

· 综述 ·

肠杆菌科细菌耐药基因表达的遗传和环境调控

李一鸣, 王少林

中国农业大学 动物医学院, 北京 100193

李一鸣, 王少林. 肠杆菌科细菌耐药基因表达的遗传和环境调控. 生物工程学报, 2021, 37(4): 1092-1106.

Li YM, Wang SL. The impact of genetic and environmental regulation on the expression of antibiotic resistance genes in Enterobacteriaceae. Chin J Biotech, 2021, 37(4): 1092-1106.

摘要: 细菌耐药性是 21 世纪国际关注的重要问题, 也是全球面临的重大挑战。肠杆菌科细菌是医院感染的重要病原菌之一。近年来, 随着抗生素的大量使用, 多种肠杆菌科耐药菌, 尤其是多重耐药肠杆菌开始大量出现, 对人类健康形成了日益严重的威胁。细菌可以通过耐药基因突变或水平转移的方式获得耐药性, 通常情况下, 可以通过已知的耐药机制预测相应的耐药表型。然而, 最近有研究表明, 遗传背景和环境因素能够影响耐药基因的表达, 给定的基因型并不一定总是产生预期的耐药表型。这种基因型-表型分离的现象极大程度上限制了从遗传学角度预测耐药表型的能力。文中结合最新文献, 从遗传背景和环境条件两个方面探讨了多种肠杆菌科细菌耐药基因的表达调控机制, 以期为遗传学预测耐药表型以及临床指导用药提供一定的支持。

关键词: 抗生素耐药, 肠杆菌, 基因表达, 遗传背景, 环境

The impact of genetic and environmental regulation on the expression of antibiotic resistance genes in Enterobacteriaceae

Yiming Li, and Shaolin Wang

College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract: Antibiotic resistance is a major global concern and challenge in the 21st century. Enterobacteriaceae are one of the important pathogens of hospital-acquired infections. With the increasing use of antibiotics in clinical practice, a variety of drug-resistant Enterobacteriaceae, especially multidrug-resistant Enterobacteriaceae have emerged, posing an increasingly serious threat to human health. Bacteria can acquire antibiotic resistance by mutation or horizontal transfer of antibiotic resistance genes, and it is often possible to predict the corresponding resistance phenotype from known mechanism. However, recent findings suggest that genetic background and environmental factors could alter the expression of specific resistance genes and that a given genotype does not always generate the expected resistance phenotype. The genotype-phenotype segregation greatly hampers our ability to predict antibiotic resistance phenotype from a genetic perspective. In this review, we explore the genetic and environmental regulation of the expression of antibiotic resistance genes in a variety of

Received: June 29, 2020; **Accepted:** September 8, 2020

Supported by: National Natural Science Foundation of China (Nos. 2016YFD0501301, 2016YFD0501304, 2016YFD0501305).

Corresponding author: Shaolin Wang. Tel: +86-10-62731686; E-mail: shaolinwang@cau.edu.cn

国家重点研发计划 (Nos. 2016YFD0501301, 2016YFD0501304, 2016YFD0501305) 资助。

网络出版时间: 2020-09-25

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20200924.1119.001.html>

Enterobacteriaceae, with the aim to provide scientific evidence for genetic prediction of antibiotic resistance phenotype and clinical guidance on drug use.

Keywords: antibiotic resistance, Enterobacteriaceae, gene expression, genetic background, environment

抗生素的发现对现代医学产生了极其深远的影响,是微生物学史上最伟大的成就之一。近年来,抗生素广泛应用于临床治疗和畜牧业生产,抗生素的大量使用,推动了细菌耐药性的迅速传播和进化。细菌耐药性的出现给人类健康带来了极大的危险,是21世纪国内外关注的重大问题。肠杆菌科细菌是目前造成严重的、危及生命的感染的主要病原之一,肠杆菌科耐药菌的产生是一个日益严重的全球公共卫生问题。2018年中国耐药监测网(China antimicrobial surveillance network, CHINET)报道表明,在所有临床分离的革兰氏阴性耐药菌中,肠杆菌科细菌所占比例最高。2014年世界卫生组织(World health organization, WHO)将携带多重耐药质粒的肺炎克雷伯氏菌和大肠杆菌定义为目前最紧迫的抗生素耐药问题之一^[1]。

细菌耐药基因表达水平改变往往会导致表型差异,产生基因型-表型分离的现象,给表型预测造成了极大的困难。因此,耐药基因表达及调控机制研究具有十分重大的意义,可以预测药敏检测结果并指导临床用药。耐药基因表达水平的调控可能发生在转录、翻译等各个基因表达过程中。最近的研究表明,细菌自身遗传背景和外界环境可以改变耐药基因的表达水平,如遗传变异、转录调控和抗生素诱导等^[2-3]。本文将从影响肠杆菌科细菌耐药基因表达的不同环境条件和遗传因素入手,探究耐药基因表达调控的不同模式,以期从细菌学和遗传学预测细菌耐药表型提供一定的帮助。

1 肠杆菌科细菌耐药现状及主要的耐药基因

肠杆菌科细菌是一类分布广泛、能够在人和

动物肠道内生长的革兰氏阴性菌,具有易于培养、繁殖速率快等特点。它们广泛分布在人、动物、植物、土壤以及水体中,主要包括:埃希氏属、克雷伯菌属、志贺氏菌属、沙门氏菌属和肠杆菌属等25个属。大部分肠杆菌科细菌为条件致病菌,其中,大肠杆菌、肺炎克雷伯菌和沙门氏菌是临床感染的重要病原菌,可引起消化道感染、呼吸道感染、尿路感染等多系统疾病^[4-5]。目前临床上用于治疗肠杆菌科细菌感染的抗生素主要包括:碳青霉烯类、 β -内酰胺类、氨基糖苷类、多黏菌素类等。

随着临床上抗生素的大量使用,肠杆菌科耐药菌开始出现并在世界范围内广泛流行,对临床多种常用抗生素具有耐药性。目前,肠杆菌科耐药菌是我国医院内交叉感染的重要病原体之一。据中国耐药监测网数据显示,2011-2018年大肠杆菌和肺炎克雷伯菌在临床分离的革兰氏阴性耐药细菌中的占比分别为第一位和第二位,耐药形势十分严峻。此外,多重耐药(Multi-drug resistant, MDR)肠杆菌科细菌大量流行,其中,产超广谱 β -内酰胺酶(Extend-spectrum- β -lactamases, ESBLs)肠杆菌科细菌和碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌(Carbapenem-resistance Enterobacteriaceae, CRE)对健康的威胁最大。

β -内酰胺类抗生素是现有抗生素中使用最为广泛的一类,其耐药机制主要为 β -内酰胺酶的产生,其中最主要的为头孢菌素酶(AmpC)和超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)。ESBLs的主要流行类型分别为:TEM、SHV和CTX-M,其具有强大的抗药性,能够水解三代、四代头孢菌素和氨曲南,在大肠杆菌和肺炎克雷伯菌中最为流行。ESBL耐药基因往往由质粒介导,在细菌之间广泛传播,导致多重耐药的产生,极大程度地限制了临床上

抗生素的选用。CTX-M (特别是 CTX-M-15) 是目前全球流行的最具优势的 ESBL 酶^[5]。

碳青霉烯类抗生素属于非典型 β -内酰胺类抗生素, 通常用于 ESBL 和 AmpC 产生菌感染的治疗, 是目前治疗革兰氏阴性耐药菌感染最重要的抗菌药物之一。自首例携带碳青霉烯酶 (SME-1) 的粘质沙雷氏菌被报道后, 多种碳青霉烯酶介导的 CRE 开始相继出现, 并在世界范围内快速传播, 是目前全球最为关注的耐药性问题之一^[6-7]。目前国际上主要流行的碳青霉烯酶包括 KPC、VIM、NDM、OXA-48 等 (表 1), 这些酶的编码基因常常位于质粒或其他转移元件上, 可以在多种细菌之间快速传播^[8]。

氨基糖苷类抗生素是临床抗感染治疗的主要药物, 肠杆菌科细菌对其主要有两种耐药机制: 产氨基糖苷修饰酶 (Aminoglycoside-modifying enzyme, AME) 和产 16S RNA 甲基化酶。其中, AME 可以通过修饰 2-脱氧链霉素 (2-deoxystreptamine, DOS) 或糖基, 使氨基糖苷类药物失活, 主要包括乙酰转移酶 (Acetyltransferases, AACs)、腺苷酸修饰酶 (Nucleotidyltransferases, ANTs) 和磷酸转移酶 (Phosphotransferases, APHs)^[9]。在临床分离的肠杆菌科细菌中, 耐药基因 *aacA4* 或 *aac(6')-Ib* 及其多种变体占据主导地位^[10]。16S RNA 甲基化酶是通过修饰药物作用靶点, 干扰抗生素作用, 从而产生耐药性。*armA* 和 *rmtB* 基因编码的 16S RNA 甲基化酶是肠杆菌科细菌中最为常见的。此外, 16S RNA 甲基化酶 *NpmA* 可介导宿主菌多种氨基糖苷类药物耐药, 但在临床菌株上较为少见。

喹诺酮类药物是一类人工合成的抗菌药物, 其耐药机制主要包括染色体基因的多重突变或质粒介导的喹诺酮类耐药 (PMQR) 决定因素。大多数染色体上的突变位于喹诺酮类耐药决定区 (QRDR), 如 *gyrA*、*gyrB* 等, 这些突变通过改变药物作用靶蛋白的结构, 促进细菌耐药性产生。质粒介导的喹诺酮类耐药 (PMQR) 决定机制于 20 世纪 90 年代末被发现, *qnr* 基因 (A、B、C、D、S、VC 家族) 通过合成五肽蛋白, 通过竞争性结合 DNA 旋转酶和拓扑异构酶 IV, 从而抑制喹诺酮类药物进入裂解复合体^[11-12]。此外, 质粒介导的多药外排泵 OqxAB 和 QepA 也会引起细菌对喹诺酮类药物的耐药, 且在人和动物源性肠杆菌科细菌中有较高的流行率^[13-14]。

多黏菌素被认为是治疗碳青霉烯耐药革兰氏阴性菌感染的“终极武器”, 在临床治疗中具有十分重大的作用。值得注意的是, 2015 年质粒介导的多黏菌素耐药基因 *mcr-1* 首次被报道, 其耐药机制主要为修饰细菌 LPS 脂质 A; 随后, 世界各地开始相继出现 *mcr-1* 阳性肠杆菌科细菌的相关报道^[15-16]。近年来, 多黏菌素耐药和 ESBLs 或碳青霉烯耐药的同时出现, 给人类临床治疗带来严重的威胁, 强烈预示着人类未来或将进入“后抗生素时代”。

2 细菌遗传背景对耐药基因表达的调节

经过数十年对抗生素耐药性的遗传分析, 发现耐药性基因的表达总是与细菌遗传背景息息相关, 耐药表型的差异可能是由多个遗传变异共同作用的结果。一般来说, 原核生物基因表达调控

表 1 肠杆菌科细菌主要碳青霉烯酶

Table 1 Major carbapenemases in Enterobacteriaceae bacteria

Name	Ambler	Hydrolysis spectrum	Species	Inhibitor
KPC	A	All β -lactams	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , Enterobacteriaceae	Clavulanate potassium, etc.
VIM	B	All β -lactams (except for aztreonam)	<i>K. pneumoniae</i>	EDTA
NDM	B	All β -lactams (except for aztreonam)	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i>	EDTA
OXA-48	D	Penicillin, carbapenem	<i>K. pneumoniae</i>	NaCl

主要发生在转录水平。下面主要从菌株背景、启动子和转录调控因子(激活蛋白或阻遏蛋白)3个方面探讨肠杆菌科细菌复杂的遗传背景与耐药基因表达之间的关系。

2.1 菌株遗传背景

菌株遗传背景是决定细菌各项生理生化功能的关键,在一定程度上决定了各类基因的表达及调控。例如,对于质粒上的耐药基因而言,宿主遗传背景十分关键,宿主在很大程度上影响了质粒的稳定性及产生的适应性代价,进而改变细菌中的质粒拷贝数及表达水平。目前,质粒介导的多黏菌素耐药基因 *mcr-1* 在肠杆菌科细菌中被广泛报道,Zhang 等通过试验发现,携带 *mcr-1* 的 IncX4 型质粒在大肠杆菌中的表达量是肺炎克雷伯菌中的 5.8 倍^[17]。Porse 等发现即使同为大肠杆菌,不同菌株中多重耐药质粒的稳定性和拷贝数也会有所不同,多重耐药质粒 pKP33 在大肠杆菌 Ec37 中的丢失速率为 Ec38 中的 2.4 倍^[18],拷贝数差异将直接影响耐药性表达。说明宿主表达系统是影响质粒长期存活并稳定表达的关键。

2.2 启动子

2.2.1 启动子强度差异

启动子指的是可以启动目标基因进行转录的一段 DNA 序列。启动子不同,基因表达强度或蛋白质产量也会有所不同^[19-21]。在过去的 20 多年里,人们通过多项研究来探究启动子序列和基因表达强度之间的定量关系^[22],启动子自身的强度可以直接影响耐药基因的转录水平,进而影响整体的基因表达量。例如,Jaurin 等和 Nelson 等研究表明,大肠杆菌 *ampC* 基因的转录水平主要取决于 *ampC* 启动子的强度^[23-24]。一般情况下,耐药基因表达水平和启动子强度呈正比。Lartigue 等发现 4 种控制 β -内酰胺类耐药基因 *bla*_{TEM-1} 表达的启动子强度分别为: P3<Pa/Pb<P4<P5,其中,启动子 P5 上调基因表达的程度比其他启动子高 2.3-12.8 倍^[25]。目前,多种耐药基因表达受启动

子控制,启动子强度将直接影响细菌耐药种类及耐药水平的高低^[26-27]。

基因突变在自然界中普遍存在,各种类型的突变(点突变、片段插入或缺失等)可能直接影响启动子的强度,进而影响基因转录的起始频率。多项研究表明,启动子区域的不同突变可以使 β -内酰胺酶 AmpC 的表达量增加 1.39-13.87 倍^[28-31]。Corvec 等发现 SHV-1 启动子-10 区域下游 30 bp 的片段缺失可以促使启动子强度增加 15 倍^[32]。可移动遗传元件 IS 在耐药基因启动子区域的随机插入可以改变启动子区域结构,进而影响耐药基因的表达^[33-34]。Harmer 等通过试验证明,单个拷贝数的 IS26 插入可以激活邻近耐药基因的表达^[35]。Ma 等的研究发现,插入序列 IS 与启动子之间的距离也会直接影响耐药基因的表达水平^[36]。

2.2.2 可转移遗传元件——启动子关联

肠杆菌科细菌耐药性通常与质粒、转座子(Tn)、整合子(In)、插入序列(IS)等可移动遗传元件(Mobile genetic element, MGE)相关。MGE 主要参与耐药基因的捕获,并在 DNA 分子之间转移。例如,位于质粒上的耐药基因可以在不同种属细菌之间进行水平转移。通常情况下,MGE 会携带耐药基因的启动子,不同 MGE 携带的启动子也会有所不同,因此,MGE 类型也在一定程度上决定了耐药基因的表达水平。Kamruzzaman 等利用不同的 IS 表达 β -内酰胺类耐药基因 *bla*_{NDM}, 结果发现: IS*Aba1*、IS*Ecp1* 和 IS*Aba125* 的启动子强度大致相等,而 IS*CR1* 的启动子强度却为上述 3 种启动子的 1/30^[37]。Huang 等和 Cheruvanky 等发现,携带不同启动子的 Tn4401 变体中,耐药基因 *bla*_{KPC} 的表达水平不同,表现为: Tn4401*a*>Tn3-Tn4401/Tn4401*h*>Tn4401*b*^[38-39]。耐药基因表达水平与可转移遗传元件启动子之间的关联是可以预见的,当一个新的可转移耐药基因出现时,这种关联对于耐药基因表达预测十分重要。

2.3 调控因子

细菌在不稳定的环境中生存时, 往往需要一系列的快速适应性变化, 大多数情况下, 这些变化是由调控因子介导的。调控因子主要包括顺式作用元件和反式作用因子, 通过调节转录、翻译等基因表达过程, 使得细菌对特定的环境和细胞信号作出适当的生理反应。

顺式作用元件是指与靶基因位于同一染色体上、并能调节靶基因转录或翻译的一类蛋白质, 但其本身并不编码任何蛋白质。反式作用因子是指位于靶基因所在染色体外的一种调节类蛋白质, 分为阻遏蛋白和激活蛋白, 与顺式元件相互作用, 从而对靶基因的转录和翻译起到一定的调节作用, 其中最常见的是转录调节因子。细菌的转录因子一般包含两个结构域, 分别具有接收信号和结合 DNA 的功能。Ramos 等将原核生物的

重要调控因子分为 16 个家族: MarR、TetR、IcIR、MerR、Cold shock、LuxR、LacI、ArsR、OmpR、GntR、LysR、AraC/XylS、DeoR、AsnC、Crp 和 NtrC (EBP)^[40]。表 2 列出了这 16 个家族成员的阻遏/激活作用及其主要参与的调节反应。

2.3.1 非编码 RNA

近年来多项研究表明, 顺式作用因子非编码 RNA (*Cis-regulatory non-coding RNAs*, ncRNAs) 可以通过感知抗生索的存在来激活相应基因的表达^[41-43]。非编码 RNA, 又称核糖体调节因子, 位于耐药基因的 5'非翻译区 (Untranslated regions, UTRs), 在没有抗生索的情况下, 这些调节因子通过掩藏核糖体结合位点或在 5' UTR 中产生一个过早的转录终止因子来抑制耐药基因的表达; 相反地, 在抗生索 (主要是核糖体靶向药物) 存在的情况下, 这些调节因子的 RNA 结构有所改

表 2 细菌重要转录调控因子

Table 2 Important transcriptional regulators of bacteria

Family	Action	Main functions	References
MarR	Activator/repressor	Multiple antibiotic resistance	[44]
TetR	Repressor	Antibiotics biosynthesis, efflux pumps, amino acid metabolism	[45]
IcIR	Activator/repressor	Carbon metabolism, primary metabolism, efflux pumps	[46]
MerR	Repressor	Degradation, film formation, nitrogen metabolism	[47]
Cold shock	Activator	Low-temperature resistance	[48]
LuxR	Activator	Quorum sensing, biosynthesis	[49]
LacI	Repressor	Carbon source utilization	[50]
ArsR	Repressor	Antibiotic resistance, metal resistance	[51-52]
OmpR	Activator	Osmotic stress, virulence	[53]
GntR	Repressor	Carbohydrate transport and metabolism	[54]
LysR	Activator/repressor	Metabolism pathway, stress-response, virulence, biofilm formation	[55]
AraC/XylS	Activator	Carbon metabolism, stress response and pathogenesis	[56]
DeoR	Repressor	Sugar metabolism	[57]
AsnC	Activator/repressor	Amino acid metabolism	[58]
CRP	Activator/repressor	Non-preferred carbon sources utilization	[59]
NtrC (EBP)	Activator	Alternative nitrogen sources metabolism	[60]

变,不再减弱基因的转录或翻译,从而激活耐药基因的表达^[61-62]。

2.3.2 TetR 家族转录调控因子

TetR 家族蛋白是一类阻遏蛋白,其广泛存在于多种细菌中,可以参与抗生素的生物合成过程,并对多药外排泵的转录具有一定的调节作用。Tn10 是首个被报道的 TetR 家族转录调控因子,研究表明 Tn10 编码的四环素耐药基因可以通过调节四环素外排泵基因的表达从而影响细菌的耐药性^[63]。Thea 等通过用四环素诱导 *tetR-tetA* 表达发现,四环素可以通过结合 TetR 阻遏蛋白将其从 *tet* 操纵子 O₁、O₂ 上解离下来,进而促进四环素外排泵基因 *tetA* 的表达^[64]。

2.3.3 LysR 家族转录调控因子

LysR 家族成员之间具有相似的分子量和高度保守的结构域,可以调控细菌内的多种生理功能。LysR 家族转录调控因子 AmpR 可以调控 β-内酰胺酶 AmpC 的表达水平,其可以结合在 *ampC* 启动子上游的 DNA 区域,并以相反的方向转录,起到转录激活的作用^[65]。Livermore 等的研究表明,细菌暴露在大量抗生素中时,丙氨酸酰胺酶 AmpD 会与调控因子 AmpR 相结合,转化为 *ampC* 的激活蛋白,促进耐药基因表达^[66]。

2.3.4 RND 型多药外排泵相关调控因子

多种转录调控因子可以上调 RND (Resistance-nodulation-division) 型外排泵的表达,导致出现多重耐药 (MDR) 表型。常见 RND 型外排泵 (AcrAB 和 OqxAB) 的过表达可以导致细菌对多种药物 (如喹诺酮类、四环素类、磺胺类抗生素) 耐药,并且外排泵 AcrAB 和 OqxAB 在大肠杆菌、阴沟肠杆菌、沙门氏菌以及克雷伯氏菌等肠杆菌科细菌中广泛流行。多项研究表明,AraC 家族转录调节因子可以增加外排泵表达,其中,激活蛋白 RamA、RarA、SoxS 可以上调 OqxAB 的表达;RamA、MarA、SoxS 可以促进 AcrAB 的转录^[67-70]。相反,GntR 家族调控因子 (如 OqxR) 可以作为

阻遏蛋白抑制外排泵 OqxAB 的表达^[71]。Veleba 等研究表明,*oqxR* 基因的引入不仅会抑制外排泵表达,还会导致激活蛋白 *rarA* 的表达水平下降^[69]。这证明不同家族调控因子可以相互作用,共同调节 RND 型外排泵的表达。

2.3.5 SOS 修复系统调控因子——LexA

LexA 是 SOS 系统应对 DNA 损伤反应的控制中心,在应激状态下发生自我裂解,使 DNA 修复功能得以表达,并延迟细胞分裂,直到损伤得以修复^[72]。除此之外,转录调控因子 LexA 还参与调控 SOS 修复系统以外的其他基因,如噬菌体的诱导、毒力岛的移动、毒力基因和耐药基因的表达。例如,转录调控因子 LexA 可以调控喹诺酮类耐药基因 *qnrB* 和 *qnrD*,Wang 等和 Briaies 等研究表明,抗生素诱导 *qnrB* 和 *qnrD* 表达机制主要依赖于 LexA 蛋白,在 LexA 缺失的情况下,耐药基因无法被诱导表达^[73-74]。此外,LexA 经常与辅助抑制因子共同作用,协同调节可转移遗传元件 (MGEs) 的表达,使细菌能够对多种胁迫作出反应^[72]。

3 耐药基因表达的环境调节

细菌在生长繁殖过程中,会暴露在各种各样的生存环境中,为了适应短期或长期的环境变化,细菌基因表达与环境的生理需求应保持一致。环境是调控耐药基因表达的潜在因素,对特定基因的表达会产生极大的影响 (图 1),某些耐药基因对环境和生长条件表现出的一定依赖性。下面将举例探讨影响耐药基因表达的几种常见的环境调节因素。

3.1 抗生素诱导耐药基因表达

基因的表达调控有助于提高细菌在抗生素压力下的生存能力。在抗生素作用下,细菌为了适应外界压力常常发生突变,通过改变天然的或水平转移的耐药基因表达,从而产生耐药性,这种

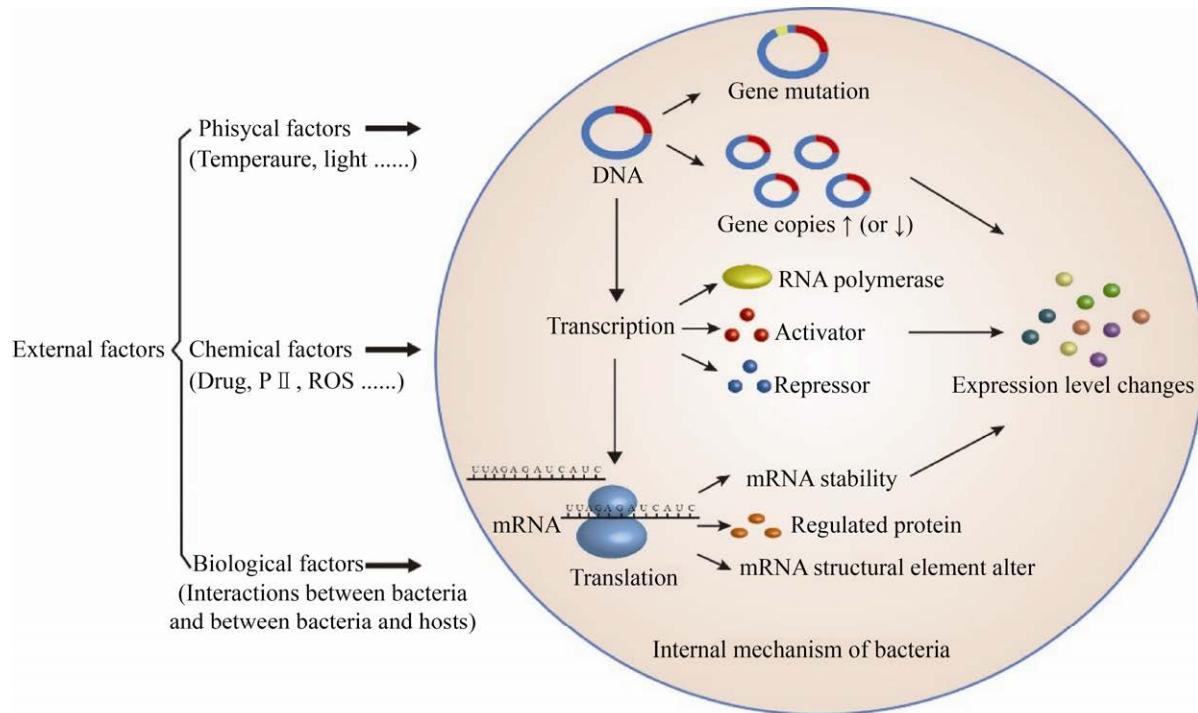


图 1 环境因素对耐药基因表达的调节作用

Fig. 1 The role of environmental factors in the regulation of expression of antibiotic resistance genes.

耐药称为适应性耐药。常见的适应性耐药基因包括：(1) 在细菌耐药机制中具有特定作用的基因。如药物降解酶（如 β -内酰胺酶）和转录调节因子（如 *marA* 和 *lexA*）；(2) 不是严格意义上的耐药基因，但与药物内在作用机制相关。包括药物作用靶点基因（如 *folA*）、前药激活酶基因（如 *nfsA*）以及介导某些抗生素进入细胞的孔蛋白基因（*ompF*）^[75-80]。

目前，多项研究表明抗生素能诱导肠杆菌科细菌耐药基因表达，包括 β -内酰胺类、氨基糖苷类、四环素类、喹诺酮类等多种临床常见抗生素。头孢菌素（ β -内酰胺类药物）可以诱导多种 β -内酰胺类耐药基因（如 *bla*_{KPC}、*bla*_{CTX-M}、*bla*_{DHA}、*bla*_{SHV}、*bla*_{NDM}）的表达，且不同浓度药物的调控水平不同，并不完全与浓度呈正相关^[81-88]。有趣的是，一些非 β -内酰胺类药物，如替加环素，同样会影响 β -内酰胺类耐药基因（*bla*_{KPC}）的表达，其调节作用甚至大于 β -内酰胺类药物^[81]。这可能

是因为细菌在抵御抗生素作用时，所选择的代谢过程或补偿机制存在差异。此外，目前有研究显示，抗生素诱导耐药性表达可能同时与多种耐药机制相关。Zhou 等通过研究发现，抗生素诱导后，沙门氏菌中 *tetA* 基因表达水平增加了 10 倍以上，同时，多重耐药外排泵基因 *arcB* 和 *tolC*、SOS 系统中心调控因子 *lexA* 基因的转录水平呈现不同程度的上调，膜孔蛋白基因 *ompC* 的表达水平显著降低^[86]。这说明在抗生素作用下，细菌会改变大量功能基因的表达来增加适应性。吴亦斐等发现特定的抑制剂可以抑制抗生素对耐药基因的诱导表达作用^[89]。抗生素可以通过多种方式诱导耐药性表达，对抗生素诱导及诱导抑制机制的深入探究将为临床设计合理治疗方案以及有效控制抗生素耐药性提供一定的理论支持。

3.2 中药及其活性成分抑制耐药基因表达

近年来，耐药性抑制剂的相关研究在国际上越来越受重视。抑制剂与抗生素联用不仅能够增

强抗生素自身的抑菌作用,还能抑制抗生素对细菌耐药性的诱导表达作用。中药作为中国传统文化的精华,也具有耐药性抑制剂的类似作用。早在20世纪80年代就有研究发现中药可以消除细菌对抗生素的耐药性,目前,清热解毒类药物是消除细菌耐药性最多的中药,主要包括金银花、黄芩、板蓝根、连翘、柴胡、射干、蒲公英和鱼腥草等^[90]。目前,多种中药活性成分具有抑菌作用。例如,黄酮类中药活性成分黄芩苷本身没有直接的杀菌或抑菌作用,但其与头孢噻唑联用可以协同抑制耐药基因 *bla*_{CTX-M-1} 的表达,增加细菌对头孢噻唑的敏感性^[91]。Jaktaji 等通过研究大肠杆菌抑制剂发现,草本植物提取物苦参碱是多药外排泵 AcrAB-TolC 的天然抑制剂 (EPIs),仅少量的高纯度苦参碱与环丙沙星联用就可以很大程度降低 *acrA* 基因表达,减弱细菌的耐药性^[92]。

3.3 代谢物对耐药基因表达的调控

一些非抗生素类代谢物也会参与耐药基因的表达调控,但针对这类物质的调控机制目前还没有系统的分类。不同的代谢物会以不同的方式调节耐药基因的表达水平,甚至可以消除耐药性。例如, *cysB* 基因突变会引起甲亚胺青霉素 (β -内酰胺类抗生素) 的高水平耐药, Thulin 等发现,在培养基中加入半胱氨酸可以将耐药性完全消除。甲亚胺青霉素的 MIC 值会下降至野生型水平^[93]。相反,特定的代谢物可以通过诱导多药外排泵,大幅度提高细菌的耐药水平。已知多药外排泵 AcrAB 受 XylS/AraC 家族 3 个转录调控因子——MarA、SoxS 和 Rob 的调控,游离胆汁盐可以通过与调节因子 Rob 相互作用,激活 *acrAP-lacZ* 启动子转录从而诱导 AcrAB 的表达,增强细菌的耐药性^[67,94]。

3.4 活性氧簇 (ROS) 的作用

活性氧簇 (Reactive oxygen species, ROS) 是一类氧代谢过程中产生的衍生物,包括超氧阴离子、过氧化物、羟基自由基、臭氧和单线态氧等,在多种生理和病理过程中具有十分重要的作用。

近年来有研究表明,ROS 不仅可以增强抗生素的杀菌效果,还可以通过诱导细菌突变,使其产生抗生素耐药性,且不同浓度的 ROS 的作用有所不同,非致死浓度的抗生素介导累积的 ROS 可以通过诱导多种转录调节因子 (如 *rob*、*sdia*、*cytR*、*marR*、*crp*) 突变 (如缺失、插入、替代),激活多重药物外排泵 AcrAB-TolC 的表达,使得药物外排,从而促进细菌多重耐药性的产生^[95-97]。综上,ROS 具有促进杀菌和诱发耐药的双重作用,通过深入探讨和分析抗生素和 ROS 之间的相互作用机制将能有效提高抗生素的杀菌效果并对抑制细菌耐药性发展具有重大意义。

3.5 温度对耐药基因表达的影响

温度对于细菌存活和繁殖具有十分重大的意义,每个细菌都有自己适合生存的温度范围。当温度低于或超出细菌适宜生长的温度范围内时,细菌的生长将受到抑制或被杀死。温度的改变可以影响细菌的多个生理生化过程,包括酶动力学、扩散速率以及 DNA、RNA 和蛋白质之间的相互作用等,从而改变细菌的各种代谢活动。此外,温度的改变也会引起多种环境因子的变化,对细菌的生命活动产生更为复杂的影响。温度不仅对细菌的生长状态有影响,对特定基因的复制和转录效率也会有影响。不同温度下外排泵基因 (*acrA*、*acrB*、*TolC*)、孔蛋白相关基因 (*ompC*) 的相对表达水平存在差异^[98]。Jang 等通过评估了大肠杆菌在环境胁迫下染色体耐药基因 *qnr* 的表达发现,和喹诺酮类药物一样,低温可以诱导 *qnrS1* 的表达^[99]。Wein 等研究表明,非接合型耐药质粒在 20 °C 下的拷贝数和转录水平比 37 °C 时更高^[100]。环境温度对耐药质粒复制和转录的影响可能是由不同因素造成的,包括 DNA 拓扑结构的改变、应激诱导修复系统以及生长速率降低等^[100]。

3.6 光照对耐药基因表达的调节

自然环境中,细菌会遇到各种各样的环境压力,其中光照可能是影响水生环境中肠杆菌科细

菌在白天生长和存活的最重要因素之一^[101]。光照可能触发氧化应激、改变耐药基因表达、影响质粒接合转移频率等。Ramírez 等研究发现,光照可以促进 O₂ 的产生,激活耐药基因(如外排泵 *adeABC* 基因),增加细菌在抗生素条件下的适应性^[102]。研究证明,不同的光照条件下,耐药基因的表达水平有所不同。相对于无光照,紫外线(UV₂₅₄)可以使耐药基因 *mcr-1* 和 *bla_{CTX}* 的表达水平上调 2–10 倍;模拟阳光(SS)可以轻微上调 *mcr-1* 的表达,使 *bla_{CTX}* 的表达增加 2–5 倍;而可视光(VL)则不能诱导这两种基因的表达^[103]。此外,光照还能以温度依赖的方式减少对某些抗生素的敏感性,例如,二甲胺四环素和替加环素是目前用于治疗多重耐药细菌的重要抗生素,蓝光和白光能以一种温度依赖的方式调节细菌对这两种抗生素的敏感性^[102]。

3.7 群体效应对耐药基因表达的调节

群体效应(Quorum sensing, QS),又称密度感应,是一种广泛存在于微生物群体中的细胞通讯系统,细菌通过合成并分泌自诱导分子对整个细菌种群起到信息传递和调控作用。细菌的 QS 系统主要分为 3 大类,其自诱导分子分别为:酰基-高丝氨酸内酯(Acyl-homoserine lactone, AHL)、寡肽和呋喃硼酸二酯。近年来,国内外的一些研究表明, QS 系统与细菌耐药性有一定的关联,可以通过调节药物外排泵的表达和生物膜形成来影响细菌耐药性^[104-105]。一方面, QS 系统可以调控细菌药物外排泵的表达,并且 QS 系统本身也会受到多药外排泵的表达水平的影响^[106-107]。Maseda 等通过研究发现,自诱导分子可以上调多药外排泵 MexAB-OprM 的表达,促使细菌产生多药耐药性^[108];然而, Alcalde-Rico 等的研究结果表明 MexCD-OprJ 多药外排泵的过表达可以反过来抑制铜绿假单胞菌的 QS 应答^[109]。另一方面, QS 系统对细菌生物膜的形成也有一定的影响。其中,以 AHL 为自诱导分子的 QS 系统和以寡肽为

自诱导分子的 QS 系统可以分别调控革兰氏阴性细菌和革兰氏阳性细菌生物膜的形成。前者主要由信号分子及相应受体构成,而后者主要包含双组分信号系统。Dubrac 等通过研究发现 WalK/WalR(又称 YycG/YycF)双组分系统可以直接调控生物膜的形成^[110]。Tamber 等和 Gimza 等的实验结果表明, QS 系统相关调控因子 SarA 在调控表皮葡萄球菌生物膜的形成中具有重要的意义^[111-112]。耐药菌 QS 系统的深入研究将对遏制细菌耐药性发展和开发耐药菌新型治疗策略具有十分重大的意义。

4 总结与展望

抗生素耐药性的获得往往是细菌适应环境快速变化(如高浓度抗生素压力)的一种反应,耐药性通常给细菌带来一定的代谢负担,从而导致细菌适应能力的下降。例如,编码耐药性状的可转移质粒可以在细菌之间传递重要的生态功能特征,加速细菌对外界条件变化的适应。但质粒编码耐药基因的表达会促使适应性代价的产生,导致细菌生长速率下降^[18,113]。因此,细菌不仅可以通过提高耐药基因的表达来适应各种环境压力,也可以通过减少耐药基因的表达以减轻相应的代谢负担,细菌的这种自我调节方式是在环境变化和适应性代价之间的一种平衡。

随着对耐药基因表达及调控机制的深入研究,目前针对肠杆菌科细菌耐药基因表达的调控因素可以大致归纳为两个方面:遗传背景和环境条件。一方面,细菌可以通过改变启动子的强度控制耐药基因转录频率,通过转录调控因子调节外排泵、药物靶点、膜蛋白以及水解酶等基因的表达水平,进而改变细菌耐药性。另一方面,温度、光照、抗生素等多种环境条件可以通过影响细菌的多个生理生化过程,包括改变 DNA 拓扑结构、影响细菌生长速率、诱导转录调控因子、改变大量功能基因表达等,直接或间接地调控耐药基因的表达水平,产生不同的耐药表型。

遗传学的一个中心目标是探索在基因型和环境的作用下,表型多样化是如何形成的,进而研究出从遗传学角度预测表型的方法。综上,遗传背景和环境条件的改变会影响特定耐药基因的表达水平,进而产生耐药表型差异,这给我们通过基因型预测耐药表型造成了极大的困难。因此,基因型-表型谱的建立具有十分重大的遗传学意义。目前,全球抗生素耐药情况的愈演愈烈,如果抗生素耐药问题不能得到有效的控制,未来我们将面临“无药可用”的窘境,届时感染性疾病的控制和治疗将依赖于新型抗生素或其他新型药物的开发。基因型和表型关联的深入研究能够更好地促进抗生素的开发和应用。首先,基因型和表型之间的关联探索将有助于治疗方案的设计,减少一些对耐药性可能产生选择作用的不恰当治疗方案。其次,对于新型研发的抗生素,可以根据药物的结构和作用靶点预测耐药性的发生和发展趋势,进而设计出合理的药物管理方案。

细菌是一个复杂的生物体,对各种环境变化具有非凡的适应能力。目前,细菌基因型和表型之间的关联,尤其是基因表达及调控角度,仍有许多的未知值得我们去探索。未来的工作需要通过对遗传信息表达的调控模式进行深入探究,以便于更好地阐述基因型-表型谱的关系。

REFERENCES

- [1] WHO. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014[EB/OL]. [2020-05-29]. <https://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>.
- [2] López-Maury L, Marguerat S, Bähler J. Tuning gene expression to changing environments: from rapid responses to evolutionary adaptation. *Nat Rev Genet*, 2008, 9(8): 583-593.
- [3] Depardieu F, Podglajen I, Leclercq R, et al. Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression. *Clin Microbiol Rev*, 2007, 20(1): 79-114.
- [4] Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. *Am J Med*, 2006, 119(6 Suppl 1): S20-S28.
- [5] Seiffert SN, Hilty M, Perreten V, et al. Extended-spectrum cephalosporin-resistant gram-negative organisms in livestock: an emerging problem for human health? *Drug Resist Updat*, 2013, 16(1/2): 22-45.
- [6] Iredell J, Brown J, Tagg K. Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae: mechanisms and clinical implications. *BMJ*, 2016, 352: h6420.
- [7] Yang YJ, Wu PJ, Livermore DM. Biochemical characterization of a beta-lactamase that hydrolyzes penems and carbapenems from two *Serratia marcescens* isolates. *Antimicrob Agents Chemother*, 1990, 34(5): 755-758.
- [8] Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm! *Trends Mol Med*, 2012, 18(5): 263-272.
- [9] Wright GD. Aminoglycoside-modifying enzymes. *Curr Opin Microbiol*, 1999, 2(5): 499-503.
- [10] Partridge SR, Tsafnat G, Coiera E, et al. Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons. *FEMS Microbiol Rev*, 2009, 33(4): 757-784.
- [11] Aldred KJ, Kerns RJ, Osheroff N. Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry*, 2014, 53(10): 1565-1574.
- [12] Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin Microbiol Rev*, 2009, 22(4): 664-689.
- [13] Ma JY, Zeng ZL, Chen ZL, et al. High prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr*, *aac(6'')-Ib-cr*, and *qepA* among ceftiofur-resistant Enterobacteriaceae isolates from companion and food-producing animal. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(2): 519-524.
- [14] Domokos J, Kristóf K, Szabó D. Plasmid-mediated quinolone resistance among extended spectrum beta lactase producing Enterobacteriaceae from bloodstream infections. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 2016, 63(3): 313-323.
- [15] Wang Y, Zhang RM, Li JY, et al. Comprehensive resistome analysis reveals the prevalence of NDM and MCR-1 in Chinese poultry production. *Nat*

- Microbiol, 2017, 2: 16260.
- [16] Wang XM, Wang Y, Zhou Y, et al. Emergence of a novel mobile colistin resistance gene, *mcr-8*, in NDM-producing *Klebsiella pneumoniae*. Emerg Microbes Infect, 2018, 7(1): 122.
- [17] Zhang HF, Miao MH, Yan JT, et al. Expression characteristics of the plasmid-borne *mcr-1* colistin resistance gene. Oncotarget, 2017, 8(64): 107596-107602.
- [18] Porse A, Schønning K, Munck C, et al. Survival and evolution of a large multidrug resistance plasmid in new clinical bacterial hosts. Mol Biol Evol, 2016, 33(11): 2860-2873.
- [19] Mutalik VK, Guimaraes JC, Cambray G, et al. Precise and reliable gene expression via standard transcription and translation initiation elements. Nat Methods, 2013, 10(4): 354-360.
- [20] Jensen PR, Hammer K. Artificial promoters for metabolic optimization. Biotechnol Bioeng, 1998, 58(2/3): 191-195.
- [21] Lu J, Tang JL, Liu Y, et al. Combinatorial modulation of *galP* and *glk* gene expression for improved alternative glucose utilization. Appl Microbiol Biotechnol, 2012, 93(6): 2455-2462.
- [22] Li JW, Zhang YX. Relationship between promoter sequence and its strength in gene expression. Eur Phys J E Soft Matter, 2014, 37(9): 44.
- [23] Jaurin B, Grundström T, Normark S. Sequence elements determining *ampC* promoter strength in *E. coli*. EMBO J, 1982, 1(7): 875-881.
- [24] Nelson EC, Elisha BG. Molecular basis of *AmpC* hyperproduction in clinical isolates of *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother, 1999, 43(4): 957-959.
- [25] Lartigue MF, Leflon-Guibout V, Poirel L, et al. Promoters *P3*, *Pa/Pb*, *P4*, and *P5* upstream from *bla_{TEM}* genes and their relationship to β -lactam resistance. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46(12): 4035-4037.
- [26] Zhai Y, Zhang Z, Wang ZW, et al. Relative strengths and regulation of different promoter-associated sequences for various *bla_{SHV}* genes and their relationships to β -lactam resistance. J Mol Microbiol Biotechnol, 2017, 27(2): 91-101.
- [27] Reisbig MD, Hanson ND. Promoter sequences necessary for high-level expression of the plasmid-associated *ampC* β -lactamase gene *bla_{MIR-1}*. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(11): 4177-4182.
- [28] Singh T, Singh PK, Das S, et al. Transcriptome analysis of beta-lactamase genes in diarrheagenic *Escherichia coli*. Sci Rep, 2019, 9(1): 3626.
- [29] Tracz DM, Boyd DA, Bryden L, et al. Increase in *ampC* promoter strength due to mutations and deletion of the attenuator in a clinical isolate of cefoxitin-resistant *Escherichia coli* as determined by RT-PCR. J Antimicrob Chemother, 2005, 55(5): 768-772.
- [30] Tracz DM, Boyd DA, Hizon R, et al. *ampC* gene expression in promoter mutants of cefoxitin-resistant *Escherichia coli* clinical isolates. FEMS Microbiol Lett, 2007, 270(2): 265-271.
- [31] Paltansing S, Kraakman M, Van Boxtel R, et al. Increased expression levels of chromosomal *AmpC* β -lactamase in clinical *Escherichia coli* isolates and their effect on susceptibility to extended-spectrum cephalosporins. Microb Drug Resist, 2015, 21(1): 7-16.
- [32] Corvec S, Caroff N, Cosano D, et al. Increased resistance to β -lactams in a *Klebsiella pneumoniae* strain: role of a deletion downstream of the Pribnow box in the *bla_{SHV-1}* promoter. Int J Antimicrob Agents, 2006, 28(4): 308-312.
- [33] Huang B, He YT, Ma XY, et al. Promoter variation and gene expression of *mcr-1*-harboring plasmids in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from a Chinese hospital. Antimicrob Agents Chemother, 2018, 62(5): e00018-18.
- [34] Fernandez A, Gil E, Cartelle M, et al. Interspecies spread of CTX-M-32 extended-spectrum β -lactamase and the role of the insertion sequence *IS1* in down-regulating *bla_{CTX-M}* gene expression. J Antimicrob Chemother, 2007, 59(5): 841-847.
- [35] Harmer CJ, Moran RA, Hall RM. Movement of IS26-associated antibiotic resistance genes occurs via a translocatable unit that includes a single IS26 and preferentially inserts adjacent to another IS26. mBio, 2014, 5(5): e01801-14.
- [36] Ma L, Siu LK, Lu PL. Effect of spacer sequences between *bla_{CTX-M}* and *ISEcp1* on *bla_{CTX-M}* expression.

- J Med Microbiol, 2011, 60(12): 1787-1792.
- [37] Kamruzzaman M, Patterson JD, Shoma S, et al. Relative strengths of promoters provided by common mobile genetic elements associated with resistance gene expression in Gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(8): 5088-5091.
- [38] Huang JS, Hu XL, Zhao YN, et al. Comparative analysis of *bla_{KPC}* expression in Tn4401 transposons and the Tn3-Tn4401 chimera. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63(5): e02434-18.
- [39] Cheruvanky A, Stoesser N, Sheppard AE, et al. Enhanced *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase expression from a novel Tn 4401 deletion. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(6): e00025-17.
- [40] Ramos JL, Martínez-Bueno M, Molina-Henares AJ, et al. The TetR family of transcriptional repressors. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2005, 69(2): 326-356.
- [41] Ramu H, Mankin AS, Vazquez-Laslop N. Programmed drug-dependent ribosome stalling. *Mol Microbiol*, 2009, 71(4): 811-824.
- [42] Davies J, Wright GD. Bacterial resistance to aminoglycoside antibiotic. *Trends Microbiol*, 1997, 5(6): 234-240.
- [43] Dar D, Shamir M, Mellin JR, et al. Term-seq reveals abundant ribo-regulation of antibiotics resistance in bacteria. *Science*, 2016, 352(6282): aad9822.
- [44] Deochand DK, Grove A. MarR family transcription factors: dynamic variations on a common scaffold. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2017, 52(6): 595-613.
- [45] Wang K, Sybers D, Maklad HR, et al. A TetR-family transcription factor regulates fatty acid metabolism in the archaeal model organism *Sulfolobus acidocaldarius*. *Nat Commun*, 2019, 10: 1542.
- [46] Thomson NR, Nasser W, McGowan S, et al. *Erwinia carotovora* has two KdgR-like proteins belonging to the IcIR family of transcriptional regulators: identification and characterization of the RexZ activator and the KdgR repressor of pathogenesis. *Microbiology*, 1999, 145(7): 1531-1545.
- [47] Singh S, Sevalkar RR, Sarkar D, et al. Characteristics of the essential pathogenicity factor Rv1828, a MerR family transcription regulator from *Mycobacterium tuberculosis*. *FEBS J*, 2018, 285(23): 4424-4444.
- [48] Watters MK, Manzanilla V, Howell H, et al. Cold shock as a screen for genes involved in cold acclimatization in *Neurospora crassa*. *G3 (Bethesda)*, 2018, 8(5): 1439-1454.
- [49] Ball AS, Chaparian RR, Van Kessel JC. Quorum sensing gene regulation by LuxR/HapR master regulators in vibrios. *J Bacteriol*, 2017, 199(19): e00105-17.
- [50] Weickert MJ, Adhya S. A family of bacterial regulators homologous to Gal and Lac repressors. *J Biol Chem*, 1992, 267(22): 15869-15874.
- [51] Wang YG, Li XH, Osmundson T, et al. Comparative genomic analysis of a multidrug-resistant *Listeria monocytogenes* ST477 isolate. *Foodborne Pathog Dis*, 2019, 16(9): 604-615.
- [52] Saha RP, Samanta S, Patra S, et al. Metal homeostasis in bacteria: the role of ArsR-SmtB family of transcriptional repressors in combating varying metal concentrations in the environment. *Biometals*, 2017, 30(4): 459-503.
- [53] Chakraborty S, Winardhi RS, Morgan LK, et al. Non-canonical activation of OmpR drives acid and osmotic stress responses in single bacterial cells. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1587.
- [54] Li ZB, Xiang ZT, Zeng JM, et al. A GntR family transcription factor in *Streptococcus mutans* regulates biofilm formation and expression of multiple sugar transporter genes. *Front Microb*, 2019, 9: 3224.
- [55] Fragel SM, Montada A, Heermann R, et al. Characterization of the pleiotropic LysR-type transcription regulator LeuO of *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(14): 7363-7379.
- [56] Gallegos MT, Schleif R, Bairoch A, et al. Arac/XylS family of transcriptional regulators. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1997, 61(4): 393-410.
- [57] Gaigalat L, Schlüter JP, Hartmann M, et al. The DeoR-type transcriptional regulator SugR acts as a repressor for genes encoding the phosphoenolpyruvate: sugar phosphotransferase system (PTS) in *Corynebacterium glutamicum*. *BMC Mol Biol*, 2007, 8: 104.

- [58] Lemmens L, Maklad HR, Bervoets I, et al. Transcription regulators in archaea: homologies and differences with bacterial regulators. *J Mol Biol*, 2019, 431(20): 4132-4146.
- [59] Rossiter AE, Godfrey RE, Connolly JA, et al. Expression of different bacterial cytotoxins is controlled by two global transcription factors, CRP and Fis, that co-operate in a shared-recruitment mechanism. *Biochem J*, 2015, 466(2): 323-335.
- [60] Kukulj C, Pedrosa FO, De Souza GA, et al. Proteomic and metabolomic analysis of *Azospirillum brasilense ntrC* mutant under high and low nitrogen conditions. *J Proteome Res*, 2020, 19(1): 92-105.
- [61] Vazquez-Laslop N, Thum C, Mankin AS. Molecular mechanism of drug-dependent ribosome stalling. *Mol Cell*, 2008, 30(2): 190-202.
- [62] Kwak JH, Choi EC, Weisblum B. Transcriptional attenuation control of *ermK*, a macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinant from *Bacillus licheniformis*. *J Bacteriol*, 1991, 173(15): 4725-4735.
- [63] Hillen W, Gatz C, Altschmied L, et al. Control of expression of the Tn10-encoded tetracycline resistance genes. Equilibrium and kinetic investigation of the regulatory reactions. *J Mol Biol*, 1983, 169(3): 707-721.
- [64] Møller TSB, Overgaard M, Nielsen SS, et al. Relation between *tetR* and *tetA* expression in tetracycline resistant *Escherichia coli*. *BMC Microbiol*, 2016, 16: 39.
- [65] Nakano R, Nakano A, Yano H, et al. Role of AmpR in the high expression of the plasmid-encoded ampicillin β -lactamase CFE-1. *mSphere*, 2017, 2(4): e00192-17.
- [66] Livermore DM, Brown DJ. Detection of β -lactamase-mediated resistance. *J Antimicrob Chemother*, 2001, 48(Suppl.1): 59-64.
- [67] Duval V, Lister IM. MarA, SoxS and Rob of *Escherichia coli*-Global regulators of multidrug resistance, virulence and stress response. *Int J Biotechnol Wellness Ind*, 2013, 2(3): 101-124.
- [68] Jiménez-Castellanos JC, Wan Ahmad Kamil WNI, Cheung CHP, et al. Comparative effects of overproducing the AraC-type transcriptional regulators MarA, SoxS, RarA and RamA on antimicrobial drug susceptibility in *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*, 2016, 71(7): 1820-1825.
- [69] Veleba M, Higgins PG, Gonzalez G, et al. Characterization of RarA, a novel AraC family multidrug resistance regulator in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(8): 4450-4458.
- [70] Veleba M, Schneiders T. Tigecycline resistance can occur independently of the *ramA* gene in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(8): 4466-4467.
- [71] Bialek-Davenet S, Lavigne JP, Guyot K, et al. Differential contribution of AcrAB and OqxAB efflux pumps to multidrug resistance and virulence in *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70(1): 81-88.
- [72] Fornelos N, Browning DF, Butala M. The use and abuse of LexA by mobile genetic elements. *Trends Microbiol*, 2016, 24(5): 391-401.
- [73] Wang MH, Jacoby GA, Mills DM, et al. SOS regulation of *qnrB* expression. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(2): 821-823.
- [74] Briaies A, Rodriguez-Martinez JM, Velasco C, et al. Exposure to diverse antimicrobials induces the expression of *qnrB1*, *qnrD* and *smqnr* genes by SOS-dependent regulation. *J Antimicrob Chemother*, 2012, 67(12): 2854-2859.
- [75] Hillenmeyer ME, Fung E, Wildenhain J, et al. The chemical genomic portrait of yeast: uncovering a phenotype for all genes. *Science*, 2008, 320(5874): 362-365.
- [76] Girgis HS, Hottes AK, Tavazoie S. Genetic architecture of intrinsic antibiotic susceptibility. *PLoS ONE*, 2009, 4(5): e5629.
- [77] Nichols RJ, Sen S, Choo YJ, et al. Phenotypic landscape of a bacterial cell. *Cell*, 2011, 144(1): 143-156.
- [78] Lee AY, St Onge RP, Proctor MJ, et al. Mapping the cellular response to small molecules using chemogenomic fitness signatures. *Science*, 2014, 344(6180): 208-211.
- [79] French S, Mangat C, Bharat A, et al. A robust platform for chemical genomics in bacterial systems.

- Mol Biol Cell, 2016, 27(6): 1015-1025.
- [80] Palmer AC, Chait R, Kishony R. Nonoptimal gene expression creates latent potential for antibiotic resistance. *Mol Biol Evol*, 2018, 35(11): 2669-2684.
- [81] Roth AL, Lister PD, Hanson ND. Effect of drug treatment options on the mobility and expression of *bla_{KPC}*. *J Antimicrob Chemother*, 2013, 68(12): 2779-2785.
- [82] Liu G, Olsen JE, Thomsen LE. Identification of genes essential for antibiotic-induced up-regulation of plasmid-transfer-genes in cephalosporin resistant *Escherichia coli*. *Front Microbiol*, 2019, 10: 2203.
- [83] Maurya AP, Chanda DD, Bora D, et al. Transcriptional response of multiple ESBL genes within *Escherichia coli* under oxyimino-cephalosporin stress. *Microb Drug Resist*, 2017, 23(2): 133-138.
- [84] Ingti B, Paul D, Maurya AP, et al. Occurrence of *bla_{DHA-1}* mediated cephalosporin resistance in *Escherichia coli* and their transcriptional response against cephalosporin stress: a report from India. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2017, 16: 13.
- [85] Ramos JMC, Stein C, Pfeifer Y, et al. Mutagenesis of the CTX-M-type ESBL—is MIC-guided treatment according to the new EUCAST recommendations a safe approach? *J Antimicrob Chemother*, 2015, 70(9): 2528-2535.
- [86] Zhou XJ, Zhang ZF, Suo YJ, et al. Effect of sublethal concentrations of ceftriaxone on antibiotic susceptibility of multiple antibiotic-resistant *Salmonella* strains. *FEMS Microbiol Lett*, 2019, 366(2): fny283.
- [87] Chetri S, Bhowmik D, Dhar D, et al. Effect of concentration gradient carbapenem exposure on expression of *bla_{NDM-1}* and *acrA* in carbapenem resistant *Escherichia coli*. *Infect Genet Evol*, 2019, 73: 332-336.
- [88] Paul D, Garg A, Bhattacharjee A. Occurrence of *bla_{NDM-1}* and *bla_{NDM-5}* in a tertiary referral hospital of north India. *Microb Drug Resist*, 2017, 23(7): 815-821.
- [89] 吴亦斐, 孙爱华, 赵金方, 等. 细菌药物钝化酶基因分布及其表达诱导与抑制机制的研究. *浙江大学学报(医学版)*, 2013, 42(2): 131-140.
Wu YF, Sun AH, Zhao JF, et al. Distribution of drug inactive enzyme genes in bacterial isolates and mechanism of its induction and inhibition. *J Zhejiang Univ (Med Sci)*, 2013, 42(2): 131-140 (in Chinese).
- [90] 刘云宁, 李小凤, 班旭霞, 等. 中药抗菌成分及其抗菌机制的研究进展. *环球中医药*, 2015, 8(8): 1012-1017.
Liu YN, Li XF, Ban XX, et al. The review on active antibacterial ingredients of Chinese medicine and the antibacterial mechanism. *Global Tradit Chin Med*, 2015, 8(8): 1012-1017 (in Chinese).
- [91] Cai WH, Fu YM, Zhang WL, et al. Synergistic effects of baicalein with cefotaxime against *Klebsiella pneumoniae* through inhibiting CTX-M-1 gene expression. *BMC Microbiol*, 2016, 16: 181.
- [92] Jaktaji RP, Mohammadi P. Effect of total alkaloid extract of local *Sophora alopecuroides* on minimum inhibitory concentration and intracellular accumulation of ciprofloxacin, and *acrA* expression in highly resistant *Escherichia coli* clones. *J Glob Antimicrob Resist*, 2018, 12: 55-60.
- [93] Thulin E, Sundqvist M, Andersson DI. Amdinocillin (Mecillinam) resistance mutations in clinical isolates and laboratory-selected mutants of *Escherichia coli*. *Antimicrobi Agents Chemother*, 2015, 59(3): 1718-1727.
- [94] Rosenberg EY, Bertenthal D, Nilles ML, et al. Bile salts and fatty acids induce the expression of *Escherichia coli* AcrAB multidrug efflux pump through their interaction with Rob regulatory protein. *Mol Microbiol*, 2003, 48(6): 1609-1619.
- [95] Kohanski MA, DePristo MA, Collins JJ. Sublethal antibiotic treatment leads to multidrug resistance via radical-induced mutagenesis. *Mol Cell*, 2010, 37(3): 311-320.
- [96] Alekshun MN, Levy SB. The *mar* regulon: multiple resistance to antibiotics and other toxic chemicals. *Trends Microbiol*, 1999, 7(10): 410-413.
- [97] Jin M, Lu J, Chen ZY, et al. Antidepressant fluoxetine induces multiple antibiotics resistance in *Escherichia coli* via ROS-mediated mutagenesis. *Environ Int*, 2018, 120: 421-430.
- [98] Cruz-Loya M, Kang TM, Lozano NA, et al. Stressor interaction networks suggest antibiotic resistance co-opted from stress responses to temperature. *ISME J*, 2019, 13(1): 12-23.
- [99] Jang HC, Wang Y, Chen CH, et al. Cold shock

- induces chromosomal *qnr* in *Vibrio* species and plasmid-mediated *qnrS1* in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63(12): e01472-19.
- [100] Wein T, Hülter NF, Mizrahi I, et al. Emergence of plasmid stability under non-selective conditions maintains antibiotic resistance. *Nat Commun*, 2019, 10: 2595.
- [101] Clerc S, Simonet P. Efficiency of the transfer of a pSAM2-derivative plasmid between two strains of *Streptomyces lividans* in conditions ranging from agar slants to non-sterile soil microcosms. *FEMS Microbiol Ecol*, 1996, 21(3): 157-165.
- [102] Ramírez MS, Traglia GM, Pérez JF, et al. White and blue light induce reduction in susceptibility to minocycline and tigecycline in *Acinetobacter* spp. and other bacteria of clinical importance. *J Med Microbiol*, 2015, 64(5): 525-537.
- [103] Chen XF, Yin HL, Li GY, et al. Antibiotic-resistance gene transfer in antibiotic-resistance bacteria under different light irradiation: Implications from oxidative stress and gene expression. *Water Res*, 2019, 149: 282-291.
- [104] Bäuerle T, Fischer A, Speck T, et al. Self-organization of active particles by quorum sensing rules. *Nat Commun*, 2018, 9: 3232.
- [105] Turan NB, Chormey DS, Büyükpınar C, et al. Quorum sensing: Little talks for an effective bacterial coordination. *TrAC Trends Analyt Chem*, 2017, 91: 1-11.
- [106] Subhadra B, Oh MH, Choi CH. RND efflux pump systems in *Acinetobacter*, with special emphasis on their role in quorum sensing. *J Bacteriol Virol*, 2019, 49(1): 1-11.
- [107] Wang Y, Liu BB, Grenier D, et al. Regulatory mechanisms of the LuxS/AI-2 system and bacterial resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63(10): e01186-19.
- [108] Maseda H, Sawada I, Saito K, et al. Enhancement of the *mexAB-oprM* efflux pump expression by a quorum-sensing autoinducer and its cancellation by a regulator, MexT, of the *mexEF-oprN* efflux pump operon in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(4): 1320-1328.
- [109] Alcalde-Rico M, Olivares-Pacheco J, Alvarez-Ortega C, et al. Role of the multidrug resistance efflux pump MexCD-OprJ in the *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing response. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2752.
- [110] Dubrac S, Boneca IG, Poupel O, et al. New Insights into the WalK/WalR (YycG/YycF) essential signal transduction pathway reveal a major role in controlling cell wall metabolism and biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 2007, 189(22): 8257-8269.
- [111] Tamber S, Cheung AL. SarZ promotes the expression of virulence factors and represses biofilm formation by modulating SarA and *agr* in *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*, 2009, 77(1): 419-428.
- [112] Gimza BD, Larias MI, Budny BG, et al. Mapping the global network of extracellular protease regulation in *Staphylococcus aureus*. *Msphere*, 2019, 4(5): e00676-19.
- [113] Yang QE, Li M, Spiller OB, et al. Balancing *mcr-1* expression and bacterial survival is a delicate equilibrium between essential cellular defence mechanisms. *Nat Commun*, 2017, 8: 2054.

(本文责编 郝丽芳)