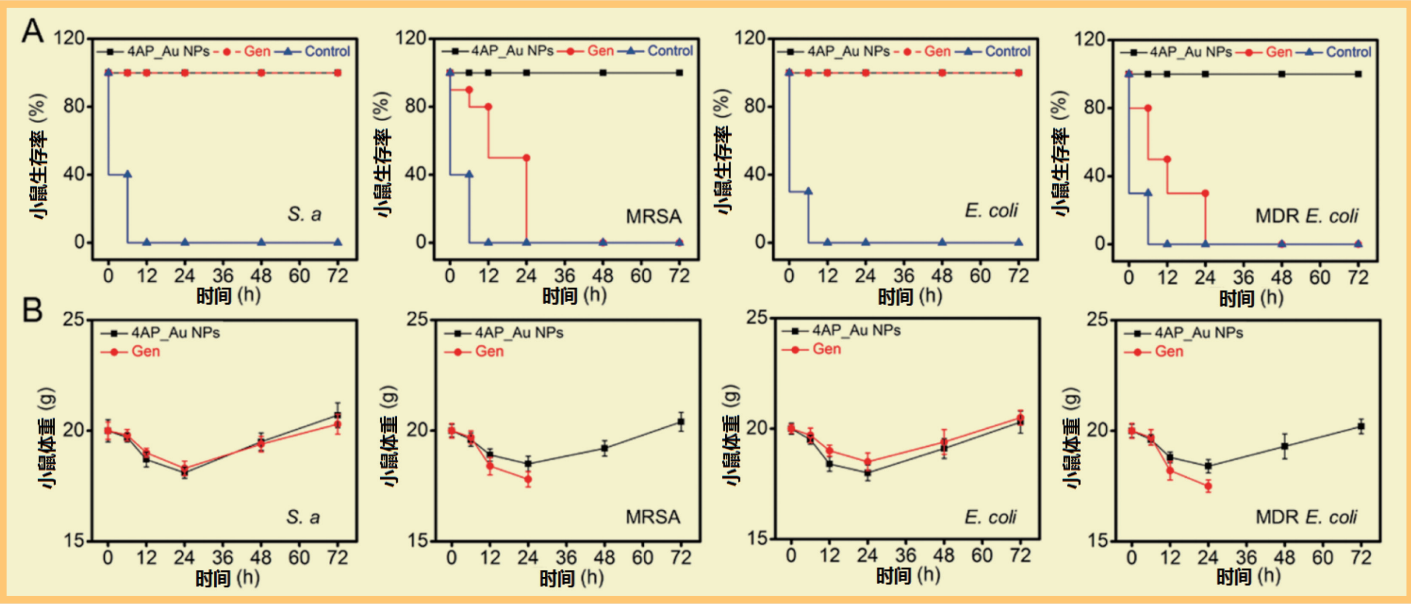


图1 AP_Au NPs或万古霉素（Gen）对小鼠腹腔感染的体内治疗作用

A. 经AP_Au NPs或Gen处理的金黄色葡萄球菌（*S. a*）、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（MRSA）、大肠埃希菌（*E. coli*）和MDR大肠埃希菌（MDR *E. coli*）感染小鼠的存活率，设生理盐水处理组为对照组；B. 与A相对应的小鼠不同时间点的体重分析

表1 AP_Au NPs对多种细菌的最小抑菌浓度（MIC）

		2AP_Au NPs	3AP_Au NPs	4AP_Au NPs	Gen
革兰阴性细菌	大肠埃希菌	9.7	10.0	7.8	1
	MDR 大肠埃希菌	9.7	10.0	10.5	>64
	鲍曼不动杆菌	2.4	2.5	1.3	2
革兰阳性细菌	MDR 鲍曼不动杆菌	2.4	2.5	1.3	>64
	铜绿假单胞菌	7.2	10.0	5.2	4
	MDR 铜绿假单胞菌	7.2	7.5	5.2	>64
革兰阳性细菌	金黄色葡萄球菌	4.8	10.0	2.6	2
	MRSA	9.7	10.0	10.5	16
	表皮葡萄球菌	9.7	7.5	10.5	8
	MDR 表皮葡萄球菌	16.9	17.5	13.1	32
	粪肠球菌	12.1	12.0	10.5	4
	MDR 粪肠球菌	9.7	5.0	5.2	>64

Epstein-Barr 病毒感染与萎缩性胃炎风险增加相关	2版
急性 COVID-19 后综合征患者的肠道微生物群动态	3版
新型香豆素三取代甲烷对小鼠蛲虫感染小鼠的抗蛲虫活性	4版
间充质干细胞和间充质干细胞来源的细胞外囊泡在类风湿关节炎中的免疫调节作用	5版
利用 PROTAC 蛋白靶向降解技术开发新型流感减毒疫苗	6版
SARS-CoV-2 刺突蛋白的糖基缺失 mRNA 可作为一种广谱疫苗	7版
中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所先进事迹	8版

Epstein-Barr 病毒感染与萎缩性胃炎风险增加相关

【据《International Journal of Medical Sciences》2022年5月报道】题：Epstein-Barr病毒与胃癌前体萎缩性胃炎相关（中国武汉华中科技大学同济医学院附属同济医院 作者Kai Zhao等）

胃癌（gastric cancer, GC）是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一，萎缩性胃炎（atrophic gastritis, AG）被认为是胃癌癌前病变，是胃癌的独立危险因素。Epstein-Barr病毒（EBV）与多种恶性肿瘤密切相关，有研究报道该病毒位于EBV阳性GC患者的萎缩性上皮中，EBV相关GC的病变发生在萎缩边界附近的中间区域。EBV感染还与GC及其前体AG的风险增加有关，但EBV与AG之间的关联尚未得到充分的认识。因此，明确EBV与胃癌癌前病变之间的关系，对胃癌的预防、治疗和阻断癌前疾病的进展至关重要。

武汉华中科技大学同济医学院附属同济医院Kai Zhao等应用实时荧光定量PCR（RT-qPCR）技术检测EBV DNA的拷贝数，以研究EBV与AG之间的关系。研究纳入了468例于2016—2021年在武汉同济医院消化内科接受上消化内镜检查的患者，症状包括上腹痛、腹胀、心脏烧伤、反流和恶心。所有受试者均接受胃镜检查，胃窦和胃体分别采集2块活检组织，进行组织病理学诊断，观察其萎缩变化。为确定受试者幽门螺杆菌（*Helicobacter pylori*, *H. pylori*）感染情况，使用尿素¹³C胶囊呼气试验药盒进行¹³C脲酶呼气试验（¹³C-UBT）。禁食2 h后，受试者服用含¹³C的片剂，并分别在0 min和30 min采集呼吸标本。使用¹³C呼气试验分析仪进行分析，若结果 > 4，则表明存在幽门螺杆菌感染。

研究人员将受试者外周静脉血样本（5 ml）收集到含EDTA的试管中，取50 μl通过TaqMan PCR试剂盒建立荧光PCR反应，检测EBV DNA。

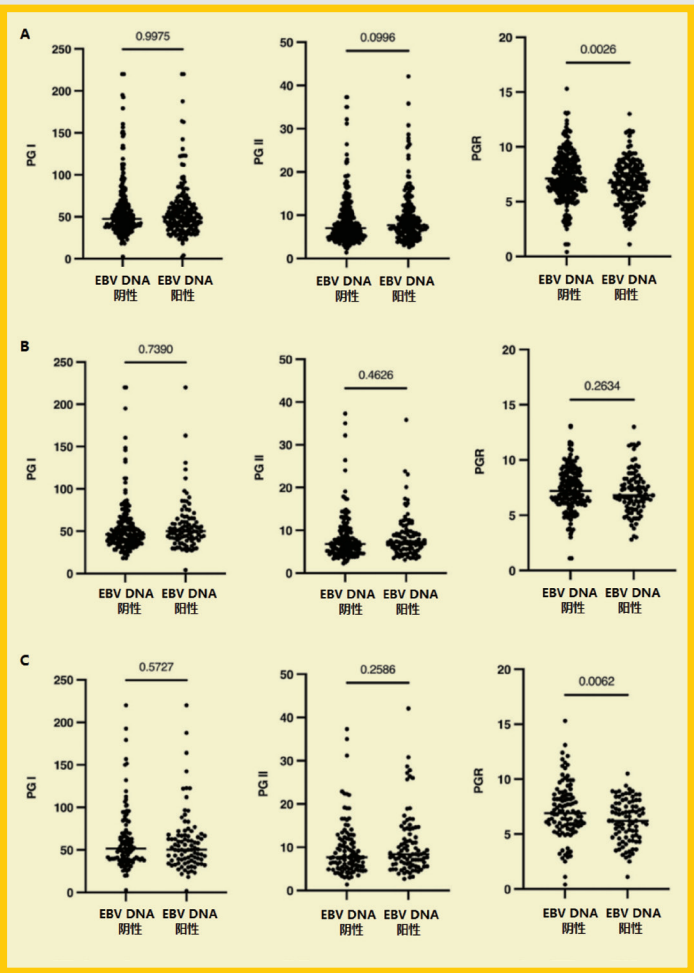


图1 不同 Epstein-Barr 病毒（EBV）携带者中循环 EBV DNA 与胃功能指标（PG I、PG II 和 PGR）之间的关系
A. 所有受试者；B. 非萎缩性胃炎亚组；C. 萎缩性胃炎亚组

热循环以93℃ 2 min的变性步骤开始，接着93℃ 45 s、55℃ 1 min循环10次，然后93℃ 30 s、55℃ 45 s循环30次。每个分析中都包含多个阴性空白，根据检测下限设定了500拷贝/ml的截止值。EBV DNA≥500拷贝/ml被定义为EBV阳性。为分析循环EBV DNA状态是否与胃功能相关，进行胃功能指标检测，包括胃蛋白酶原 I（PG I）、胃蛋白酶原 II（PG II），并计算PG I 和PG II 的比值（PGR）。所得研究结果使用SPSS 26.0进行统计分析，定量数据分析使用卡方或费舍尔检验。为了评估EBV和*H. pylori*对AG的风险，估算其奇数率（OR）。

468例患者分为271例非萎缩性胃炎（NAG）患者（57.9%）和197例AG患者（42.1%）。总体*H. pylori*感染率为33.3%，EB病毒感染率为40%，合并感染率为15%。研究发现AG组EBV DNA阳性率（45.7%，90/197）显著高于NAG组（35.8%，97/271）（*P*=0.031），EBV DNA阳性可使AG风险增加1.509倍（95%CI 1.037~2.194）。根据年龄、性

别和*H. pylori*感染状况进一步进行分层分析，发现EBV DNA对AG风险的贡献仅在*H. pylori*亚组中具有统计学意义。在*H. pylori*阴性亚组中，AG风险增加1.619倍（44.5% vs 33.2%，*P*=0.044，95%CI 1.012~2.589）（表1）。

受试者胃功能指标结果显示，与EBV DNA阴性患者相比，EBV DNA阳性患者血清PGR水平显著降低（*P*=0.0026），而PG I 和PG II 无显著差异。根据胃黏膜状况进行分层分析，发现AG亚组中EBV DNA阳性患者的血清PGR与EBV DNA阴性患者相比显著降低（*P*=0.0062），而NAG亚组中两者无显著差异（图1）。

综上所述，EBV DNA阳性与胃癌前病变风险增加相关，这在*H. pylori*阴性个体中比*H. pylori*阳性个体更为显著。同时与NAG患者相比，AG患者中EBV DNA阳性患者血清PGR较低。循环EBV DNA具有预测萎缩性胃炎风险的潜力，对临床治疗诊断具有重大意义。

（宁波大学医学院附属医院王维洁 谷海瀛 编译）

表1 循环 EBV DNA 与 AG 风险相关性的分层分析

变量		EBV 阴性	EBV 阳性	<i>P</i> 值	OR（95%CI）
性别					
男性	NAG	123（62.8%）	73（37.2%）	0.084	1.477（0.948~2.301）
	AG	73（53.3%）	64（46.7%）		
女性	NAG	51（68.0%）	24（32.0%）	0.175	1.625（0.803~3.287）
	AG	34（56.7%）	26（43.3%）		
年龄					
<50 岁	NAG	109（68.1%）	51（31.9%）	0.211	1.411（0.822~2.425）
	AG	53（60.2%）	35（39.8%）		
≥ 50 岁	NAG	65（58.6%）	46（41.4%）	0.180	1.439（0.845~2.451）
	AG	54（49.5%）	55（50.5%）		
<i>H. pylori</i> 感染状态					
阴性	NAG	129（66.8%）	64（33.2%）	0.044	1.619（1.012~2.589）
	AG	66（55.5%）	53（44.5%）		
阳性	NAG	45（57.7%）	33（42.3%）	0.520	1.231（0.654~2.315）
	AG	41（52.6%）	37（47.4%）		

注：NAG. 非萎缩性胃炎；AG. 萎缩性胃炎。

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 王 谦 徐小平
于波海 张仁利 张 展 赵 虎 赵林清
常 务 编 委：（按姓氏笔画排序）
邓少丽 伍严安 刘 辉 刘靳波 许 颖
何成彦 罗光华 周铁丽 赵 雅 赵明才
胡继红 黄 芳 鲁 颖
编 委：（按姓氏笔画排序）
王 丽 方 堃 叶嗣颖 刘卫平 刘庆中
闫东辉 邹翠美 张芳琳 陈宇宁 罗振华
金 炎 金凤玲 孟冬娅 赵建平 胡晓梅
宫殿军 姚立琼 崔建娇 梁红萍 魏取好
魏殿军
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
编 辑：吕宝霞 励璟如
投 稿 邮 箱：mnmi@vip.sina.com

急性 COVID-19 后综合征患者的肠道微生物群动态

【据《Gut Microbiota》2022 年 5 月报道】题：一项前瞻性队列研究 - 急性新冠肺炎后综合征患者的肠道微生物群动态（中国香港中文大学 作者 Qin Liu 等）

COVID-19 患者在急性感染期间的临床特征已得到充分研究，但对 COVID-19 的长期并发症知之甚少。以 COVID-19 发病后的长期并发症和（或）持续症状为特征的急性 COVID-19 后综合征（PACS）越来越受到关注。高达 3/4 的患者在康复后 6 个月时发生了至少一种症状，症状通常为多系统症状，包括疲劳、肌无力和睡眠困难。PACS 发展的根本原因在很大程度上尚不清楚。免疫和炎症反应的紊乱、急性病毒感染引起的细胞损伤或严重疾病后的后遗症可能是 COVID-19 感染后出现长期症状的原因。越来越多的证据表明，肠道失调与 COVID-19 感染的严重程度有关，并在疾病缓解后持续存在。一些研究表明，COVID-19 与胃肠道状态密切相关，包括血管紧张素转化酶 2（ACE2）在胃肠道中的表达增强，以及 SARS-CoV-2 感染者的肠道微生物群紊乱。与非 COVID-19 对照相比，COVID-19 患者的粪便微生物组发生了显著变化，其特征是机会性病原体增多，有益共生体减少。一些具有已知免疫调节潜力的肠道共生体，如普氏栖粪杆菌、直链真杆菌和双歧杆菌在患者中的代表性不足，且这些细菌在疾病治愈后 1 个月内收集的样本中仍然保持较低水平。

胃肠道是人体最大的免疫器官，由常驻微生物引起的对 COVID-19 感染的异常免疫反应可能会影响其恢复过程。

新的证据支持肠道失调在 COVID-19 感染严重程度中的潜在作用。基于以上研究背景，香港中文大学 Qin Liu 等研究了急性 COVID-19 后肠道微生物群组成的变化及其与病后持续症状的关系。

该研究招募了 106 例 COVID-19 不同严重程度的患者，对他们进行了长达 6 个月的随访，同时招募了 68 例非 COVID-19 对照。患者组中有 68 例提供了粪便样本（入院 47 份、1 个月 64 份、6 个月 68 份、9 个月 11 份），加上对照组采集的样本，共 258 份。研究者使用鸟枪宏基因组测序法分析了 258 份样本

的连续粪便微生物组，并将结果与 6 个月时的持续症状相关联。

研究结果表明，与非 COVID-19 对照组相比，未使用抗生素的 COVID-19 患者在 1 个月和 6 个月时肠道微生物群出现失调和异质性，其中 COVID-19 患者瘤胃球菌和双歧杆菌成员的相对丰度显著低于非 COVID-19 对照组（图 1）。在 6 个月时，76% 的患者患有 PACS，最常见的症状是疲劳（31.3%）、记忆力差（28.3%）、脱发（21.7%）、焦虑（20.8%）和睡眠困难（20.8%）。入院时肠道微生物群组成与 PACS 的发生有关。与非

COVID-19 对照组相比，未发生 PACS 的患者在 6 个月时肠道微生物群状况基本恢复。PACS 患者的肠道微生物群以较高水平的活泼瘤胃球菌、普通拟杆菌和较低水平的普氏栖粪杆菌为特征。持续性呼吸道症状与机会性肠道病原体相关，而神经精神症状和疲劳与医院内肠道病原体相关，包括无害梭菌和内氏放线菌（均 $P < 0.05$ ）。6 个月时，包括假链状双歧杆菌和普氏栖粪杆菌在内的丁酸产生菌与 PACS 呈最大的负相关。

该研究结果有三个创新点：第一、个体的肠道微生物群可能会影响其对 COVID-19 长期并发症的易感性；第二、肠道微生物群模式反映了 PACS 患者的不同症状；第三、入院时不同的肠道微生物群组成与 6 个月时 PACS 的发生有关。对细菌分类及其与特定急性后症状的相关性的研究表明，不同的微生物模式可能有助于不同 PACS 症状的发展（图 2）。因此，该微生物组可能作为预测 COVID-19 后特定症状发展的替代物。

该研究在评估急性 COVID-19 后的持续症状及其与不同 COVID-19 严重程度（包括轻度疾病）患者肠道微生物群改变的关系方面是一项新的研究。研究发现多种有益细菌的丰度与 6 个月时 PACS 的发展之间存在强烈的负相关。这些发现为肠道微生物群与新冠肺炎感染后的长期后遗症之间的复杂关系提供了新的见解，基于微生物组的分析可作为急性 COVID-19 后综合征发生的早期风险分层的工具。

（西安医学院第一附属医院
检验科 何天娇 李卓 编译）

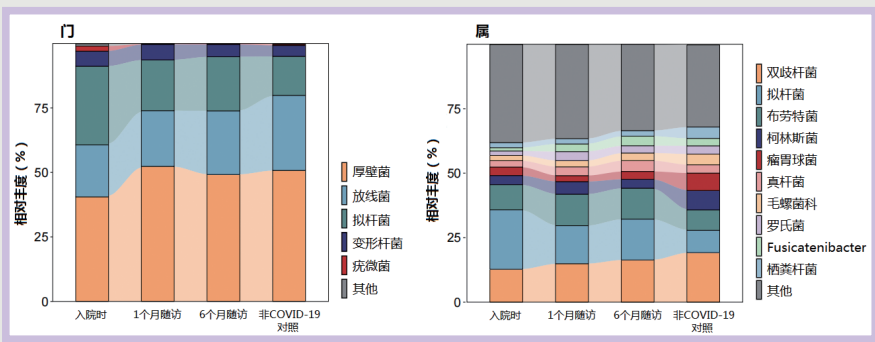


图 1 未使用抗生素的 COVID-19 患者住院时、SARS-CoV-2 转阴后的随访以及非 COVID-19 个体粪便中肠道微生物群的组成差异

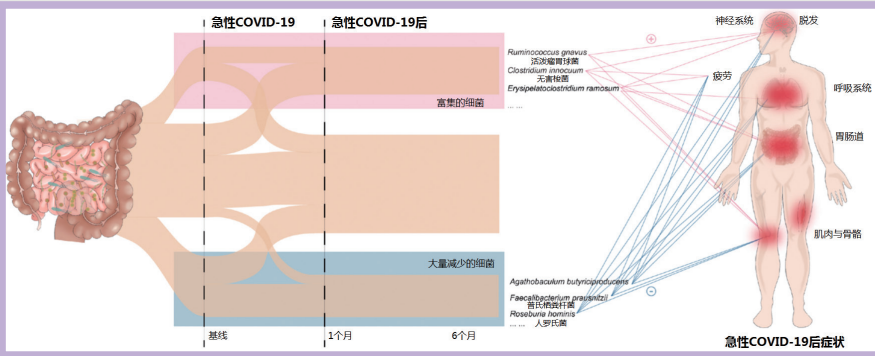


图 2 肠道微生物群与急性 COVID-19 后综合征发展之间的关系示意图

一种新型多重耐药头状葡萄球菌核心基因组多位点分型系统

【据《Nature Communications》2022 年 7 月报道】题：一种新的多重耐药头状葡萄球菌核心基因组多位点分型系统（cgMLST）的建立（中国浙江大学医学院 作者 Zhengnan Wang 等）

头状葡萄球菌（*Staphylococcus capitis*）是一种常见的凝固酶阴性葡萄球菌。该菌作为条件致病菌可导致各种感染，包括心内膜炎、导管相关血流感染、皮肤软组织感染、人工关节感染、新生儿监护病房获得性迟发性败血症等。随着多重耐药头状葡萄球菌（特别是耐利奈唑胺头状葡萄球菌）的流行，临床治疗受到严重威胁，因此迫切需要建立一种标准快速的分型方法。同时，虽然利奈唑胺耐药的头状葡萄球菌在我国已有不少报道，但仍缺乏多中心菌株的亲缘关系分析研究。

核心基因组多位点分型系统（cgMLST）是微生物领域常用的分型系统，具有分

辨率高、操作简单、运行效率高、标准化等优点。以往

的 cgMLST 建立策略存在纳入核心基因数量不多、核心基因

准确率低等弊端。基于以上问题，浙江大学医学院 Zhengnan Wang 等使用了泛基因组分析软件 Panaroo，并应用了 3 个不同的基因组集：初始基因组

集用于构建初始核心基因组，验证基因组集用于筛选核心基因，检验基因组集用于检验 cgMLST 系统。课题组从公共

下转第 4 版

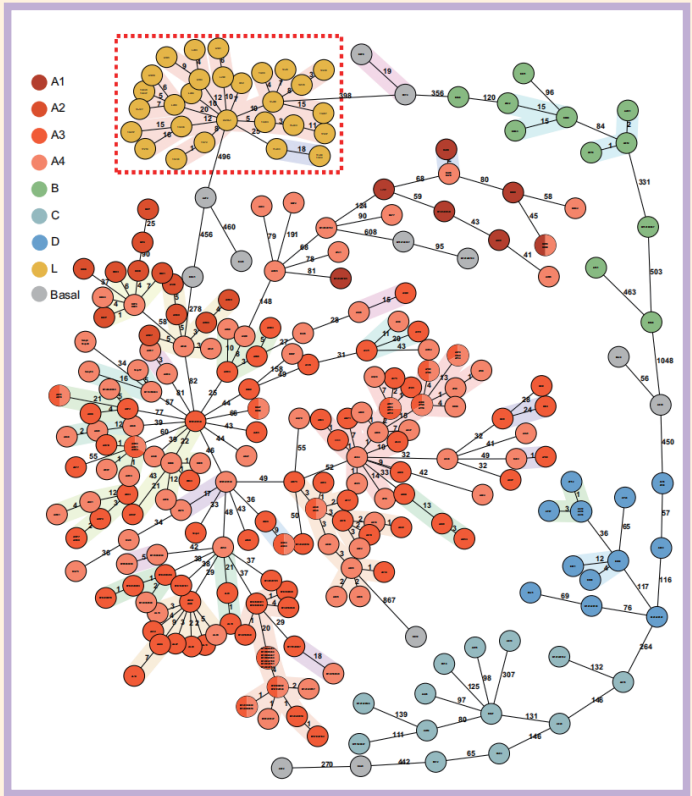


图 1 验证基因组集和检验基因组集的 cgMLST 分析结果

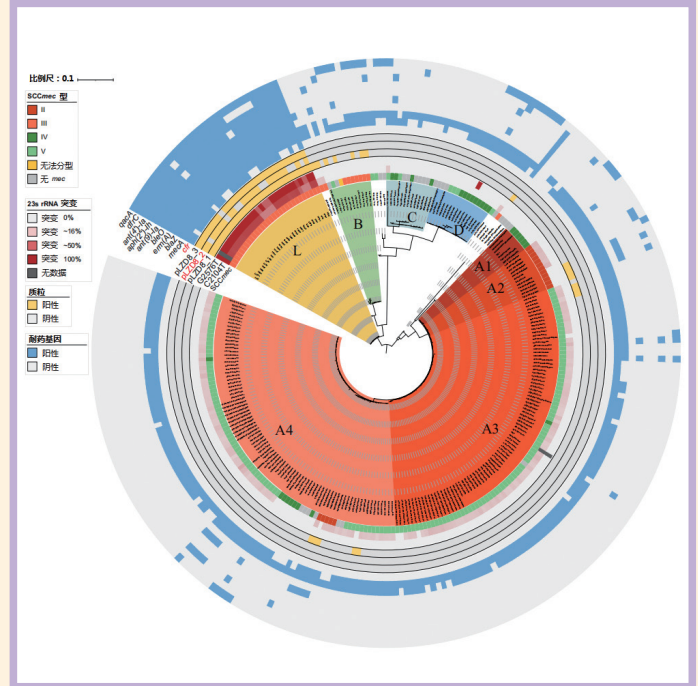


图 2 验证基因组集和检验基因组集的系统发育树及耐药基因分布情况

新型香豆素三取代甲烷对小鼠蛲虫感染小鼠的抗蛲虫活性

【据《Parasitology International》2021年7月报道】题：新型香豆素三取代甲烷对小鼠蛲虫感染小鼠的抗蛲虫活性（印度东北山大学 作者Errini Decruse Dhar 等）

由蛲虫引起的蛲虫病是一种常见的蠕虫病，全球约有 2 亿人感染蛲虫，儿童感染更常见。许多蛲虫病患者通常无症状，但肛周瘙痒、失眠和易怒是儿童最常见的表现。目前，阿苯达唑、双羟萘酸吡嗪啉和甲苯咪唑是防治蛲虫病的常用

药物。然而，由于特有的寄生虫传播周期，成功的治疗也仍然是一个挑战，常会出现化学治疗后再次感染。此外，近年来文献中也出现了关于驱虫药耐药性的零星报道，包括幼蛲虫对一些常见驱虫药的耐药性。因此，需要安全有效的药物来治疗蛲虫感染。

杂环化合物在制药工业中的重要性已得到公认，现有药物中有超过 75% 是基于杂环分子框架的。通过在其核心支架中掺入功能团或其他取代基，

杂环可以轻松改变其结构，这使得它们成为药物设计研究中的优秀候选者。在杂环化合物中，香豆素骨架存在于目前市场上可用的各种抗肿瘤、抗生素、抗疟疾、抗 HIV、抗微生物、抗菌、抗真菌和抗病毒药物中。据报道，许多香豆素稠合杂环化合物具有抗真菌、抗凝血、抗菌、抗哮喘、抗肿瘤或抗 HIV 活性。最近，三取代甲烷（TRSMs）因其优异的化学性质和在制药工业中的巨大潜力而引起了研究人员的高

度关注。许多 TRSM 已显示出相当出色的药理特性，例如抗癌、抗增殖和抗结核药物。

印度东北山大学 Errini Decruse Dhar 等通过小鼠蛲虫感染的小鼠对三种新型 TRSM 的抗蛲虫活性进行调查，并按照 OECD 指南对该化合物的口服急性毒性进行了检测。结果表明，TRSM 化合物 1 和 2 以 80 mg/kg 的单剂量给药 5 天可以杀灭小鼠体内大约 90% 的蛲虫；而参考药物阿苯达唑以 20 mg/kg 的剂量给药 12 天后才能

杀灭 98% 的蛲虫。特别强调是，合成衍生物苯环中的氟和溴取代基极大地影响着候选物的功效，氟基的化合物 1 较溴基的化合物 3 提高了约 16% 的蛲虫清除率。研究还观察到当口服 TRSM 的剂量 > 2 000 mg/kg 体重时将小鼠产生急性毒性。该项研究结果表明这种新型香豆素基三取代甲烷可以作为开发新型抗蛲虫药物的候选药物。

（吉林大学中日联谊医院
宋丽娜 何成彦 编译）

利用转录组学和表型鉴定发掘耳念珠菌中与棘白菌素抗性相关的遗传特征

【据《mBio》2022年8月报道】题：利用转录组学和表型鉴定发掘耳念珠菌中与棘白菌素抗性相关的遗传特征（奥地利维也纳医科大学 作者Sabrina Jenull 等）

近年来，耳念珠菌在全球超过 50 个国家引起院内感染，严重威胁着人类的生命健康。耳念珠菌具有丰富的基因多样性，对生物材料和非生物材料的黏附能力较强，目前缺少常规的检测手段，且往往具有多重耐药性，其防治工作是一项重大挑战。奥地利维也纳医科大学 Sabrina Jenull 等利用转录组测序分析了棘白菌素耐药株（ECN-R）和敏感株（ECN-S）中的差异表达基因（DEGs），对 DEGs 进行了富集分析，并检测了相应通路的表型变化。

转录组测序结果显示，与 ECN-S 株相比，三株 ECN-R 株中存在 362 个 DEGs。GO 富集分析显示，这些 DEGs 主要与 3 种细胞功能相关，即翻译、麦角甾醇合成通路、线粒体基因表达。与线粒体基因表达和功能相关的基因包括线粒体翻译起始和延伸因子（分别为 IFM1 和 TUF1），以及几种线粒体核糖体蛋白（RSM4、MRPL36、B9J08_000156、B9J08_000569 等）。此外，线粒体内化相关蛋

白（TOM70、TOM40、TOM22、TIM50、TIM44、TIM40 及 TIM23）在 ECN-R 株中上调，同时 ECN-R 株对抗霉素 A（线粒体抑制剂）的敏感性上升，表明耐药株的线粒体功能发生了变化。

已有研究报道了假丝酵母菌对棘白菌素类药物卡泊芬净耐药的多种相关基因。根据假丝酵母基因组数据库（*Candida* Genome Database），分析本研究中耐药株表达谱中已知耐药相关基因的表达情况，结果显示 ECN-R 株中有 20 个耐药相关基因的表达水平发生变

化（图 1），但其中并不包括卡泊芬净的经典靶点 FKS1/2。三株 ECN-R 株中表达均下调的基因包括转录因子 NRG1、激酶 GIN4 及细胞壁相关基因 PGA31。进一步分析表达谱中的细胞壁相关基因，共有 16 个基因在三株 ECN-R 株中表达下调，这说明 ECN-R 株的细胞壁结构和性质可能发生变化。检测细胞壁成分发现，ECN-R 株中的甘露糖和葡聚糖含量上升，对荧光白（靶向细胞壁）的敏感性上升。根据转录组测序结果，糖基磷脂酰肌醇锚定黏附分子 PGA6 在

ECN-R 中表达上调，但敲除 PGA6 并不能影响耳念珠菌对卡泊芬净的敏感性。

已有研究显示，甘露糖参与耳念珠菌诱发宿主免疫反应。研究人员发现在 ECN-R 株中，甘露糖的水平上升。与 ECN-S 株相比，巨噬细胞在 45 min 和 120 min 内吞噬 ECN-R 株孢子数量提高了 1 倍，产生 ROS 增加，巨噬细胞对 ECN-S 株的杀伤作用要略强于 ECN-R 株（图 2）。

研究表明，卡泊芬净耐药

的耳念珠菌中，细胞壁、线粒体等相关基因的表达存在异常。细胞壁相关基因可以影响细胞壁的结构、黏附、宿主免疫等方面。对耳念珠菌进行转录组测序分析，并结合其基因组数据，可以发现具有潜在价值的转录生物标志物，有利于评估宿主-真菌相互作用、抗真菌药物耐药性等方面的问题，以及可能的治疗预后。

（吉林大学基础医学院
病原生物学系
赵卜司 贺丹 王丽 编译）

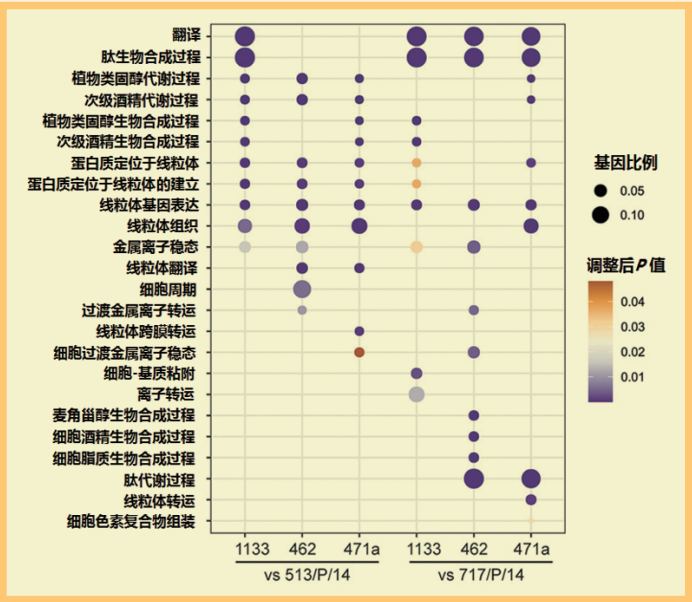


图 1 ECN-R 和 ECN-S 患者 DEG GO 分析
513/P/14 和 717/P/14 为 ECN-S 株，1133、462、471a 为 ECN-R 株

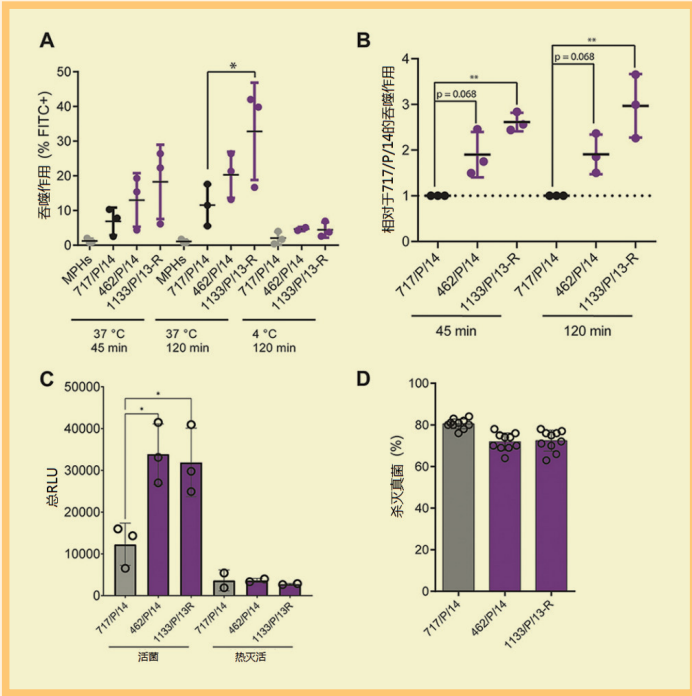


图 2 巨噬细胞对不同耐药性真菌菌株的应答
717/P/14 为 ECN-S 株，462/P/14 和 1133/P/13R 为 ECN-R 株

◀上接第 3 版

基因组数据库中收集头状葡萄球菌基因组，经过质控后作为初始基因组集。对初始基因组集进行核心基因组分析，确定初始核心基因组，接着进行初步筛选和验证基因组集筛选后最终建立包含 1 492 个基因的 cgMLST 系统。

随后研究人员验证了该

cgMLST 系统，收集所有利奈唑胺耐药头状葡萄球菌的基因组作为检验基因组集，纳入菌株包括分离自杭州、上海和哈尔滨的菌株。检验基因组集与验证基因组集共同进行 cgMLST 分析（图 1）和基于核心基因组 SNP 的系统发育分析（图 2）。尽管菌株之

间时空差异很大，但绝大多数利奈唑胺耐药头状葡萄球菌均属于同一克隆，命名为 L 克隆。其他菌株在 cgMLST 分析结果中可以大致区分为 4 个主要克隆，命名为克隆 A、克隆 B、克隆 C 和克隆 D。结果证实，基于核心基因组 SNP 的系统发育分析的区别结果与

cgMLST 结果一致。大部分 L 克隆菌株携带 *cfr* 耐药基因（介导利奈唑胺耐药），该基因由质粒 pLZD8_2 携带，并且只存在于 L 克隆中。另外，这些菌株中 23S rRNA 多拷贝突变（G2576T、C2104T）也是利奈唑胺耐药机制之一。

综上，该研究开发并建立

了头状葡萄球菌 cgMLST 系统，分析鉴定发现了重要耐药克隆 L 克隆，揭示了利奈唑胺耐药头状葡萄球菌的克隆传播和耐药机制，为多重耐药病原体的流行病学监测提供了可靠的分子分型工具。

（西安医学院第一附属医院
检验科 井发红 李卓 编译）

间充质干细胞和间充质干细胞来源的细胞外囊泡 在类风湿关节炎中的免疫调节作用

【据《Frontiers in Immunology》2020 年 8 月报道】题：间充质干细胞和间充质干细胞来源的细胞外囊泡在类风湿关节炎中的免疫调节作用（中国四川大学华西医院 作者 Huan Liu 等）

类风湿关节炎（RA）是一种普遍的全身性自身免疫性疾病，其特征是进行性关节破坏，50% 的 RA 患者也有关节外受累，包括心脏、肺、眼和血液。在全球范围内，RA 的总发病率为每年 40/100 000 人，女性患病率明显更高。RA 的病因和发病机制已被广泛研究，但其确切机制很复杂，尚未阐明。目前 RA 的治疗都是非特异性的，包括糖皮质激素、免疫抑制剂和生物制剂，疗效不足，不良反应严重，甚至会产生危及生命的毒性作用。

间充质干细胞 / 基质细胞（MSCs）是一类具有自我更新和多能特性的干细胞，可广泛使用。越来越多的证据表明，MSCs 主要通过释放细胞外囊泡（EVs）和旁分泌因子（例如，生长因子、激素和细胞因子）发挥免疫调节作用。EVs 是一组脂质结合的囊泡，由各种细胞释放，在相邻或远处细胞之间的信息传递中发挥重要作用。根据其来源、分泌机制和性质，EVs 分为凋亡小体、微泡（MV）和外泌体。凋亡小体（50~5 000 nm）通过死亡细胞释放到细胞外空间，并包含完整的细胞器、染色质和少量糖基化蛋白质。MV（100~1 000 nm）源自质膜。外泌体（30~150 nm）由多泡内体（MVE）的腔内芽形成。在已知产生 EVs 的不同细胞中，MSCs 是最多产的细胞之一。MSC-EVs 的功能与 MSCs 相似，但后者更稳定、更安全、毒性更小，并且能够通过血脑屏障，从而降低其触发免疫反应的倾向。MSC-EVs 转移核酸（包括 DNA、mRNA 和 miRNA）脂质、蛋白质及从供体细胞到特定受体细胞的表面受体，从而保护信号分子在运输过程中免受酶促降解。通过直接与质膜融合、内吞后与内体膜融合或直接与受体细胞受体结合，MSC-EVs 与受体细胞膜融合，然后参与生理和病理过程。过去的研究表明，MSCs 和 MSC-EVs 可能对 RA 有效，四川大

学华西医院 Huan Liu 等对相关研究进行了讨论。

目前已证实间充质干细胞移植（MSCT）可通过免疫调节、抗炎和分化来减少关节炎症、骨侵蚀和破坏并减轻血管翳的形成，从而有效治疗 RA。MSCs 主要与先天性和适应性免疫细胞相互作用以调节 RA 中的免疫反应（图 1）。

MSCs 可以调节 T 细胞的增殖、分化和功能，并减少促炎因子的产生。研究显示 MSCs 可对 Th17/Treg 细胞平衡造成影响，其原理可能是各种可溶性分子，包括吡咯啉胺 2,3- 双加氧酶（IDO）、

记忆 B 细胞。刘等人发现 RA 患者体内的循环 Tfh 细胞数量增加，并且与疾病和抗环瓜氨酸肽抗体水平呈正相关。

B 细胞主要产生自身抗体，包括类风湿因子（RF）和抗瓜氨酸蛋白抗体（ACPA），但也分泌细胞因子并作为抗原呈递细胞促进 RA 中的 T 细胞活化。已发现来自健康供体的 MSCs 可抑制 B 细胞增殖及抗 ACPA 和 RF 的产生，但 MSCs 在 RA 中调节 B 细胞的机制仍不清楚。

树突状细胞（DC）、巨噬细胞和自然杀伤（NK）细胞是先天免疫反应的重要成员，在各种疾病中受 MSCs 调节。

节外，MSCs 还可以诱导成骨和软骨分化，并调节炎症因子，这是一种很有前景的 RA 疗法。目前，大多数 MSCT 治疗 RA 的临床试验都集中在对传统的疾病改善抗风湿药物（DMARDs）治疗没有反应的难治性 RA 患者上，没有任何与 MSCT 治疗相关的严重副作用。然而，MSCs 在治疗中的应用仍然面临许多挑战。几项动物模型研究发现，MSCs 与致癌风险相关。同种异体 MSCs 对肿瘤细胞具有免疫抑制作用，使它们能够通过 CD8⁺ T 细胞的作用逃避适应性免疫调节系统的检测和破坏，从而导致同种

中解决，其结果可以为其在类风湿关节炎的治疗中的应用提供理论基础和支持。

与可能导致异常分化和肿瘤形成的 MSC 治疗相比，MSC-EVs 更有效、更稳定、更安全，具有更广阔的前景。EVs 携带来自 MSC 的大量 DNA、RNA、蛋白质和脂质，并将它们转移到受体细胞。由于多种优势，包括通过血脑屏障的能力和低免疫原性，EVs 是药物和外源性核酸的天然载体，可以在释放到细胞外环境之前装载到供体细胞中。更重要的是，使用 EVs 转移 miRNA 可以防止这些被降解，从而使 miRNA 在转录后水平上负调控靶蛋白的表达。除了它们的治疗潜力，几项研究报告称，MSC-EVs 分泌的 miRNAs（MSC-EV-miRNAs）通过靶向特定蛋白质调节多种信号通路，从而影响 RA 的发展。因此，MSC-EV-miRNAs 是用于 RA 新型无细胞治疗策略的潜在生物标志物。

尽管 MSC-EVs 已用于临床前 RA 研究，但仍有几个问题尚未解决。首先，来自不同组织的 MSCs 处于不同的分化状态时，EVs 组装的分子含量和类型可能不同，从而影响它们在受体细胞中的功能并引起生理过程的变化。MSC-EV-miRNAs 不会随机进入 EVs，但从母体细胞中调整 and 选择细胞的分选机制尚不清楚。还未有研究对 RA 和健康个体的 MSC-EVs 进行 miRNA 表达谱差异分析。此外，miRNA 及其靶基因的复杂调控网络是否可能引发其他疾病仍不清楚，需要进一步研究。其次，MSC-EVs 分泌许多其他信号分子，源自 MSC-EVs 的蛋白质、转录因子和翻译调节因子参与受体细胞的组织修复机制。有必要对影响 RA 的分子之间的相互作用进行深入研究。第三，目前 EVs 的分离方式没有统一标准，并且耗时，商用的外泌体提取剂含有需要纯化的非外泌体污染物，例如脂蛋白。最后，所有相关研究结果需要在临床试验中大规模复制，以评估 MSC-EVs 在 RA 患者中的安全性、有效性和持久性。

（西安医学院第一附属医院 检验科 张小颖 李卓 编译）

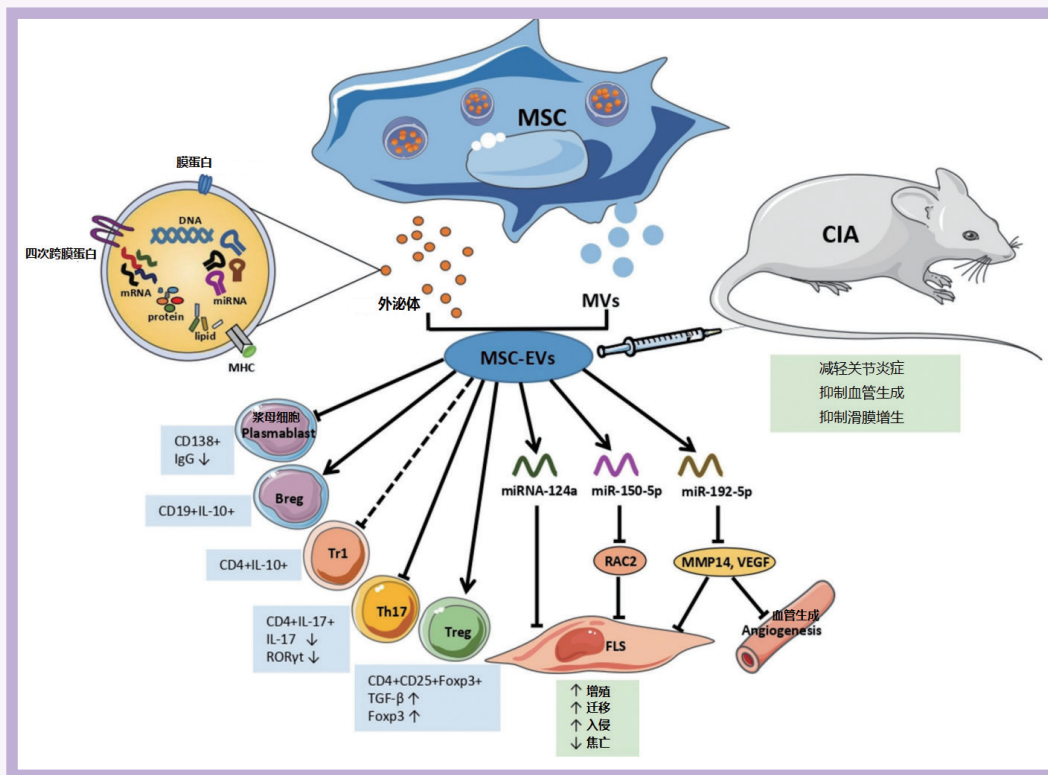


图 1 MSC-EVs 在 RA 中的作用和机制

箭头表示激活或诱导，T 型虚线表示抑制，T 型虚线表示不一致的结果（Tr1 细胞在体外增加但在体内减少）；MSC，间充质干细胞；MV，微泡；EV，细胞外囊泡；Tr1，T 调节 1 型细胞；Th17，T 辅助细胞 17 效应细胞；Treg，T 调节细胞；FLS，成纤维细胞样滑膜细胞；IgG，免疫球蛋白 G；TGF-β，转化生长因子 β；IL，白细胞介素；miRNA/miR，microRNA；RAC2，ras 相关 C3 肉毒杆菌毒素底物 2；MMP14，基质金属蛋白酶 14；VEGF，血管内皮生长因子；CIA，胶原诱导的关节炎小鼠模型

IL-10、前列腺素 E2（PGE2）和一氧化氮（NO）及转移细胞器。健康小鼠的骨髓来源的 MSCs（BM-MSCs）和来自 RA 患者外周血单个核细胞（PBMCs）的 Th17 共培养后，通过将 BM-MSCs 的线粒体转移到 Th17 细胞，Th17 细胞的增殖和 IL-17 的产生被抑制。同时，来自健康供体的 BM-MSCs 的线粒体转移高于来自 RA 患者滑膜来源的 MSCs 的线粒体转移。T 滤泡辅助（Tfh）细胞是 CD4⁺ T 细胞的一个子集，可能有助于免疫球蛋白亲和力成熟并产生浆细胞和记

中等研究人员证明 MSCs 抑制 M1 型巨噬细胞的活化并通过肿瘤坏死因子（TNF）-α 介导的环氧合酶 2（COX-2）和 TNF 刺激的基因 6 的活化诱导 M2 型巨噬细胞的产生。这伴随着核苷酸结合结构域的负调控、富含亮氨酸的重复 pyrin 3（NLRP3）炎症小体介导的 IL-1β 分泌，以及通过 IL-1β 反馈环在巨噬细胞中产生 caspase-1。

随着越来越多的研究，已发现 MSCs 通过产生可溶性因子和转移含有信息分子的 EVs 在许多自身免疫性疾病中发挥免疫调节作用。除了免疫调

异体肿瘤细胞的生长。MSCs 还可以分泌血管内皮生长因子（VEGF）以诱导血管生成，促进肿瘤基质的形成，并有利于肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移。MSCs 的类型、培养条件、治疗时间、注射细胞数量、注射途径和治疗方案等因素都会导致不同的结果。此外，不同的条件也会影响 MSCs 的效果。例如，表观遗传修饰的 MSCs（低甲基化剂和组蛋白去乙酰化酶抑制剂的组合）在 RA 中具有很高的免疫调节作用。因此，确定 MSCs 的免疫调节作用持续多长时间需要在临床实践

利用 PROTAC 蛋白靶向降解技术开发新型流感减毒疫苗

【据《Nature Biotechnology》2022 年 7 月报道】题：利用 PROTAC 蛋白靶向降解技术开发新型流感减毒疫苗（中国科学院深圳先进技术研究院合成生物学研究所 作者司龙龙等）

流感是由流感病毒引起的一种呼吸道传染病。流感病毒因其抗原性易变，传播迅速，每年可引起季节性流行，在全球可导致 300 万 ~500 万重症病例、29 万 ~65 万呼吸道疾病相关死亡。疫苗是预防和控制传染病最为经济有效的手段之一，而减毒疫苗因其在免疫效果方面具备潜在优势而成为其中一个重要发展方向。

目前，减毒疫苗生产策略包括冷适应型流感减毒活疫苗、密码子去优化改造的减毒疫苗、携带提前终止密码子的减毒疫苗、干扰素超敏感性的减毒疫苗和病毒蛋白改装的减毒疫苗。然而，这些策略通常伴随着安全性、有效性的降低或生产力的损失。此外，病毒快速进化导致的免疫逃逸对传统流感疫苗提出了进一

步挑战。因此，人们迫切需要更简单的方式生产更安全、更有效的活疫苗。

通过调控蛋白表达量的病毒减毒策略，一般分为两类：一是抑制或阻断蛋白质合成以减少子代病毒组装所需的“原料”生产；二是加速蛋白质降解以及及时将子代病毒组装所需的“原料”清除。近年来，基于泛素-蛋白酶体系统的 PROTAC 蛋白质靶向降解技术（即研究人员设计出一种具有两个活性端的小分子化合物，一个活性端可以与需要降解的靶蛋白相结合，而另一个活性端可以与特定的 E3 泛素连接酶相结合，从而诱导靶蛋白的泛素

化，进而被蛋白酶体降解），已经被成功地用于开发化学小分子的蛋白降解剂，并成为国际科学研究热点。

根据上述设计原理，司龙龙等首先构建了一株 PROTAC 流感病毒疫苗，命名为 M1-PTD（图 1）。对病毒生长曲线的考察发现，M1-PTD 仅在 PROTAC 病毒制备细胞中高效复制，而在正常细胞中其复制能力显著下降。此外，免疫荧光实验结果表明，M1-PTD 病毒蛋白在正常细胞中被降解；噬斑实验结果表明，M1-PTD 仅在 PROTAC 病毒制备细胞中可以形成噬斑，而在正常细胞中不形成噬斑；细胞病变实验

结果表明，M1-PTD 在正常细胞中不引起明显病变。以上实验结果均表明 M1-PTD 流感病毒具备成为安全疫苗的潜力。

该团队对构建的 PROTAC 流感病毒的工作原理进行了验证。结果显示，M1-PTD 流感病毒的蛋白在正常细胞中被降解而复制减弱，而宿主细胞蛋白酶体的抑制可以恢复 M1-PTD 的病毒蛋白水平和复制能力，说明 PROTAC 流感病毒的蛋白降解和复制减弱是泛素-蛋白酶体途径依赖的，符合设计原理。

该团队使用小鼠、雪貂动物模型对构建成功的 M1-PTD 流感病毒进行了安全性评价。他们将 M1-PTD 病毒或野生型流感病毒以滴鼻的方式接种于动物，监测动物的死亡率和体重，并检测动物鼻洗液、气管、肺中的病毒滴度。结果显示，与野生型病毒相比，M1-PTD 在动物体内的复制能力显著降低，且不会引起小鼠死亡或体重下降，说明其在动物

体内具备安全性。最后，该团队在小鼠、雪貂动物模型中对 M1-PTD 流感疫苗进行了免疫效果评价。结果显示，M1-PTD 可以诱导广泛的免疫应答，包括体液免疫、黏膜免疫、细胞免疫应答；且 M1-PTD 可以提供良好的交叉免疫保护。

综上所述，该研究基于合成生物学理念，将基于泛素-蛋白酶体系统的 PROTAC 蛋白质靶向降解技术拓展至病毒疫苗的设计，不仅为病毒疫苗开发提供了新思路，丰富了人类抵御病毒的疫苗武器库，也有助于促进细胞蛋白质降解机器这一基础生物学领域与疫苗研发的深度交叉融合。同时该团队指出，虽然该研究在细胞和动物模型中证明了 PROTAC 减毒疫苗概念的可行性，但 PROTAC 疫苗的实际应用仍需要大量的优化和探索。

[广州中医药大学深圳医院（福田）
杨波 编译]

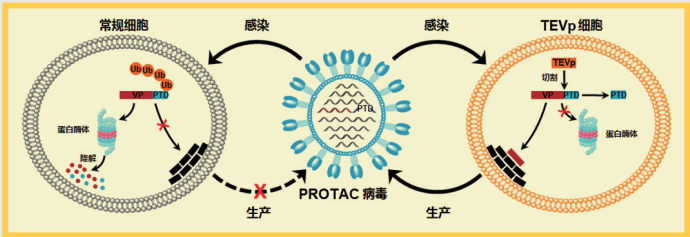


图 1 PROTAC 病毒疫苗原理
VP，病毒蛋白；Ub，泛素；PTD，蛋白降解靶向元件

降钙素原和 C 反应蛋白作为门诊发热血液病患者革兰阴性菌血症预测因子的应用

【据《Supportive Care in Cancer》2022 年 1 月报道】题：降钙素原和 C 反应蛋白作为门诊发热血液病患者革兰阴性菌血症预测因子的应用（意大利罗马第一大学作者 Jean Pierre Jabbour 等）

近年来，大多数血液病的治疗已经从住院转到门诊。尽管这一现象带来了显著的优势（包括住院时间和相关费用的大幅减少，以及患者生活质量的改善等），但另一方面，这也导致出现了新的护理需求，包括适当管理与血液病及其治疗有关的急诊门诊患者。发热和感染是住院和门诊血液病患者的主要并发症。细菌性血流感染（bacterial blood infection, BSI）是血液病患者发热的最常见原因之一，革兰阴性菌 BSI（GNB-BSI, GN-BSI）的发病率和死亡率均呈上升趋势，尤其是多药耐药（MDR）模式的患者。GN-BSI 的早期诊断和及时积极的抗生素治疗是血液病患者发热管理中具有挑战性的方面。血液培养是检测病原体 and 诊断 BSI 的金标准，然而血液培养的敏感性是多变的，培养结果可能需要 48 h 或更长时间。因此，为了获得更迅速和更特异的抗生素治疗，可以考虑采用对 GN-BSI 具有高敏感性和特异性的早期生物标志物。

降钙素原（PCT）是一种降钙素激素原，在全身感染时产生，以应对循环中的微生物毒素和宿主炎症介质。PCT 通常被用作感染演变的标志，而不是用于发热初步诊断评估的诊断标志。意大利罗马第一大学 Jean Pierre Jabbour 等前瞻性地评估了 PCT 在就诊于血液学急诊科的发热门诊血液病患者诊断检查中的作用，特别分析了 PCT 作为 GNB-BSI 预测指标的意义，并与 C 反应蛋白（CRP）进行了比较。

这些结果总体表明，尽管 PCT 无法在发热开始时区分不同感染类型，但与 C 反应蛋白或其他指标相比，PCT 可能更有助于在粒细胞减少性和无粒细胞减少的患者发热开始后几小时或几天时区分感染的源头。在该研究中，PCT 和 CRP 都被纳入了发热门诊患者的第一次诊断检查。当考虑到 GN-BSI 的阴性预测值时，PCT 比 CRP 更能准

确区分 GN-BSI 和所有其他发热原因（图 1）。该研究表明，对于 PCT 值低于 0.5 ng/ml 的患者，GN-BSI 可以被排除，阴性预测值为 98%，阴性似然比为 0.1，中性粒细胞减少症和非中性粒细胞减少症患者之间没有显著差异。

与既往发热门诊患者使用 PCT 的研究报道数据相比，基于血液病患者的研究报告确定了用于区分 BSI 与所有其他发热原因的最佳 cut-off 值，为 0.5 ng/ml，认为其具有良好的敏感性和特异性（图 2），且较高的检测值则更容易提示严重脓毒症。然而，这些研究大多集中于评估 PCT 在中性粒细胞减少性发热住院患者中的诊断性能，在一项横断面研究中，Chaftari 等报道了发热性白血病患者 PCT 基线水平的升高（PCT = 0.265 ng/ml），这可以解释

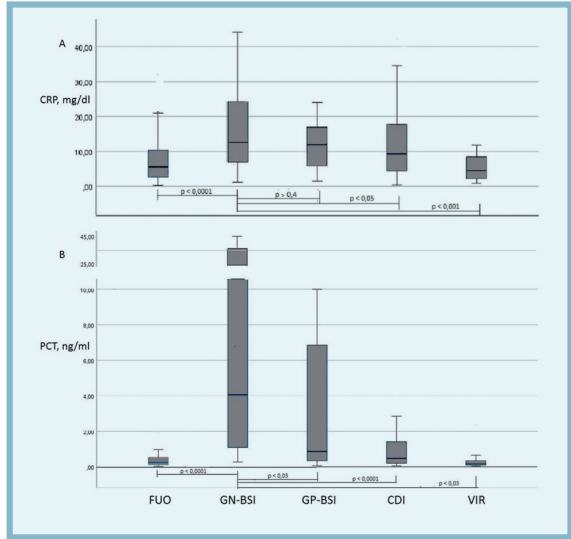


图 1 血液科门诊患者 CRP (A) 和 PCT (B) 中值作为不同发热病因的函数的比较

FUO：不明原因发热；GN-BSI：革兰阴性血流感染；GP-BSI：革兰阳性血流感染；CDI：临床证明的感染；VIR，病毒感染；GN-BSI 组 CRP 水平不显著高于 GP-BSI 组 ($P>0.4$)，略高于 FUO 组 ($P<0.0001$)，CDI 组（多数病例为肺炎）($P<0.05$) 和 VIR 组 ($P<0.001$)。GN-BSI 的 PCT 水平显著高于 GP-BSI ($P<0.03$)、FUO ($P<0.0001$)、CDI ($P<0.0001$) 和 VIR ($P<0.03$)

本实验在以白血病患者为主要代表的发热性中性粒细胞减少亚组中相对较高的 cut-off 值。因此，在发热且中性粒细胞减少的患者中，由于其较高的基线水平和较低的 PCT 峰值，预期 PCT 的最佳 cut-off 值会略高。

PCT 水平在发热血液病患者的管理中可能发挥作用。该研究表明，为了区分 GN-BSI 和所有其他发热原因，对有发热症状的门诊血液病患者入院时检测 PCT 比 CRP 会更有价值。总之，在有发热症状的门诊血液病患者的诊断过程中引入 PCT 检测，有助于在等待微生物培养结果的过程中进行经验性抗菌治疗，从而有效缩短住院时间。

（西安医学院第一附属医院 秦玲 李卓 编译）

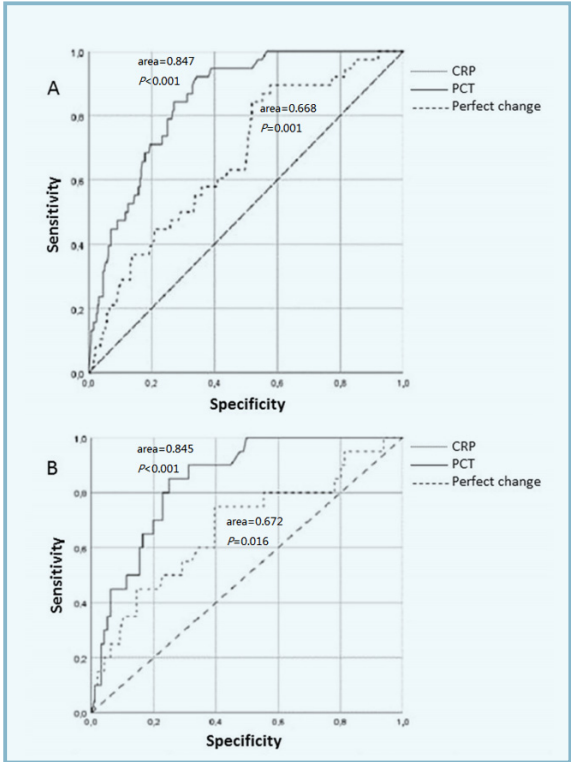


图 2 为 PCT 和 CRP 在普通人群 (A) 和中性粒细胞减少人群 (B) 中区分 GN-BSI 与所有其他发热病因的 ROC 曲线

SARS-CoV-2 刺突蛋白的糖基缺失 mRNA 可作为一种广谱疫苗

【据《Proc Natl Acad Sci》2022年2月报道】题：SARS-CoV-2刺突蛋白的糖基缺失mRNA可作为一种广谱疫苗（中国台湾中研院基因组学研究中心作者Chung-Yi Wu等）

信使RNA（mRNA）疫苗的开发已成为控制新病原体传播的有效和快速策略。疫苗接种后，mRNA被转化为真正的蛋白质疫苗，无须在体外制造蛋白质。然而，mRNA的命运及其在细胞内的翻译后修饰可能会影响免疫反应。

严重急性呼吸综合征冠状病毒2型（SARS-CoV-2）刺突蛋白（S蛋白）有三个主要的免疫原性结构域：N端结构域、受体结合结构域（RBD）和亚单位2结构域（S2）。以前的研究表明，识别RBD的中和抗体对SARS-CoV-2和其他冠状病毒具有高度保护作用。然而，研究发现，随着病毒的持续变异，抗体对抗新出现变种的效力在降低。全球流感共享数据库（GISAID）报告了300多万个S蛋白序列，所有序列都是高度糖基化的，每个单体有22个N-糖基和2个O-糖基。中国台湾中研院基因

组学研究中心 Chung-Yi Wu 等前期研究证实，野生型（WT）S蛋白上所有22个N-糖基修饰为N-乙酰氨基葡萄糖（GlcNAc），即单GlcNAc修饰S蛋白（S_{mg}）所制成的疫苗可引发广泛保护性免疫反应，包括针对α、β、γ和δ变体的抗体和CD4⁺及CD8⁺T细胞反应。进一步的研究表明，S蛋白上大多数保守表位位于RBD和S2亚单位的HR2结构域，但这些保守表位在很大程度上被聚糖保护，以逃避免疫反应。因此，去除保护聚糖以暴露

更多保守表位可诱导更广泛和更强的免疫反应。Wu等还使用单B细胞技术从S_{mg}免疫接种小鼠中筛选B细胞克隆，并从中发现了一种广泛中和的单克隆抗体，其靶向RBD中的一个高度保守的表位，而在S_{lg}免疫接种小鼠中未发现该表位，进一步证明从S蛋白中去除聚糖保护是开发针对SARS-CoV-2变体的广泛保护性疫苗的有效策略。研究人员根据这一发现开发了新的S蛋白mRNA疫苗，该疫苗在RBD和S2中删除特定糖基，并发生N

变为Q和S/T变为A的替换。

Wu等对该mRNA疫苗的蛋白表达和免疫应答以及保护范围进行了研究。他们发现，与未修饰的mRNA相比，若mRNA疫苗在RBD或S2域中缺失糖基以暴露更多保守表位，可引发更强的抗体和CD8⁺T细胞反应。这种mRNA的免疫导致错误折叠的刺突蛋白在内质网中积累，使得BiP/GRP78、XBP1和p-eIF2α上调，从而诱导细胞凋亡和强烈的CD8⁺T细胞反应。此外，树突状细胞（DC）与S2-糖基缺失mRNA疫苗增加了I类主要组织相容性复合体（MHC I）的表达。

综上所述，Wu等通过利用具有特定糖基缺失的S蛋白mRNA作为免疫原，在体外和体内研究了糖基化对S蛋白折叠和免疫反应的影响。这种方法对于研究蛋白质折叠所必需的糖基化位点特别有用，因为目标蛋白在体外不易获得和纯化。此外，作者还展示了利用S蛋白mRNA缺失特定的糖基以暴露保守表位的广谱疫苗开发策略，为相关疫苗的开发提供了方向。

（西安医学院第一附属医院
检验科 高娟 李卓 编译）

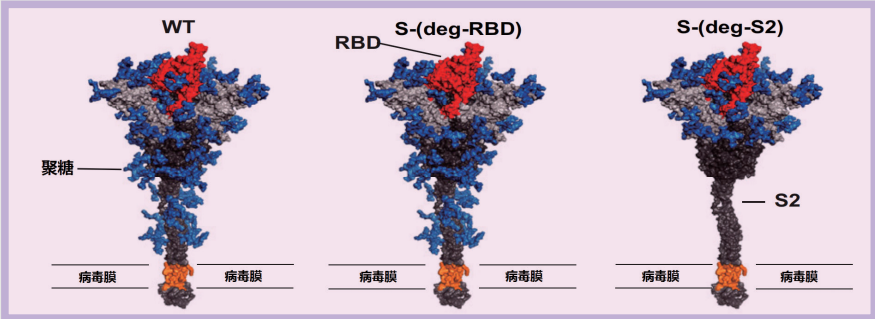


图1 SARS-CoV-2 刺突蛋白和疫苗设计的3D图像
蓝色：聚糖；红色：RBD；灰色：S1；深灰色：S2；橙色：跨膜结构域。WT：野生株；deg-RBD：RBD去糖基化；deg-S2：S2去糖基化

RNA 谱揭示了妊娠期远期健康和疾病的特征

【据《Nature》2022年1月报道】题：RNA谱揭示了妊娠期远期健康和疾病的特征（美国Mirvie公司作者Morten Rasmussen等）

子痫前期是一种以母体内皮功能障碍和相关的新发母体高血压为特征的疾病，每12例妊娠中就有1例可能发生，是母体发病率和心血管疾病终生风险较高的重要原因。然而，在临床症状出现前对高危妊娠的评估仍然难以获得。美国Mirvie公司Morten Rasmussen等联合多所研究机构的研究证明，血浆游离RNA（cfRNA）能揭示正常妊娠进展的模式，并能在临床症状出现前几个月就确定发生子痫前期的风险。

该联合研究团队对来自8个独立队列1840名孕妇的2539例血浆样本进行了cfRNA分析，孕妇样本覆盖了不同种族、国籍、地理位置和社会经济背景，并涵盖不同孕龄，收集了迄今为止最大规模和最多样化的妊娠转录组数据集。分析发现通过检测母体血浆中cfRNA转录组，不仅可以预测胎儿的胎龄，还可

以反映妊娠进展的生理状态。基于机器学习建模方法，研究人员将1908例cfRNA图谱作为训练集，在训练集中拟合Lasso线性模型预测胎龄。随后在474例测试集中进行验证，测试集的平均绝对误差为14.7天。该模型的误差与妊娠中期的超声检查相当，但优于晚期超声检查（图1A）。通过方差分析（ANOVA），表明该模型几乎完全由来自cfRNA转录本的信息驱动，其中BMI、孕妇年龄和种族所占方差的比例不到1%（图1B）。

接着，研究者探索了在妊娠期母体循环中发现的转录本是否与它们的来源组织有关，进而试图确定是否可以通过检测cfRNA谱，来评估胎盘、胎儿器官和（或）母体组织[子宫颈和（或）子宫]的分子状态；并通过分析来自Gene Ontology或Molecular Signatures Database的基因集，来研究胎儿的RNA信号。同时使用涵盖93名妇女在妊娠期间4次采样的H队列的纵向数据，首先证实了来自孕周模型信号随着孕周的增加而增加，正如来自胎盘的信号一样；

还能够确认母体血液中胎儿基因集的变化，包括那些参与胎儿心脏发育的基因集。此外，cfRNA谱反映了母体组织（如子宫和子宫颈）的预期变化，胶原蛋白和细胞外基质基因集的表达逐渐增加。

最后，研究者评估了利用妊娠中期（16~27周）母体血液中cfRNA的特征来预测子痫前期的能力（图2A）。采用双侧Spearman的相关检验，确定了7个基因：CLDN7、PAPPA2、SNORD14A、PLEKHH1、MAGEA10、TLE6和FABP1（图2B）。用于建模的基因中，有4个（PAPPA2、CLDN7、TLE6、FABP1）具有与子痫前期或胎盘发育相关的功能。通过生物信息学分析，构成子痫前期cfRNA特征的另外3个基因（SNORD14A、PLEKHH1和MAGEA10）与

子痫前期相关，尽管它们的功能还不太清楚。在已知确定基因特征的基础上，研究人员建立了一个逻辑回归模型来预测子痫前期的发病概率，并对该模型的预测性能进行评估。结果证明，该模型可有效预测子痫前期，灵敏度为75%，阳性预测值为32.3%，AUC为0.82（图2C）。

该研究证明对孕妇血液中的cfRNA进行分析，可以实现无创跟踪孕妇的妊娠进展，监测健康状况，并在临床表现前几个月预测发生子痫前期的风险，准确地提供了有关未来母体和胎儿健康和疾病的信息，为子痫前期诊断打开了新的治疗窗口，可有效降低产妇和新生儿的发病率和死亡率。

（西安医学院第一附属医院检验科
韩阳 李卓 编译）

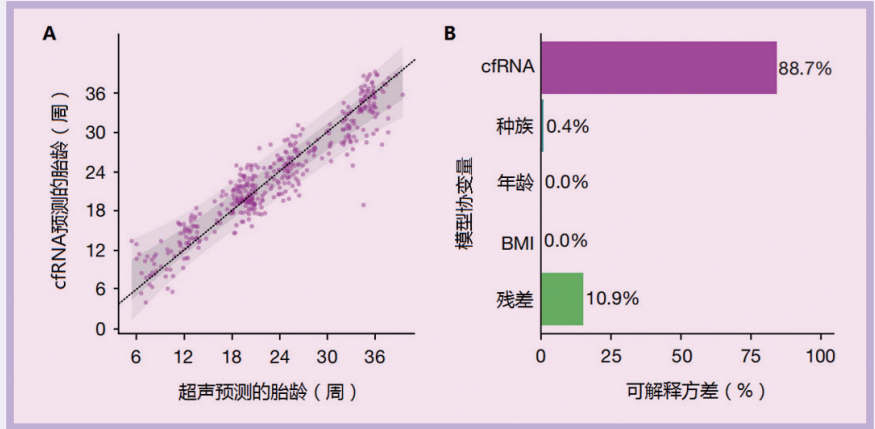


图1 A.Lasso线性模型使用cfRNA转录组数据预测胎龄与超声结果的比较；B.ANOVA中显示的可解释方差

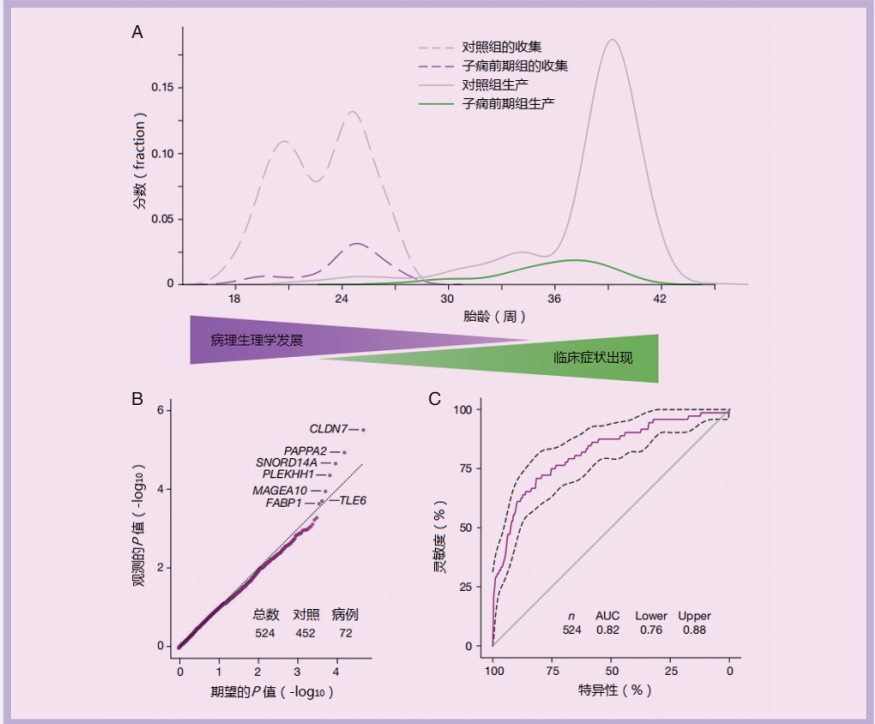


图2 预测子痫前期的特征和模型性能

中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所先进事迹

新冠病毒肺炎疫情发生后，中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所的分子诊断学分会全体委员冲锋在前，无私奉献，舍小家为大家，谱写了一曲疾控人抗击新冠肺炎的壮丽凯歌！

一、突破科研瓶颈，为疫情防控提供前沿信息和方法

在2020年疫情发生的1月初，马学军研究员、赵翔副研究员、王佑博士、何小周博士和李洋博士等都积极参与并协助完成了我国新冠病毒首个全基因组测序。在1月2日晚上接到第一份标本，24小时完成首批标本的序列测定，从临床标本中获得了病毒的全长基因组序列，每一个过程赵翔副研究员都记忆深刻。他接到的任务是进行未知病原的测序，这是一项非常具有挑战性的任务。基于平时的储备，他和同事马上做好准备投入战斗，争分夺秒地出实验结果，启动实验程序，当深夜第一次完成这个病原的全基因组情况时，全体沸腾，终于在第一时间抓到了这个新型冠状病毒！1月12日，中国疾病预防控制中心通过GISAID数据库首次向世界发布武汉新型冠状病毒的全基因组序列及新型冠状病毒电镜照片，在首次发布5条全基因组序列中，3条为中国疾控中心病毒病所发布。

这次抗疫任务中，牛培华副研究员主要参与和完成病毒全基因组测序、检测试剂的研发，以及全国各省首例新冠疑似样本的检测及测序。疫情初期建立一种简单、快速、准确的实验室筛查，是临床病例诊疗的核心所在，这是一项异常艰巨的任务，关系到每一例待诊患者的诊疗方向。经过两天的努力，在1月5日下午，牛培华终于和同事们一起研发出一套最简单、快速、准确的新冠病毒核酸检测试剂盒。这是临床诊疗急需的手段，经过与湖北的对接，试剂盒顺利应用于临床，并得到了高度好评。在国家和民族需要的危急时刻，她用所学“铸造出一把刺向病毒的利剑”，践行了疾控青年人的庄严承诺！

2月初，马学军研究员带领中心实验室成员申辛欣、王佑、何小周等主持研发了具有我国自主知识产权的新冠病毒核酸等温扩增快速检测试剂盒，该试剂盒在核酸提取后，8~15分钟内完成检测，完成临床评价，受到国内外媒体和同行广泛关注，并成功应用于疫情防控。3月初，马学军研究员带领王佑、何小周等主持研发了具有我国自主知识产权的一步法巢式定量PCR超灵敏检测新冠病毒核酸试剂盒，该试剂盒将商业化定量PCR试剂盒的灵敏度提高了10倍，适用于弱阳性（灰度区）和病毒载量低的样品类型的检测，完成了在湖北疾控中心的初步评价。

二、冲锋在前，有大家才有小家
从武汉到绥芬河，再到舒兰，北

京新发地，疫情的发生之处都能见到病毒病所同事们的身影。

4月初，绥芬河口岸告急，病毒病所组织专家带领团队携带负压帐篷式移动实验室等近百箱50余种物资火速驰援，全面开展应急检测。4月28日，哈尔滨发生新冠肺炎聚集性疫情，



图1 专家组驰援哈尔滨搭建的移动负压帐篷式移动P3实验室(图源自央视新闻)



图2 中国疾控中心病毒病所援绥芬河实验室检测队全体队员合影

专家组赶赴哈尔滨连夜搭建实验室，驰援哈医大附属第一医院开展实验室检测。5月12日，原本准备返京进行阶段性休整的团队，接到驰援舒兰任务后，连夜奔赴舒兰。实验室检测队经12小时辗转抵舒后，连夜考察选址、布设场地、装备实验检测设备。当移动负压帐篷搭建完成后，已是凌晨2点，但团队成员仍没有休息，紧急进行设备调试、校准、质控准备工作。14日上午，当第一批样品送达实验室时，各项准备工作均已完成。张勇研究员就是这其中的一分子，连续作战一个多月。

春节前，武汉疫情暴发，王佑、何小周积极报名参加支援湖北省和武汉市新冠肺炎疫情防控工作，成为最早一批奔赴武汉前线支援的专家。王佑、何小周均在春节前到达武汉，累计前线工作91天。在武汉抗疫前线的每一天，随时准备着应对各种突发情况和紧急任务，常常每天只能睡两三个小时，凌晨三四点钟的武汉街景是他们奔波途中习以为常的影像了。经过三个多月的艰苦奋战，武汉保卫战胜利了！在中国疾控中援鄂队凯旋之际，王佑、何小周毅然带着武汉的经验继续逆行，转战北境，加入境外疫情输入防控阻击战。新冠疫情暴发后，王佑的全家上演了“空城计”，一家四口全部投入抗疫战斗中。王佑本人1月2日起从事病毒基因组测序工作，1月19日抵达武汉前线，4月19日直接转战绥芬河，直到5月13日从哈尔滨返京，在疫区一线连续工作长

达115天。父亲在东城区疾控工作，曾参与抗击2003年非典疫情，新冠期间全程指挥单位抗疫工作。妻子在朝阳区疾控工作，出发前女儿才4个月，妻子产假后恢复上班参加单位应急保障工作。母亲是警察，疫情期间一直在单位值班，两个月没回家。王佑以实际行动践行着疾控人的使命担当，他与他的家庭一起投入抗击新冠、保障健康的战斗中。

与张勇研究员等病毒病所同事组成的援绥芬河检测队的会师，竟意外促成了何小周和李樊这对“夫妻档”的提前相聚。疫情发生时，何小周刚从西非执行援助任务回国后不久，而这场影响了全球的疫情也让李樊更加



图3 马学军研究员回答伊朗方面关于病毒核酸检测的问题



图4 许松涛研究员与俄方专家交流抗疫经验(图源自黑龙江日报)

深刻地理解了有国才有家的含义，促使她也一次次请战奔赴前线。继续绥芬河之后，疫情战事又在舒兰打响，5月13日夫妻两人在舒兰再次联手。正因为两人共同的舍小家、为大家、保国家的情怀和担当，让他们踏上了同一个战场，不但提前重逢，还可以并肩作战。

在新型冠状病毒核酸等温扩增快速检测试剂盒研发过程中，已有8个月身孕的申辛欣，仍然每天加班加点奋战在实验室，投入到研发新冠试剂盒的科研工作中，实验室工作一天，下肢开始浮肿，脚肿得穿不上鞋。整个春节都是在实验室忙碌地度过，没有休息一天。产后月子期间，申辛欣在和领导的一次通话中，主动请缨，接过了后勤保障工作，为冲锋在前线的同事做好后援。其实，申辛欣的爱人也在疾控工作，自疫情以来，也是一直在单位加班加点工作，根本没时间照顾家和孩子，所以家庭的重担都落在了她一个人的肩上。她无怨无悔，

尽最大努力为同事分担压力，把科室的“大后方”守住了，就可以让同事们安心地投入一线抗疫中去。“只问耕耘，不问收获”这就是疾控人。

三、驰援友邻，助力疫情防控

2020年2月28日马学军研究员参加中国红十字会援助伊朗志愿卫生专家团队，这是我国开展全球新冠肺炎抗疫合作派出的第一支卫生专家团，同时作为第一个援外中国专家参加世界卫生组织伊朗考察专家组，赴伊朗传播中国防控策略和经验，为伊朗抗击新型冠状病毒肺炎疫情提供技术支持，被伊朗驻华大使誉为“最美逆行者”。3月27日返回国内，圆满完成任务，得到了世界卫生组织官方和中国红十字会会长，全国人大陈竺副委员长的高度评价。

2020年4月邻国俄罗斯的新冠疫情影响整体呈快速上升趋势，以莫斯科为暴发中心的疫情形势已逐步向全国多点暴发转移，防控形势严峻，许松涛研究员作为中方援助专家赴俄罗斯支援。专家组抵达莫斯科，便开始了紧锣密鼓的工作。期间专家组参访当地十二家医疗机构、召开会议十四次、举办培训十场，为俄方带去丰富扎实的抗疫经验，也为在俄华人华侨、留学生等带去祖国母亲的温暖。在俄期间，许松涛作为病毒学领域专家，主要负责病原学监测、核酸检测、实验室生物安全等环节内容的分享交流。通过与多位俄方政府官员、临床医生、科研人员等进行深入交流探讨，许松涛在毫无保留分享中方经验的同时，对俄方所处的疫情阶段、防疫措施都有了一定了解。结合当地实际情况，许松涛和有关专家专门探讨了适合俄罗斯情况的防疫措施，重点在核酸检测的及时性、实验室生物安全、检测人员的安全防护等方面，分别开展了细致的理论和技术层面的交流，受到了俄方的赞誉和好评。

四、再接再厉，新发地疫情显身手

6月12日北京市再次暴发新冠肺炎疫情，王环宇研究员、张勇研究员、张燕研究员、赵翔副研究员、王佑和何小周等又投身到紧张的外环境采样、检测和基因组测序工作中。他们三次进入新发地批发市场共采集了几百份环境样本。在病毒溯源工作中，对环境样本的采样检测非常关键。不同的阳性样本，指向的结论也是不同的，可能指向环境及其内部的动物或物品本身是传染源，也可能指向被新冠病毒感染的人是传染源。经过紧张的6天时间，6月18日晚上正式完成和发布了新发地疫情及病毒基因组序列数据，并将有关数据提交世界卫生组织及全球共享流感数据倡议组织，与国际社会分享。

(中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所报道)