

DOI:10.13350/j.cjpb.240925

• 综述 •

鲍曼不动杆菌生物被膜形成机制及中药单体干预作用的研究进展*

费露颖, 钱义明, 胡冠宇, 沙媛媛, 吴笑阳, 郭健**

(上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院急诊科, 上海 200437)

【摘要】 鲍曼不动杆菌(AB)为革兰阴性菌,亦是导致住院患者发生呼吸道、尿路、创口等部位感染的重要条件致病菌。如AB生物被膜(BF)形成,可使其对诸多抗菌药物产生抗药性,导致泛耐药AB出现,从而使治疗更加棘手。近年来,中药单体凭借抗药性低、副作用少等优势,逐渐被用于AB感染性疾病治疗中。中药单体除可具有杀菌作用外,还可能通过细菌黏附相关基因的表达、改变BF通透性等作用而发挥抗BF效应。本文通过梳理国内外权威文献,总结了AB的BF形成机制及中药单体对其的干预作用,旨在充分揭示中药单体对AB的BF形成的干预机制,为AB感染的中药治疗提供充足的依据。

【关键词】 鲍曼不动杆菌;生物被膜;调控机制;中药单体;综述

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2024)09-1109-03

[Journal of Pathogen Biology. 2024 Sep.;19(9):1109-1111.]

Research progress on the mechanism of biofilm formation in *Acinetobacter baumannii* and the intervention effect of traditional Chinese medicine monomers

FEI Luying, QIAN Yiming, HU Guanyu, SHA Yuanyuan, WU Xiaoyang, GUO Jian (Department of Emergency, Yueyang Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China)

【Abstract】 *Acinetobacter baumannii* (AB) is a Gram negative bacterium and an important opportunistic pathogen that causes respiratory, urinary, and wound infections in hospitalized patients. The formation of AB biofilm (BF) can make it resistant to many antibiotics, leading to the emergence of pan resistant AB and making treatment more challenging. In recent years, traditional Chinese medicine monomer has been gradually used in the treatment of AB infectious diseases due to its low drug resistance and few side effects. In addition to having bactericidal effects, traditional Chinese medicine monomers may also exert anti BF effects by reducing the expression of bacterial adhesion related genes and altering BF permeability. This article summarizes the mechanism of BF formation in AB and the intervention effect of traditional Chinese medicine monomers on it by reviewing authoritative literature at home and abroad, aiming to fully reveal the intervention mechanism of traditional Chinese medicine monomers on BF formation in AB, and provide sufficient basis for the traditional Chinese medicine treatment of AB infection.

【Keywords】 *Acinetobacter baumannii*; biofilm; regulatory mechanisms; Traditional Chinese medicine monomer; review

*** 世界卫生组织2017年发布的“重点致病菌”清单列出了对人类健康威胁最大的12种耐药细菌,其中鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*, AB)处于首位^[1]。AB为引起院内感染的主要致病菌之一,生物被膜(biofilm, BF)形成被视为其毒性增强、抗药性形成的重要因素,可通过妨碍抗生素渗入、对抗宿主免疫攻击等作用,使感染迁延不愈,目前成为AB感染的最大难题^[2]。中药单体为一种能够通过多靶点效应抑制AB生长的天然药物,可作用于群体感应系统(quorum sensing system, QS),使其相关基因的表达水平降低,BF形成受到抑制。亦能对BF内部三维结构起到破坏作用^[3]。研究发现,槲皮素等中药单体能靶向作用于AB的BF,阻碍其形成或分散已形成的成熟BF^[4-5]。现就AB的BF形成机制及中药单体干预作用的研究进展进行综述,旨在为抑制AB的BF形成的中医药研究提供参考。

1 BF的形成

BF为细菌附着于物体表面,被自身分泌的多糖、蛋白质等细胞外基质(extracellular matrix, ECM)包裹形成的聚集体,对膜内细菌起着一定程度的保护作用。作为和浮游细胞相对应的生长方式,其细菌的抗药性可增加1000倍^[6]。细菌形成BF的过程较为复杂,主要涉及4个阶段:细菌可逆性黏附阶段、集聚阶段、BF的成熟阶段、细菌脱落和再定植阶段。(1)细菌可逆性黏附阶段:浮游细菌和无活性物体或活性实体表面接触并黏附于其上。此过程中,单个附着细胞仅被少许胞外聚合物包

* **【基金项目】** 上海市科学技术委员会科技计划项目(No. 23ZR1464200)。

** **【通讯作者】** 郭健, E-mail: guojian1450@126.com

【作者简介】 费露颖(1997-),女,硕士研究生,医师,从事中西医结合急危重症相关临床工作研究。
E-mail: fly199792300@163.com

绕,尚未进入BF形成阶段,大量细菌还可重新恢复浮游状态。(2)集聚阶段:此阶段一些特定基因的表达改变,和形成BF相关的基因受到激活,菌落开始产生大量ECM,使细菌更为牢固地黏附于物体表面^[7]。(3)成熟阶段:成熟的BF建立有组织的结构框架,由蘑菇样的微菌落构成。在微菌落间环绕着较多通道,以供输送营养、代谢产物。(4)细菌脱落和再定植阶段:水解酶可在一定条件下产生,并经由水解作用,使ECM受到破坏,部分分散脱落的细菌重新成为浮游细菌。浮游细菌在适宜条件下又可黏附于物体表面,形成新的BF。

2 BF形成的影响因素和调控机制

2.1 菌毛合成系统

菌毛是利于细菌黏附于物体表面的一种特殊结构,为BF形成的重要基础。AB包含不同种类菌毛,其合成组装受伴侣/引领蛋白(chaperone/usher,CU)的调控。CU由csuA/BABCDE基因编码,其编码的蛋白组成菌毛合成系统。其中csuA/BAB负责对菌毛亚单位予以编码;csuC负责对伴侣蛋白予以编码,结合并阻碍亚单位水解;csuD负责对含有孔道的引导分子予以编码,和黏附素发生相互作用,和伴侣蛋白协同完成对菌毛的组装;csuE负责对菌毛尖端黏附素予以编码,参与菌毛的合成及黏附过程^[8]。此外,研究显示,由调节因子BfmR和感受器激酶BfmS构成的双组分调控系统参与csu菌毛合成系统的调控。如BfmR活性下降,csu基因将无法正常表达,菌毛的合成会受到影响,致使培养基内细菌黏附及BF的形成受阻;如BfmS活性下降,将使BF的形成能力受到削弱^[9]。

2.2 QS及其调控系统

QS是细菌为保证群体密度而开展通信的方式,这一机制较为依赖密度,并立足于细菌间产生的信号分子即自诱导剂(autoinducer,AI)的基础上。AI的含量可随着菌落密度的增加而升高,当其处于阈值时,细菌会有所感应并摄取,致使相应基因的表达随之发生改变,细菌的生存方式亦有所转变,继而帮助细菌适应不利环境^[10]。

AB通过分泌自诱导因子酰基同丝氨酸内酯(Acyl-Homoserine Lactones,AHLs)而开展信息交流,诱导聚集,促使AB由浮游状态向BF转变。目前已知63%不动杆菌属细菌分泌AHLs不少于1种^[11]。AbaI/AbaR负责对AHLs的分泌予以调控,其中AbaI为菌群密度的调控基因,负责对AHLs合成予以编码,如该基因活性丧失,BF的形成将减少40%左右^[12];AbaR为转录活化因子,可和AHLs发生作用,使AB的基因表达得到调节,导致AB表现出不同的特性。LuxI/LuxR为另一对AI合成酶基因,于高AHLs活性细菌中的检出率较高。其中LuxI可对相应的合成酶予以编码,实现对AHLs合成的调控^[13]。

环二鸟苷单磷酸(cyclic diguanosine monophosphate,c-di-GMP)为细胞间通讯的第二信使,参与细菌黏附、AB形成的调控,其低表达有利于减少AB形成。研究指出,通过药物降低c-di-GMP合成调控酶的活性,可破坏已构建的BF^[14]。

2.3 ECM的分泌和调控

ECM黏附包裹单个细菌而形成BF,避免细菌遭受有害物质侵犯或攻击,保持BF的三维结构稳定。细菌可分泌特定信号分子,当其含量升至阈值时,可使QS基因被激活,导致ECM大量产生。

2.3.1 O-糖基化系统

O-糖基化系统普遍存在于AB中,其可增强BF的形成能力,诱导初始黏附并增加成熟BF的密度。

pglC与pglL可对O型五糖的合成予以编码,pglC的变异株糖基化水平显著降低,使得BF的形成大幅度减少。pglC的变异株无法对糖蛋白进行正常合成,致使BF结构异常及形成受到干扰^[15]。

2.3.2 β -(1,6)-乙酰葡萄糖胺(Poy- β -1,6-N-acetyl-D-glucosamine,PNAG)

PNAG为AB的主要ECM,其主要作用为诱导BF成熟,并保持BF完整。pgaABCD可通过操纵子编码来实现对AB中PNAG的合成,其中pgaA可对外膜蛋白予以编码,pgaB可完成对含脱乙酰基的多糖蛋白的编码,两者联合协助PNAG外膜转运;pgaC除调控PNAG的合成外,还参与其内膜转运。PNAG在静止状态下不会对细菌的BF形成构成影响,但在震动下不利于BF的完整^[16]。AB的S1和S1 Δ pgaABCD菌株在静止下其BF的形成无显著区别,振荡时S1菌株可形成强BF(致密环形黏附细胞),S1 Δ pgaABCD菌株则未见明显的环形黏附细胞,转变为pgaABCD后可形成BF^[17]。QS调控AbaI和pgaB基因表达的趋势一致,菌株BF的形成考虑和pgaB水平相关。

2.3.3 胞外DNA(extracellularDNA,eDNA)

eDNA为ECM核酸的重要构成部分,在AB的BF形成中发挥着关键作用,可以细菌主动分泌、细胞溶菌等形式释放入胞外,黏附于细菌表面并向外拓展,从而诱导BF形成。eDNA还可和蛋白质交联组成纤维网样结构,能对BF三维结构起到稳定作用^[18]。

3 中药单体对AB的BF形成的干预作用

3.1 黄酮类化合物

黄酮类化合物在天然植物中广泛存在,以唇形科、芸香科、豆科中含量最为丰富,具有抑制炎症、抗氧化、抗菌等多种药理作用。Odabaş等^[19]研究显示,槲皮素可协助抗生素诱导AB的细胞裂解及死亡。Duda-Madej等^[20]研究发现,柚皮素对 β -内酰胺耐药鲍曼不动杆菌等耐药细菌具有良好的杀伤作用。Verma等^[21]研究显示,柚皮苷衍生物可靶向多药耐药AB的AdeABC外排泵,增强现有抗生生活性。刘剑波等^[22]研究发现,桑白皮含有的桑根酮能改变BF的通透性,提升药物渗透力,从而发挥较好的抗菌效果。Chen等^[23]研究显示,黄芩素可作用于QS调控系统,影响其细胞间的信息传递,降低QS系统相关调控基因的表达水平,使细菌的BF形成受到阻碍。Ming等^[24]研究显示,山奈等中药含有的山奈酚可降低细菌黏附相关基因的表达水平,使菌体的初始黏附受到影响,从而抑制BF的形成。

3.2 苯丙素类化合物

苯丙素类化合物包含以苯乙烯、苯丙酸为代表的简单苯丙素类、木脂素和香豆素,可发挥诸多功效。钱卫东等^[25-26]研究显示,丁香酚能调节耐药菌细胞膜的通透性,降低抗菌药物的最小杀菌浓度。并能降低细菌的黏附能力,抑制BF的生成,且可对已形成的BF发挥清除作用。张凯等^[27]对不同浓度的和厚朴酚对细菌BF生成的抑制机制进行研究,发现最小浓度的该化合物可通过调控相关基因的表达而抑制BF生成。亚-最小浓度的该化合物可影响LuxS/AI-2 QS调控系统中相关基因的表达,减少AI-2的生成,使类黏、鞭毛蛋白的合成受阻,继而预防BF形成。綦国红^[28]发现,肉桂醛可通过影响BF相关基因表达而对荧光假单胞菌BF的生成发挥抑制作用,其衍生物通过抑制AB的细胞分裂发挥抗菌作用^[29],但其对AB的BF形成是否同样有抑制作用尚不明确。

3.3 酚酸类化合物

酚酸类化合物为一类含酚基和羧酸基的

多酚,在五倍子、地榆等中药中的含量较高。Mumtaz 等^[30] 研究显示,丁香酸、香草酸、咖啡酸具有较强的抗 BF 活性,可用于对多重耐药 AB 感染进行治疗。Kang 等^[31] 研究显示, pgaABCD 编码的 PNAG 聚合物在 BF 形成中发挥着不可或缺的作用。而没食子酸的亚-最小浓度水平(2 mg/mL)可抑制 pgaABCD 基因,减少多糖黏液、蛋白质及 DNA 的含量,抑制 BF 的形成。

3.4 萜类化合物 萜类化合物通常根据分子中所含异戊二烯的单元数不同予以分类,分成单萜、倍半萜、二萜、二倍半萜、三萜、四萜及多萜等,多存在于唇形科、大戟科、菊科及茜草科等中药内。官妍等^[32] 研究显示,穿心莲内酯在亚抑菌浓度下可对细菌 BF 内细菌代谢和初始黏附发挥抑制效应。Li 等^[33] 研究显示,在应用抗生素、405 nm 蓝光基础上加上香芹酚可破坏多种微生物 BF,有效性可达 99.9%。研究发现,圆柚酮可减少胞外多糖生成,使 BF 的形成受到抑制。同时该化合物可使已成熟的 BF 厚度减小,BF 内细胞的存活能力亦显著减弱^[34]。

4 总结

BF 的形成成为 AB 产生抗药性的重要因素,可使 AB 对抗生素产生较强的抵抗力,增加了清除病菌的难度,易导致患者感染迁延不愈,从而威胁患者健康。而中药单体可通过调控 QS 系统、降解 ECM 等作用抑制 BF 的形成。和单用抗生素相比,辅助应用中药单体的抑菌作用更为明显。但现阶段关于中药单体用于 AB 的 BF 形成中的研究多局限于体外实验,尚无法反映真实的体内抑制过程。故后续研究的重心应放在动物体内中药单体发挥抗 BF 作用的研究。

【参考文献】

[1] Eichenberger EM, Thaden JT. Epidemiology and mechanisms of resistance of extensively drug resistant gram-negative bacteria [J]. *Antibiotics (Basel)*, 2019, 8(2): 37-587.

[2] 王小奇, 宁毅, 卢芳国. 葡萄球菌生物膜形成机制及中药单体干预作用的研究进展[J]. *医学综述*, 2022, 28(7): 1278-1284.

[3] 胡秀玲, 熊利洋, 魏云林. 革兰氏阳性菌群体感应系统研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2023, 43(2): 165-173.

[4] 孟千琳, 彭勤, 凌保东. 抗菌药物联合中药单体对泛耐药鲍曼不动杆菌生物被膜的影响[J]. *中国抗生素杂志*, 2022, 47(7): 697-702.

[5] 彭勤, 凌保东, 蔺飞, 等. 中药单体与抗菌药物联合应用对抗泛耐药鲍曼不动杆菌的作用研究[J]. *中药药理学与临床*, 2020, 36(2): 140-145.

[6] Yang CH, Su PW, Moi SH, et al. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: genotype-phenotype correlation [J]. *Molecules*, 2019, 24(10): 1849-1858.

[7] 蔡杨, 凌保东. 泛耐药鲍曼不动杆菌生物被膜相关基因及整合子与耐药性的关系[J]. *中国感染控制杂志*, 2022, 21(7): 690-696.

[8] 蔺飞, 余彬, 袁明勇, 等. 鲍曼不动杆菌生物被膜形成与调控的研究进展[J]. *中国感染控制杂志*, 2019, 18(12): 1176-1183.

[9] Allen JL, Tomlinson BR, Casella LG, et al. Regulatory networks important for survival of *Acinetobacter baumannii* within the host [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2020, 55(3): 74-80.

[10] 侯小丫, 蒋景名, 谭剑斌, 等. 鲍曼不动杆菌生物膜与耐药性[J]. *国际生物制品学杂志*, 2022, 45(2): 111-115.

[11] 王祥红, 范梅梅, 初钰博, 等. 细菌 N-乙酰-高丝氨酸内酯类群体感应系统检测[J]. *生物学通报*, 2023, 58(3): 54-58.

[12] Niu C, Clemmer KM, Bonomo RA, et al. Isolation and characterization of an autoinducer synthase from *Acinetobacter baumannii* [J]. *J Bacteriol*, 2008, 190(9): 3386-3392.

[13] 孙晓佳, 李婷婷, 赫彬彬, 等. 环境条件对温和气单胞菌群体感应基因 luxI/luxR 表达的影响[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(4): 71-

78.

[14] Sambanthamoorthy K, Luo C, Pattabiraman N, et al. Identification of small molecules inhibiting diguanylate cyclases to control bacterial biofilm development [J]. *Biofouling*, 2014, 30(1): 17-28.

[15] 蔺飞, 袁明勇, 凌保东. 鲍曼不动杆菌生物膜相关基因研究[J]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2021, 15(2): 129-132.

[16] 郭海娜, 向军. 多聚 β -1-6-N-乙酰氨基葡萄糖胺对鲍氏不动杆菌生物膜形成及耐药的影响[J]. *中华烧伤杂志*, 2015, 31(1): 45-47.

[17] 官海燕, 程倩, 赵智龙, 等. 构建大肠埃希菌 pgaABCD 基因缺失株和互补株的生物被膜形成能力[J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(17): 2738-2743.

[18] 张巧丽, 李树林, 安雅男, 等. 胞外 DNA 是耻垢分枝杆菌生物被膜的主要成分[J]. *中国抗生素杂志*, 2016, 41(11): 874-877.

[19] Odabas KE, Koyuncu OO, Bilmen S, et al. Quercetin: Synergistic interaction with antibiotics against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *Antibiotics (Basel)*, 2023, 12(4): 739-745.

[20] Duda-Madej A, Kozłowska J, Krzyżek P, et al. Antimicrobial O-alkyl derivatives of naringenin and their oximes against multidrug-resistant bacteria [J]. *Molecules*, 2020, 25(16): 3642-3660.

[21] Verma P, Tiwari M, Tiwari V. Potentiate the activity of current antibiotics by naringin dihydrochalcone targeting the AdeABC efflux pump of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 30(217): 592-605.

[22] 刘剑波, 毕小玲, 王世华, 等. 桑根酮 C 药理作用及其机制的研究进展[J]. *中国药房*, 2023, 34(16): 2034-2038.

[23] Chen Y, Liu T, Wang K, et al. Baicalein inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and the quorum sensing system *In vitro* [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): 153-168.

[24] Ming D, Wang D, Cao F, et al. Kaempferol inhibits the primary attachment phase of biofilm formation in *Staphylococcus aureus* [J]. *Front Microbiol*, 2017, 15(8): 2263-2281.

[25] 钱卫东, 刘婵婵, 王婷, 等. 丁香酚对多重耐药大肠杆菌的抑菌活性及其作用机制研究[J]. *现代食品科技*, 2019, 35(01): 31-36.

[26] 范璐, 陈向东, 汪辉, 等. 丁香酚等植物提取物对变形链球菌及生物被膜的药效学研究[J]. *药物生物技术*, 2016, 23(3): 222-225.

[27] 张凯, 陈菲, 谷劲松, 等. 和厚朴酚对大肠埃希氏菌生物被膜形成的抑制机制[J]. *微生物学报*, 2022, 62(7): 2521-2529.

[28] 葛国红, 井佳丽, 杨志萍, 等. 肉桂醛对荧光假单胞菌生物膜形成的抑制作用[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(21): 147-150.

[29] Chai WC, Whittall JJ, Polyak SW, et al. Cinnamaldehyde derivatives act as antimicrobial agents against *Acinetobacter baumannii* through the inhibition of cell division [J]. *Front Microbiol*, 2022, 29(13): 967949-967967.

[30] Mumtaz L, Farid A, Yousef AS, et al. Assessment of polyphenolic compounds against biofilms produced by clinical *Acinetobacter baumannii* strains using in silico and *In vitro* models [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2023, 30(9): 103743-143756.

[31] Kang J, Li Q, Liu L, et al. The specific effect of gallic acid on *Escherichia coli* biofilm formation by regulating pgaABCD genes expression [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, 102(4): 1837-1846.

[32] 官妍, 刘丽, 李春, 等. 亚抑菌浓度的穿心莲内酯及与红霉素联用影响表皮葡萄球菌生物膜形成的初步研究[J]. *中国微生态学杂志*, 2013, 25(7): 766-770.

[33] Li Y, Wu MX. Reversal of polymicrobial biofilm tolerance to ciprofloxacin by blue light plus carvacrol [J]. *Microorganisms*, 2021, 9(10): 2074-2091.

[34] 杨若琪, 赵贵萍, 王川东, 等. 中药单体抑制金黄色葡萄球菌生物被膜形成的研究进展[J]. *生物加工过程*, 2022, 20(5): 537-544.